

**Medizinische Chemie G-Protein-gekoppelter P2Y-
und verwandter Waisen-Rezeptoren:
Synthese, Optimierung und Charakterisierung
selektiver Liganden als pharmakologische Tools**

DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades Dr. rer. nat.

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Mario Funke

aus

Dresden

Bonn 2014

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Gutachter: Prof. Dr. Christa E. Müller

Gutachter: Prof. Dr. Michael Gütschow

Tag der Promotion: 7. Mai 2014

Erscheinungsjahr: 2014

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulserver der ULB Bonn elektronisch publiziert:

http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online/

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juli 2008 bis Februar 2014 am Pharmazeutischen Institut der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Christa E. Müller angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren	1
1.1.1	Klassifizierung.....	4
1.1.2	Signaltransduktionswege.....	5
1.2	Purinerge Rezeptoren	8
1.2.1	Überblick	8
1.2.2	P2Y-Rezeptoren	9
1.2.3	P2Y ₂ -Rezeptor.....	11
1.3	Lipid-Rezeptoren.....	15
1.3.1	Überblick	15
1.3.2	Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptoren	16
1.3.3	Cannabinoid-Rezeptoren	19
1.4	Waisen-Rezeptoren	22
1.4.1	Einführung.....	22
1.4.2	GPR17	23
1.4.3	GPR18	28
1.4.4	GPR35	29
1.4.5	GPR55	34
1.4.6	GPR84	35
2	Ziele der Arbeit	39
3	Ergebnisse und Diskussion	41
3.1	Darstellung von Suramin-Derivaten als potentielle Antagonisten für P2Y ₂ - und verwandte Rezeptoren	41
3.1.1	Einleitung	41
3.1.2	Darstellung der Benzamidobenzensulfonate und –sulfonsäuren.....	43

3.1.3	Veresterung der Sulfonate zu 3- und 4-Benzamidobenzensulfon- säurephenylestern.....	46
3.1.4	Stabilitätsuntersuchungen	50
3.1.5	Darstellung von 4-Benzamidobenzensulfonamiden	53
3.1.6	Darstellung von Methyl- <i>N</i> -(nitrobenzamidophenyl)benzamid- und Nitrobenzamido- <i>N</i> -tolylbenzamid.....	54
3.1.7	Darstellung von Harnstoff-Derivaten	56
3.2	Untersuchung der Suramin-Derivate an verschiedenen Rezeptoren und Enzymen	59
3.2.1	Einleitung.....	59
3.2.2	Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen P2Y ₂ -Rezeptor	64
3.2.3	Selektivität gegenüber P2Y-Rezeptorsubtypen	72
3.2.4	Selektivität gegenüber Enzymen des Purin-Signaltransduktions- wegs	73
3.2.5	Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen GPR17.....	77
3.2.6	Testergebnisse am humanen GPR84	79
3.2.7	Testergebnisse an den humanen Waisen-Rezeptoren GPR18 und GPR55.....	83
3.2.8	Testergebnisse an den Cannabinoid-Rezeptoren	84
3.2.9	Zusammenfassung der Testergebnisse.....	84
3.3	Darstellung substituierter Chromen-4-on-2-carbonsäuren als potentielle Liganden verschiedener Waisen-Rezeptoren	88
3.3.1	Einleitung.....	88
3.3.2	Synthesen	91
3.3.3	Stabilitätsuntersuchungen	120
3.4	Testung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am GPR17	124
3.4.1	Einleitung.....	124
3.4.2	Struktur-Wirkungsbeziehungen	124
3.5	Testung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am GPR84	134
3.5.1	Einleitung.....	134
3.5.2	Struktur-Wirkungsbeziehungen	135
3.6	Untersuchung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am GPR35	142
3.6.1	Funktionelle Studien	142

3.6.2	Entwicklung und Charakterisierung des ersten GPR35-Radioliganden.....	159
3.6.3	Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien.....	164
3.6.4	Physikochemische Eigenschaften.....	174
3.7	Diskussion der Testergebnisse der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate in Hinblick auf die phylogenetische Verwandtschaft der Rezeptoren.....	177
4	Zusammenfassung und Ausblick	181
5	Experimenteller Teil	191
5.1	Allgemeine Angaben.....	191
5.1.1	Chemikalien.....	191
5.1.2	Geräte und Verfahren	191
5.2	Synthesvorschriften	193
5.2.1	Darstellung von Benzamidobenzensulfonaten	193
5.2.2	Darstellung von Benzamidobenzensulfonsäuren	193
5.2.3	Darstellung der 3- und 4-Benzamidobenzensulfonsäurephenylester.....	194
5.2.4	Darstellung der 4-Benzamidobenzensulfonamide.....	196
5.2.5	Darstellung der 3-Methyl- <i>N</i> -(nitrophenyl)benzamide und Nitro- <i>N</i> -3-tolylbenzamide	196
5.2.6	Reduktion der 3-Methyl- <i>N</i> -(nitrophenyl)benzamide und Nitro- <i>N</i> -3-tolylbenzamide	197
5.2.7	Darstellung der Methyl- <i>N</i> -(nitrobenzamidophenyl)benzamide	197
5.2.8	Darstellung der 3- und 4-(Nitrobenzamido)- <i>N</i> -tolylbenzamide.....	198
5.2.9	Darstellung substituierter 3-(3-Phenylureido)benzoesäuremethylester	198
5.2.10	Darstellung substituierter 3-(3-Phenylureido)benzoesäuren	198
5.2.11	Darstellung der (6-Halogen)-8-nitrochromen-4-on-2-carbonsäureethylester	199
5.2.12	Reduktion der (6-Halogen)-8-nitrochromen-4-on-2-carbonsäureethylester.....	199
5.2.13	Darstellung der 3- und 4-Alkyloxybenzoesäuremethylester	200

5.2.14	Darstellung der 3- und 4-Alkyloxybenzoesäuren	200
5.2.15	Darstellung der 8-Amido-(6-halogen)-chromen-4-oncarbon- säureethylester.....	201
5.2.16	Darstellung von 1-Alkyloxy-4-nitrobenzen.....	202
5.2.17	Reduktion von 1-Alkyloxy-4-nitrobenzen.....	202
5.2.18	Darstellung der 8-Ureidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester	203
5.2.19	Darstellung von 8-Thioureidochromen-4-on-2-carbonsäureethyl- ester.....	203
5.2.20	Darstellung von 4-Alkyloxybenzonsulfonat	203
5.2.21	Darstellung von 8-Sulfonamidochromen-4-on-2-carbonsäure- ethylester.....	204
5.2.22	Hydrolyse der (6-Halogen)-chromen-4-on-2-carbonsäureethyl- ester.....	204
5.3	Charakterisierung der dargestellten Verbindungen	205
5.3.1	3-Propionylbenzoesäure und deren Vorstufe.....	205
5.3.2	3-Alkanoylbenzoylchloride.....	206
5.3.3	Kaliumbenzamidobenzonsulfonate	206
5.3.4	Benzamidobenzonsulfonsäuren.....	211
5.3.5	Benzamidobenzonsulfonsäurechloride	212
5.3.6	3- und 4-Benzamidobenzonsulfonsäurephenylester	212
5.3.7	4-Benzamidobenzonsulfonamide.....	221
5.3.8	3-Methyl- <i>N</i> -(nitrophenyl)benzamide und Nitro- <i>N</i> -3-tolylbenz- amide.....	222
5.3.9	<i>N</i> -(Aminophenyl)-3-methylbenzamide und Amino- <i>N</i> -3-tolyl- benzamide	223
5.3.10	Methyl- <i>N</i> -(nitrobenzamidophenyl)benzamide.....	225
5.3.11	3- und 4-(Nitrobenzamido)- <i>N</i> -tolylbenzamide	226
5.3.12	Substituierte 3-(3-Phenylureido)benzoesäuremethylester	228
5.3.13	Substituierte 3-(3-Phenylureido)benzoesäuren.....	229
5.3.14	(6-Halogen)-8-nitrochromen-4-oncarbonsäureethylester	231
5.3.15	8-Amino-(6-halogen)-chromen-4-oncarbonsäureethylester	232
5.3.16	3- und 4-Alkyloxybenzoesäuremethylester	233
5.3.17	3- und 4-Alkyloxybenzoesäuren.....	241
5.3.18	8-Amido-(6-halogen)-chromen-4-oncarbonsäureethylester	249

5.3.19	1-Alkyloxy-4-nitrobenzene	283
5.3.20	4-Alkyloxyaniline.....	283
5.3.21	8-Ureido- und 8-Thioureido-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-2-carbonsäure- ethylester.....	284
5.3.22	4-Alkyloxybenzensulfonate.....	286
5.3.23	8-Sulfonamidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester	287
5.3.24	(6-Halogen)-4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-4-oncarbonsäuren	287
5.3.25	Sonstige Verbindungen	319
5.4	Bestimmung der hydrolytischen Stabilität ausgewählter Verbindungen	321
5.4.1	Benzensulfonsäurephenylester-Derivat 76.....	321
5.4.2	Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivat 338	322
5.5	Entwicklung des GPR35-Radioliganden [³ H]PSB-13253	326
5.5.1	Vorversuch im Labor.....	326
5.5.2	Tritium-Markierung durch eine Firma	326
5.6	Pharmakologische Testung	329
5.6.1	Calciumionen-Mobilisationsassay.....	329
5.6.2	cAMP-Akkumulationsassay	330
5.6.3	β -Arrestin-Rekrutierungsassay.....	330
5.6.4	Membranpräparationen für Radioligandbindungsassays	331
5.6.5	Radioligandbindungsassay	332
6	Abkürzungsverzeichnis	335
7	Literaturverzeichnis	339

1 Einleitung

„And the Oscar[®] goes to...“

Nicht der Oscar[®], aber der wichtigste Preis in den Naturwissenschaften, und zwar der Nobelpreis, wurde im Jahr 2012 im Bereich Chemie an Robert J. Lefkowitz und Brian K. Kobilka für die grundlegende Erforschung einer wichtigen Klasse von membranständigen Proteinen, den sogenannten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) verliehen. Dies unterstrich die große Bedeutung der GPCRs für die Entwicklung neuer Arzneimittel. Sie dienen derzeit als Zielstrukturen für ca. 30 % aller zugelassenen Arzneimittel.¹ GPCRs sind die größte Proteinfamilie des menschlichen Genoms und vermitteln Transduktion einer großen Vielfalt extrazellulärer Signale ins Zellinnere, die von Photonen, kleinen Molekülen bis hin zu Peptiden und Proteinen reichen.² Kleine „drug-like“, an GPCRs bindende Moleküle sind unter anderem Coffein, Morphin, Heroin und Histamin.³ Die Unterschiedlichkeit der extrazellulären Liganden spiegelt die strukturelle Vielfalt der ca. 800 humanen GPCRs wider.⁴ Signaltransduktion durch GPCRs ist die Grundlage für die meisten physiologischen Prozesse, die vom Sehen, Schmecken und Tasten bis hin zu neurologischen, Herz- und Gefäß- sowie Fortpflanzungsfunktionen reichen.^{5, 6} Die Vielfalt von Stimuli und Verbindungen, auf die GPCRs ansprechen, ist einzigartig und ihre Rolle in Lebensabläufen ist unbestritten. Daher wird im nachfolgenden näher auf diese wichtige Rezeptorklasse eingegangen.

1.1 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

Die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren sind membranständige Rezeptoren, zu denen außerdem die Enzym-assoziierten Rezeptoren und Ligand-gesteuerten Ionenkanäle gehören. Sie unterscheiden sich in der Art der Signaltransduktion voneinander. Nach extrazellulärer Bindung eines Liganden aktivieren Enzym-assoziierte Rezeptoren ein intrazellulär lokalisiertes Enzym. Als Beispiele für diese Gruppe von Rezeptoren sind Rezeptoren mit Tyrosinkinase-Aktivität, Rezeptoren mit Serin-/Threoninkinase-

Aktivität und Rezeptoren mit Guanylylcyclase-Aktivität zu nennen. Ligand-gesteuerte Ionenkanäle bestehen aus mehreren Proteinen und können im Gegensatz zu spannungsabhängigen Ionenkanälen durch die spezifische Bindung eines Liganden geöffnet und geschlossen werden. Aufgrund ihrer Ionen-selektiven Permeabilität kann der Ein- und Ausstrom von bestimmten Ionen, wie Calcium-, Natrium-, Kalium- und Chloridionen, reguliert werden. Wichtige Vertreter dieser Gruppe sind P2X-, GABA_A-, ionotrope Glutamat-, Glycin-, 5-HT₃- und nicotinische Acetylcholin-Rezeptoren.^{3,7}

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren weisen hingegen sieben transmembranäre Domänen (α -Helices) auf, die sich jeweils aus 25 bis 35 Aminosäuren zusammensetzen. Sie besitzen je drei extrazelluläre und drei intrazelluläre Schleifen, sowie einen extrazellulären N-Terminus und einen intrazellulären C-Terminus (siehe Abb. 1.1).⁸

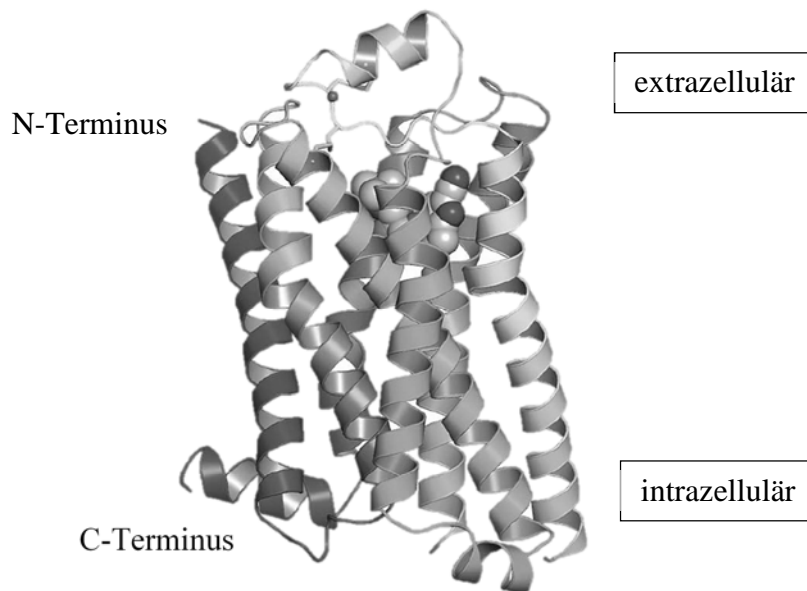


Abb. 1.1. Struktur des β_1 -adrenergen G-Protein-gekoppelten Rezeptors im Komplex mit dem Antagonisten Cyanopindolol.⁹

Wie der Name „G-Protein-gekoppelter Rezeptor“ schon impliziert, sind die Rezeptoren an Guanin-Nucleotid-bindende Proteine (G-Proteine) gekoppelt und durch die Bindung eines Liganden wird über ein G-Protein die entsprechende Signaltransduktion ausgelöst. Zu den GPCRs gehören unter anderem die Adenosin-, P2Y-, Dopamin-, GABA_B-, metabotropen Glutamat-, Histamin-, Muscarin-, Opioid-, Serotonin- und adrenergen Rezeptoren. Als Liganden wurden biogene Amine, Purine, Lipide, Peptide, Proteine, Geruchsstoffe, Calciumionen, Protonen sowie Photonen beschrieben.⁸

Für lange Zeit war es sehr schwierig, die detaillierte Struktur der GPCRs zu studieren aufgrund großer Probleme in der Kristallisation der Proteine durch deren hohe Lipophilie, aufwendiger Aufreinigungsprozeduren, geringer Stabilität nach Extraktion aus der Zellmembran und niedriger Proteinexpressionsraten.¹⁰⁻¹² Die erste Röntgenkristallstruktur eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors wurde von Palczewski et al. im Jahr 2000 veröffentlicht, und zwar die des Rinderrhodopsins in der inaktiven Konformation mit 11-*cis*-Retinal.¹³ Dadurch konnte zum ersten Mal die dreidimensionale Struktur eines GPCRs, jedoch mit einer noch relativ schlechten Auflösung von 2.8 Å, studiert werden. Bis 2007 wurden die Strukturen und Funktionen der GPCRs nur mit Hilfe von Modellen, die auf der Röntgenkristallstruktur des Rhodopsins basierten, interpretiert.^{14, 15}

Die ersten Einblicke in die aktive Konformation eines GPCRs erhielt man im Jahr 2008 durch die Röntgenkristallstruktur des Opsins in freier Form und in eines an ein Peptidfragment des zugehörigen G-Proteins gebundenen Form.^{16, 17} Dadurch konnte man erstmals Informationen über die strukturellen Veränderungen bei der Signalübertragung vom Rezeptor zum G-Protein erhalten. Entscheidende Entwicklungen im Protein-Engineering^{9, 18} und in der Kristallografie^{16, 17} führten zu einem exponentiellen Anstieg in der Bestimmung von GPCR-Strukturen, besonders in den letzten fünf Jahren. Mittlerweile konnten von 15 G-Protein-gekoppelten Rezeptoren die Kristallstrukturen bestimmt werden, unter anderem von den adrenergen β_1 ⁹- und β_2 ¹⁹-Rezeptoren, dem Dopamin-D₃-Rezeptor²⁰, dem Histamin-H₁-Rezeptor²¹, den muskarinischen M₂²² und M₃-Rezeptoren²³ sowie dem A_{2A}-Adenosinrezeptor²⁴. Verschiedene GPCRs, wie zum Beispiel Rhodopsin^{13, 16, 17, 25-28}, der β_1 -adrenerge Rezeptor^{9, 29, 30}, der β_2 -adrenerge Rezeptor^{19, 31-34}, der A_{2A}-Adenosinrezeptor^{24, 35-38} und der CXC-Rezeptor⁴³⁹, konnten mit einer Vielzahl von Liganden, in unterschiedlichen Kristallformen und unter Verwendung verschiedener Techniken zur Rezeptorstabilisierung co-kristallisiert werden. Entscheidend war, dass die Konformationsunterschiede zwischen den verschiedenen inaktiven Strukturen desselben Rezeptors nur minimal waren, womit die meisten entscheidenden Rezeptor-spezifischen Merkmale gut konserviert waren. Diese Reproduzierbarkeit ermöglichte eine wichtige Basis für strukturelle Vergleiche zwischen verschiedenen GPCRs und verschiedenen funktionellen Zuständen dieser Rezeptoren.⁴⁰

1.1.1 Klassifizierung

Basierend auf ihren strukturellen und funktionellen Eigenschaften unterteilten T. K. Attwood und J. B. Findlay⁴¹ sowie L. F. Kolakowski⁴² im Jahr 1994 die G-Proteingekoppelten Rezeptoren in die Klassen A bis F (A-F-System). Die Klasse A umfasst die Rhodopsin-verwandten Rezeptoren und stellt die mit Abstand größte Klasse der GPCRs dar. Zur Klasse B gehören die Glycoproteinrezeptoren, die auch als "Sektretin-ähnliche Rezeptoren" bezeichnet werden. Sie werden durch große Peptid-Moleküle, wie Glucagon oder Secretin, aktiviert. Die Klasse C beinhaltet die metabotropen Glutamatrezeptoren. Die Rezeptoren der Klassen D und E spielen eine untergeordnete Rolle, da sie nicht in Wirbeltieren vorkommen. Sie fungieren als Pheromon-Rezeptoren in Pilzen bzw. als cAMP-Rezeptoren in Nematoden. Rhodopsine von Archaeobakterien sind Beispiele für GPCRs der Klasse F.⁴³

Alternativ schlugen Fredriksson et al.⁴ 2003 mit dem sogenannten GRAFS- oder Fredriksson-System eine Einteilung der GPCRs nach phylogenetischen Merkmalen vor. Es wurde in 5 Familien unterschieden: die **G**lutamat-, **R**hodopsin-, **A**dhäsions-, **F**rizzled/Taste2- und die **S**ektretin-Rezeptoren. Die Familie der Glutamatrezeptoren umfasst 15 Rezeptoren, zu denen acht metabotrope Glutamat- und zwei GABA_B-Rezeptoren gehören. Die Rezeptoren dieser Familie weisen einen vergleichsweise langen extrazellulären N-Terminus auf. Dieser ist bei den metabotropen Glutamatrezeptoren 280 bis 580 Aminosäuren lang und primär an der Ligandenbindung beteiligt. Die Adhäsionsrezeptor-Familie besitzt 24 Vertreter, deren N-Terminus in der Länge von 200 bis 2800 Aminosäuren variieren kann und Adhäsionssequenzen aufweist. Diese Sequenzen können glycosyliert sein oder Cystein-reiche Motive besitzen. Die Gruppe der Frizzled/Taste2-Rezeptoren beinhaltet neben Geschmacksrezeptoren mit einem sehr kurzen N-Terminus eine heterogene Gruppe von Glycoproteinrezeptoren. Die Sekretinrezeptoren weisen trotz phylogenetischer Unterschiede eine strukturelle Ähnlichkeit mit der Adhäsionsrezeptor-Familie auf. Der N-Terminus weist Disulfidbrücken auf und spielt eine wichtige Rolle bei der Ligandenerkennung.⁴

Die mit 701 Vertretern mit Abstand größte GPCR-Familie stellt die Rhodopsin-Gruppe dar, die auch die größte Rolle in der medikamentösen Therapie spielt. Darunter befinden sich 241 nicht-olfaktorische Rezeptoren. Der Großteil der Rezeptoren ist durch spezielle konservierte Aminosäuresequenzen, dem sogenannten "DRY"-Motiv, welches

sich zwischen der dritten transmembranen Helix und der zweiten intrazellulären Domäne befindet, charakterisiert. Durch die Röntgenkristallstruktur des A_{2A}-Adenosinrezeptors konnte gezeigt werden, dass entgegen früherer Vermutungen eine Ligandenbindung unter Beteiligung der extrazellulären Schleifen bzw. des N-Terminus erfolgen kann.²⁴ Phylogenetische Untersuchungen führten zu einer weiteren Unterteilung der Rhodopsin-Gruppe in die Unterfamilien α , β , γ und δ . Die α -Unterfamilie umfasst 89 Rezeptoren, zu denen unter anderem die Prostaglandinrezeptoren, die Rezeptoren für biogene Amine (Serotonin-, Dopamin-, Histamin-, muskarinische und adrenerge Rezeptoren), die Opsinrezeptoren und die Melatoninrezeptoren zählen. Zu dieser Familie gehören auch die Cannabinoid-Rezeptoren 1 und 2, an denen im Rahmen dieser Arbeit dargestellte Verbindungen getestet wurden. Rezeptoren der β -Unterfamilie, der 35 Vertreter angehören, haben gemein, dass sie ausschließlich durch Peptide, wie Tachykinin, Neurotensin und einige Freisetzungshormone, aktiviert werden. Der γ -Unterfamilie gehören 59 Rezeptoren an und die bekanntesten Vertreter sind die Opioid-, Somatostatin-, Chemokin- und Angiotensinrezeptoren. Die δ -Unterfamilie umfasst 58 Rezeptoren und geschätzte 460 olfaktorische Rezeptoren. Als Vertreter dieser Gruppe sind die MRG- ("MAS related gene"), die Glycoprotein-, die olfaktorischen sowie die in dieser Arbeit im Fokus stehenden Purin-Rezeptoren zu nennen. Weiterhin befinden sich eine große Zahl an "Waisen"- bzw. "Orphan"-Rezeptoren in dieser Gruppe, die eine ähnliche Struktur zu den bereits identifizierten Rezeptoren aufweisen, aber deren physiologischer Ligand noch unbekannt ist. Diese Rezeptoren besitzen ein großes Potential im Hinblick auf die Entdeckung neuer Zielstrukturen für Arzneimittel.^{4, 44-46} Zu erwähnen sind die folgenden Waisen-Rezeptoren, an denen im Rahmen dieser Arbeit dargestellte Verbindungen untersucht wurden: GPR17, GPR18, GPR35, GPR55 und GPR84.

1.1.2 Signaltransduktionswege

Die Bezeichnung "G-Protein-gekoppelter Rezeptor" beruht auf der Interaktion des Rezeptors mit einem Guanin-Nucleotid-bindenden Kopplungsprotein, dem sogenannten G-Protein. Diese bestehen aus den drei funktionellen Untereinheiten G α , G β und G γ , wobei die G α -Untereinheit eine Bindungsstelle für Guanosindiphosphat (GDP) bzw. Guanosintriphosphat (GTP) aufweist und die hydrophobe β,γ -Untereinheit das G-Protein in der Membran verankert. Die durch die Ligandenbindung induzierte Signaltransduktion ist schematisch in Abb. 1.2 dargestellt.

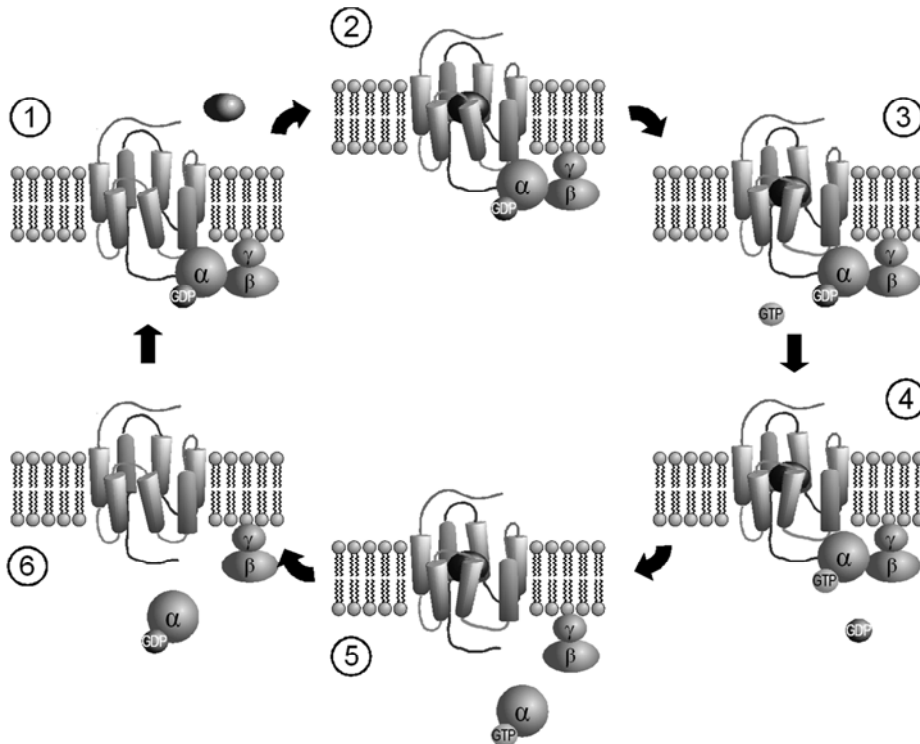


Abb. 1.2. Signaltransduktionsmechanismus eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors.⁴⁷

Im Ruhezustand (1) bilden die Untereinheiten des G-Proteins einen gemeinsamen Proteinkomplex, der nicht mit dem Rezeptor verbunden ist und in dem GDP an die α -Untereinheit bindet. Durch die Bindung eines Liganden an den Rezeptor (2) kommt es zur Konformationsänderung des Rezeptors (3), wodurch das G-Protein angelagert wird und ein Austausch von GDP gegen GTP an der α -Untereinheit erfolgt (4). Nach der Bindung von GTP trennt sich die α -Untereinheit von der β, γ -Untereinheit und erlangt GTPase-Aktivität (5). Sowohl die noch immer GTP-enthaltende α -Untereinheit als auch die β, γ -Untereinheit können daraufhin Enzyme wie die Adenylylcyclase (AC) oder Phospholipase C (PLC) bzw. Ionenkanäle aktivieren oder blockieren. Diese Effektorproteine können wiederum die Bildung von sekundären Botenstoffen, wie cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP), Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP₃) oder Diacylglycerol (DAG) fördern bzw. Ionenkonzentrationen in der Zelle regulieren. Die Signalübertragung wird beendet, in dem die α -Untereinheit gebundenes GTP zu GDP und anorganischem Phosphat hydrolysiert (6) sowie die α -Untereinheit und β, γ -Untereinheit reassoziieren, wodurch das System in den ursprünglichen Ruhezustand (1) zurückkehrt.

Man unterscheidet anhand der Homologie der bis zum heutigen Zeitpunkt bekannten G-Protein-Subtypen der α -Untereinheit in vier Familien: G_s, G_{i/o}, G_{q/11} und G_{12/13} (siehe

Tabelle 1.1). Die meisten dieser α -Untereinheiten wurden Ende der 1980er Jahre kloniert.^{48, 49}

Tabelle 1.1. G α -Protein-Familien, ihre Effektorsysteme und ausgewählte Vertreter von Rezeptoren⁷

G-Protein-Familie	Effektorsysteme (Effekt)	Rezeptoren (Auswahl)
G _s α	Adenylylcyclase \uparrow , Tyrosinkinase \uparrow , K ⁺ -Kanäle \uparrow , Tubulin-GTPase \uparrow	A _{2A} - und A _{2B} -Adenosinrezeptor β_1 - und β_2 -Rezeptor, D ₁ - und D ₅ -Rezeptor
G _{i/o} α	Adenylylcyclase \downarrow , ERK/MAPK \uparrow , Ca ²⁺ -Kanäle \downarrow , K ⁺ -Kanäle \uparrow , Tubulin-GTPase \uparrow	P _{2Y} ₁₂ -, P _{2Y} ₁₃ - und P _{2Y} ₁₄ -Rezeptor, A ₁ - und A ₃ -Adenosinrezeptor, D ₂ -, D ₃ - und D ₄ -Rezeptor, M ₂ - und M ₄ -Rezeptor
G _{q/11} α	Phospholipase C \uparrow , K ⁺ -Kanäle \uparrow , Tyrosinkinasen \uparrow	P _{2Y} ₁ -, P _{2Y} ₂ -, P _{2Y} ₄ -, P _{2Y} ₆ - und P _{2Y} ₁₁ -Rezeptor, M ₁ -, M ₃ - und M ₅ -Rezeptor, A ₃ -Adenosinrezeptor
G _{12/13} α	Phospholipase C \uparrow , PhospholipaseD \uparrow , Rho-Proteine \uparrow	P _{2Y} ₂ -Rezeptor, GPR35

\uparrow stimulierend, \downarrow hemmend

Beim G_s-Signaltransduktionsweg bindet die durch den Austausch von GDP gegen GTP aktivierte α -Untereinheit an die regulatorische Bindungsstelle der Adenylylcyclase. Diese wandelt vermehrt ATP in cAMP um, wodurch der intrazelluläre cAMP-Spiegel ansteigt. Dies führt zum einen zur Aktivierung der Proteinkinase A (PKA) und zur Phosphorylierung von Substratproteinen wie dem Transkriptionsfaktor CREB (cAMP Responsive Element Binding Protein). Zum anderen kann cAMP über verschiedene Proteinkinasen MAPKinasen (Mitogen-aktivierte Proteinkinasen) wie ERK1 und ERK2 stimulieren. Desweiteren kann über die Aktivierung der PKA eine Aktivierung von L-Typ-Calciumionen-Kanälen erfolgen. Als charakteristische von cAMP stimulierte Reaktionen sind die Lipolyse, Glykolyse, die Relaxation der glatten Muskulatur sowie der entzündungshemmende (antiphlogistische) Effekt bei Entzündungsprozessen zu nennen.⁷

G_{i/o}-gekoppelte Rezeptoren sind an ein G-Protein assoziiert, welches eine inhibitorische α -Untereinheit (α_i oder α_o) besitzt. Diese bewirkt eine Hemmung der Adenylylcyclase und somit eine Erniedrigung der intrazellulären cAMP-Konzentration. Zelltypabhängig kann eine Ligandbindung an G_{i/o}-gekoppelte Rezeptoren zu einer Aktivierung der

Phosphatidylinositol-3-Kinase und der nachgeschalteten Proteinkinase B (PKB) führen. Weiterhin konnte in verschiedenen Zelltypen eine $G_{\beta,\gamma}$ -vermittelte Stimulierung der Phospholipase C beobachtet werden, die über die Bildung der sekundären Botenstoffe IP_3 und DAG schließlich zu einer Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Ionenkonzentration führt (siehe G_q -gekoppelte Rezeptoren). Sekretionshemmung, zelluläre Hyperpolarisation und die negativ inotrope Wirkung am Herzen sind typische Vorgänge, die von $G_{i/o}$ -gekoppelten Rezeptoren vermittelt werden.⁷

Bei der Signaltransduktion von G_q -gekoppelten Rezeptoren stimuliert die aktivierte α -Untereinheit des $G_{q/11}$ -Proteins die Phospholipase C, die daraufhin Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP_2) in Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP_3) und Diacylglycerol (DAG) spaltet. Während IP_3 die Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen aus dem endoplasmatischen Retikulum induziert, stimuliert DAG als allosterischer Aktivator die Proteinkinase C (PKC). Als charakteristische von G_q -gekoppelten Rezeptoren vermittelte Prozesse sind die Sekretion von Mediatoren und Signalsubstanzen sowie die Kontraktion der glatten Muskulatur zu nennen.⁷

$G_{12/13}$ -gekoppelte Rezeptoren stimulieren die GTPase Rho, wodurch die Zellmorphologie über Veränderungen im Aktin-Cytoskelett gesteuert werden kann.^{50, 51} Darüber hinaus wurde beschrieben, dass G-Protein-gekoppelte Rezeptoren unter Beteiligung sowohl der α -Untereinheiten der G_s -, $G_{i/o}$ - und $G_{q/11}$ -Proteine als auch der β,γ -Untereinheiten die Aktivität von MAPKinasen regulieren können. Dadurch nehmen GPCRs auch Einfluss auf Zellwachstum, Zelldifferenzierung und Apoptose.⁵² Weiterhin konnte gezeigt werden, dass nach Bindung eines Agonisten auch eine G-Protein-unabhängige Signaltransduktion stattfinden kann, bei der über die Aktivierung von GPCR-Kinasen β -Arrestine an den Rezeptor angelagert werden.⁵³⁻⁵⁵ Dadurch können nachfolgend MAPKinasen wie ERK, p38 oder JNK-3 stimuliert werden.⁵⁶⁻⁵⁸

1.2 Purinerge Rezeptoren

1.2.1 Überblick

Zur Klasse der purinergen Rezeptoren (Purin- und Pyrimidin-Rezeptoren) zählen die Familien der P0-, P1- und P2-Rezeptoren (siehe Abb. 1.3). Die Bezeichnung "Purinerge Rezeptoren" wurde von G. Burnstock 1972 erstmals verwendet.⁵⁹

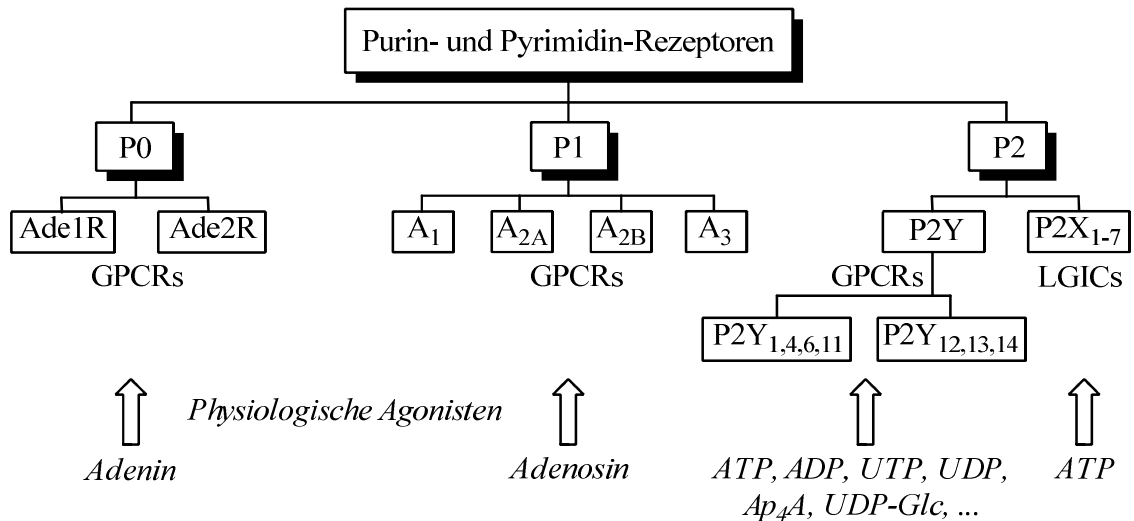


Abb. 1.3. Einteilung der purinergen Rezeptoren.

Die P0-Rezeptoren, die erst kürzlich entdeckt wurden, umfassen die G-Protein-gekoppelten Adeninrezeptoren Ade1R und Ade2R und werden durch die Nucleobase Adenin stimuliert.⁶⁰⁻⁶² Bereits im Jahr 1978 erfolgte die Unterteilung in die P1- und P2-Rezeptoren auf der Basis unterschiedlicher Aktivitäten von ATP, ADP, AMP, Adenosin und Methylxanthinen wie Coffein am P1- bzw. P2-Rezeptor und ihrer funktionellen Effekte auf die Adenylylcyclase.⁶³ Die P1-Rezeptoren sind Nucleosid-Rezeptoren, die G-Protein-gekoppelt sind und durch den physiologischen Agonisten Adenosin aktiviert werden. Man unterteilt sie weiterhin in die Subtypen A₁, A_{2A}, A_{2B} und A₃.⁶⁴ Die P2-Rezeptoren wurden bei der Festlegung ihrer Nomenklatur im Jahr 1994 in die P2X-Rezeptoren, die Ligand-gesteuerte Ionenkanäle darstellen, und die G-Protein-gekoppelten P2Y-Rezeptoren unterschieden.^{65, 66} Von den P2X-Rezeptoren sind sieben Subtypen bekannt. Die P2Y-Rezeptoren werden noch einmal nach ihrer phylogenetischen Abstammung in die P2Y₁-ähnlichen G_q-gekoppelte Rezeptoren (P2Y₁, P2Y₄, P2Y₆ und P2Y₁₁) und die P2Y₁₂-ähnlichen G_{i/o}-gekoppelten Rezeptoren (P2Y₁₂, P2Y₁₃ und P2Y₁₄) unterteilt.^{67, 68} Im Gegensatz zu den P2X-Rezeptoren, die ATP als physiologischen Agonisten besitzen, werden die P2Y-Rezeptoren durch verschiedene physiologische Nukleotide, abhängig vom Subtyp, stimuliert. Im nachfolgenden Kapitel werden diese Rezeptoren detaillierter betrachtet.

1.2.2 P2Y-Rezeptoren

Bis heute wurden acht humane P2Y-Rezeptorsubtypen identifiziert: P2Y_{1,2,4,6,11,12,13} und P2Y₁₄. Die Sequenzhomologie zwischen den Subtypen ist relativ gering. So weist der

nächste Verwandte des P2Y₂-Rezeptors, der P2Y₄-Rezeptor, mit diesem noch eine Sequenzhomologie von 41 % auf. Die Sequenzhomologie hingegen zwischen den entferntest verwandten Subtypen beträgt nur 21 % (zwischen P2Y₁₁- und P2Y₁₃-Rezeptoren).⁶⁹ Die P2Y-Rezeptoren sind in einer Vielzahl von Gewebearten über den Körper verteilt exprimiert. Die Gewebe mit der jeweils höchsten Expression für die einzelnen P2Y-Rezeptorsubtypen sind in Tabelle 1.2 zusammengefasst.

Tabelle 1.2. Gewebe mit hoher Expression und endogene Liganden der P2Y-Rezeptorsubtypen^{67, 70, 71}

Subtyp	Gewebe/Zellen mit hoher Expression	Endogener Ligand	Effektor
P2Y ₁	Epithel- und Endothelzellen, Blutplättchen, Immunzellen, Osteoklasten, Gehirn	ADP	PLC (G _q)
P2Y ₂	Immunzellen, Epithel- und Endothelzellen, Nierentubuli, Osteoblasten, Gehirn	UTP, ATP	PLC (G _q), AC (G _i)
P2Y ₄	Epithel- und Endothelzellen, Plazenta, Milz, Thymus	UTP	PLC (G _q), AC (G _i)
P2Y ₆	Epithelzellen des Darms und der Luftröhre, Plazenta, T-Zellen, Thymus, Mikroglia (aktiviert)	UDP	PLC (G _q)
P2Y ₁₁	Milz, Darm, Granulozyten	ATP	PLC (G _q), AC (G _s)
P2Y ₁₂	Blutplättchen, Gliazellen	ADP	AC (G _i)
P2Y ₁₃	Milz, Gehirn, Lymphdrüse, Knochenmark, Erythrozyten	ADP	AC (G _i)
P2Y ₁₄	Plazenta, Fettgewebe, Magen, Darm, abgetrennte Gehirnregionen, Mastzellen	UDP, UDP-Glucose, UDP-Galactose	AC (G _i)

Aus pharmakologischer Sicht, basierend darauf, welche Nukleotide sie ansprechen, können die P2Y-Rezeptoren in vier Gruppen unterteilt werden:⁷⁰

- (i) Rezeptoren, die Adenin-Nucleotide bevorzugen und hauptsächlich auf ADP und ATP ansprechen (z. B. humane und Nagetier-P2Y_{1,12,13}-Rezeptoren und humaner P2Y₁₁-Rezeptor),
- (ii) Rezeptoren, die Uracil-Nukleotide bevorzugen (z. B. humane P2Y_{4,6}-Rezeptoren),
- (iii) Rezeptoren mit gemischter Selektivität (z. B. humane und Nagetier-P2Y₂-Rezeptoren und der Nagetier-P2Y₄-Rezeptor) und

- (iv) P2Y₁₄-Rezeptor, der UDP und Zucker-Nukleotide (hauptsächlich UDP-Glucose und UDP-Galactose) als physiologische Liganden (ohne Unterschied in den verschiedenen Spezies) besitzt.

Die P2Y-Rezeptorsubtypen sind an unterschiedliche Signaltransduktionswege gekoppelt. Die P2Y₁-ähnlichen Rezeptoren (P2Y₁, P2Y₄, P2Y₆ und P2Y₁₁) sind an G_{q/11}-Proteine gekoppelt und induzieren demnach die intrazelluläre Freisetzung von Ca²⁺-Ionen über die PLC und IP₃.⁷² Im Gegensatz dazu inhibieren die P2Y₁₂-ähnlichen Rezeptoren (P2Y₁₂, P2Y₁₃ und P2Y₁₄) die Adenylylcyclase und die cAMP-Produktion über die Kopplung an G_{i/o}-Proteine. Desweiteren kann der P2Y₂-Rezeptor auch an G_i-Proteine koppeln, was zu Regulierung der Zellmigration führt und der P2Y₁₁-Rezeptor aktiviert die cAMP-Produktion über die Kopplung an G_s-Proteine.⁷² Die Aktivierung von G-Proteinen über P2Y-Rezeptoren führt zu einer Vielzahl von biologischen Effekten aufgrund der anschließenden Beteiligung von verschiedenen Effektoren, wie z. B. MAP-Kinasen, Rho-Kinase, Phospholipase A2, Stickstoffmonoxid und die Transaktivierung von Wachstumsfaktorrezeptoren.⁷³ In Tabelle 1.2 sind die jeweiligen endogenen Liganden der P2Y-Rezeptorsubtypen mit den wichtigsten Effektoren zusammengefasst.

1.2.3 P2Y₂-Rezeptor

1.2.3.1 Charakterisierung

Der P2Y₂-Rezeptor (P2Y₂R) ist der bisher am besten untersuchte Uracilnucleotid-Rezeptor und wurde erstmals 1993 geklont.⁷⁴ Der humane Rezeptor, dessen erste Klonierung im Jahr 1994 erfolgte, besteht aus 377 Aminosäuren und weist zwei glycosylierte Positionen am N-Terminus (N9, N13) auf.⁷⁵ Es existieren zwei polymorphe Varianten des Rezeptors, die sich jedoch in ihren pharmakologischen Eigenschaften kaum unterscheiden.⁷⁶ Der humane (h) P2Y₂-Rezeptor zeigt eine Identität von 89 % in der Aminosäuresequenz mit dem Maus-Rezeptor und ist mit dem P2Y₄-Rezeptorsubtyp phylogenetisch am nächsten verwandt (41 % Identität in der Aminosäuresequenz).^{69, 75} Der Rezeptor nimmt unter den P2Y-Rezeptoren eine Sonderrolle ein, da er von zwei Nukleotiden, UTP und ATP, in gleichem Ausmaß aktiviert wird (UTP: EC₅₀ = 0.008 - 0.14 μM; ATP: EC₅₀ = 0.085 - 0.23 μM für hP2Y₂R).⁶⁷ Der P2Y₂-Rezeptor scheint selektiv für Nukleotidtriphosphate zu sein. UDP wurde entweder als schwacher Partialagonist oder als inaktiv an den P2Y₂-Rezeptoren

beschrieben. ADP, Nucleosidmonophosphate und Nucleoside sind inaktiv am Rezeptor.⁶⁷ Jedoch wurde Diadenosintetraphosphat (Ap₄A), ein physiologisches Dinucleotid, als ziemlich aktiv an P2Y₂-Rezeptoren beschrieben (hP2Y₂R: EC₅₀ = 0.18 - 0.72 μM), welches aber ein Partialagonist zu sein scheint.⁶⁷ Der P2Y₂-Rezeptor ist vorwiegend an G_{q/11}-Proteine gekoppelt, wodurch über die Stimulierung der Phospholipase C die zytosolische Ca²⁺-Konzentration erhöht und schließlich die Proteinkinase C aktiviert wird. In den Epithelien der Bronchien und des Darms führt die Aktivierung des P2Y₂-Rezeptors über den G_{q/11}-Signaltransduktionsweg zur Stimulierung des Chloridausstroms aus dem Zellinneren und zur Inhibition des Na⁺-Transports.⁷⁷⁻⁷⁹ Desweiteren konnte in hP2Y₂R-transfizierten 1321N1-Astrozytomazellen gezeigt werden, dass der Rezeptor über Integrine an G_{i/o}- und G₁₂-Proteine koppelt und damit Einfluss auf das Zytoskelett sowie auf die Chemotaxis und Migration von Immunzellen ausübt.^{80, 81} Dadurch werden inflammatorische Prozesse unterstützt. Durch die direkte Bindung des Rezeptors an die Kinase Src kann dieses Enzym den Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) und Epidermal Growth Factor (EGF) stimulieren, was zum Wachstum von Epithelzellen in Adern und anderen Geweben führt.^{82, 83} In Anwesenheit ihres physiologischen Liganden, dem Nerve Growth Factor (NGF), wird die Tyrosin-Rezeptor Kinase A (TrkA) phosphoryliert und stimuliert. Dieser Prozess wird durch die Aktivierung des P2Y₂-Rezeptors verstärkt. Dadurch wird die Proliferation, Ausdifferenzierung und Regeneration von Neuronen stimuliert und die TrkA aktiviert hierbei den ERK1/2- und Akt-Signalweg.⁸⁴ Die Stimulierung des P2Y₂-Rezeptors beeinflusst auch andere Signalwege, wie z. B. den MAP-Kinase-Signalweg.⁶⁹

1.2.3.2 (Patho)physiologische Rolle des Rezeptors

Es konnte gezeigt werden, dass P2Y₂-Rezeptoren im Gehirn (unter anderem im Caudate-Putamen, Hypothalamus und Nucleus caudatus) und anderen Teilen des ZNS sowie in den glatten Muskelzellen, Leber, Hoden und Epithel- und Endothelzellen exprimiert ist. Der P2Y₂-Rezeptor spielt in einer Vielzahl von (patho)physiologischen Prozessen eine Rolle, von denen ausgewählte nachfolgend vorgestellt werden. Durch die Kopplung an Integrine und VCAM-1 (vaskuläres Adhäsionsmolekül-1) ist der P2Y₂-Rezeptor an pro-inflammatorischen Prozessen wie Chemotaxis, Immunzell-Migration und Rekrutierung von Monozyten beteiligt und verstärkt so die Entstehung von Atherosklerose.⁸⁵ Die Aktivierung des Rezeptors durch ATP induziert die Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen in Urothelzellen.⁸⁶ Es konnte auch

12

anhand von Tiermodellen gezeigt werden, dass eine Inhibition von P2Y₂-Rezeptoren durch Rauch-induzierte Lungenschäden (Entzündungen) verhindert.⁸⁷ Damit könnten P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten möglicherweise zur Behandlung chronisch obstruktiver Lungenerkrankungen (COPD) eingesetzt werden. Durch die Aktivierung des Rezeptors wird eine Hemmung des Knochenbaus verursacht, die auf einer Inhibition der Osteoblastenfunktion beruht.⁸⁸ Die Behandlung der Augen von Ratten mit siRNA (small interfering RNA) als Inhibitoren des P2Y₂-Rezeptors verringerte den Augeninnendruck. Damit stellen Antagonisten des P2Y₂-Rezeptors potentielle Arzneistoffe zur Behandlung des grünen Stars dar.⁸⁹ Der Rezeptor wurde auch mit Krebs in Verbindung gebracht und es konnte gezeigt werden, dass P2Y₂-Rezeptoren auf Endothelzellen in der Thrombozyten-vermittelten Tumorzellenauswanderung beteiligt ist und eine Inhibition der P2Y₂-Rezeptoren die Metastasierung in vitro signifikant vermindert.⁹⁰ Die Aktivierung des P2Y₂-Rezeptors verstärkt die Proliferation von humanen Krebszellen des Pankreas'. Eine Inhibierung des Rezeptors mit Suramin oder siRNA verringerte signifikant diesen Proliferationseffekt.⁹¹ Es konnte auch gezeigt werden, dass eine Aktivierung des P2Y₂-Rezeptors durch Agonisten die Proliferation von weiteren Krebszellen (z. B. Brustkrebszellen) verstärkt.⁹²

Damit haben Antagonisten für P2Y₂-Rezeptoren ein großes Potential zur Behandlung von verschiedenen Krankheiten, wie Atherosklerose, grünem Star, Lungenkrankheiten und Krebs.

1.2.3.3 P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten

Während mittlerweile eine große Anzahl an P2Y₂-Agonisten, wie z. B. die sich in Phase III der klinischen Studien für die Indikation trockene Augen und Mukoviszidose befindenden Dinukleotide Diquafosol und Denufosol, entwickelt wurden, sind derzeit kaum Antagonisten für den P2Y₂-Rezeptor in der Literatur beschrieben.^{93, 94} Die unselektiven Standard-Antagonisten für P2Y-Rezeptoren Reactive Blue-2 (RB-2, **1**) und Suramin (**2**) inhibieren den humanen (h) P2Y₂-Rezeptor mit moderater Wirksamkeit (Strukturen: siehe Abb. 1.4).⁶⁷ Die IC₅₀-Werte für RB-2 und Suramin liegen am humanen P2Y₂R bei ca. 1 µM bzw. 50 µM. Am Maus-Rezeptor wurden für **1** und **2** ähnliche Aktivitäten bestimmt. Nur am Ratten-Rezeptor war **1** überraschenderweise inaktiv.⁶⁷ Von unserer Forschungsgruppe wurden bereits Derivate von RB-2, wie z. B. PSB-716 (**3**) mit IC₅₀-Werten im niedrigen mikromolaren Bereich synthetisiert (**3**: IC₅₀ = 9.82 µM am hP2Y₂R).⁹⁵

1 Einleitung

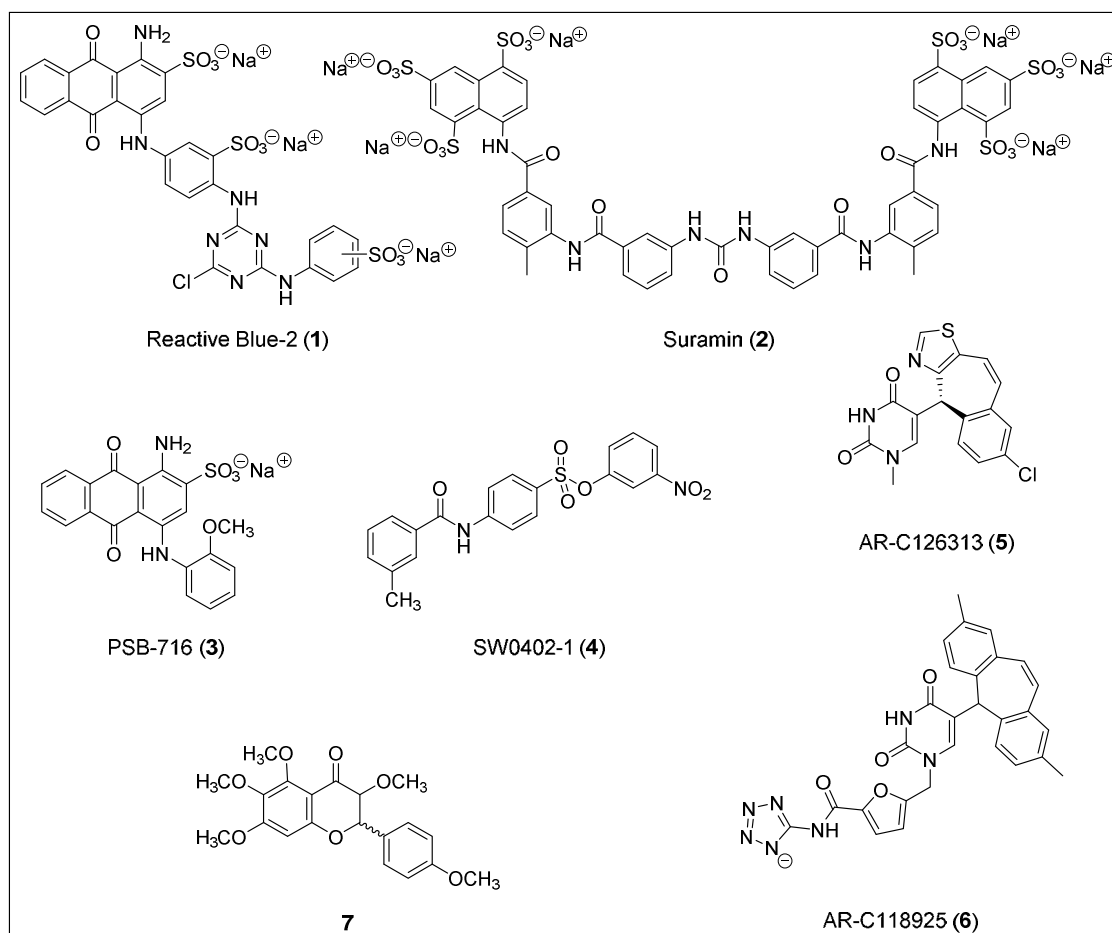


Abb. 1.4. Strukturen von P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten.^{67, 95-97}

Von S. Weyler wurden im Rahmen ihrer Dissertation Suramin-Derivate dargestellt, die von P. Hillmann anschließend an verschiedenen P2Y-Rezeptorsubtypen getestet wurden.^{96, 98} Dabei konnte das Sulfonsäureester-Derivat SW0402-1 (**4**) als Antagonist am Ratten (r)-P2Y₂-Rezeptor mit einem IC₅₀-Wert von 2.83 μM identifiziert werden. Diese Verbindung war selektiv gegenüber den Subtypen Truthahn (t)-P2Y₁ und hP2Y₄. Lediglich am Ratten-P2Y₆-Rezeptor zeigte **4** eine Inhibition mit einem IC₅₀-Wert von 6.19 μM. Damit dient **4** als geeignete Leitstruktur zur Entwicklung neuer potenter und selektiver P2Y₂-Antagonisten, die dringend benötigt werden.

Ergänzend müssen noch weitere P2Y₂-Antagonisten genannt werden, und zwar die Thiouracil-Derivate AR-C126313 (**5**) und AR-C118925 (**6**), die beide selektiv für den P2Y₂-Rezeptor sind, sowie Flavonoid-Derivate, wie z. B. **7**.⁹⁷ Die Thiouracil-Derivate wurden von der Firma AstraZeneca entwickelt. Jedoch wurde ihre Entwicklung als P2Y₂-Antagonisten gegen Schuppenflechte inzwischen eingestellt. Die Flavonoid-Derivate zeigten eine Inhibition im niedrigen mikromolaren Bereich, scheinen aber allosterische Antagonisten zu sein.^{67, 97}

1.3 Lipid-Rezeptoren

1.3.1 Überblick

In allen mehrzelligen Organismen, so auch im Menschen, existiert eine Fülle an Kommunikationssystemen, die Gewebe mit Zellen verbinden. Eine wichtige Rolle spielen dabei chemische Mediatoren wie Hormone oder Neurotransmitter. Aus chemischer Sicht können dies u. a. Peptide, biogene Amine oder Lipide sein.⁹⁹ Lipidmediatoren sind bioaktive Lipide, die lokal durch spezifische Biosynthesewege als Antwort auf extrazelluläre Stimuli produziert werden. Sie werden von der Zelle freigesetzt, wo sie an GPCRs binden, um Signale zu übertragen. Anschließend werden sie durch spezifische enzymatische oder nicht-enzymatische Prozesse entfernt oder abgebaut. Lipidmediatoren sind an vielen physiologischen Prozessen beteiligt und ihre Deregulationen wurden vielfach mit verschiedenen Krankheiten, wie Entzündung, Unfruchtbarkeit, Atherosklerose, Ischämie und Krebs, in Verbindung gebracht.¹⁰⁰

Historisch und strukturell können die Lipidmediatoren in vier Gruppen unterteilt werden.¹⁰⁰ Zur ersten Gruppe zählen bekannte, von der Arachidonsäure abstammende Eicosanoide, wie Prostaglandine (PGs), Leukotriene (LTs) und ihre Verwandten.^{101, 102}

Als GPCRs, die Eicosanoide binden, sind unter anderem zu nennen:

- Prostaglandine-bindende Rezeptoren: Prostaglandin-E2-Rezeptor₁ (EP₁), EP₂, EP₃, EP₄, Prostaglandin-F2 α -Rezeptor (FP), Prostaglandin-D2-Rezeptor (DP) und IP¹⁰³
- Leukotriene-bindende Rezeptoren: Leukotrien-B4-Rezeptor₁ (BLT₁) und BLT₂, Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptor₁ (CysLT₁) und CysLT₂¹⁰⁴

Die zweite Gruppe beinhaltet Lysophospholipide und ihre Derivate, wie Plättchenaktivierender Faktor (PAF), Lysophosphatidsäure (LPA) und Sphingosin-1-phosphat (S1P), die entweder Glycerol oder Sphingosin als Rückgrat aufweisen.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

In diese Gruppe könnten auch Endocannabinoide gezählt werden, da zum einen 2-Arachidonoylglycerol ein Glycerol-Rückgrat besitzt und zum anderen die Cannabinoid-Rezeptoren mit den Lysophosphatidsäure-Rezeptoren phylogentisch nah verwandt sind.¹⁰⁸

GPCRs, die diese Art von Lipidmediatoren binden, sind zum Beispiel:

- Sphingosin-1-phosphat-Rezeptoren: S1P₁, S1P₂, S1P₃, S1P₄, S1P₅¹⁰⁹
- Lysophosphatidsäure-Rezeptoren: LPA₁, LPA₂, LPA₃, LPA₄¹⁰⁹
- Cannabinoid-Rezeptoren: CB₁ und CB₂¹¹⁰

Zu den Vertretern der dritten Gruppe zählen neu entdeckte, entzündungshemmende Lipidmediatoren, die von mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäuren (PUFAs) abstammen, wie zum Beispiel die Resolvine (stammen von der Eicosapentaensäure, EPA) und Proteine, die von der Docosahexansäure (DHA) stammen und dessen biosynthetische Enzyme und Rezeptoren noch nicht vollständig verstanden sind.¹¹¹ Beispiele für GPCRs, die durch solche Lipidmediatoren stimuliert werden, sind:

- Lipoxin A₄-bindender Rezeptor ALX¹¹²
- Resolvin E₁-bindender Rezeptor ChemR23¹¹³
- Resolvin D₁-bindende Rezeptoren ALX und GPR32¹¹⁴

Weiterhin wurden GPCRs wie die "Freie-Fettsäure-Rezeptoren" FFA1 (GPR40), FFA2 (GPR43), FFA3 (GPR41) und FFA4 (GPR120) sowie die Waisen-Rezeptoren GPR42 und GPR84 beschrieben, die kurzkettige bis langkettige sowie gesättigte oder ungesättigte freie Fettsäuren (FFAs) binden.^{115, 116} Diese können als eine weitere Klasse von Lipidmediatoren zusammengefasst werden.¹⁰⁰

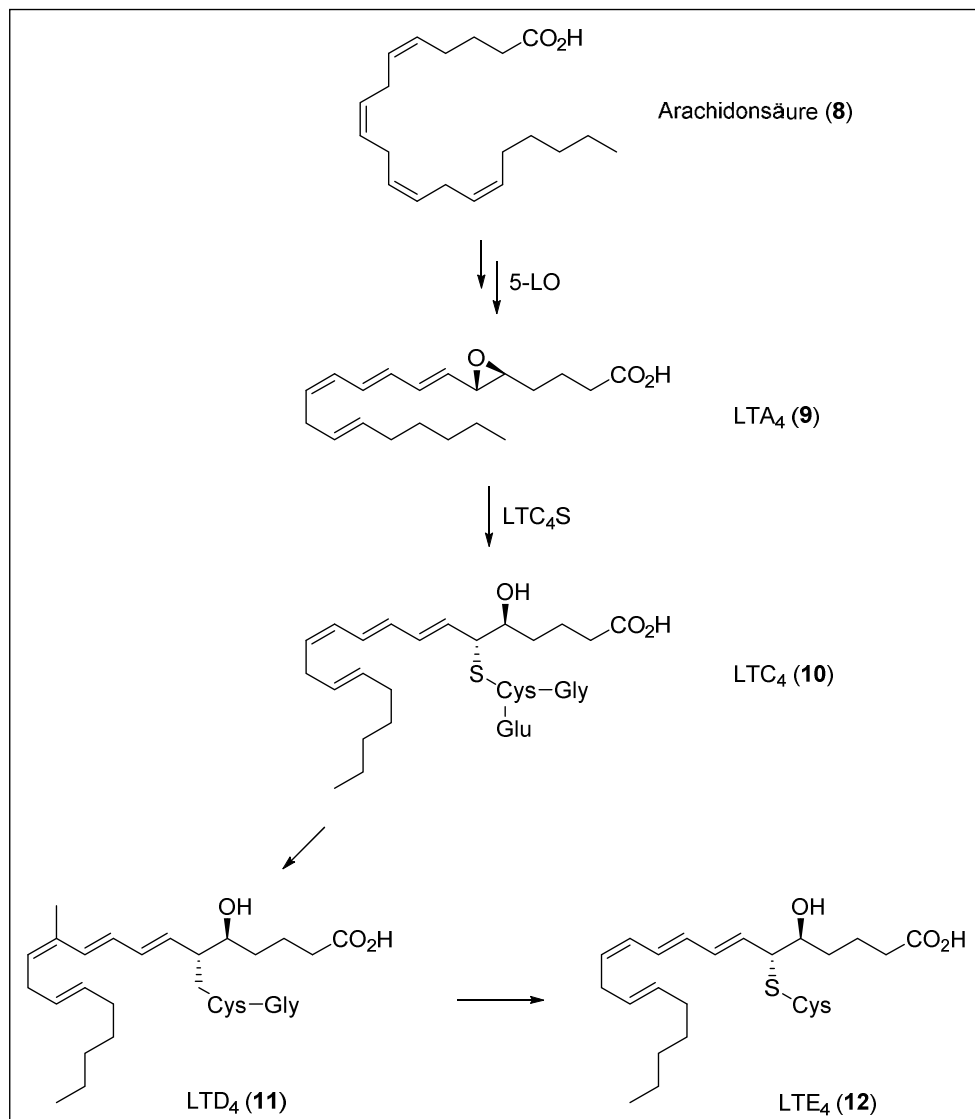
1.3.2 Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptoren

Cysteinyl-Leukotriene (Cys-LTs) sind hochpotente Peptid-verknüpfte Lipidmediatoren, die von der Arachidonsäure abstammen und eng mit der Pathobiologie der allergischen Entzündung in Verbindung stehen.^{117, 118} Desweiteren spielen sie eine Rolle in der Pathophysiologie von Herz-Kreislaufkrankungen, Fibrose und Krebs.¹¹⁹⁻¹²¹ Cys-LTs waren die ersten spezifischen Mediatoren, die als Leitstrukturen zur Entwicklung von Arzneistoffen gegen Asthma dienten.¹²²⁻¹²⁴ Heute sind viele dieser Arzneistoffe auf dem Markt.

CysLTs werden in vielen Zelltypen produziert, wie z.B. eosinophilen Granulozyten, Mastzellen, Makrophagen und myeloiden dendritischen Zellen. Dabei wird zur Bildung

der instabilen Leukotrien-Vorstufe LTA_4 (**9**) die Arachidonsäure (**8**) durch die 5-Lipoxygenase (5-LO) oxidiert (siehe Schema 1.1). Anschließend wandelt die Leukotrien- C_4 -Synthase (LTC_4S) das LTA_4 (**9**) zum Cysteinyl-Leukotrien LTC_4 (**10**) um. Nach dem Transport von LTC_4 an die Zelloberfläche durch das "Multidrug resistance-associated protein 1" (MRP1) wird es in LTD_4 (**11**) und abschließend in das stabilste Cysteinyl-Leukotrien LTE_4 (**12**) überführt. In Zellen, wie Thrombozyten und Endothelzellen, die keine 5-LO exprimieren, findet ein transzellulärer Mechanismus zur Bildung der CysLTs statt, bei dem extrazelluläres LTA_4 umgewandelt wird.¹²⁵

Schema 1.1. Schematisch dargestellte Biosynthese und Strukturen der Cysteinyl-Leukotriene LTC_4 , LTD_4 und LTE_4 (Details siehe Text).



Es wurden zwei G_q -Protein-gekoppelte Rezeptoren beschrieben, über welche die Cys-LTs wirken, und zwar die $CysLT_1$ - und $CysLT_2$ -Rezeptoren ($CysLT_1R$ bzw.

CysLT₂R).^{126, 127} Die beiden Rezeptoren stammen von zwei verschiedenen Chromosomen und besitzen eine Homologie von 38 %. Sie sind strukturell homolog zu den P2Y-Rezeptoren mit einer Identität von 25 - 34 % auf Basis der Aminosäuresequenzen.¹²⁸ Während der CysLT₁R LTD₄ (**11**) mit einer hohen Affinität (10⁻⁹ M) und LTC₄ (**10**) mit einer geringeren Affinität (10⁻⁸ M) bindet, werden LTC₄ und LTD₄ mit gleicher Affinität (10⁻⁸ M) vom CysLT₂R gebunden. Keiner der beiden Rezeptoren zeigte eine wirkliche Affinität für LTE₄ (**12**) in Radioligandbindungsassays. LTE₄ war auch nur ein schwacher Agonist für beide Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptoren in funktionellen Studien.^{126, 127, 129} Es wurde vermutet, dass es daher einen dritten CysLTR für LTE₄ geben muss. Im Jahr 2013 identifizierten Y. Kanaoka et al. den Waisen-Rezeptor GPR99 als potentiellen dritten Cysteinyl-Leukotrien-Rezeptor mit Selektivität für LTE₄.¹³⁰ GPR99 wurde zuvor als GPCR für Oxoglutarat (Oxgr1) mit Homologie zu den Nucleotid-Rezeptoren beschrieben.¹³¹ Der Rezeptor zeigte in funktionellen und Radioligandbindungsstudien eine Antwort auf LTE₄ ([³H]LTE₄: K_D = 2.5 nM). Weiterhin vermittelte GPR99 in Maus-Modellen sowohl ein LTE₄-induziertes als auch ein LTC₄- und LTD₄-induziertes Ohrenödem in Abwesenheit der CysLT₁- und CysLT₂-Rezeptoren.¹³⁰

Die CysLT₁- und CysLT₂-Rezeptoren sind durch strukturelle und hämatopoetische Zellen breit exprimiert. Einige Zelltypen, wie vaskuläre glatte Muskelzellen, exprimieren bevorzugt den CysLT₁R, während andere Zellen, wie Endothelzellen, vorrangig den CysLT₂R exprimieren.^{126, 132} Beide Rezeptoren sind in Zellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems exprimiert, wie Makrophagen, Monocyten, Mastzellen, dendritischen Zellen, T- und B-Zellen. Dies deutet auf kooperative Funktionen beider Rezeptoren in Immun- und Entzündungsreaktionen hin.¹³³ Es wird vermutet, dass Cystein-Leukotriene eine direkte Rolle als Agonisten für die Aktivierung von Immuneffektorzellen spielen.¹²⁵ Es wurde beschrieben, dass CysLT₁-Rezeptoren und CysLT₂-Rezeptoren in primären Mastzellen heterodimerisieren können, was relativ verbreitet bei GPCRs ist, die auf ähnliche Liganden ansprechen.¹³⁴ Der CysLT₂-Rezeptor ist in der Lage, die Funktion des CysLT₁-Rezeptors negativ zu regulieren.¹³⁵ Auch der Waisen-Rezeptor GPR17 zeigt in vivo eine negative Regulation des CysLT₁-Rezeptors.¹³⁶ Der GPR17 heterodimerisiert mit CysLT₁-Rezeptoren in Transfektanten und in primären Makrophagen, besitzt jedoch in diesen Zusammenhängen keine spezifische Bindung zu LTD₄. Stattdessen reduzierte eine Co-Transfektion von CysLT₁-Rezeptoren mit GPR17 deutlich die Bindungsaffinität des CysLT₁-Rezeptors zu LTD₄.

Weiterhin deuteten in-vitro-Experimente an, dass CysLT₁-Rezeptoren durch Nukleotide, die über P2Y₁-, P2Y₂-, P2Y₄- und P2Y₆-Rezeptoren wirken, heterolog durch Phosphorylierung desensibilisiert werden können.¹³⁷

Bereits auf dem Markt befindliche kompetitive Antagonisten des CysLT₁-Rezeptors sind Zafirlukast (**13**), Montelukast (**14**) und Pranlukast (**15**) (siehe Abb. 1.5).¹³⁸ Sie werden zur Behandlung von chronischem Asthma eingesetzt.¹³⁹ Ein potenter und selektiver CysLT₂-Rezeptor-Antagonist ist HAMI3379 (**16**, siehe Abb. 1.5).¹⁴⁰

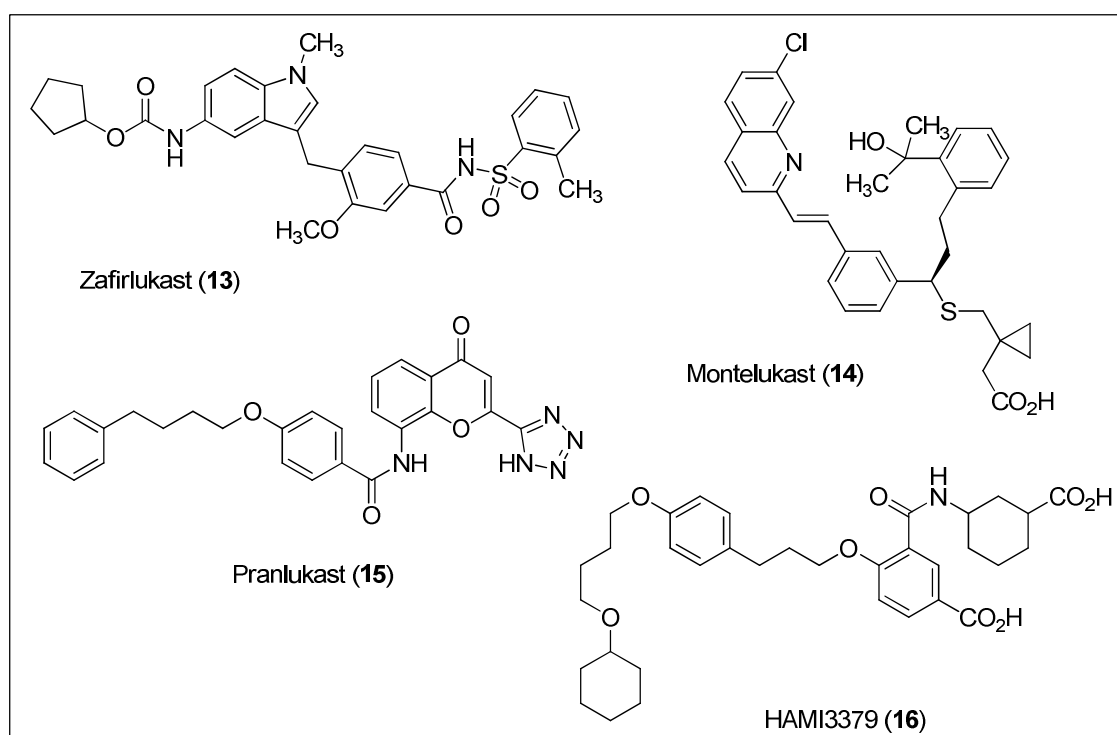


Abb. 1.5. Strukturen der CysLT₁-Rezeptor-Antagonisten Zafirlukast (**13**), Montelukast (**14**) und Pranlukast (**15**) und des CysLT₂-Rezeptor-Antagonisten HAMI3379 (**16**).^{138, 140}

1.3.3 Cannabinoid-Rezeptoren

Die Pflanze *Cannabis sativa* diente bereits seit Tausenden Jahren als Grundlage zur Behandlung von Schmerz und Angst.¹⁴¹ Jedoch erst 1964 wurde Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC, **17**, siehe Abb. 1.6) als hauptsächlich aktive Komponente in Extrakten der *Cannabis sativa* identifiziert und weitere 30 Jahre dauerte es, bis dessen molekulare Targets gefunden werden konnten.^{142, 143} Es sind bis heute zwei Cannabinoid- (CB) Rezeptoren bekannt und zwar CB₁ und CB₂, die eine Übereinstimmung von 44 % in der Aminosäuresequenz aufweisen.¹⁴² Beide Rezeptoren sind G_{i/o}-Protein-gekoppelte Rezeptoren und damit in der Lage die Adenylylcyclase zu

inhibieren und die MAPK zu stimulieren.¹⁴⁴ Desweiteren wurde beschrieben, dass der CB₁-Rezeptor die Aktivierung von A-Typ-K⁺-Kanäle vermitteln und N- und P/Q-Typ-Ca²⁺-Kanäle inhibieren kann.^{142, 144} CB₁-Rezeptoren sind vorwiegend im Gehirn exprimiert, wie zum Beispiel in Hippokampus, Kleinhirn, Hirnrinde und Striatum, können aber auch in peripheren Organen, wie Leber, Lunge, Niere und Herzmuskeln gefunden werden.¹⁴⁵⁻¹⁴⁷ Im Gegensatz dazu sind CB₂-Rezeptoren hauptsächlich in Organen und Zellen des Immunsystems exprimiert, wie zum Beispiel Makrophagen, T- und B-Lymphozyten, hämatopoetischen Zellen, Mandeln, Milz, Thymus und Microgliazellen. Desweiteren kommen sie in Knochenzellen und Herzmuskelszellen vor.^{148, 149}

Als erste physiologische Liganden, sogenannte "Endocannabinoide", wurden Arachidonylethanolamin (Anandamid, **18**) und 2-Arachidonoylglycerol (2-AG, **19**) identifiziert (siehe Abb. 1.6).¹⁴² Als weitere Liganden, die mit CB-Rezeptoren wechselwirken ("Cannabinoide"), sind Phytocannabinoide, wie z. B. Δ^9 -THC (**17**), und eine große Anzahl von synthetischen Cannabinoiden, wie z. B. CP55,940 (**20**), zu nennen.¹⁵⁰

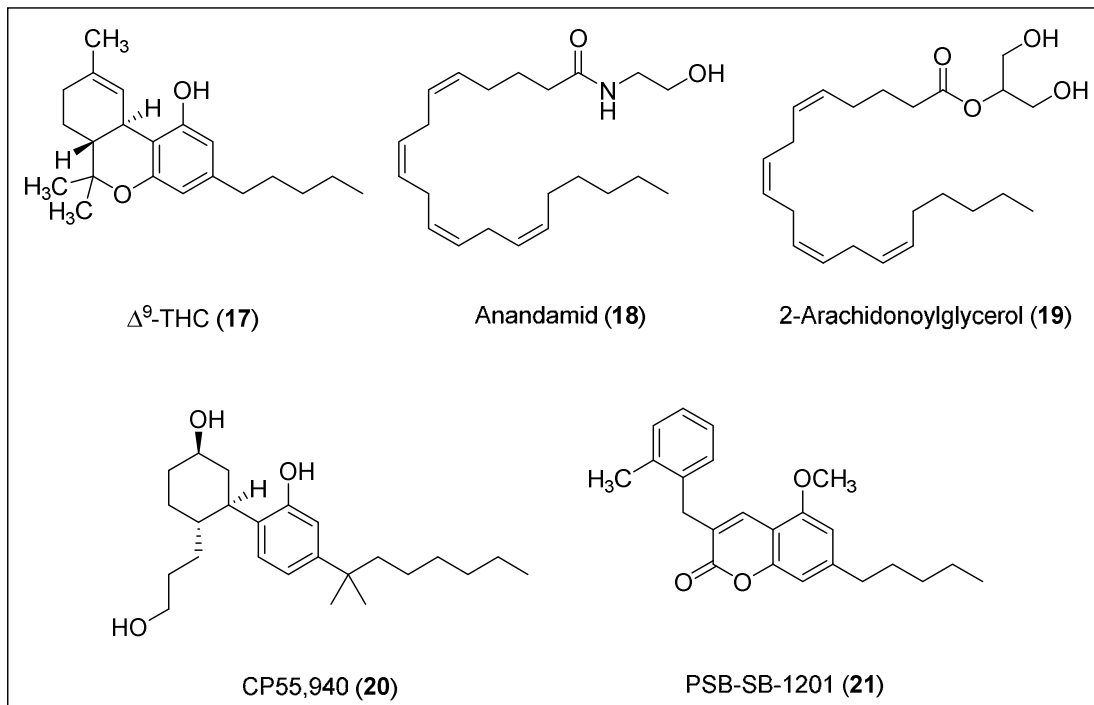


Abb. 1.6. Strukturen ausgewählter Cannabinoid-Rezeptor-Liganden.^{142, 150, 151}

Das Endocannabinoid-System (ECS), welches neben den CB-Rezeptoren die Endocannabinoide und verschiedene Enzyme einschließt, ist in eine Vielzahl von

physiologischen und pathophysiologischen Prozessen involviert. Eine wesentliche Funktion ist die Regulation der Neurotransmitter-Freisetzung durch die Stimulation von präsynaptischen CB₁-Rezeptoren.^{141, 152} Desweiteren ist das ECS in die Regulation von Appetit und Energiehomöostase, in psychische und Wahrnehmungsfunktionen, sowie in die Vermittlung von Entzündungen und Schmerz involviert.^{141, 153, 154} Aus diesen Gründen repräsentieren Cannabinoide vielversprechende Arzneistoffe für die Behandlung verschiedener Krankheiten:^{141, 155-157}

- CB₁-Agonisten: Einsatz als Schmerzmittel, Behandlung von Magersucht, durch Chemotherapie hervorgerufene Übelkeit und Erbrechen, Tourette-Syndrom, Multiple Sklerose, Grüner Star
- CB₂-Agonisten: Behandlung von Atherosklerose, Entzündung, Multipler Sklerose und neuropathischem Schmerz
- CB₁-Antagonisten: Behandlung von Fettleibigkeit, Schizophrenie, Arzneimittelabhängigkeit, Stoffwechselstörungen
- CB₁- und CB₂-Antagonisten: Behandlung von Osteoporose

Es ist eine große Anzahl von Agonisten, inversen Agonisten und Antagonisten für CB₁- und/oder CB₂-Rezeptoren bekannt (einige auch auf dem Markt erhältlich), aber teilweise binden die Liganden an beiden Rezeptoren. Somit besteht immer noch ein großes Interesse daran, selektive Liganden für einen der beiden Subtypen zu entwickeln.^{142, 158, 159} In unserer Arbeitsgruppe beschäftigen wir uns mit diesem Thema und so konnten Magnolol-Derivate, 7-Alkyl-3-benzylcumarine (z.B. PSB-SB-1201, **21**, siehe Abb. 1.6) und Amauromin als selektive Liganden (Agonisten oder Antagonisten) für CB-Rezeptoren identifiziert werden.^{151, 160, 161}

In der Literatur wird auch von weiteren Cannabinoid-Rezeptor-Kandidaten berichtet, wie z. B. dem Waisen-Rezeptor GPR55, der mit verschiedenen CB-Rezeptor-Liganden interagiert: den CB₁-Rezeptor-Antagonisten Rimonabant (GPR55-Agonist) und den CB₁- und CB₂-Vollagonisten CP55,940 (GPR55-Antagonist).¹⁴² Desweiteren konnte gezeigt werden, dass der Waisen-Rezeptor GPR18 durch Δ^9 -THC, einem nicht-selektiven Partialagonisten an beiden CB-Rezeptor-Subtypen, aktiviert werden kann.¹⁶² Allerdings ist die phylogenetische Verwandtschaft nur gering.

1.4 Waisen-Rezeptoren

1.4.1 Einführung

Wie bereits besprochen, gibt es ca. 800 G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, die an unterschiedlichen physiologischen und pathologischen Funktionen beteiligt sind.⁸ Jedoch existieren unter den GPCRs ca. 100 sogenannte Waisen-Rezeptoren (oder "Orphan-Rezeptoren"), für die bisher noch kein endogener Ligand identifiziert werden konnte.¹⁶³ Den Waisen-Rezeptoren wird ein großes Potential im Hinblick auf die Entwicklung neuartiger Arzneistoffe zugeschrieben. Die "Deorphanisierung", die Zuordnung eines Waisen-Rezeptors zu entsprechenden endogenen Liganden, ist eine grundlegende Voraussetzung für die Charakterisierung dieser Zielstrukturen, die Aufklärung der (patho)physiologischen Funktionen und die Entwicklung von Agonisten und Antagonisten als potentielle Arzneistoffe. Folgende pharmakologische Kriterien gelten für die Identifizierung endogener Liganden eines Waisen-Rezeptors:⁹⁹

- Der Kandidat sollte den GPCR direkt und spezifisch (oder zumindest selektiv) binden,
- der Kandidat sollte möglichst mit hoher Affinität binden,
- die Bindung sollte reversibel sein,
- die Bindung des Kandidaten sollte den GPCR aktivieren,
- der Kandidat sollte in den relevanten zellulären und biologischen Systemen in der entsprechenden Konzentration vorliegen und
- die Konzentration des Kandidaten um die Zielzellen herum sollte sich unter einer Vielzahl von physiologischen Bedingungen ändern.

Um die ersten drei Kriterien zu erfüllen, fehlen oft die Bindungsdaten des möglichen physiologischen Liganden zum Rezeptor. Daher besteht stets großes Interesse einen Radioliganden für den entsprechenden Waisen-Rezeptor zu entwickeln. Die Kriterien 5 und 6 sind auch problematisch, da es schwierig ist, die Konzentration des "freien" Liganden zu bestimmen.⁹⁹ Es werden öfters potentielle Liganden identifiziert, die den Waisen-Rezeptor aktivieren (Kriterium 4), aber die anderen Kriterien nur teilweise erfüllen. Es ist ein langwieriger Prozess die richtigen physiologischen Liganden eindeutig zu identifizieren. Daher gibt es eine Vielzahl von Veröffentlichungen zu entsprechenden Waisen-Rezeptoren, in denen potentielle physiologische Liganden

kontrovers diskutiert werden. Im Nachfolgenden werden die für diese Arbeit relevanten Waisen-Rezeptoren ausführlicher behandelt.

1.4.2 GPR17

Extrazelluläre Nukleotide, wie ATP und ADP, UTP und UDP und die Zuckernukleotide UDP-Glucose und UDP-Galactose, sind universelle und phylogenetisch alte Signalmoleküle, die über spezifische Membranrezeptoren agieren: die sieben P2X-Rezeptoren und die acht P2Y-Rezeptoren.¹⁶⁴ Infolge ihrer Beteiligung bei der Regulation von vielen physiologischen Vorgängen sind Fehlfunktionen der Nukleotide und ihrer Rezeptoren mit verschiedenen menschlichen Krankheiten, einschließlich ischämischen bzw. Entzündungszuständen in Zusammenhang gebracht wurden.^{164, 165} Im Gegensatz dazu sind Cysteinyl-Leukotriene (CysLTs, wie LTC₄ (**10**), LTD₄ (**11**) und LTE₄ (**12**)) lipidische Entzündungsmediatoren mit in vitro nachgewiesenen Funktionen bei Bronchialasthma, Schlaganfall und Herz-Kreislaufkrankungen.^{104, 166, 167} Sie werden über den 5-Lipoxygenase-Metabolismus der Arachidonsäure gebildet und agieren über die CysLT₁- und CysLT₂-Rezeptoren.^{104, 168} Zwischen P2Y- und CysLT-Rezeptoren bestehen strukturelle und phylogenetische Beziehungen. Sie gehören beide zum "purine receptor cluster" der GPCRs, das auch eine große Anzahl von Waisen-Rezeptoren enthält, deren physiologische Agonisten noch nicht identifiziert sind.⁴ Einer dieser Rezeptoren ist der GPR17, der sich phylogenetisch zwischen den P2Y- und CysLT-Rezeptoren befindet und auch mit den Protease-aktivierten Rezeptoren (PARs) sowie Proton-sensitiven Rezeptoren, wie z.B. GPR68 und GPR132, verwandt ist.^{4, 169, 170}

1.4.2.1 Entdeckung und Charakterisierung

Der GPR17 besitzt eine durchschnittliche Übereinstimmung in der Aminosäuresequenz von 31 % mit den acht bekannten P2Y-Rezeptoren und von 32 bzw. 35 % mit den CysLT₁- bzw. CysLT₂-Rezeptoren.^{4, 164} Der Rezeptor, anfangs "R12" genannt, wurde erstmals 1996 von Raport et al. in einem Screening für neue Chemokinrezeptoren, bei der die humane genome DNA als Templat diente, geklont.¹⁷⁰ Unabhängig davon nutzten Bläsius et al. zwei Jahre später RT-PCR um neuartige P2Y-Rezeptoren zu identifizieren und isolierten GPR17-cDNAs. Sie identifizierten zwei GPR17-Spleißvarianten, die für Proteine mit 339 bzw. 367 Aminosäuren kodierten. Die Proteine unterscheiden sich am N-Terminus um genau 28 Aminosäuren.¹⁶⁹ Heutzutage weiß man, dass beim Menschen

und anderen Primaten, aber nicht in niederen Lebewesen, alternatives Spleißen in zwei GPR17-Isoformen resultiert, die sich in der Länge des N-Terminus unterscheiden. Der GPR17 ist hoch konserviert in Wirbeltieren (ca. 90 % Identität in der Aminosäuresequenz zu Maus- und Rattenorthologen), was im Zusammenhang mit der Arzneimittelforschung einen möglichen Vorteil für die Entwicklung und Untersuchung von Liganden in Tiermodellen dargestellt.¹⁷¹

1.4.2.2 Ist der GPR17 ein P2Y- oder CysLT-Rezeptor?

Im ursprünglichen Bericht von Ciana et al. (2006) und in nachfolgenden Veröffentlichungen wurde der GPR17 als dualer Rezeptor identifiziert, der gleichermaßen durch Uracilnukleotide (UDP, UDP-Glucose und UDP-Galactose) und CysLTs (LTD₄ und LTC₄) stimuliert wird, wodurch einerseits die Adenylylcyclase inhibiert (über G_i-Signaltransduktionsweg) und andererseits die intrazelluläre Calciumkonzentration zunimmt (über Kopplung zu G_q-Proteinen). Gemäß dieser Studien ([³⁵S]GTPγS-Bindungsstudien, cAMP-Akkumulationsexperimente und funktionelle Calcium-Assays) aktivierte LTC₄ und LTD₄ die Rezeptoren im nanomolaren Bereich während UDP, UDP-Glucose und UDP-Galactose diese im mikromolaren Bereich stimulierten. Diese GPR17-Funktionalität wurde in verschiedenen Zelllinien, wie 1321N1-Astrozytoma-, COS7-, CHO- und HEK293-Zellen, und an den verschiedenen GPR17-Orthologen (kurze und lange humane (h) GPR17-Isoform sowie Ratten (r) - und Maus (m)-GPR17) nachgewiesen.¹⁷²⁻¹⁷⁵

In einer unabhängigen Studie konnten Benned-Jensen und Rosenkilde die Stimulation des GPR17 durch Uracil-Nukleotide (UDP, UDP-Glucose und UDP-Galactose) bestätigen. Sie aktivierten die kurze humane Isoform mit EC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich während die lange Isoform nur durch UDP-Glucose und UDP-Galactose stimuliert wurde (50- bzw. 170-fache höhere EC₅₀-Werte). Jedoch war in [³⁵S]GTPγS-Bindungsstudien und Kompetitionsbindungsexperimenten die Aktivierung des Rezeptors bzw. eine Bindung an den Rezeptor (kurze und lange hGPR17-Isoform sowie des Maus-GPR17) durch CysLTs nicht möglich.¹⁷⁶

Maekawa et al. publizierten, dass der GPR17 weder durch Uracil-Nukleotide noch durch CysLTs aktiviert werden konnte. Sie beobachteten in drei unterschiedlichen, hGPR17- und m-GPR17-transfizierten Zelllinien (1321N1-Astrozytoma, CHO und HEK-293T) keinerlei Aktivierung durch LTC₄, LTD₄ und LTE₄. Außerdem zeigten 1321N1-Zellen, die den mGPR17 stabil exprimierten, keine Antwort auf 100 μM UDP-

Glucose. Stattdessen wurde dem GPR17 eine neuartige regulatorische Rolle zugesprochen und zwar als ein Ligand-unabhängiger, negativer Regulator des CysLT₁-Rezeptors.¹³⁶

Von Qi et al. wurden Calcium-Mobilisationsassays und cAMP-Akkumulationsexperimente in GPR17-transfizierten bzw. cotransfizierten Zelllinien (1321N1-Astrozytoma, CHO, COS-7, C6 und HEK293) durchgeführt und es konnte weder eine Aktivierung des GPR17 durch die Nukleotide bzw. Zuckernukleotide UDP, UDP-Glucose und UDP-Galactose, noch durch das Cysteinyl-Leukotrien LTC₄ beobachtet werden. Jedoch konnte bestätigt werden, dass GPR17 ein negativer Regulator des CysLT₁-Rezeptors ist.¹⁷⁷

Auch Hennen et al. (in Zusammenarbeit mit unserer Forschungsgruppe) konnten kürzlich mithilfe unterschiedlicher Methoden wie DMR-Assay (Dynamic mass redistribution assay), Calcium-Mobilisationsassay, cAMP- und IP₁-Akkumulationsassays sowie [³⁵S]GTPγS-Bindungsassay zeigen, dass UDP, UDP-Glucose und UDP-Galactose sowie LTC₄ und LTD₄ keine physiologischen Agonisten des humanen GPR17 (lange Isoform) sind.¹⁷⁸ Stattdessen konnte ein kleines Molekül, und zwar das Indol-Derivat MDL29,951 (**22**, siehe Abb. 1.7), als GPR17-Agonist identifiziert (EC₅₀ = 331 nM) und vollständig unter Verwendung unterschiedlicher Zelllinien und Messmethoden charakterisiert werden. Er ist selektiv gegenüber Rezeptoren des "purine receptor clusters" (P2Y- und CysLT-Rezeptoren).^{171, 178} Neben den bereits bekannten Gα_q- und Gα_i-Signaltransduktionswegen, konnten über eine Stimulierung des GPR17 durch MDL29,951 auch Signaltransduktionswege über Gα_s-Proteine und β-Arrestin aktiviert werden.

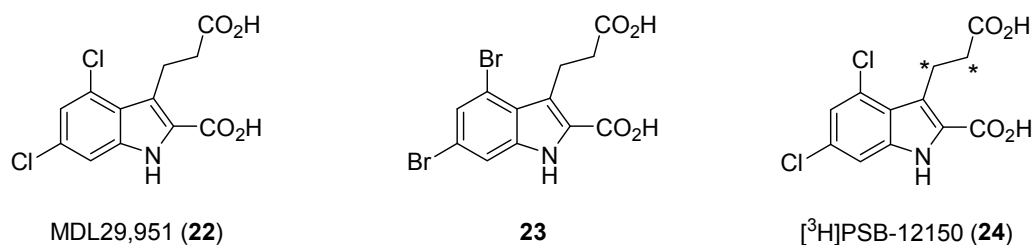


Abb. 1.7. Struktur des selektiven GPR17-Agonisten MDL29,951 (**22**), dessen Derivat **23** und des GPR17-Radioligands [³H]PSB-12150 (**24**).¹⁷⁸⁻¹⁸⁰

In unserer Forschungsgruppe konnten weitere potente Derivate von MDL29,951, wie z. B. **23** (EC₅₀ = 202 nM), synthetisiert und der erste Radioligand für den GPR17 ([³H]PSB-12150, **24**) entwickelt und charakterisiert werden (siehe Abb. 1.7).^{171, 179, 180}

Diese neuen Werkzeuge werden helfen, die unterschiedlichen Ergebnisse am GPR17 besser zu verstehen bzw. aufzuklären. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bis zum jetzigen Zeitpunkt der physiologische Agonist des GPR17 nicht gefunden werden konnte. Es hat den Anschein, dass es sich wohl nicht um einen P2Y/CysLT-Rezeptor handelt trotz der engen phylogenetischen Verwandtschaft des Rezeptors zu diesen Rezeptorfamilien.

1.4.2.3 (Patho)physiologische Rolle des Rezeptors

Der GPR17 ist verstärkt in Organen exprimiert, die ischämische Schäden erleiden, wie z.B. Gehirn, Herz und Niere.¹⁷³ Die Inhibierung des GPR17 durch die intrazerebrovaskuläre Injektion eines Antisense-Olinukleotids, welches speziell diesen Rezeptor ausschaltet, verringerte deutlich ischämische Schäden. Analoge Ergebnisse konnten später auch in einem äquivalenten Mausmodell für Gehirn-Ischämie und einem Modell für Rückenmarksverletzung gezeigt werden.^{174, 181} Zhao et al. konnten kürzlich in Rattenmodellen für Gehirnischämie zeigen, dass der GPR17 neuronale Schäden und die Mikrogliose (Erhöhung der Mikrogliazellen in geschädigtem Gewebe im Gehirn) vermittelt.¹⁸² Benned-Jensen et al. charakterisierten den humanen GPR17 Isoform-spezifisch und stellten dabei fest, dass die kurze Isoform im Gehirn stärker (8- bis 23-fach) exprimiert wurde als die lange Isoform, während im Herz und in der Niere das Gegenteil der Fall war. Auf den Ergebnissen basierend wurde postuliert, dass beide humane Isoformen Gewebe-spezifische Funktionen ausüben.¹⁷⁶

Maekawa et al. zeigten, dass der GPR17 in stabilen Zelllinien als ein ligand-unabhängiger negativer Regulator des CysLT₁-Rezeptors durch die Inhibierung der LTD₄-Bindung zum CysLT₁-Rezeptor wirkt.¹³⁶ Dieser regulatorische Effekt wurde auch in aus dem Knochenmark von Mäusen stammenden Makrophagen durch lentiviralen Knockdown sowie in GPR17-defizienten Mäusen bestätigt. Weiterhin wurde publiziert, dass der GPR17 ein negativer Regulator der CysLT₁-Rezeptor-Funktion bei allergischen Lungenentzündungen ist, die durch Hausstaubmilben induziert wurden.¹⁸³

Der GPR17 ist in der Bildung von äußeren Kalium-Strömen beteiligt ist, die einen wichtigen Schutzmechanismus im Gehirn darstellen.¹⁷⁵ Daniele et al. berichteten vor kurzem, dass der GPR17 das Überleben und die Differenzierung von PC12-Zellen reguliert.¹⁸⁴ Weiterhin wurde der GPR17 als Target des FOXO1 (Forkhead box protein O1) identifiziert, welches eine wichtige Rolle in der Gluconeogenese, Glykogenolyse und Adipogenese spielt. Die Inhibition des Proteins ist notwendig, um eine Sättigung zu

erzeugen. Der GPR17 aktiviert über FOXO1 AgRP (agouti-related protein)-Neuronen um die Nahrungsaufnahme zu regulieren. Damit stellt der GPR17 ein potentielles Target zur Behandlung von Fettleibigkeit dar.¹⁸⁵

Der GPR17 wurde in Verbindung mit chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) und Karzinogenese gebracht.^{186, 187} Der Rezeptor wird außerdem in erwachsenen neuronalen Progenitorzellen (NPCs) stark exprimiert, die viel versprechend bei der Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen sind.¹⁸⁸ Durch die Untersuchung von GPR17-überexprimierenden transgenen und GPR17-Knockout-Mäusen konnten Chen et al. zeigen, dass der GPR17 die Differenzierung und Myelinisierung der Oligodendrozyten *in vitro* und *in vivo* negativ reguliert.¹⁸⁹ Diese Funktion des GPR17 konnte durch Hennen et al. bestätigt werden.¹⁷⁸ Der GPR17 wurde als potenter negativer Regulator für die Oligodendrozyten-Myelinisierung vorgeschlagen und stellt damit ein mögliches Target zur Myelin-Reparatur im zentralen Nervensystem dar, z.B. für Multiple Sklerose (MS). GPR17-Antagonisten könnten sich damit als zukünftige MS-Therapeutika eignen.¹⁷⁸

1.4.2.4 GPR17-Antagonisten

Wie zuvor diskutiert ist es von großem Interesse, potente und selektive Antagonisten für diesen Rezeptor zu identifizieren bzw. zu entwickeln. Ciana et al. und Lecca et al. untersuchten verschiedene etablierte P2Y- und CysLT-Rezeptor-Antagonisten, wie den P2Y₁-selektiven Antagonisten MRS2179 (**25**), den P2Y_{12,13}-Antagonisten Cangrelor (**26**) und die CysLT₁-Antagonisten Montelukast (**14**) und Pranlukast (**15**) am GPR17 (siehe Abb. 1.5 und Abb. 1.8).^{173, 174} Alle Verbindungen waren in der Lage den Rezeptor im nanomolaren Bereich zu inhibieren. Jedoch müssen diese Ergebnisse mit Vorsicht betrachtet werden, da sie auf der Aktivierung durch Nukleotide und Cysteinyl-Leukotriene beruhen, die von uns und anderen Arbeitsgruppen nicht als GPR17-Agonisten bestätigt werden konnten. Die Inhibition des GPR17 durch Pranlukast, aber nicht durch Montelukast, konnte unter der Verwendung des Agonisten MDL29,951 (**22**) durch Hennen et al. im mikromolaren statt nanomolaren Bereich bestätigt werden (IC₅₀ = 2.69 µM).¹⁷⁸ In Radioligandbindungsstudien, die in unserem Arbeitskreis durchgeführt wurden, zeigte Pranlukast außerdem eine Affinität zum GPR17 (K_i = 4.06 µM). Damit stellt Pranlukast eine optimale Leitstruktur zur Entwicklung von potenten und selektiven GPR17-Antagonisten dar.

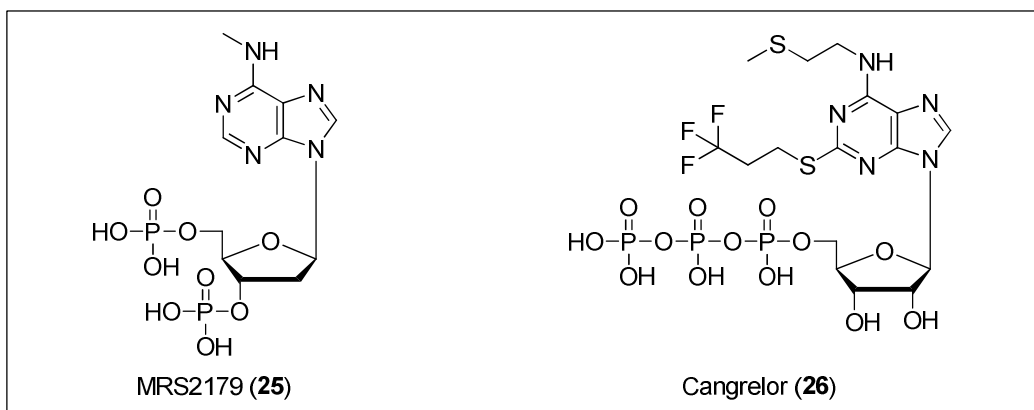


Abb. 1.8. Strukturen ausgewählter, postulierter GPR17-Antagonisten.¹⁷³

1.4.3 GPR18

Wie in Kapitel 1.3.3 beschrieben, wurde der GPR18 kürzlich als weiterer Cannabinoid-Rezeptorsubtyp postuliert, da er durch Δ^9 -THC (**17**) und Anandamid (**18**) stimuliert wird.^{110, 162, 190} *N*-Arachidonoylglycin (NAGly, **25**), ein endogener Anandamid-Metabolit ohne Affinität zu CB-Rezeptoren, wurde als endogener GPR18-Agonist beschrieben.^{162, 191} Allerdings konnte dies von uns und einer anderen Arbeitsgruppe nicht bestätigt werden. Weiterhin wurde Cannabidiol (**26**) als potenter Antagonist des GPR18 identifiziert.¹⁶² Die Strukturen der GPR18-Liganden sind in Abb. 1.6 und Abb. 1.9 dargestellt.

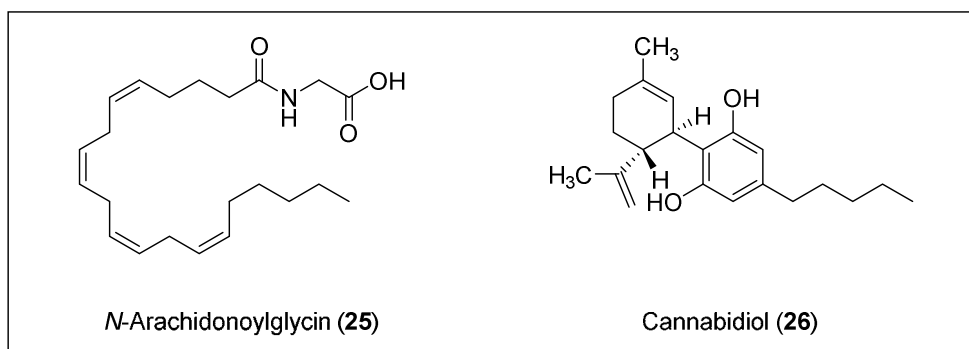


Abb. 1.9. Strukturen ausgewählter in der Literatur beschriebener GPR18-Liganden.¹⁶²

Befunde am GPR18 werden zurzeit noch kontrovers diskutiert. Der GPR18 wurde als G_i -Protein-gekoppelter Rezeptor beschrieben, inhibiert damit die Adenylylcyclase und vermittelt die Stimulation der MAPK.^{192, 193} Allerdings konnte keine G_i -vermittelte Inhibition von Ca^{2+} -Strömen, weder durch NAGly (**25**) noch durch Anandamid induziert, beobachtet werden.¹⁹⁴ Weiterhin konnten andere G_i -Protein-abhängige Signalwege, wie die Inhibition der Forskolin-induzierten cAMP-Produktion oder die

Aktivierung von K⁺-Kanälen, nicht durch NAGly (**25**) vermittelt werden.¹⁹⁴ Von einer anderen Forschungsgruppe wurde berichtet, dass der GPR18 in einem Hochdurchsatz- β -Arrestin-Assay nicht durch NAGly aktiviert werden konnte.¹⁹⁵ Auch von Rempel et al. wurde in unserer Arbeitsgruppe diese Beobachtung gemacht.¹⁹⁶

Über die physiologische Rolle des GPR18 ist bisher wenig bekannt. Der Rezeptor ist in Milz, Hoden, Endometrium und metastasenbildenden Melanomzellen stark exprimiert, während die Expression in Thymus und peripheren Leukozyten geringer ist.^{162, 190, 197} Aufgrund seiner Verteilung wird in Erwägung gezogen, dass der GPR18 zum einen Immunfunktionen beeinflusst und zum anderen an der Sicherung des Überleben von Tumorzellen in Melanomzellen beteiligt ist. Daher stellen GPR18-Antagonisten potentielle Wirkstoffe zur Behandlung von Autoimmunerkrankungen und Krebs dar.^{190, 197} McHugh et al. zeigten, dass eine Aktivierung des GPR18 die Migration von Endometriose-Zellen vermittelt. Damit sind GPR18-Antagonisten mögliche Arzneistoffe zur Behandlung von Endometriose.¹⁶²

1.4.4 GPR35

1.4.4.1 Entdeckung und Charakterisierung

Der humane (h) GPR35 wurde erstmals 1998 als ein GPCR der Rhodopsin-Familie mit einer Länge von 309 Aminosäuren beschrieben.¹⁹⁸ Später wurde eine Spleißvariante, der GPR35b, identifiziert mit einem um 31 Aminosäuren längeren N-Terminus.¹⁹⁹ Für den Ratten (r)- und Maus (m)-GPR35 wurde bisher jeweils von nur einer Spleißvariante berichtet.^{200, 201} Die Homologie ist zwischen den Spezies wie auch für viele andere GPCRs moderat. So weist der humane GPR35 eine Identität in der Aminosäuresequenz von 72 % und 71 % zum Maus- bzw. Ratten-Rezeptor auf.²⁰² Der GPR35 ist phylogenetisch verwandt mit dem GPR55 (Identität in der Aminosäuresequenz zum humanen Rezeptor beträgt 34 %) sowie mit den Subtypen von Lysophosphatidsäure-Rezeptoren (z. B. GPR23/LPA₄R, 28 %, P2Y-Rezeptoren (z. B. P2Y₄R, 27 %) und Hydroxycarbonsäure-Rezeptoren (z. B. HCAR3, 25 %).^{142, 198} Es konnte gezeigt werden, dass der GPR35 Signaltransduktionswege sowohl über die PTX (pertussin toxin)-sensitiven G_{i/o}-Proteine und das G₁₃-Protein, als auch G-Protein-unabhängig über β -Arrestin aktivieren kann.²⁰³

Die Identifizierung des physiologischen Agonisten für den GPR35 wird kontrovers diskutiert. Der erste in der Literatur beschriebene GPR35-Agonist war die Kynurensäure (**27**, siehe Abb. 1.10), ein Metabolit des L-Tryptophans, die als endogener Agonist des Rezeptors postuliert wurde.²⁰⁴ Da ihre Vorstufen, Kynurenin und L-Tryptophan, den GPR35 nicht aktivieren konnten, wurde die Wichtigkeit einer Säuregruppe zur Stimulierung des Rezeptors hervorgehoben. Die Kynurensäure ist zwar am Ratten-GPR35 ein effektiver Agonist, aber ihre Wirksamkeit am humanen GPR35 ist mit EC₅₀-Werten im hohen mikromolaren Bereich relativ gering.²⁰⁴⁻²⁰⁶ Es ist unklar, ob solche hohen Konzentrationen von **27** unter physiologischen Bedingungen ausreichen, um den Rezeptor zu aktivieren.²⁰⁷⁻²⁰⁹ Des Weiteren wurden Lysophosphatidsäuren (LPAs), insbesondere 2-Acyl-LPAs, und Tyrosin-Metabolite als potentielle endogene Liganden des GPR35 beschrieben.^{210, 211} Bis zum jetzigen Zeitpunkt kann man sagen, dass der GPR35 weiterhin als Waisen-Rezeptor zu bezeichnen ist, da bisher kein physiologischer Agonist eindeutig identifiziert werden konnte.

1.4.4.2 (Patho)physiologische Rolle des Rezeptors

Der humane GPR35 ist in Dünndarm, Dickdarm und Magen exprimiert, während der Ratten-GPR35 zusätzlich auch in der Lunge, Gebärmutter, Spinalganglion und Rückenmark nachgewiesen werden konnte.^{201, 212, 213} Eine erhöhte Expression des GPR35 wurde auch in Krebszellen des menschlichen Magens festgestellt.¹⁹⁹ Wang et al. beschrieben die Expression des GPR35 in der Milz und in den Leukozyten des Menschen und der Maus.²⁰⁴ Weiterhin ist der GPR35 in Immunzellen, wie Mastzellen, basophilen und eosinophilen Granulozyten, peripheren Monozyten und Makrophagen exprimiert.²¹⁴⁻²¹⁶ Obwohl der Rezeptor bisher wenig erforscht ist, gibt es einige Hinweise auf seine mögliche (patho)physiologische Bedeutung. Der GPR35 ist eventuell in die Regulierung des Blutdrucks involviert, da in GPR35-KO-Mäusen der Blutdruck signifikant erhöht war.²¹⁷ GPR35-Agonisten könnten damit mögliche Arzneistoffe zur Senkung des Blutdrucks darstellen. In Nagetiermodellen für inflammatorischen Schmerz reduzierten GPR35-Agonisten die Sensitivität gegenüber Schmerz auslösenden Substanzen wie Formalin, was eine mögliche Rolle des GPR35 in der Schmerzempfindung nahelegt.^{218, 219} Weiterhin gibt es zunehmende Beweise, dass der Rezeptor an der Regulierung von Immunantworten beteiligt ist. Die Rezeptoraktivierung durch Kynurensäure induzierte die feste Arrestierung von Monozyten zu einer Endothelium-ähnlichen Matrix. Das ist ein Prozess, der die

Rekrutierung von Leukozyten zu entzündetem Gewebe einleitet.²¹⁴ Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Aktivierung des GPR35 die Zytokin-Produktion der Monozyten und natürlichen Killer-T-Zellen des Typs 1 beeinflusst.^{204, 220} Da die als Antiasthmatica eingesetzten Verbindungen Cromoglycinsäure und Nedocromil, deren Wirkungsmechanismus bisher noch ungeklärt ist, GPR35-Agonisten sind, könnte der GPR35 eine Rolle bei Asthma spielen.²⁰³ Desweiteren wurde der GPR35 mit der Entstehung von Magenkrebs, Diabetes mellitus Typ 2 und Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gebracht.^{199, 221, 222} Auch wenn die physiologische Rolle des GPR35 noch nicht vollständig verstanden ist, so scheint der GPR35 dennoch ein vielversprechendes Target für therapeutische Zwecke zu sein.

1.4.4.3 Synthetische GPR35-Agonisten

Eine Vielzahl von strukturell unterschiedlichen GPR35-Agonisten wurden bisher in der Literatur beschrieben (siehe Abb. 1.10). Der Großteil dieser Verbindungen wurde durch Hochdurchsatzscreenings (HTS) von Verbindungsbibliotheken entdeckt. Neben den bisher genannten physiologischen Verbindungen wurden auch synthetische Agonisten identifiziert. Der erste synthetische Agonist war der Phosphodiesterasehemmer Zaprinast (**28**), welcher sich zu einem der wichtigsten Referenzliganden für den GPR35 entwickelte.²⁰¹ Weitere synthetische GPR35-Agonisten sind unter anderem die ((Dioxothiazolidinyliden)methyl)phenoxyessigsäure (**29**)²²³ und das (Methylfuranyliden)malonsäuredinitril YE120 (**30**).²²⁴ Einige anerkannte Arzneistoffe wurden auch als GPR35-Agonisten identifiziert. Zu nennen sind unter anderem das Antiallergikum Cromoglicinsäure (**31**)²¹⁶, der Gerinnungshemmer Dicumarol (**32**)²⁰⁶ und das Schleifendiuretikum Furosemid (**33**).²²⁵ Desweiteren wirkt die Embonsäure (**34**), die in vielen pharmazeutischen Produkten enthalten ist und kürzlich noch für pharmakologisch inert gehalten wurde, als Partialagonist am humanen GPR35.^{205, 206} Partialagonismus wurde auch für (*S*)-Luciferin (**35**) und für den Arzneistoff **32** beschrieben.^{206, 226} Die meisten der bekannten GPR35-Agonisten zeigen nur eine moderate Wirksamkeit mit EC₅₀-Werten im hohen mikromolaren bis hohen nanomolaren Bereich. Nur sehr wenige potente Agonisten mit EC₅₀-Werten im niedrigen nanomolaren Bereich wurden bisher beschrieben, wie zum Beispiel das (Thiazolidinylidenmethyl)benzoesäure-Derivat **36**, welches erst im Jahr 2013 von G. Milligan und seinen Mitarbeitern als potenter GPR35-Agonist in einem HTS identifiziert wurde.²²⁷

1 Einleitung

Daher besteht ein großes Interesse daran, potente und selektive GPR35-Agonisten darzustellen, um zum einen die (patho)physiologische Rolle des Rezeptors besser untersuchen und zum anderen einen möglichen Arzneistoff entwickeln zu können.

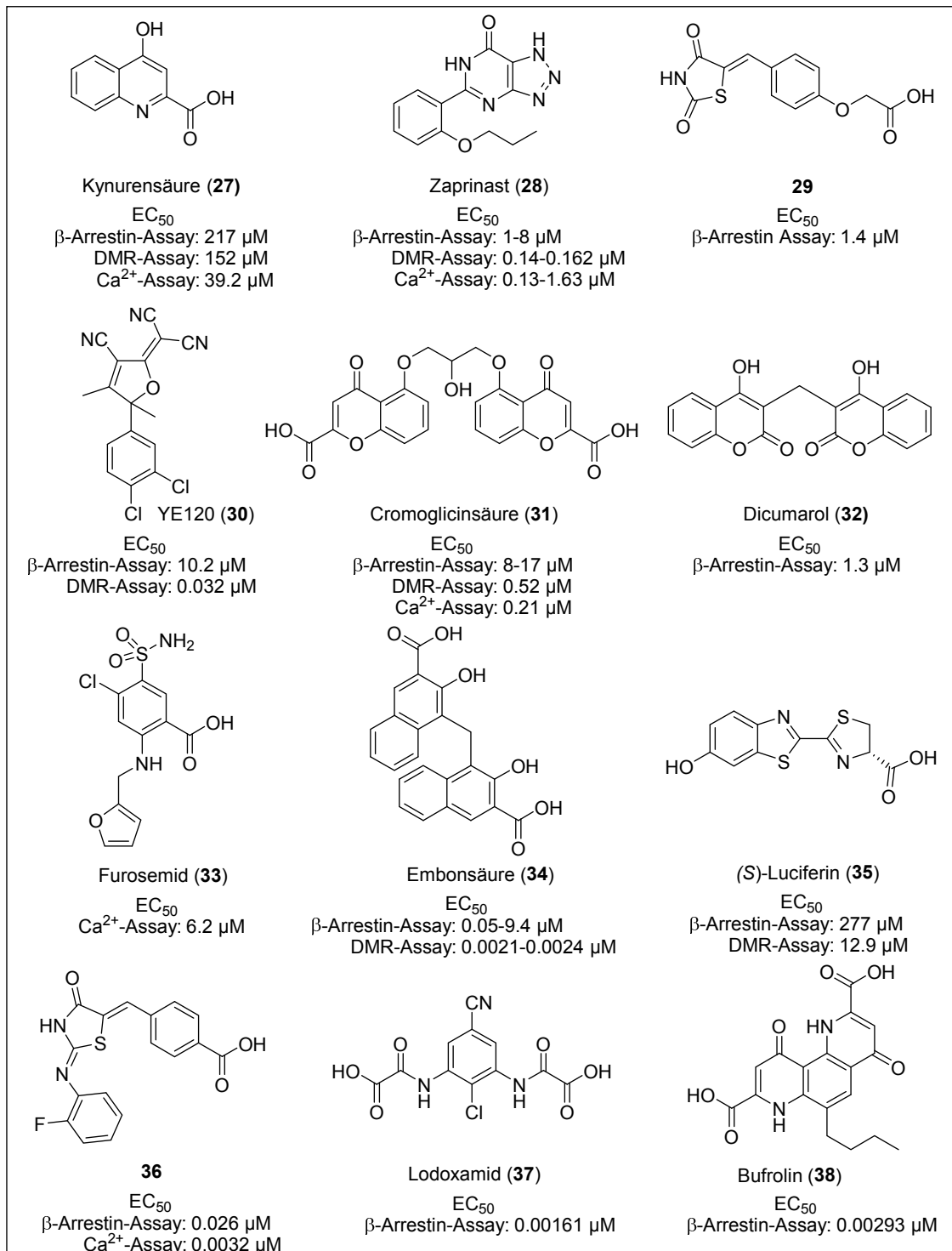


Abb. 1.10. Ausgewählte GPR35-Agonisten. Die in verschiedenen Assays bestimmten EC_{50} -Werte am humanen GPR35 sind angegeben.^{204, 205, 211, 216, 223-229}

Desweiteren besteht großes Interesse daran, einen hoch-affinen Radioliganden zu entwickeln, den es bisher noch nicht gibt. Zum einen können Radioligandbindungsassays Auskunft über die Affinität einer Verbindung zu seinem Target geben. Zum anderen kann der Radioligand genutzt werden, um Expressionsniveaus eines Rezeptors zu quantifizieren.²³⁰ Außerdem sind Radioligandbindungsdaten notwendig, um die Effekte von Mutationen, die in einen GPCR eingeführt wurden, auszuwerten.²³¹ Die Einführung von Mutationen dient zur Bestimmung der Rolle einzelner Aminosäuren bei der Bindung oder Aktivierung eines Rezeptors. Radioligandbindungsdaten ergänzen strukturelle Daten, die für einen GPCR zum Beispiel durch Röntgenkristallstrukturanalyse erhalten wurden und helfen, diese besser zu verstehen.²²

Ergänzend müssen noch zwei weitere Verbindungen, die Antiallergika Lopoxamid (**37**) und Bufrolin (**38**), genannt werden, die als hoch potente GPR35-Agonisten mit EC₅₀-Werten im niedrigen nanomolaren Bereich identifiziert wurden. Jedoch wurden diese erst im Januar 2014 nach der Veröffentlichung unserer eigenen, in dieser Dissertation beschriebenen Daten von MacKenzie et al. publiziert.²²⁹

1.4.4.4 Bindungsmodus von GPR35-Agonisten

Wie bereits zuvor beschrieben, konnte zwar Kynurensäure (**27**) als GPR35-Agonist identifiziert werden, aber nicht Kynurenin und Kynurensäureethylester, die beide keine Carbonsäuregruppe aufweisen.^{204, 223} Dies implizierte eine Schlüsselrolle für die Carboxylgruppe in der Aktivierung des GPR35. In einer Studie zu dem Laktatbindenden GPR81 wurde beschrieben, dass eine Vielzahl von Rezeptoren, die phylogenetisch verwandt zum GPR35 sind, ein konserviertes Arginin in der dritten transmembranären Domäne an Position 3.36 (nach Nomenklatur von Ballesteros und Weinstein²³²) aufweisen.²³³ Es wurde prognostiziert, dass diese Aminosäure mit einem Carboxylat eine ionische Wechselwirkung eingeht. Ein Austauschen dieser Aminosäure im Ratten- und humanen GPR35 zu Alanin führte zur Inaktivität von Kynurensäure am GPR35.²²³ Auch Zaprinast (**28**), welches eine bioisostere Säuregruppe aufweist, verlor durch diese Mutation seine agonistische Wirksamkeit am humanen und Ratten-GPR35.²²³ Der Austausch der Aminosäure Tyrosin an Position 3.32 in der dritten transmembranären Domäne gegen Alanin führte ebenfalls zu einem Verlust der agonistischen Wirksamkeit von **27** und **28** am humanen und Ratten-GPR35.²²³ Durch diese Studien konnten erste Schlüsselaminosäuren der GPR35-Bindungstasche

identifiziert werden. Jedoch sind weitere Untersuchungen notwendig. Auch dafür sind potente GPR35-Agonisten notwendig.

1.4.5 GPR55

Bisher konnten die CB₁- und CB₂-Rezeptoren als Cannabinoid-bindende Rezeptoren identifiziert werden. Bei einer intensiven Suche nach neuen Cannabinoid-Rezeptoren wurde 1999 der Waisen-Rezeptor GPR55 als möglicher Kandidat entdeckt.^{234, 235} Er weist zwar nur eine geringe Identität mit jeweils 14 % in der Aminosäuresequenz zum CB₁- und CB₂-Rezeptor auf, jedoch konnten mehrere Cannabinoide als GPR55-Liganden identifiziert werden. Zu nennen sind CP55,940 (**20**, Vollagonist am CB₁- und CB₂-Rezeptor), der als Antagonist am GPR55 wirkt, Rimonabant (**37**, CB₁-selektiver inverser Agonist, siehe Abb. 1.11), das als Vollagonist am GPR55 fungiert und Δ⁹-THC (**17**, Partialagonist am CB₁- und CB₂-Rezeptor), der ein Agonist am GPR55 ist.²³⁶⁻²³⁸ Jedoch wird die Einordnung des GPR55 als Cannabinoid-Rezeptor kontrovers diskutiert, da insbesondere die Pharmakologie der Endocannabinoide Anandamid (**18**) und 2-AG (**19**) sehr unterschiedlich ist.^{239, 240} Nur das nicht-cannabinoide L-α-Lysophosphatidylinositol (LPI) konnte bisher als endogener Agonist des GPR55 eindeutig identifiziert werden.^{238, 239, 241} Okuno et al. berichteten, dass die biologische Aktivität von Arachidonsäure-gebundenen LPI-Spezies am GPR55 höher ist als von LPI-Spezies, die andere Fettsäuren enthielten. Dies legt nahe, dass 2-Arachidonoyl-LPI (**38**, siehe Abb. 1.11) der wahrscheinlichste endogene Agonist des GPR55 ist.^{242, 243}

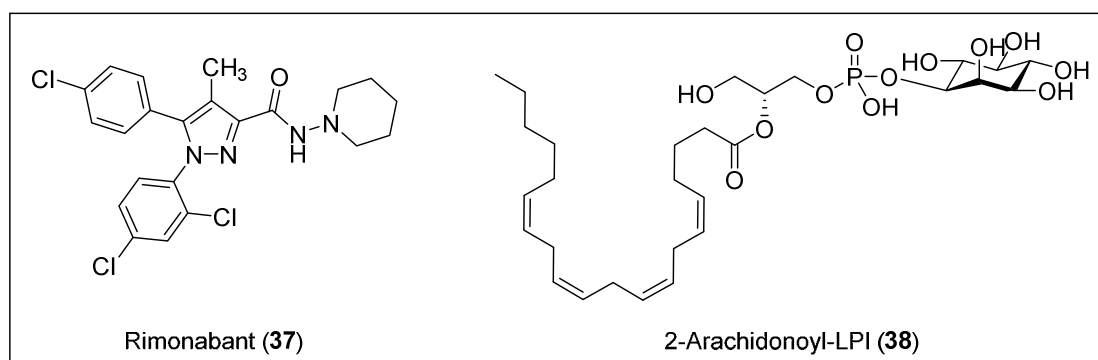


Abb. 1.11. Struktur der GPR55-Liganden Rimonabant (**37**) und 2-Arachidonoyl-LPI (**38**).^{238, 243}

Der GPR55 ist vorwiegend in Gehirn, Milz und Darm exprimiert sowie in den Nebennieren, Immunzellen, verschiedenen Krebszelllinien, Osteoklasten und Osteoblasten.^{234, 244-246} Die Stimulierung des GPR55 mit LPI aktiviert hauptsächlich G_{12/13}-Proteine (neben G_{q/11}-Proteinen), was zu einer Aktivierung von RhoA und ROCK

führt. Dies verursacht wiederum eine durch Phospholipase C vermittelte Bildung von Inositol-1,4,5-trisphosphat und eine anschließende intrazelluläre Ca^{2+} -Ausschüttung.^{234, 243} Desweiteren wurde auch eine Aktivierung der ERK-Kaskade durch eine GPR55-Stimulierung in verschiedenen Studien bestätigt.^{235, 237, 247} Der GPR55 ist in der Kontrolle einer Vielfalt von physiologischen Funktionen beteiligt. Im Nervensystem kontrolliert der GPR55 den Entzündungs- und neurophatischen Schmerz.²⁴⁸ Im Blut reguliert er die Neutrophil-Migration und verhindert wahrscheinlich oxidative Schäden.^{249, 250} Außerdem ist der GPR55, neben weiteren physiologischen Prozessen, am Knochenstoffwechsel beteiligt und spielt eine wichtige Rolle in der Krebsentwicklung durch Regulation der Proliferation und Migration von Krebszellen.^{234, 244, 246, 251, 252} Damit stellen potente und selektive GPR55-Antagonisten potentielle Arzneistoffe zur Behandlung einer Vielzahl von Krankheiten dar. Bisher gibt es jedoch nur wenige Studien, die GPR55-Antagonisten beschreiben.^{151, 253}

1.4.6 GPR84

Der GPR84 wurde im Jahr 2001 durch Data-Mining von Expressed Sequence Tags (EST) neben anderen neuen GPCRs entdeckt.²⁵⁴ Im selben Jahr wurde der GPR84, bezeichnet als EX33, von einer anderen Forschungsgruppe mithilfe von RT-PCR mit dem damaligen Ziel der Identifizierung neuer Chemokinrezeptoren in neutrophilen Granulozyten geklont.²⁵⁵ Wang et al. identifizierten mittellange freie Fettsäuren (MCFAs) mit einer Kettenlänge von 9 bis 14 Kohlenstoffatomen als physiologische Agonisten des GPR84.²⁵⁶ Lange freie Fettsäuren waren hingegen nicht aktiv am Rezeptor. Es konnte gezeigt werden, dass Decansäure (**39**, C10:0), Undecansäure (**40**, C11:0) und die Laurinsäure (**41**, C12:0) mit 5 μM , 9 μM bzw. 11 μM die potentesten freien Fettsäuren am GPR84 sind (siehe Abb. 1.12).

Als weitere GPR84-Agonisten wurden 3,3'-Diindolylmethan (DIM, **42**) und Embelin (**43**) (siehe Abb. 1.12) beschrieben sowie MCFAs, die eine Hydroxylgruppe in 2- oder 3-Position tragen.²⁵⁶⁻²⁵⁸ Solche MFCAs stellten sich als potenter heraus als die entsprechenden nicht-hydroxylierten mittelkettigen freien Fettsäuren. Als weiterer GPR84-Agonist wurde auch 6-*n*-Octylaminouracil identifiziert.²⁵⁷

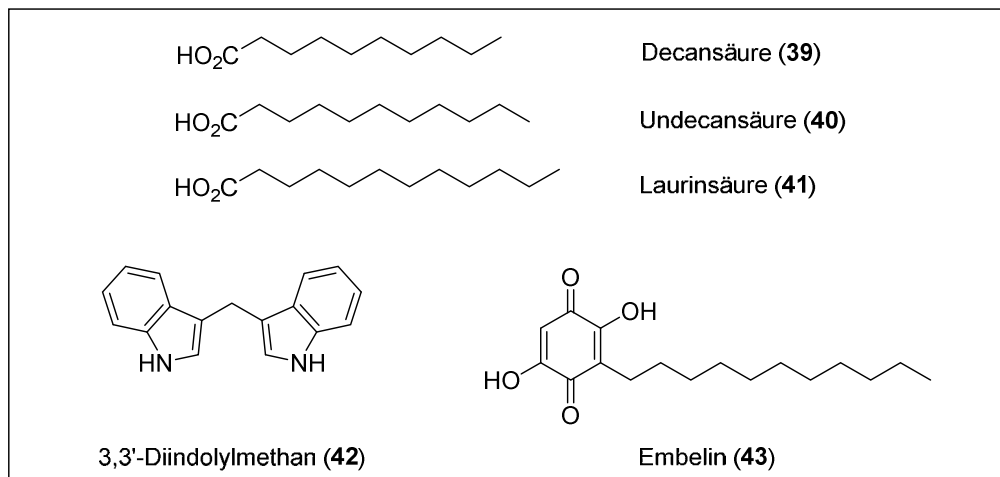


Abb. 1.12. Ausgewählte, in der Literatur beschriebene GPR84-Agonisten.^{256, 257}

Der G-Protein-gekoppelte Rezeptor GPR84 ist vorwiegend an den Pertussistoxin-sensitiven $G_{i/o}$ -Signaltransduktionsweg gekoppelt.²⁵⁶ Der Rezeptor ist im Knochenmark, in Monozyten und neutrophilen Granulozyten stark exprimiert sowie in einem geringeren Umfang in den peripheren Leukozyten und Lungen.^{255, 256, 259, 260} Eine durch MCFAs induzierte Aktivierung des GPR84 in RAW264.7-Zellen, eine murine Makrophagen-ähnliche Zelllinie, verstärkt die Sekretion der Interleukin-12 p40-Untereinheit (IL-12 p40) durch LPS (Lipopolysaccharid).²⁵⁶ Das proinflammatorische IL-12 spielt eine entscheidende Rolle in der Förderung von Antikörper-vermittelter Immunität durch Erzeugung und Erhalt von Typ1-T-Helferzellen (T_H1) und Inhibierung von Typ-2-T-Helferzellen (T_H2).²⁶¹ GPR84-KO-Mäuse zeigten eine erhöhte Produktion von T_H2 -Zytokinen.²⁵⁹ Eine GPR84-Expression wurde auch im Gehirn, in den Microglia-Zellen, den primären Immuneffektorzellen des zentralen Nervensystems (ZNS), beschrieben.²⁶² Die Expression wurde durch LPS oder durch eine experimentelle autoimmune Encephalomyelitis (EAE) induziert. EAE ist ein Tiermodell für Multiple Sklerose (MS), welches durch die Polarisation von T_H1 eingeleitet wird.²⁶³ Es wird vermutet, dass der GPR84 nicht nur bei Endotoxämie und Multipler Sklerose im ZNS hochreguliert ist, sondern auch unter allen neurologischen Bedingungen, bei denen die entzündungsfördernden Zytokine TNF- α (Tumornekrosefaktor- α) oder IL1B (Interleukin-1 β) produziert werden, wie bei Infektionen, Gehirnverletzungen, Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer.²⁶⁴ Perry et al. identifizierten ein *Xenopus laevis* (glatter Knallfrosch)-Homolog des GPR84 und konnten die Notwendigkeit des GPR84 in der Entwicklung der Netzhaut aufzeigen.²⁶⁵ Desweiteren konnte gezeigt werden, dass der GPR84 in Fettzellen (Adipozyten) exprimiert ist und die Expression durch inflammatorische Stimuli erhöht ist.²⁶⁶ Die Forschungsgruppe vermutet, dass der

GPR84 in Fettzellen die Pathogenese von Fettleibigkeit und Diabetes mellitus Typ 2 verschlimmert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der GPR84 eine regulatorische Rolle in der Immunantwort, insbesondere in der T_H1 -Antwort und eventuell auch eine wichtige Rolle im Crosstalk zwischen Immun- und Nicht-Immunzellen, wie Fettzellen spielt.²⁶⁷

Damit stellen GPR84-Antagonisten potentielle Arzneistoffe zur Behandlung von Entzündungsprozessen (z. B. chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, rheumatoide Arthritis und Lungenerkrankungen), Autoimmunerkrankungen sowie Erkrankungen des Hormonsystems und/oder des Stoffwechsels dar.²⁶⁴ Bisher wurden kürzlich nur Dihydropyrimidinisoquinoline im Rahmen eines Patents als GPR84-Antagonisten mit IC_{50} -Werten zwischen 0.01 und 100 nM (im $GTP\gamma S$ -Bindungsassay) identifiziert, die in der Lage waren eine durch einen GPR84-Agonist (Embelin) induzierte Chemotaxis zu hemmen (siehe Abb. 1.13).²⁶⁴ Daher besteht ein großes Interesse an der Entwicklung weiterer potenter GPR84-Antagonisten um die (patho)physiologische Rolle des Rezeptors besser studieren zu können, da bisher immer noch wenig darüber bekannt ist.²⁶⁴

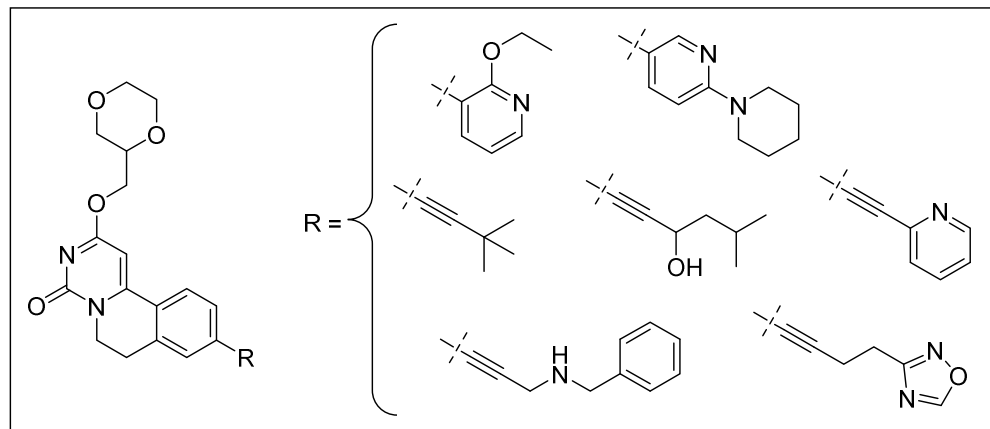


Abb. 1.13. GPR84-Antagonisten mit Dihydropyrimidinisochinolin-Struktur.²⁶⁴

2 Ziele der Arbeit

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren sind die größte Familie membranständiger Rezeptoren und mit ihren ca. 800 Mitgliedern sind sie an einer Vielzahl (patho)physiologischer Funktionen beteiligt.⁸ Gegenwärtig stellen die GPCRs **Zielstrukturen von ca. 30 % aller auf dem Markt befindlichen Arzneistoffe** dar.¹ Im Jahr 2012 erhielten Robert J. Lefkowitz und Brian K. Kobilka den Nobelpreis der Chemie für die grundlegende Erforschung der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Diese beiden Fakten stellen nicht nur den großen Stellenwert der GPCRs in der Arzneimittelforschung heraus, sondern zeigen auch das **immense Potential der ca. 100 Waisen-Rezeptoren** auf, dessen (patho)physiologische Funktionen noch vollständig aufgeklärt werden müssen.¹⁶³ Daher sind die Synthese und die pharmakologische Testung neuer über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren wirkender Arzneistoffe von zentraler Bedeutung.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten im ersten Teilprojekt neue **potente und selektive P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten** dargestellt werden. Aufgrund der (patho)physiologischen Funktionen des P2Y₂-Rezeptors stellen Antagonisten potentielle Arzneistoffe zur Behandlung verschiedener Krankheiten, wie z. B. **Atherosklerose, grünem Star, Lungenkrankheiten und Krebs** dar. Der in unserer Forschungsgruppe entwickelte Benzensulfonsäurephenylester SW0402-1 (**4**) diente mit einem IC₅₀-Wert von 2.83 µM am Ratten-P2Y₂-Rezeptor als Leitstruktur.⁹⁶ Es sollten weitere Derivate durch umfangreiche Modifikationen der Struktur dargestellt werden, um diese anschließend in funktionellen Assays an purinergen und phylogenetisch verwandten Rezeptoren auf ihre Wirksamkeit und Selektivität hin zu testen.

Das zweite große Teilprojekt befasste sich mit der **Darstellung und Charakterisierung von Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivaten** als Liganden der Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR84 und GPR35. Der GPR17 wurde unter anderem als negativer Regulator der Oligodendrozyten-Myelinierung beschrieben, wodurch GPR17-Antagonisten ein großes **Potential als neuartige Therapeutika für die Multiple**

Sklerose aufweisen. Pranlukast (**15**), ein Antagonist des CysLT₁-Rezeptors, war in der Lage, den GPR17 im niedrigen mikromolaren Bereich zu inhibieren.¹⁷⁸ Diese Verbindung diente als Leitstruktur für die **Entwicklung neuartiger, potenter und selektiver GPR17-Antagonisten**.

Aufgrund der (patho)physiologischen Funktionen des GPR84 wurden Antagonisten für diesen Rezeptor als potentielle Arzneistoffe zur **Behandlung von Entzündungsprozessen, Autoimmunerkrankungen sowie Erkrankungen des Stoffwechsels** diskutiert. Da der GPR84 durch mittellange freie Fettsäuren aktiviert wird, wurden die Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate auch an diesem Rezeptor getestet. Da einige dieser Verbindungen in der Lage waren, den GPR84 zu inhibieren, sollte die Struktur so optimiert werden, dass **potente und selektive GPR84-Antagonisten** erhalten werden konnten. Dies ist von großer Bedeutung, da kaum GPR84-Antagonisten in der Literatur beschrieben sind.

Die Cromoglicinsäure ist in der Literatur als GPR35-Agonist beschrieben und weist den gleichen Grundkörper wie Pranlukast auf.²⁰² Daher sollten optimierte Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate dargestellt und in funktionellen Assays evaluiert werden, um **potente und selektive GPR35-Agonisten** zu entwickeln. Diese sind zum einen als **pharmakologische Werkzeuge** notwendig, um die (patho)physiologische Funktionen des Rezeptors besser untersuchen zu können; zum anderen besitzen sie ein **Potential als Arzneistoffe** zur Behandlung u. a. von Entzündungen, Hypertonie, Immunerkrankungen und Asthma. Des Weiteren sollte **ein Radioligand für diesen Rezeptor entwickelt werden**, um erstmals an diesem Rezeptor Radioligandbindungsstudien durchführen zu können. Abschließend sollten für die Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate **Struktur-Wirkungs- und Struktur-Selektivitäts-Beziehungen** an den drei untersuchten Waisen-Rezeptoren aufgestellt werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Darstellung von Suramin-Derivaten als potentielle Antagonisten für P2Y₂- und verwandte Rezeptoren

3.1.1 Einleitung

Wie bereits in Kapitel 1.2.3.3 diskutiert, sind nur wenige Antagonisten für P2Y₂-Rezeptoren (P2Y₂R) bekannt, die meist auch eine geringe Selektivität gegenüber anderen P2Y-Rezeptorsubtypen aufweisen. Standardmäßig werden die wenig selektiven und potenten Verbindungen Reactive Blue-2 (RB-2, IC₅₀ = 1 μM, hP2Y₂R) oder Suramin (IC₅₀ = 50 μM, hP2Y₂R) verwendet, deren Strukturen in Abb. 3.1 dargestellt sind.^{67, 68}

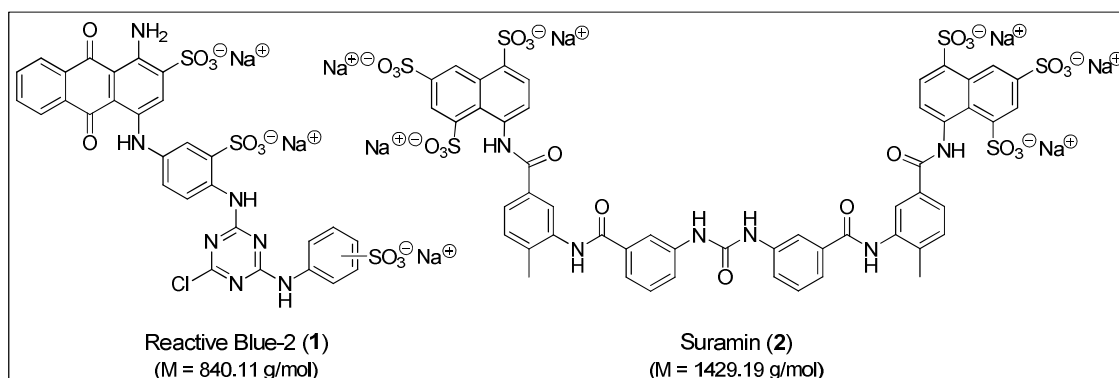


Abb. 3.1. Strukturen der Standard-Antagonisten Reactive Blue-2 und Suramin.

Das Problem dieser beiden Antagonisten ist ihre hohe Molmasse (840 bzw. 1429 g/mol) und die Vielzahl an negativ geladenen Sulfonatgruppen. Dies sind keine Eigenschaften, die für einen Arzneistoff wünschenswert sind. Nach C. A. Lipinski sind Moleküle mit solch hohen Massen und Ladungen aufgrund ihrer schlechten Desolvatisierung, ihrer schlechten Membranpermeabilität und damit verbundenen mangelnden Resorbierbarkeit als perorale Arzneistoffe ungeeignet.²⁶⁸ Aus diesem Grund ist es wichtig, Moleküle mit

kleinen Molmassen ($M < 500 \text{ g/mol}$), die bei $\text{pH} = 7.4$ nicht dauerhaft geladen sind, herzustellen.

S. Weyler synthetisierte im Rahmen ihrer Doktorarbeit Abkömmlinge des Suramins, die *in vitro* an P2Y-Rezeptorsubtypen getestet wurden.^{96, 98} SW0402-1 (**4**) stellte sich dabei als der potenteste, auf Suramin basierende Antagonist am Ratten-P2Y₂-Rezeptor mit einem IC₅₀-Wert von $2.83 \pm 0.64 \text{ }\mu\text{M}$ heraus (siehe Abb. 3.2).

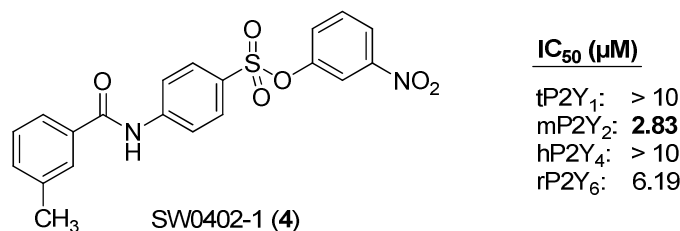
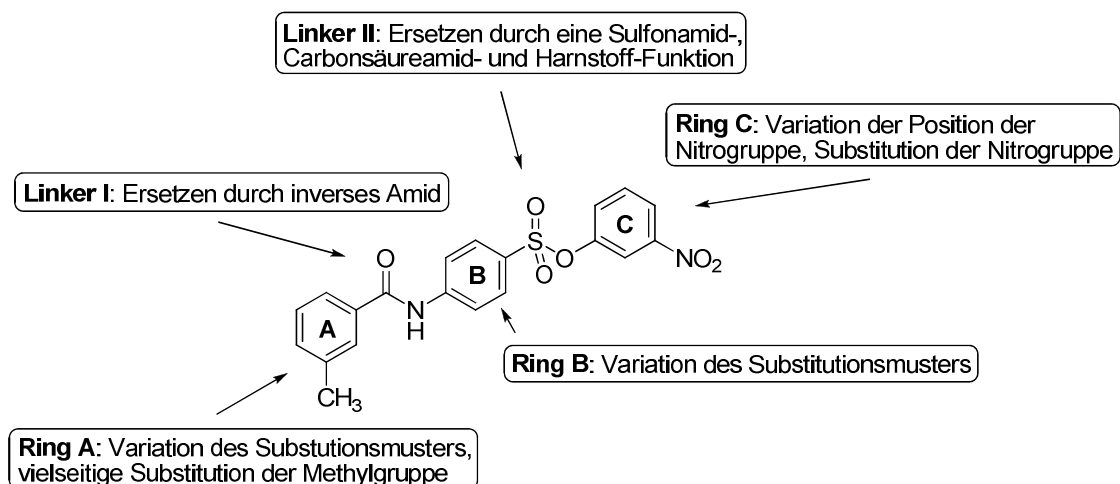


Abb. 3.2. SW0402-1 als Leitstruktur zur Entwicklung neuer P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten. Die IC₅₀-Werte wurden in Calciumionen-Mobilisationsassays am Truthahn-P2Y₁-Rezeptor gegen den Agonisten ADP (1 μM), am Maus-P2Y₂-Rezeptor gegen UTP (3 μM), am humanen P2Y₄-Rezeptor gegen UTP (3 μM) und am Ratten-P2Y₆-Rezeptor gegen UDP (3 μM) bestimmt.⁹⁶

Diese Verbindung wurde daher als Leitstruktur zur Entwicklung neuer potenter und selektiver P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten gewählt. G.-Y. Ko, ehemals an der Universität Düsseldorf, generierte ein P2Y₂-Rezeptor-Modell in Homologie zur Kristallstruktur von Rinder-Rhodopsin.²⁶⁹ Verschiedene Liganden, inklusive des Antagonisten SW0402-1, wurden in die vermutete Bindungstasche gedockt, um experimentelle Daten zu bestätigen. Mit Hilfe moleküldynamischer Bindungsstudien wurden Strukturvariationen vorhergesagt, die möglicherweise potentere Antagonisten am P2Y₂-Rezeptor darstellen. Es wurde postuliert, dass in der Bindungstasche um die Methylgruppe in SW0402-1 herum noch Platz ist und damit eine Vergrößerung des Substituenten zu einer Acetyl- bzw. einer Propionylgruppe zu einer Steigerung der antagonistischen Wirksamkeit führen könnte.²⁷⁰ Darauf basierend wurden verschiedene 4- und 3-Benzamido-benzensulfonsäurephenylester synthetisiert mit dem Fokus auf einer vielfältigen Substitution der Methylgruppe (siehe Schema 3.1). Zur Erweiterung der Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser neuen Substanzklasse am P2Y₂-Rezeptor wurden darüber hinaus Sulfonamid-, Carbonsäureamid- und Harnstoffanaloge dargestellt.

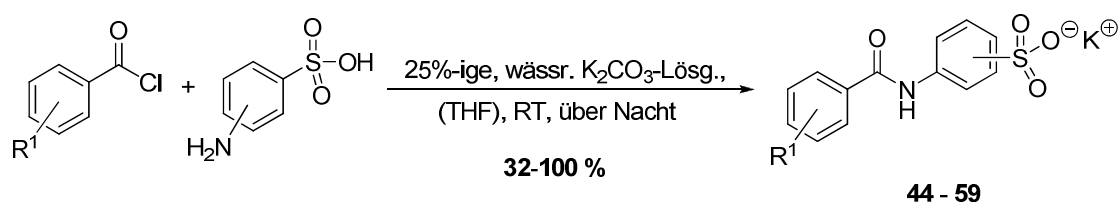
Schema 3.1. Modifizierung von SW0402-1 (4)



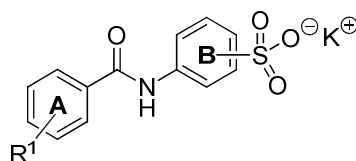
3.1.2 Darstellung der Benzamidobenzensulfonate und –sulfonsäuren

Substituierte Benzamidobenzensulfonate können durch Acylierung von Sulfanil- oder Metanilsäure mit substituierten Benzoylchloriden dargestellt werden. Jedoch stößt man bei der Durchführung dieser Reaktion auf größere Schwierigkeiten, da zum einen die zu verwendenden Benzoylchloride in vielen unpolaren organischen Lösungsmitteln, wie z.B. Toluol, Dichlormethan (DCM) oder Tetrahydrofuran (THF), löslich sind, aber sich in Wasser kaum lösen. Zum anderen liegt die Sulfanil- bzw. Metanilsäure in organischen Lösungsmitteln als unlösliches Zwitterion vor und ist nur im Alkalischen löslich.²⁷¹

In einer Variante von G. Schroeter²⁷² wurde dieses Problem gelöst, indem eine Lösung des Natriumsalzes der Sulfanilsäure über eine Stunde portionsweise mit zwei Äquivalenten Benzoylchlorid und Natronlauge versetzt wurde. Das ausgefallene Produkt wurde anschließend abfiltriert und in Wasser umkristallisiert. Diese Methode wurde in unserem Arbeitskreis von S. Weyler optimiert.⁹⁸ Dabei setzte sie unter starkem Rühren eine 15%- bzw. 25%-ige wässrige Kaliumcarbonatlösung der Sulfanilsäure mit substituierten Benzoylchloriden um, wobei das entsprechende Produkt als Feststoff ausfiel. Diese Variante wurde gewählt, um neue und in der Literatur bereits bekannte Benzamidobenzensulfonate darzustellen, welche anschließend in die entsprechenden Sulfonsäurephenylester überführt wurden.

Schema 3.2. Darstellung der 3- und 4-Benzamidobenzensulfonate

Wie in Schema 3.2 dargestellt, wurde unter starkem Rühren eine 25%-ige wässrige Kaliumcarbonatlösung der Sulfanil- bzw. Metanilsäure mit substituierten Benzoylchloriden (1.3 Äquivalente) bei Raumtemperatur (RT) zur Reaktion gebracht. Nach kurzer Zeit fielen die entsprechenden Benzamide als Feststoffe aus. Zur Vervollständigung der Ausfällung wurden die Reaktionsgemische jedoch über Nacht rühren gelassen. Als Feststoff eingesetzte Benzoylchloride wurden vor der Zugabe in Tetrahydrofuran gelöst. Insgesamt konnten 16 Benzamidobenzensulfonate, in der Regel in guten bis exzellenten Ausbeuten, erfolgreich dargestellt werden (siehe Tabelle 3.1).

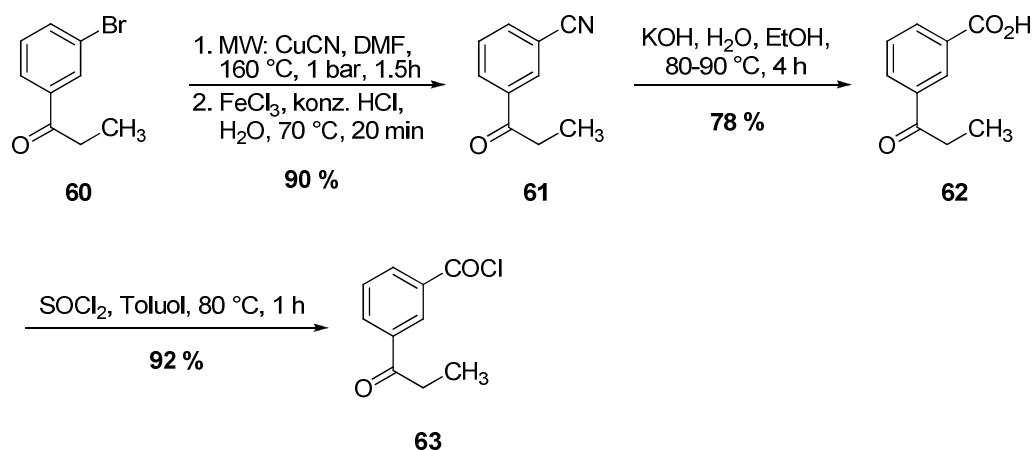
Tabelle 3.1. Ausbeuten und Schmelzpunkte der 3- und 4-Benzamidobenzensulfonate

Verbg.	Substitutionsmuster Ring A R ¹			Subst.muster Ring B	Ausbeute ^a (%)	Smp (°C)
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
44	H	H	H	<i>para</i>	100	> 300 (langs. Zers.)
45 ⁹⁸	H	CH ₃	H	<i>para</i>	79	> 320 (langs. Zers.)
46 ⁹⁸	H	H	CH ₃	<i>para</i>	100	> 300
47	H	CF ₃	H	<i>para</i>	82	> 320
48	H	Acetyl	H	<i>para</i>	32	> 300
49	H	Propionyl	H	<i>para</i>	46	> 300
50	H	OCH ₃	H	<i>para</i>	85	> 300 (Zers.)
51	H	F	H	<i>para</i>	98	> 300
52 ⁹⁸	H	Cl	H	<i>para</i>	100	> 300 (langs. Zers.)
53 ⁹⁸	H	H	Cl	<i>para</i>	89	> 300
54 ⁹⁸	Cl	H	H	<i>para</i>	66	> 300
55	H	Cl	Cl	<i>para</i>	39	> 320
56	H	Br	H	<i>para</i>	69	> 300
57	H	F	H	<i>meta</i>	94	188-190
58	H	Cl	H	<i>meta</i>	95	195-197
59	H	H	Cl	<i>meta</i>	86	208-210

^a Isolierte Ausbeute.

Die in Einzelfällen geringen Ausbeuten lassen sich damit erklären, dass das Benzoylchlorid im Überschuss (1.3 Äquivalente) eingesetzt wurde. Da die Reaktion in einer wässrigen Lösung durchgeführt wurde, war nicht umgesetztes Benzoylchlorid zur entsprechenden Benzoesäure hydrolysiert, welche teilweise schlecht vom dargestellten Amid abtrennt werden konnte. In diesen Fällen musste mehrmals in einem Ethanol-Wasser-Gemisch umkristallisiert werden. Im Fall von **48** wurde das Säurechlorid aus der 3-Acetylbenzoesäure selbst hergestellt, indem diese mit Thionylchlorid in DCM/Aceton (10:1) für eine Stunde bei 60 °C erhitzt wurde. Da im Fall von **49** das Säurechlorid auch nicht kommerziell erhältlich war, wurde dieses in Anlehnung an die Vorschrift von H. R. Sonawane aus 3-Brompropiofenon (**60**) dargestellt (siehe Schema 3.3).

Schema 3.3. Darstellung von 3-Propionylbenzoylchlorid in Anlehnung an die Vorschrift von Sonawane et al.²⁷³

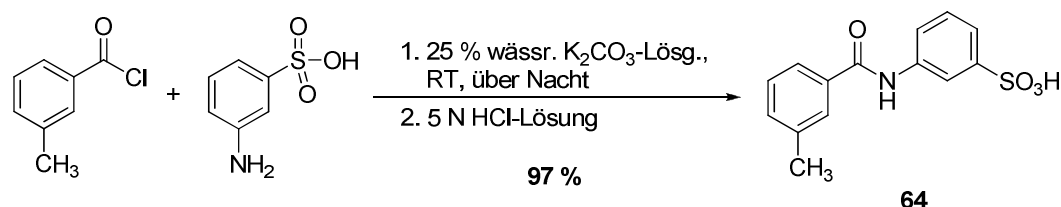


Abweichend von der Literaturvorschrift wurde der erste Reaktionsschritt in einem Mikrowellenofen durchgeführt, wodurch bei gleich hoher Ausbeute von 90 % (Lit.²⁷³ 86 %) die Reaktionszeit von 6 auf 1.5 Stunden verkürzt werden konnte. Das Brombenzol-Derivat **60** wurde in einer aromatischen, nucleophilen Substitutionsreaktion mit Kupfer(I)-cyanid in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) unter Mikrowellenbestrahlung in einer Argon-Atmosphäre für 1.5 Stunden umgesetzt. Freies Cyanid wurde durch Erhitzen mit Eisen(III)-chlorid in saurer, wässriger Lösung bei 70 °C unschädlich gemacht. Es war sehr wichtig, dass die Umsetzung mit Kupfer(I)-cyanid unter Luftausschluss stattfand, da dieses sonst sehr leicht oxidierte. Das gewonnene 3-Cyanopropiophenon (**61**) wurde mit Kaliumhydroxid in einem Wasser-Ethanol-Gemisch bei 80 – 90 °C für vier Stunden zur 3-Propionylbenzoesäure (**62**) hydrolysiert.

Es konnte eine gute Ausbeute von 78 % (Lit.²⁷³ 78 %) erzielt werden. Abschließend wurde **62** mit Thionylchlorid in Toluol bei 80 °C in das gewünschte 3-Propionylbenzoylchlorid (**63**) überführt.

Da bei der Umsetzung von *m*-Toluoylchlorid mit Metanilsäure nach den oben beschriebenen Bedingungen das Amid nicht als Feststoff ausfiel, wurde das Reaktionsgemisch mit einer wässrigen HCl-Lösung angesäuert und anschließend lyophilisiert. Nach RP18-flash-säulenchromatografischer Aufreinigung konnte das gewünschte Amid **64** in einer exzellenten Ausbeute von 97 % gewonnen werden (siehe Schema 3.4).

Schema 3.4. Darstellung von 3-(3-Methylbenzamido)benzensulfonsäure (**64**)



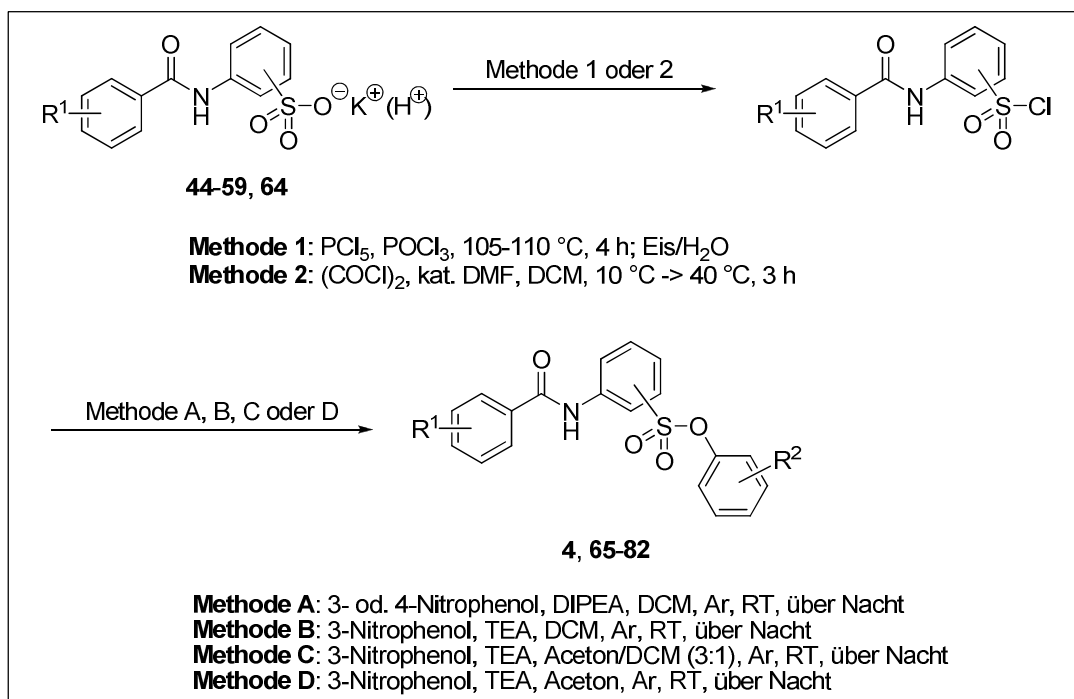
Alle dargestellten Benzamidobenzensulfonate und -sulfonsäuren wurden zu Sulfonsäurephenylestern umgesetzt (siehe nachfolgendes Kapitel).

3.1.3 Veresterung der Sulfonate zu 3- und 4-Benzamidobenzensulfonsäurephenylestern

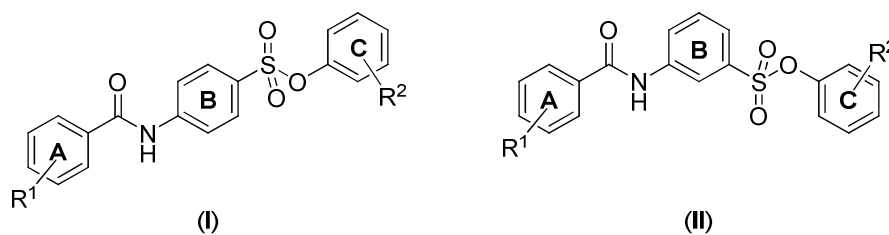
Analog zur von S. Weyler beschriebenen Synthese von **4**⁹⁸ wurden die Benzamidobenzensulfonate und -sulfonsäuren **44** – **59** sowie **64** in die entsprechenden Sulfonsäurephenylester **4** sowie **65** – **82** überführt (siehe Schema 3.5 und Tabelle 3.2). Im ersten Schritt wurden die Sulfonsäurechloride durch Umsetzung mit Phosphorpentachlorid (PCl₅) in Phosphoroxychlorid (POCl₃) bei 105 – 110 °C für vier Stunden gebildet. Das überschüssige Chlorierungsmittel wurde im Wasserstrahlvakuum destillativ entfernt, wobei Reste im Destillationsrückstand durch Hydrolyse mit Eiswasser vernichtet wurden. Bei der Hydrolyse fiel das Sulfonsäurechlorid in der Regel als Feststoff aus. Dieser konnte durch Filtration isoliert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet werden. Wenn das Säurechlorid nicht als Feststoff ausgefallen war, wurde das Gemisch mit eisgekühltem Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt um das Säurechlorid zu isolieren (Methode 1). Die Sulfonate **51** und **53**

wurden alternativ durch die Umsetzung mit Oxalylchlorid in Anwesenheit katalytischer Mengen DMF bei 40 °C für drei Stunden in die entsprechenden Sulfonsäurechloride überführt. Das überschüssige Chlorierungsmittel wurde wieder destillativ entfernt und der Rückstand im Vakuum getrocknet (Methode 2).

Schema 3.5. Darstellung der Benzamidobenzensulfonsäurephenylester



Die gebildeten Sulfonsäurechloride wurden anschließend mit 3- oder 4-Nitrophenol in Anwesenheit von Diisopropylethylamin (DIPEA) (Methode A) oder Triethylamin (TEA) (Methode B) als Base in Dichlormethan in einer Argon-Atmosphäre bei Raumtemperatur über Nacht umgesetzt. Die entsprechenden Benzensulfonsäurephenylester konnten in überwiegend moderaten bis guten Ausbeuten gewonnen werden (siehe Tabelle 3.2). Alle Reaktionsgemische wurden säulenchromatografisch aufgetrennt um die gewünschten Produkte rein zu isolieren. In Einzelfällen war eine zusätzliche Umkristallisation in einem geeigneten Lösungsmittel wie z.B. DCM oder Methanol, oder eine Ausfällung in einem unpolaren Lösungsmittel wie z.B. Cyclohexan oder Petrolether notwendig, da die entsprechenden Sulfonsäureester nach säulenchromatografischer Aufreinigung nur als Öle isoliert werden konnten. Dies war besonders bei den 3-Benzamidobenzensulfonsäureestern **79 – 82** der Fall. Durch die zusätzlichen Aufreinigungsschritte wurde die Gesamtausbeute herabgesetzt.

Tabelle 3.2. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten der 3- und 4-Benzamidobenzensulfonsäurephenylester

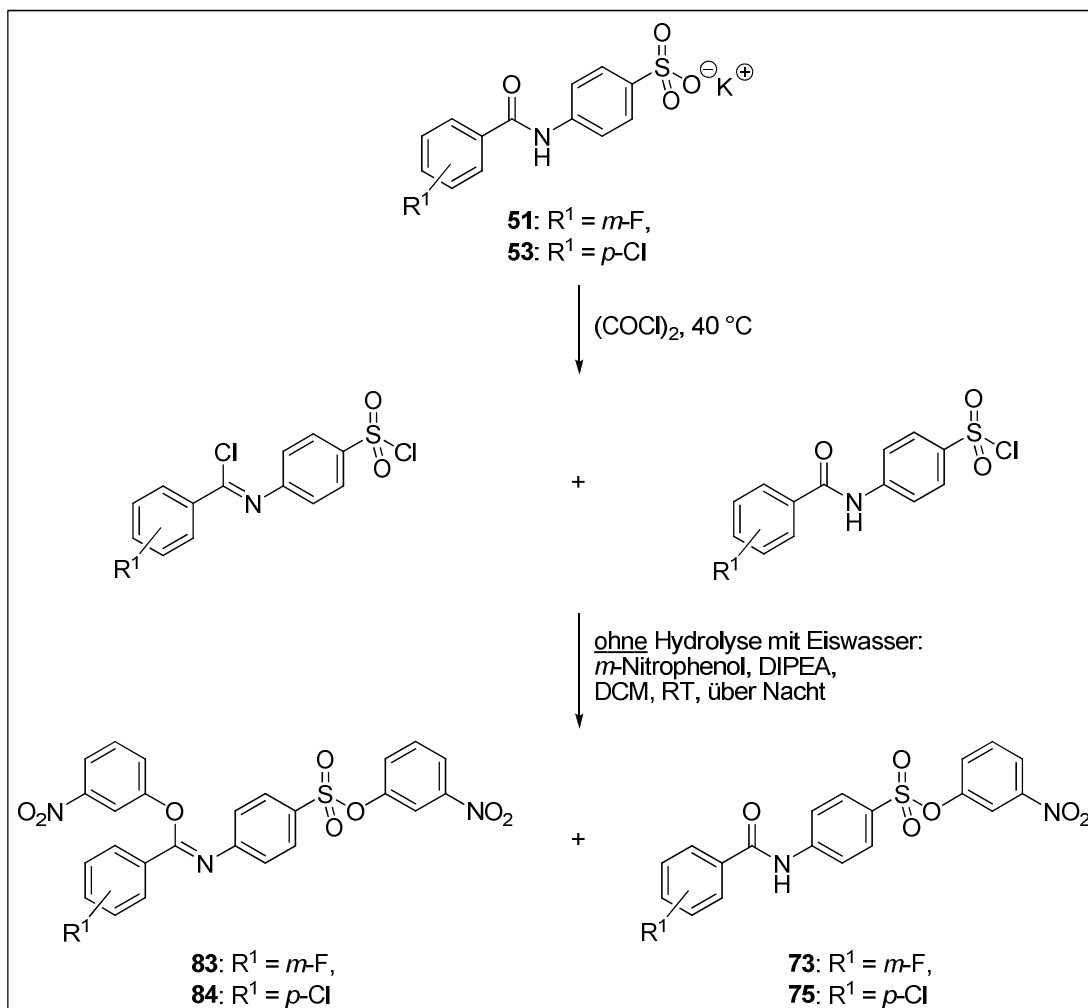
Verbg.	Subst.muster Ring A R ¹	Subst.muster Ring C R ²	Methode ^a	Ausbeute ^b (%)	Smp. (°C)	Reinheit ^c
65	H	<i>m</i> -NO ₂	1A	58	171	100.0
4⁹⁸	<i>m</i> -CH ₃	<i>m</i> -NO ₂	1B	72	129	99.0
66	<i>p</i> -CH ₃	<i>m</i> -NO ₂	1A	55	183	99.3
67	<i>m</i> -CH ₃	<i>p</i> -NO ₂	1A	59	152-153	100.0
68	<i>m</i> -CH ₃	<i>m</i> -CN	1A ^d	56	125-126	90.6
69	<i>m</i> -CF ₃	<i>m</i> -NO ₂	1A	68	165-166	98.9
70	<i>m</i> -Acetyl	<i>m</i> -NO ₂	1C	40	170-172	98.1
(I) 71	<i>m</i> -Propionyl	<i>m</i> -NO ₂	1D	46	198	99.3
72	<i>m</i> -OCH ₃	<i>m</i> -NO ₂	1A	68	130	99.9
73	<i>m</i> -F	<i>m</i> -NO ₂	2A	34	154	98.9
74	<i>m</i> -Cl	<i>m</i> -NO ₂	1A	66	160	98.8
75	<i>p</i> -Cl	<i>m</i> -NO ₂	2A	25	151	99.3
76	<i>o</i> -Cl	<i>m</i> -NO ₂	1A	62	155-157	99.2
77	<i>m,p</i> -di-Cl	<i>m</i> -NO ₂	1A	75	204-205	98.3
78	<i>m</i> -Br	<i>m</i> -NO ₂	1A	44	131	99.6
79	<i>m</i> -CH ₃	<i>m</i> -NO ₂	1A ^d	57	82-84	98.7
(II) 80	<i>m</i> -F	<i>m</i> -NO ₂	1A	50	105-106	100.0
81	<i>m</i> -Cl	<i>m</i> -NO ₂	1A	26	131	97.2
82	<i>p</i> -Cl	<i>m</i> -NO ₂	1A	57	157-158	98.9

^asiehe Schema 3.5. ^bIsolierte Gesamtausbeute. ^cbestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS. ^dEs wurde 3-Cyanophenol anstelle von 3-Nitrophenol eingesetzt. ^eEs wurde die entsprechende Benzamidobenzensulfonsäure eingesetzt.

Der Sulfonsäureester **68**, bei dem 3-Cyanophenol anstelle von 3-Nitrophenol eingesetzt wurde, konnte auch nach zweifacher säulenchromatografischer Aufreinigung und Ausfällung mit Cyclohexan nicht rein gewonnen werden (Reinheit: 91 %). Dies könnte mit einer geringeren Hydrolysestabilität im Vergleich zum 3-Nitrophenyl-Analogen **4** zusammenhängen. Die Verbindungen **70** und **71** wurden durch die Umsetzung der entsprechenden Sulfonsäurechloride mit 3-Nitrophenol in Anwesenheit von TEA als Base entweder in einem Aceton-DCM-Gemisch (3:1) (Methode C) oder in reinem Aceton (Methode D) in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gebildet. Mehrere

Aufreinigungsschritte waren in beiden Fällen wieder notwendig, wodurch die Gesamtausbeuten bei nur 40 % bzw. 46 % lagen.

Schema 3.6. Darstellung der Imidoester **83** bzw. **84** und der Amide **73** bzw. **75**



Von S. Weyler wurde gezeigt, dass durch Refluxieren eines 4-Benzamidobenzen-sulfonates in einem Reaktionsgemisch bestehend aus PCl_5 und POCl_3 nicht nur das entsprechende Sulfonsäurechlorid gebildet wird, sondern auch die Carbonsäureamidfunktion in eine Chlorimin-Gruppe überführt wird, wie sie bei der Bildung des aktiven Komplexes bei der Vilsmeier-Haak-Reaktion auftritt.⁹⁸ Durch die Hydrolyse in Eiswasser wurde die Carbonsäureamidfunktion wieder zurückgebildet und das Sulfonsäurechlorid konnte zum entsprechenden Sulfonsäureester umgesetzt werden. Erfolgte jedoch keine Hydrolyse mit Eiswasser bot die Chlorimin-Gruppe einen weiteren Angriffspunkt für eine Kondensationsreaktion mit dem eingesetzten Alkohol. Dabei bildete sich der entsprechende Imidoester. Bei der Synthese der Sulfonsäureester **73** und **75** wurde, wie in Schema 3.6 dargestellt, zur Bildung der entsprechenden

Sulfonsäurechloride Oxalylchlorid statt einem $\text{PCl}_5/\text{POCl}_3$ -Gemisches verwendet und kein Hydrolyse-Schritt eingebaut. Daher wurden als Nebenprodukte die entsprechenden Imidoester **83** bzw. **84** gebildet, die durch LC-MS nachgewiesen werden konnten. Dies erklärt die schlechten Ausbeuten von 34 % bzw. 25 % für **73** und **75**.

Insgesamt wurden 19 Benzensulfonsäurephenylester dargestellt, von denen nur einer bereits in der Literatur beschrieben ist. Die Strukturen aller Endverbindungen wurden neben ^1H - und ^{13}C - NMR-Spektroskopie durch HPLC-Analyse, die mit der Elektronenspray-Ionisations-Massenpektrometrie gekoppelt war (LC/ESI-MS) und auch zur Bestimmung der Reinheit genutzt wurde, identifiziert.

3.1.4 Stabilitätsuntersuchungen

Es ist allgemein bekannt, dass Sulfonsäureester relativ instabil sein können, da sie mit Nucleophilen *in vitro* und *in vivo* zu reagieren vermögen. So werden reaktive Sulfonsäureester aufgrund ihrer alkylierenden Eigenschaften in der organischen Chemie, wie z.B. Mesylate, Triflate und Tosylate, und als Antikrebs-Therapeutika, z.B. Busulfan und Treosulfan, eingesetzt.^{274, 275} Jedoch hängt die Stabilität der Sulfonsäureester stark vom Substitutionsmuster ab. Es werden sehr stabile Ester erhalten, wenn geeignete, elektronenziehende Substituenten eingeführt werden. In unserer Arbeitsgruppe wurden von L. Yan Stabilitätsuntersuchungen zu Sulfonsäurenitrophenylestern, und zwar an Nitrophenylestern des Tosylats und an Nitrophenylestern von *p*-Sulfophenylxanthin-Derivaten, welche potente Adenosinrezeptor-Antagonisten darstellen, durchgeführt.²⁷⁶ Es konnte gezeigt werden, dass *m*-Nitrophenylester über einen weiten pH-Bereich stabil waren, während die *ortho*- und *para*-Isomere unter stark sauren und basischen Bedingungen weniger stabil waren. Aus diesem Grund wurde auch der *m*-Nitrophenyl-Ring in unserer Leitstruktur **4** kaum verändert, um die Stabilität des Sulfonsäureestern nicht zu verlieren. Während der Synthese des *m*-Cyanophenyl-Analogen **68** deutete sich bereits an, dass die Sulfonsäureesterfunktion weniger stabil war. Diese Verbindung konnte nicht in einer gewünschten Reinheit von >95 % gewonnen werden (siehe Kapitel 3.1.3).

Exemplarisch für diese neue Substanzklasse wurde die chemische Stabilität der am P2Y₂-Rezeptor aktivsten und selektivsten Verbindung **76** durch HPLC-MS bei drei verschiedenen pH-Werten untersucht. Dafür wurden drei Proben hergestellt:

- (i) eine 2.30 millimolare Lösung von **76** in MeOH/Wasser (9:1, pH = 3), die Ameisensäure (270 mM) und Ammoniumacetat (2 nM) enthielt,
- (ii) eine 2.30 millimolare Lösung von **76** in MeOH/Wasser (9:1, pH = 7) mit Ammoniumacetat (2 nM) und
- (iii) eine 2.30 millimolare Lösung von **76** in MeOH/Wasser (9:1, pH = 9), die Ammoniak (500 mM) und Ammoniumacetat (2 nM) enthielt.

Alle Proben wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 2.5 und 24 Stunden analysiert. Zusätzlich wurde die dritte Probe nach 12 und 48 Stunden vermessen. Um eine mögliche Zersetzung bei erhöhter Temperatur zu untersuchen, wurde eine vierte Probe, eine 2.30 millimolare Lösung von **76** in MeOH/Wasser (9:1, pH = 7) mit Ammoniumacetat (2 nM), für 90 Minuten bei 70 °C erwärmt. Durch das Erwärmen ist die Lösung bis über die Hälfte verdunstet und wurde daher mit der entsprechenden Menge MeOH wieder aufgefüllt bevor die Probe durch HPLC-MS analysiert wurde. Die Ergebnisse wurden in Abb. 3.3 zusammengefasst. Wie in dieser Abbildung zu erkennen ist, konnte bei den pH-Werten 3 und 7 und durch Erwärmung auf 70 °C keine Hydrolyse bzw. Zersetzung von **76** beobachtet werden. Es wurden keinerlei Zerfallsprodukte mit einem Flächenanteil von >1.0 % detektiert. Lediglich bei einem pH-Wert von 9 konnte nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden der Methylester **85** als Zersetzungsprodukt, welches sich durch Umesterung bildete, in einem geringen Anteil von 1.4 % beobachtet werden. Nach 48 Stunden war der Flächenanteil mit 1.5 % nicht bemerkenswert größer geworden. Damit bestätigen diese Ergebnisse die hydrolytische Stabilität der Benzamidobenzensulfonsäure-*m*-nitrophenylester über einen weiten pH-Bereich von sauren bis zu basischen Bedingungen, die im menschlichen Körper vorgefunden werden können.

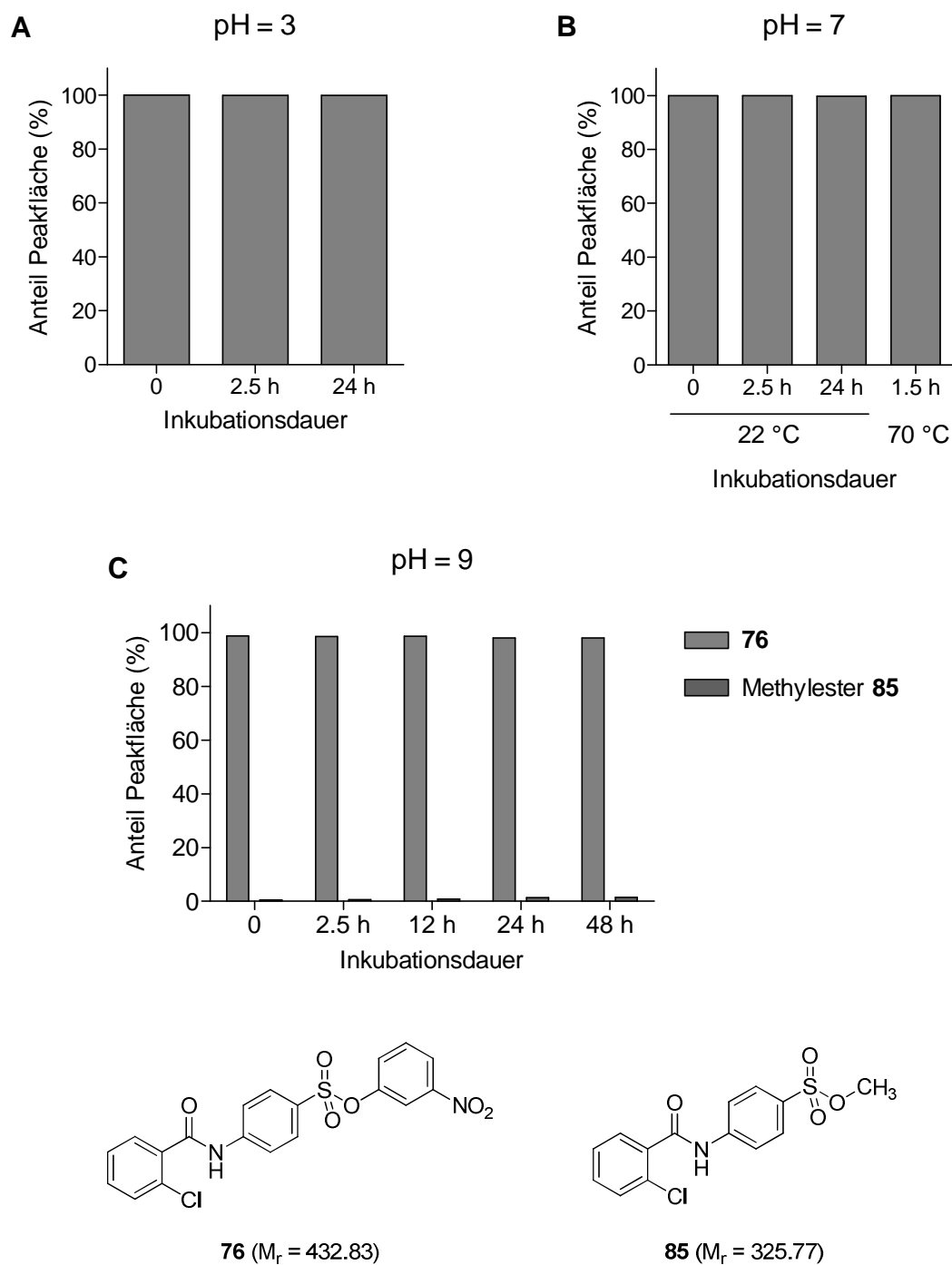
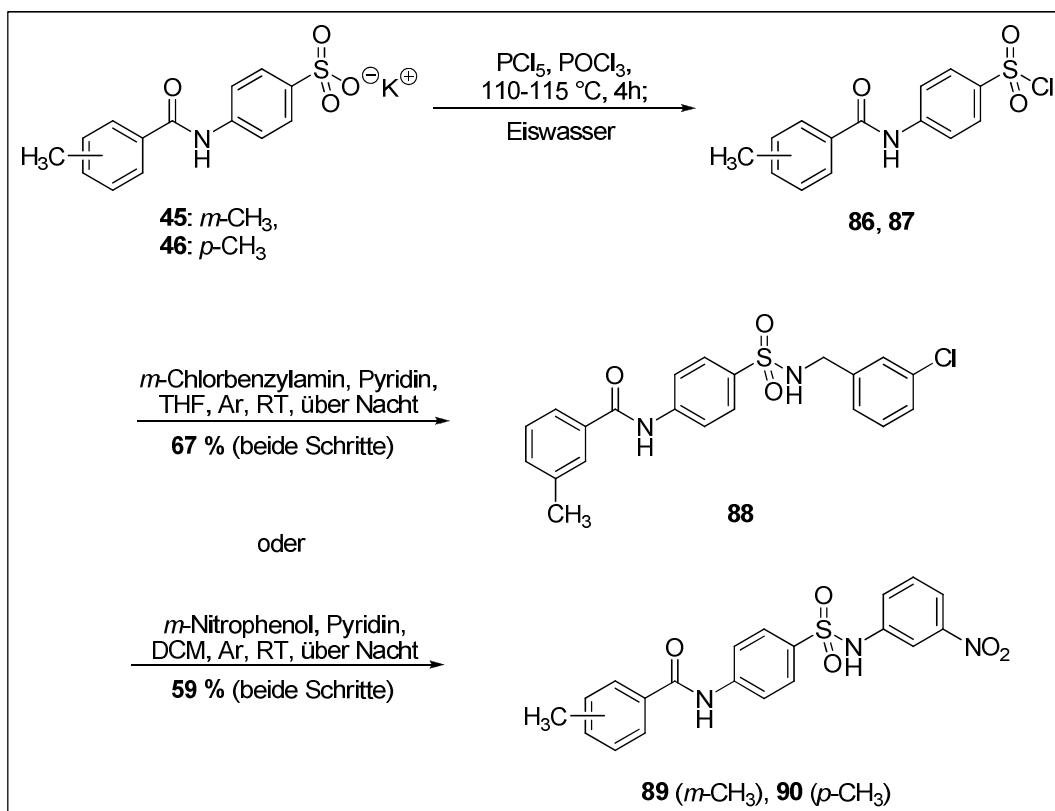


Abb. 3.3. Hydrolytische Stabilität von **76** bei verschiedenen pH-Werten: (A) pH = 3, (B) pH = 7, (C) pH = 9. Gemessen wurde bei Raumtemperatur (22 °C). Zusätzlich wurde die chemische Stabilität bei 70 °C untersucht (B). Bei pH = 9 wurde neben **76** das Zerfallsprodukt **85** detektiert und angegeben (C). Die Bestimmung erfolgte durch HPLC-MS zu den angegebenen Zeitpunkten unter Angabe der prozentualen Peakfläche des Analyts bei 220 – 450 nm.

3.1.5 Darstellung von 4-Benzamidobenzensulfonamiden

Es wurde zwar nachgewiesen, dass Benzamidobenzensulfonsäure-3-nitrophenylester eine hohe chemische, hydrolytische Stabilität aufweisen, jedoch ist unklar, ob sie in Zellsystemen unter physiologischen Bedingungen durch ubiquitär vorliegende Esterasen hydrolysiert werden könnten. Daher wurden auch chemisch stabilere und durch Esterasen nicht angreifbare Sulfonamid-Analoga von **4** dargestellt (siehe Schema 3.7 und Tabelle 3.3).

Schema 3.7. Darstellung der 4-Benzamidobenzensulfonamide

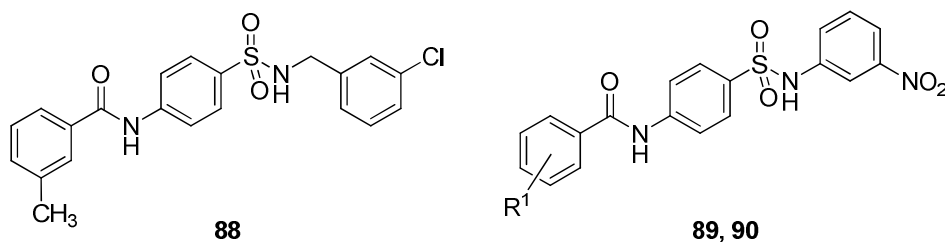


Im ersten Schritt wurden die Benzamidobenzensulfonate **45** und **46** nach den oben beschriebenen Bedingungen in die entsprechenden Sulfonsäurechloride **86** und **87** überführt. Zur Untersuchung der nachfolgenden Amidkupplungsreaktion wurde **86** mit *m*-Chlorbenzylamin in Anwesenheit von Pyridin als Base in THF in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht umgesetzt. Das gewünschte Sulfonamid **88** konnte erfolgreich in einer Gesamtausbeute von 67 % gewonnen werden. Daher wurden die Sulfonate **86** und **87** unter denselben Reaktionsbedingungen mit *m*-Nitrophenol zur Reaktion gebracht, wodurch die Sulfonamide **89** und **90** in moderaten Ausbeuten

erhalten wurden. Lediglich das THF wurde durch DCM aufgrund besserer Löslichkeit der Reaktanden in diesem Lösungsmittel ersetzt.

Die dargestellten Benzamidobenzensulfonamide sind in der Literatur noch nicht beschrieben und wurden daher analog zu den Sulfonsäureestern vollständig charakterisiert.

Tabelle 3.3. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten von 4-Benzamidobenzensulfonamiden



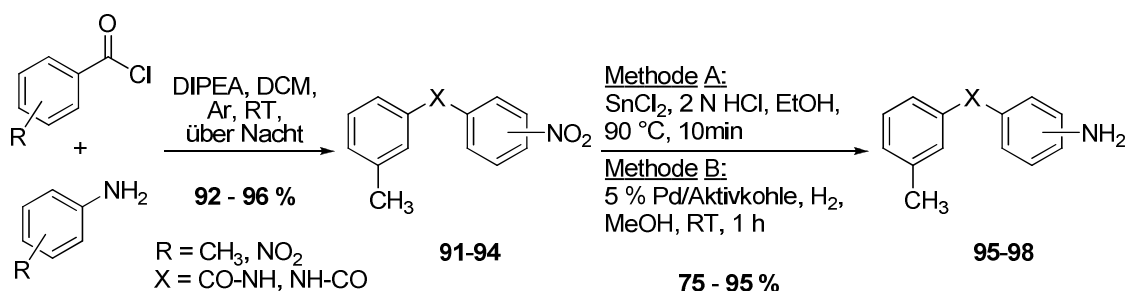
Verbindung	Substitutionsmuster R ¹	Ausbeute ^a (%)	Smp. (°C)	Reinheit ^b
88	Struktur: siehe oben	67	213 (Zers.)	95.4
89	<i>m</i> -CH ₃	59	234 (Zers.)	98.6
90	<i>p</i> -CH ₃	59	261 (Zers.)	98.3

^a Isolierte Ausbeute. ^b bestimmt mit HPLC-UV (220-300 nm)-ESI-MS.

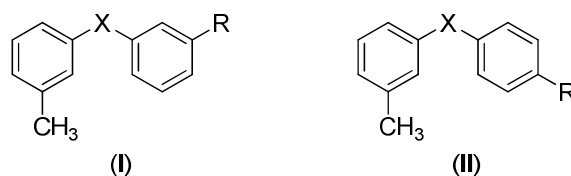
3.1.6 Darstellung von Methyl-*N*-(nitrobenzamido-phenyl)benzamidinen und Nitrobenzamido-*N*-tolylbenzamidinen

Um die Leitstruktur **4** weiter zu variieren und eine höhere chemische Stabilität in das Molekül zu bringen, wurde die Sulfonestergruppe durch eine Carbonsäureamid-Funktion ersetzt. Da Carbonsäureamide aus Carbonsäurechloriden und Anilin-Derivaten leicht zugänglich sind, wurde eine kleine Bibliothek von „Diamiden“ dargestellt (siehe Tabelle 3.5).

Im ersten Schritt wurden, wie in Schema 3.8 dargestellt, verschieden substituierte Benzoylchloride mit unterschiedlichen Anilin-Derivaten in einer Amidkupplungsreaktion in Anwesenheit von DIPEA als Base in DCM bei RT über Nacht zur Reaktion gebracht. Auf diesem Weg konnten die *N*-(Nitrophenyl)-3-methylbenzamide **91** und **93** sowie die Nitro-*N*-3-tolylbenzamide **92** und **94** in exzellenten Ausbeuten von 92 – 96 % gewonnen werden (siehe Tabelle 3.4).

Schema 3.8. Darstellung von *N*-(Aminophenyl)-3-methylbenzamidinen und Amino-*N*-3-tolylbenzamidinen

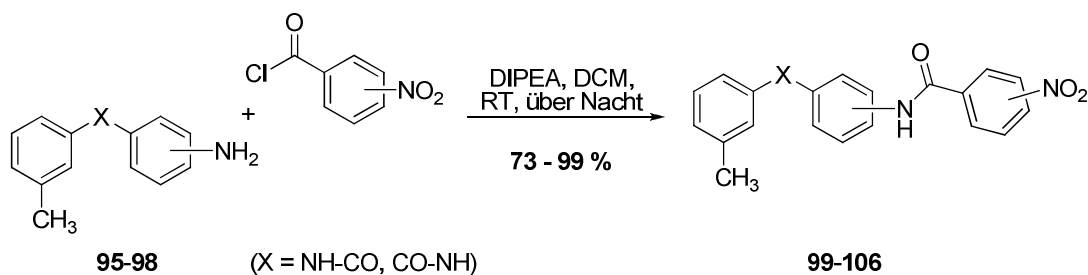
Anschließend wurden die Nitro-Derivate entweder mit Zinn(II)-chlorid im sauren Milieu unter Erhitzen (Methode A) oder durch katalytische Hydrierung (Methode B) zu den entsprechenden Anilin-Derivaten **95 – 98** reduziert. Es konnte eine gute bis exzellente Ausbeute von 75 – 95 % erzielt werden.

Tabelle 3.4. Ausbeuten von *N*-(Aminophenyl)-3-methylbenzamidinen, Amino-*N*-3-tolylbenzamidinen und deren Nitro-Derivaten

	X	Verbindung R = NO ₂	Ausbeute ^a (%)	Verbindung R = NH ₂	Methode ^b	Ausbeute ^a (%)
(I)	CO-NH	91 ²⁷⁷	92	95 ²⁷⁸	A	95
	NH-CO	92 ²⁷⁹	93	96 ²⁸⁰	B	75
(II)	CO-NH	93 ²⁸¹	96	97 ²⁸¹	B	86
	NH-CO	94 ²⁸²	93	98 ²⁸³	B	94

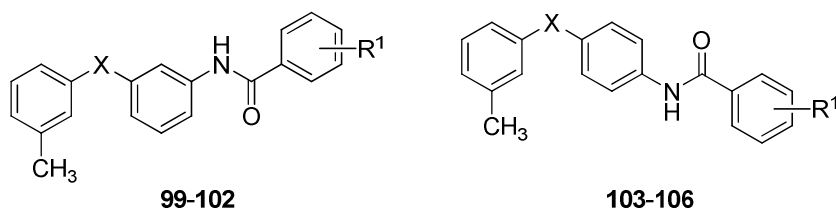
^a Isolierte Ausbeute. ^b siehe Schema 3.8.

Die so dargestellten *N*-(Aminophenyl)-3-methylbenzamide und Amino-*N*-3-tolylbenzamide wurden abschließend in einer weiteren Amidkupplungsreaktion mit 3- oder 4-Nitrobenzoylchlorid in Anwesenheit von DIPEA als Base in DCM bei RT über Nacht umgesetzt (siehe Schema 3.9).

Schema 3.9. Darstellung der Methyl-*N*-(nitrobenzamidophenyl)benzamide und Nitrobenzamido-*N*-tolylbenzamide

In guten bis exzellenten Ausbeuten konnten dadurch die Methyl-*N*-(nitrobenzamidophenyl)benzamide **99**, **100**, **103** und **104** sowie die 3- und 4-(Nitrobenzamido)-*N*-tolylbenzamide **101**, **102**, **105** und **106** erhalten werden (siehe Tabelle 3.5). Alle dargestellten „Diamide“ sind noch nicht in der Literatur beschrieben und wurden daher analog zu den Sulfonsäureestern vollständig charakterisiert.

Tabelle 3.5. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten der Methyl-*N*-(nitrobenzamidophenyl)benzamide und 3- und 4-(Nitrobenzamido)-*N*-tolylbenzamide



Verbdg.	Substitutionsmuster		Ausbeute ^a (%)	Smp. ^b (°C)	Reinheit ^c
	X	R ¹			
99	CO-NH	<i>m</i> -NO ₂	91	247-248	95.9
100	CO-NH	<i>p</i> -NO ₂	98	256-257	99.1
101	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	86	208-209	98.5
102	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	99	247-248	100.0
103	CO-NH	<i>m</i> -NO ₂	73	282-284	98.7
104	CO-NH	<i>p</i> -NO ₂	91	315-317	100.0
105	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	68	250-251	98.3
106	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	73	271-273	98.4

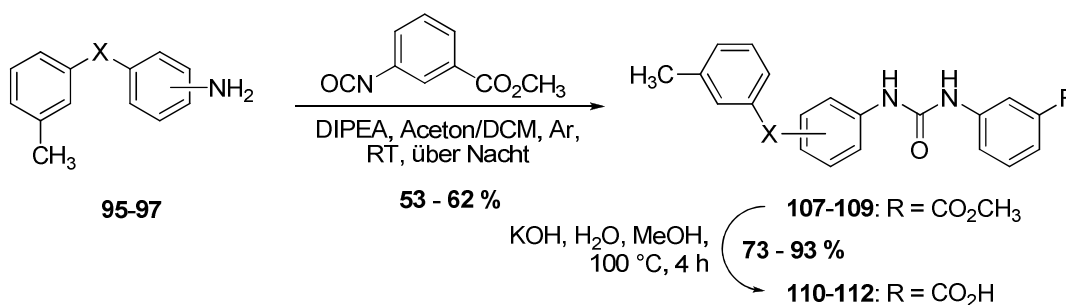
^a Isolierte Ausbeute. ^b Verbindungen schmelzen unter Zersetzung. ^c bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

3.1.7 Darstellung von Harnstoff-Derivaten

Um die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Suramin-abgeleiteten Verbindungen an den untersuchten Rezeptoren, wie z.B. am P2Y₂-Rezeptor, studieren zu können, sollte die Leitstruktur möglichst breit variiert werden. Daher wurde die Sulfonsäureestergruppe in der Leitstruktur **4** auch durch eine Harnstoff-Funktion ersetzt und es wurden verschiedene Harnstoff-Derivate synthetisiert (siehe Tabelle 3.6). Jedoch konnte das Harnstoff-Analoge von **4** bisher, unter Verwendung des kommerziell erhältlichen 3-Nitrophenylisocyanat, nicht rein erhalten werden. Da das eingesetzte, kommerzielle Isocyanat bereits verunreinigt war, sollte es in Zukunft aus dem entsprechenden Amin mit Triphosgen selbst hergestellt werden (siehe Kapitel 3.3.2.4).

Im Gegensatz dazu konnten Harnstoff-Derivate mit einer endständigen Carbonsäureester- bzw. Carbonsäure-Funktion anstelle der Nitrogruppe erfolgreich dargestellt werden. Eine Carbonsäure-Funktion sollte die Wasserlöslichkeit der Verbindungen erhöhen. Die Synthese dieser Verbindungen ist in Schema 3.10 abgebildet.

Schema 3.10. Darstellung substituierter 3-(3-Phenylureido)benzoesäuren

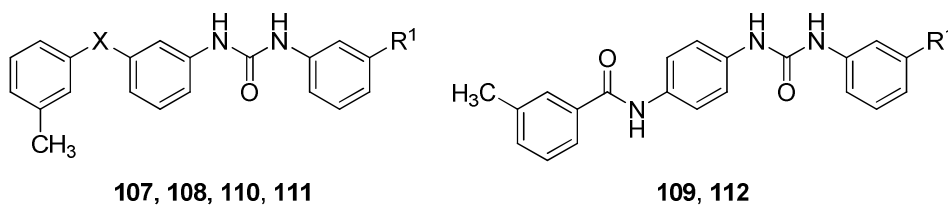


Verschiedene *N*-(Aminophenyl)-3-methylbenzamide und Amino-*N*-3-tolylbenzamide (siehe Kapitel 3.1.6) wurden mit dem 3-Isocyanatobenzoensäuremethylester in Anwesenheit von DIPEA als Hilfsbase in Aceton/DCM in einer Argon-Atmosphäre bei RT zu den entsprechenden Harnstoff-Derivaten **107 – 109** umgesetzt. Die Ausbeuten betragen 53 – 62 %. Um die Carbonsäuren **110 – 112** zu erhalten, wurde die Carbonsäureester-Funktion mit Kaliumhydroxid in einem Wasser-Methanol-Gemisch bei 100 °C hydrolysiert. Es konnte eine gute bis exzellente Ausbeute erzielt werden (siehe Tabelle 3.6). Damit konnten sechs weitere neue Verbindungen, die noch nicht in der Literatur beschrieben sind, dargestellt werden. Daher wurden auch diese vollständig durch ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie und LC-MS charakterisiert.

Insgesamt wurden 36 von Suramin-abgeleitete Endverbindungen synthetisiert und vollständig charakterisiert. Diese Verbindungen wurden in unserer Arbeitsgruppe an verschiedenen purinergen und Lipid-Rezeptoren sowie phylogenetisch verwandten Rezeptoren und Enzymen getestet (siehe nachfolgendes Kapitel).

3 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 3.6. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten substituierter 3-(3-Phenylureido)benzoesäuren und ihrer Methylester



Verbdg.	Substitutionsmuster		Ausbeute ^a (%)	Smp. (°C)	Reinheit ^b
	X	R ¹			
107	CO-NH	CO ₂ CH ₃	62	232-233	98.8
108	NH-CO	CO ₂ CH ₃	54	227-228	98.4
109	-	CO ₂ CH ₃	53	222-223 (Zers.)	98.4
110	CO-NH	CO ₂ H	73	259-261 (Zers.)	98.9
111	NH-CO	CO ₂ H	93	260-262 (Zers.)	98.6
112	-	CO ₂ H	73	271 (Zers.)	98.6

^a Isolierte Ausbeute. ^b bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

3.2 Untersuchung der Suramin-Derivate an verschiedenen Rezeptoren und Enzymen

3.2.1 Einleitung

Die von S. Weyler entwickelte, vom Suramin abgeleitete Verbindung SW0402-1 (4) zeigte eine inhibitorische Wirksamkeit an humanen P2Y₂-Rezeptoren im niedrigen mikromolaren Bereich.⁹⁶ Daher diente diese Verbindung als Leitstruktur zur Darstellung einer Serie von Suramin-Derivaten (siehe Kapitel 3.1). Diese wurden in Calciumionen-Mobilisationsassays als potentielle Antagonisten an humanen P2Y₂-Rezeptoren, die in 1321N1-Astrozytomazellen stabil exprimiert waren, evaluiert.

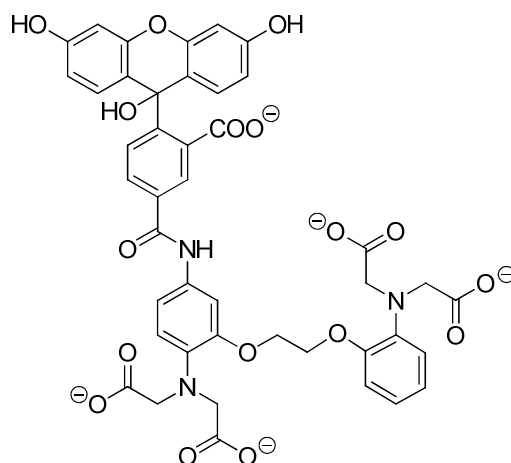


Abb. 3.4. Struktur des zur Bestimmung der intrazellulären Calciumionen-Konzentration verwendeten Fluoreszenzindikators Oregon Green[®].

Mit Hilfe eines NOVOstar[®]-Fluorimeters wurde die Calciumionen-abhängige Fluoreszenz des Fluoreszenz-Indikators Oregon Green[®], dessen Struktur in Abb. 3.4 dargestellt ist, gemessen. In Anwesenheit von Calciumionen kommt es zur Bildung sechsbindiger Chelatkomplexe, die bei einer anderen Wellenlänge fluoreszieren als das ungebundene Oregon Green. In den Experimenten wurden die 1321N1-Astrozytomazellen mit dem Fluoreszenz-Farbstoff in Form seines Acetoxymethylesters inkubiert, welcher aufgrund seiner hohen Lipophilie durch die Zellmembran diffundieren kann. In den Zellen wurde anschließend der Fluoreszenz-Farbstoff durch die ubiquitär vorhandenen Esterasen gespalten und in seine freie, anionische Form überführt. Aufgrund des polaren Charakters des gebildeten Tetracarboxylats konnte

dieses nicht aus der Zelle herausdiffundieren. Die auf diese Weise beladenen Zellen wurden mit dem potentiellen Antagonisten inkubiert. Anschließend wurde durch die Zugabe des Agonisten ($3 \mu\text{M}$ bzw. EC_{80} von ATP) über die klassische Signaltransduktionskaskade des G_q -Protein-gekoppelten Rezeptors eine cytosolische Calciumionen-Freisetzung induziert. Durch die Besetzung des Rezeptors mit einem Antagonisten wird die Calciumionen-Freisetzung blockiert. Da dieser Effekt konzentrationsabhängig ist, wurde die Messung zunächst bei einer hohen Konzentration ($10 \mu\text{M}$) durchgeführt. Wenn die Testverbindungen eine Inhibition von $>50\%$ zeigten, wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus dessen Verlauf IC_{50} -Werte ermittelt werden konnten. Die Testung am humanen P2Y_2 -Rezeptor, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Karen Schmeling durchgeführt.

Ausgewählte Verbindungen wurden zur Bestimmung ihrer Selektivität gegenüber P2Y -Rezeptorsubtypen weiterhin in Calciumionen-Mobilisationsassays an humanen P2Y_{1-} , humanen P2Y_4 -, Ratten- P2Y_6 - und humanen P2Y_{11} -Rezeptoren, welche in 1321N1-Astrozytomazellen stabil exprimiert waren, evaluiert. Dabei wurde auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber einer intrazellulären Calciumionen-Freisetzung durch $1 \mu\text{M}$ ATP ($\text{P2Y}_1\text{R}$), $1 \mu\text{M}$ UTP ($\text{P2Y}_4\text{R}$), $3 \mu\text{M}$ UDP ($\text{P2Y}_6\text{R}$) bzw. $10 \mu\text{M}$ ATP ($\text{P2Y}_{11}\text{R}$) hin untersucht. Die Testung erfolgte bei einer Konzentration der zu untersuchenden Verbindung von 10 oder $100 \mu\text{M}$. Die Testung an den verschiedenen P2Y -Rezeptorsubtypen, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Karen Schmeling und Ramona Abdel Malek durchgeführt.

Im purinergen Signaltransduktionsweg spielen neben den verschiedenen Rezeptoren auch membranständige Enzyme eine entscheidende Rolle, welche extrazelluläre Nucleotide zu den entsprechenden Nucleosiden und freien Phosphatgruppen hydrolysieren. Sie regulieren den extrazellulären Nucleotidspiegel. Nucleosid-5'-triphosphate und Nucleosid-5'-diphosphate werden durch Ecto-Nucleosidtriphosphatdiphosphohydrolasen (E-NTPDasen), Ecto-Nucleotidpyrophosphatasen/phosphodiesterasen (E-NPPs) und durch die Alkalischen Phosphatasen hydrolysiert. Nucleosid-5'-monophosphate werden durch die Ecto-5'-Nucleotidase und durch die Alkalische Phosphatase hydrolysiert.²⁸⁴ In Abb. 3.5 ist der Abbau der Nucleotide am Beispiel von ATP dargestellt. Aufgrund der Bedeutung dieser Enzyme im purinergen

Signaltransduktionsweg wurden die Suramin-Derivate auf ihre Selektivität gegenüber der Alkalischen Phosphatase, den NTPDasen und NPP1 hin getestet.

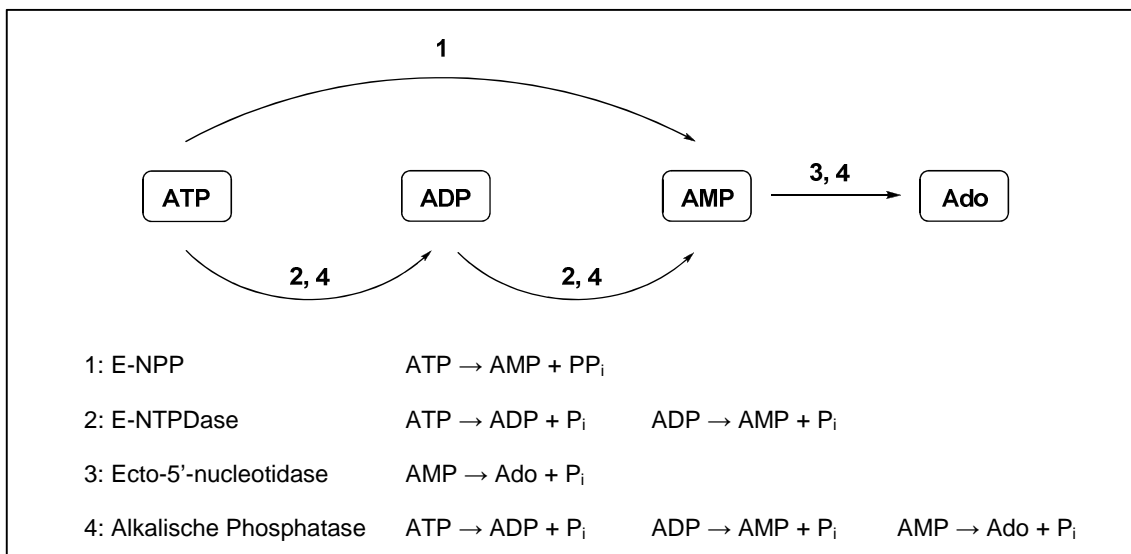


Abb. 3.5. Hydrolyse der Adeninnucleotide durch Ectoenzyme.

Die Verbindungen wurden in einem Chemilumineszenz-Assay als Inhibitoren der Alkalischen Phosphatase, welche in COS-Zellen exprimiert war, evaluiert. Als Chemilumineszenz-Substrat wurden 100 μ M CDP-Star[®] (siehe Abb. 3.6) eingesetzt und die Testung erfolgte bei einer Konzentration von 20 μ M des Suramin-Derivats in Triplikaten. Es wurde die Reduktion der Umsetzung des Substrates durch das Enzym gemessen, die sich in einer detektierbaren Änderung der Chemilumineszenz widerspiegelte.

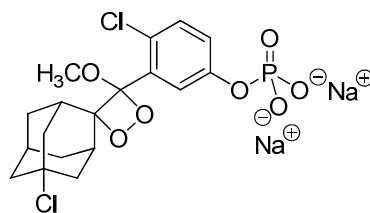


Abb. 3.6. Struktur des Chemilumineszenz-Substrats CDP-Star[®] der Alkalischen Phosphatase.

Ausgewählte Suramin-Derivate wurden im Malachitgrün-Assay an den NTPDasen 1, 2 und 3, welche in COS-Zellen exprimiert waren, auf ihre inhibitorische Wirksamkeit hin untersucht. In diesem Absorptionsassay wurde das durch die Umsetzung des Substrates, 70 μ M ATP im Fall von NTPDase1 und 100 μ M ATP im Fall von NTPDase2 und NTPDase 3, freigesetzte Phosphat bestimmt. Die Testung erfolgte bei einer Konzentration von 20 μ M des Suramin-Derivats in Triplikaten.

Verschiedene Suramin-Derivate wurden auch in einem Absorptionsassay an der NPP1, die in NSO-Zelllinien aus Mausmyelom exprimiert war, getestet. Als Enzymsubstrat wurden 400 μM *p*-Nitrophenylphosphat-5'-TMP eingesetzt und die Testungen wurden bei einer Konzentration von 20 μM der zu untersuchenden Verbindung in Triplikaten durchgeführt. Es wurde das durch die Umsetzung des Substrats freigewordene *p*-Nitrophenolat bei einer Wellenlänge von 400 nm detektiert.

Die Testung an den Enzymen, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Amelie Zech und Sang-Yong Lee durchgeführt.

Aufgrund der phylogenetischen Verwandtheit des Waisen-Rezeptors GPR17 zu den P2Y-Rezeptoren wurden die Suramin-Derivate in Calciumionen-Mobilisationsassays auf ihre inhibitorische Wirksamkeit am humanen GPR17 hin untersucht. Als Agonist wurde MDL29,951¹⁷⁸ (1 μM) eingesetzt. Die Verbindungen wurden zunächst bei einer hohen Konzentration von 10 μM getestet. Bei einer Inhibition des Rezeptors von >50 % wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus dessen Verlauf IC_{50} -Werte ermittelt wurden. Die Testung am humanen GPR17, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Dr. Aliaa Abdelrahman, Karen Schmeling und Stefanie Weyer durchgeführt.

Da in der Literatur für den GPR84 noch keine Antagonisten beschrieben sind und dieser Rezeptor durch Fettsäuren mittlerer Kettenlänge stimuliert wird, also durch relativ lipophile Verbindungen wie die dargestellten Suramin-Derivate, wurden ausgewählte Suramin-Derivate auf ihre inhibitorische Wirksamkeit am humanen GPR84 hin getestet. Dazu wurden zum einen cAMP-Akkumulationsexperimente und zum anderen β -Arrestin-Rekrutierungs-experimente durchgeführt.

Für cAMP-Akkumulationsexperimente wurden CHO- β -Arrestin-hGPR84-Zelllinien verwendet. Die als Agonist eingesetzte Dekansäure (20 μM) inhibierte über eine Rezeptoraktivierung die durch 10 μM Forskolin-induzierte cAMP-Produktion mit einem EC_{50} -Wert von $5.34 \pm 0.56 \mu\text{M}$. Durch die Besetzung des Rezeptors mit einem Antagonisten wurde die Inhibierung der cAMP-Produktion gehemmt. Die intrazelluläre cAMP-Konzentration wurde radiometrisch bestimmt. Vortestungen wurden in der Regel bei einer Konzentration von 20 μM Testsubstanz durchgeführt. Wenn die Verbindungen eine Inhibition von >50 % zeigten, wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus dessen Verlauf IC_{50} -Werte ermittelt werden konnten.

Für β -Arrestin-Rekrutierungsexperimente wurden CHO-Zelllinien des Pathhunter β -Arrestin-Rekrutierungsassay-Systems verwendet. Diese Zellen exprimierten Fusionsproteine, die aus β -Arrestin und einer N-terminalen Deletionsmutante der β -Galaktosidase bestehen. Weiterhin wurde der humane GPR84 rekombinant zur Expression gebracht, der C-terminal ein Enzymfragment aufweist. Durch die Stimulierung des Rezeptors mit 20 μ M Embelin als Agonist ($EC_{50} = 0.424 \pm 0.192 \mu$ M) wurde die Rekrutierung von β -Arrestin-Molekülen induziert. Dadurch kamen die Enzym-Deletionsmutante und das Enzymfragment in räumliche Nähe, wodurch es zur Enzymkomplementation kam. Die beim Substrat-Umsatz freigewordene Lumineszenz konnte gemessen werden, und anhand der Lumineszenz auf die Rezeptoraktivierung zurückgeschlossen werden. Durch die Besetzung des Rezeptors mit einem Antagonisten kommt es in Folge zu einer Abschwächung der Lumineszenz. Da dieser Effekt konzentrationsabhängig ist, wurde die Messung zunächst bei einer hohen Konzentration (20 μ M) durchgeführt. Wenn die Verbindungen eine Inhibition von >50 % zeigten, wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus deren Verlauf IC_{50} -Werte ermittelt werden konnten.

Die Testung am GPR84, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Dr. Meryem Köse und Inge Renner durchgeführt.

Zur Untersuchung der Selektivität wurden die Suramin-Derivate auch auf ihre antagonistische Aktivität an den humanen Waisen-Rezeptoren GPR18 und GPR55 hin evaluiert. Dazu wurden β -Arrestin-Rekrutierungsexperimente mit CHO-Zelllinien des Pathhunter β -Arrestin-Rekrutierungsassay-Systems (siehe zuvor). Als Agonist wurde entweder THC (10 μ M) mit einem $EC_{50} = 4.61 \mu$ M (hGPR18) oder LPI (1 μ M) mit einem $EC_{50} = 1.00 \mu$ M (hGPR55) eingesetzt. Die Messungen wurden bei einer hohen Konzentration von 10 μ M in Duplikaten durchgeführt.

Abschließend wurden ausgewählte Suramin-Derivate in Radioligand-Bindungsassays an den Cannabinoid-Rezeptoren CB_1 und CB_2 getestet. Zur Bestimmung der Affinitäten wurden Konkurrenzexperimente unter Verwendung von 0.1 nM [3 H]CP55,940 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den h CB_1 - oder h CB_2 -Rezeptor rekombinant exprimierten, durchgeführt. Die Testungen wurden bei einer hohen Konzentration der zu untersuchenden Verbindung von 10 μ M in Duplikaten durchgeführt.

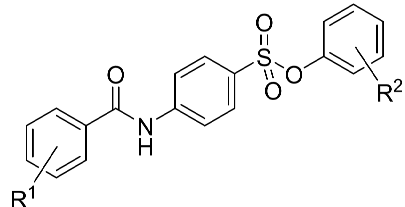
Die Testungen am GPR18, GPR55 und an den CB-Rezeptoren, inklusive der Auswertung der Daten, wurden in unserem Arbeitskreis durch Clara Schoeder durchgeführt.

3.2.2 Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen P2Y₂-Rezeptor

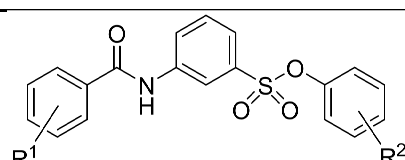
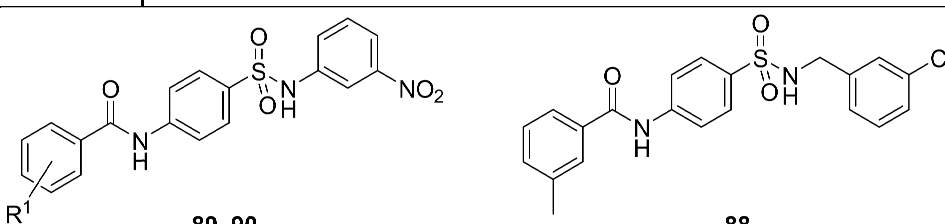
Insgesamt wurden 35 von Suramin abgeleitete Derivate am humanen P2Y₂-Rezeptor evaluiert, von denen fünf Verbindungen Antagonisten mit einem IC₅₀-Wert im niedrigen mikromolaren Bereich waren (siehe Tabelle 3.7).

Die Leitstruktur SW0402-1 (**4**) mit einer endständigen *m*-Methylbenzamid-Funktion wies einen IC₅₀-Wert von 3.43 μM am humanen P2Y₂-Rezeptor auf. Von G.-Y. Ko wurde mithilfe moleküldynamischer Bindungsstudien postuliert, dass eine Verlängerung der Methylgruppe in SW0402-1 zu einer Acetyl- bzw. einer Propionylgruppe zu einer Steigerung der antagonistischen Wirksamkeit führen könnte.²⁷⁰ Aus diesem Grund wurden verschiedene Substituenten, inklusive einer Acetyl- und Propionylgruppe, in der *meta*-Position des Benzamidrings eingeführt. Eine Substitution der Methylgruppe durch eine Trifluormethyl- (**69**), Acetyl- (**70**), Propionyl- (**71**) oder Methoxygruppe (**72**) führte zu einem Verlust der inhibitorischen Wirksamkeit am Rezeptor. Damit konnte die von G.-Y. Ko postulierte mögliche Erhöhung der antagonistischen Wirksamkeit durch ein Ersetzen der Methylgruppe durch eine Acetyl- oder Propionylgruppe nicht bestätigt werden. Hingegen wurde eine Einführung von Halogenatomen in dieser Position gut toleriert: Fluor (**73**, IC₅₀ = 5.78 μM) ≈ Chlor (**74**, IC₅₀ = 5.55 μM) ≥ Brom (**73**, IC₅₀ ≤ 10 μM). Von der Brom-Verbindung **73** muss noch der IC₅₀-Wert ermittelt werden, um genauere Aussagen über den Einfluss einer Halogensubstitution in dieser Position treffen zu können. Da ein Entfernen der Methylgruppe zum Verlust der inhibitorischen Aktivität am Rezeptor führte, ist davon auszugehen, dass ein Substituent am Benzamidring notwendig ist, um den Rezeptor zu inhibieren (vgl. **65**, *m*-H, IC₅₀ > 10 μM mit **4**, *m*-CH₃, IC₅₀ = 3.43 μM). Jedoch darf der Rest nur die Größe eines Halogenatoms bzw. keine Wasserstoffbrücken-Akzeptorfunktion aufweisen. Als nächstes wurde das Substitutionsmuster am Benzamidring untersucht.

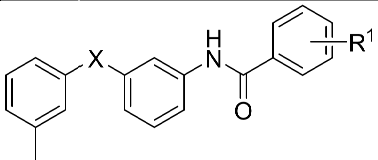
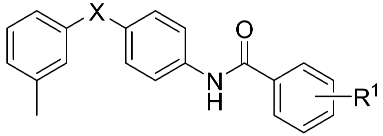
Tabelle 3.7. Inhibition der humanen Rezeptoren P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₁₁, GPR17 und des Ratten-Rezeptors P2Y₆ durch Suramin-Derivate

Verbg.	Substitutionsmuster				hP2Y ₁ ^a	hP2Y ₂ ^b	hP2Y ₄ ^c	rP2Y ₆ ^d	hP2Y ₁₁ ^e	hGPR17 ^f
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>	R ²	(n = 3-4)	(n = 2-3)	(n = 2-3)	(n = 2-3)	(n = 3)	(n = 3)
					<i>Calcium-Mobilisationsassay</i>					<i>Calcium-Mobilisationsassay</i>
					IC ₅₀ ± SEM (µM) (% Inhibition)					IC ₅₀ ± SEM (µM) (% Inhibition)
					R ¹					
					R ²					
										
65	H	H	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (23±3)	>10 (28±6)	>10 (33±0)	n.d.	3.20 ± 0.32
4	H	CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	>10 (10 ± 2)	3.43 ± 0.68	>100 (7±0) ⁱ	6.19 ± 0.56⁹⁶	> 10 (27 ± 2)	1.92 ± 0.30
66	H	H	CH ₃	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (11±1)	>10 (18±0)	>10 (14±6)	n.d.	1.33 ± 0.26
67	H	CH ₃	H	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	>10 (14 ± 4)	>10 (3±1)	>10 (13 ± 2)	n.d.	≥10 (49 ± 4)
68	H	CH ₃	H	<i>m</i> -CN	n.b.	14.8 ± 4.2	>10 (28±1)	>10 (26 ± 6)	n.d.	n.d.
69	H	CF ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (28 ± 3)	>100 (17 ± 2)	>10 (3 ± 2)	n.d.	3.88 ± 0.71
70	H	CO-CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (28±4)	>10 (20±2)	>10 (13±4)	n.d.	n.d.
71	H	CO-CH ₂ - CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (32±3)	>100 (0±5) ⁱ	>100 (31±4) ⁱ	n.d.	>10 (29 ± 2)
72	H	OCH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (36±2)	>10 (31±3)	>10 (19±1)	n.d.	≤10 (54 ± 4)
73	H	F	H	<i>m</i> -NO ₂	>10 (7 ± 1)	5.78 ± 0.48	>100 (21±1) ⁱ	>100 (9±1) ⁱ	n.d.	4.62 ± 0.57
74	H	Cl	H	<i>m</i> -NO ₂	>10 (-11 ± 5)	5.55 ± 0.38	>100 (5±3) ⁱ	>100 (-14±1) ⁱ	n.d.	3.00 ± 0.20

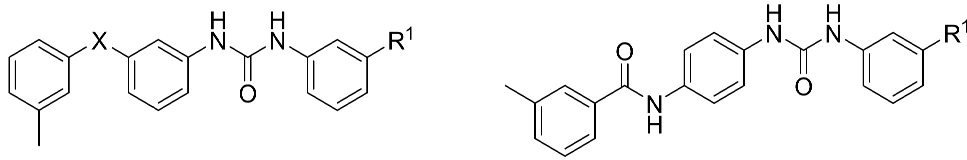
Fortsetzung Tabelle 3.7

Verbg.	R ¹			R ²	hP2Y ₁ ^a	hP2Y ₂ ^b	hP2Y ₄ ^c	rP2Y ₆ ^d	hP2Y ₁₁ ^e	hGPR17 ^f
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>		IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition)					IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition)
75	H	H	Cl	<i>m</i> -NO ₂	>10 (5 ± 8)	3.01 ± 0.54	>10 (5±0)	>100 (-2±8) ⁱ	n.d.	3.37 ± 0.66
76	Cl	H	H	<i>m</i> -NO ₂	>10 (3 ± 5)	3.17 ± 0.83	>100 (12±0) ⁱ	>100 (18 ± 2) ⁱ	>10 (15 ± 13)	1.67 ± 0.16
77	H	Cl	Cl	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	≥10 (45 ± 1)	>10 (0 ± 6)	>10 (3 ± 0)	n.d.	3.33 ± 0.28
78	H	Br	H	<i>m</i> -NO ₂	>10 (-18 ± 6)	≤ 10 (53 ± 7)	>10 (35±3)	>10 (13 ± 1)	n.d.	4.18 ± 0.58
										
79	H	CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (18 ± 4)	>10 (9±1)	>10 (8±1)	n.d.	n.d.
80	H	F	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.d.	n.d.
81	H	Cl	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (42 ± 3)	>10 (16 ± 0)	>10 (11 ± 2)	n.d.	2.32 ± 0.51
82	H	H	Cl	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (17 ± 1)	>100 (5 ± 3)	>10 (2 ± 0)	n.d.	3.06 ± 0.62
										
89	H	CH ₃	H	-	n.b.	>10 (18±7)	>100 (4±1) ⁱ	>100 (32±2) ⁱ	n.d.	5.75 ± 0.96
90	H	H	CH ₃	-	n.b.	>10 (9±0)	>10 (-1±0)	>10 (-14±1)	n.d.	>10 (35 ± 4)
88					n.b.	>10 (10±0)	>10 (0±2)	>10 (-2±2)	n.d.	>10 (22 ± 5)

Fortsetzung Tabelle 3.7

Verbg.	Substitutionsmuster		hP2Y ₁ ^a	hP2Y ₂ ^b	hP2Y ₄ ^c	rP2Y ₆ ^d	hP2Y ₁₁ ^e	hGPR17 ^f	
			IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition)						IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition)
									
	X	R¹							
99	CO-NH	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (22 ± 2)	>10 (13 ± 2)	>10 (13 ± 1)	n.b.	>10 (17 ± 4)	
100	CO-NH	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	>10 (-1 ± 0)	>10 (-9 ± 7)	>10 (8 ± 1)	n.b.	>10 (16 ± 2)	
101	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (15 ± 5)	>10 (-7 ± 6)	>10 (-8 ± 2)	n.b.	>10 (24 ± 2)	
102	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	>10 (11 ± 1)	>10 (-9 ± 9)	>10 (12 ± 1)	n.b.	>10 (13 ± 3)	
103	CO-NH	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (7 ± 2)	>10 (3 ± 0)	>10 (25 ± 2)	n.b.	>10 (8 ± 0)	
104	CO-NH	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	>10 (5 ± 2)	>10 (12 ± 0)	>10 (26 ± 5)	n.b.	>10 (15 ± 4)	
105	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	>10 (10 ± 2)	>10 (1 ± 3)	>10 (10 ± 3)	n.b.	>10 (13 ± 5)	
106	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	>10 (11 ± 1)	>10 (2 ± 3)	>10 (14 ± 4)	n.b.	>10 (12 ± 7)	

Fortsetzung Tabelle 3.7

Verbg.	Substitutionsmuster		hP2Y ₁ ^a	hP2Y ₂ ^b	hP2Y ₄ ^c	rP2Y ₆ ^d	hP2Y ₁₁ ^e	hGPR17 ^f	
			IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition)						IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition)
									
			109, 112						
	X	R¹							
107	CO-NH	CO ₂ CH ₃	n.b.	>10 (36 ± 2)	>10 (17 ± 3)	>10 (16 ± 2)	n.b.	4.07 ± 0.95	
110	CO-NH	CO ₂ H	n.b.	≥10 (44 ± 7)	>10 (-1 ± 1)	>10 (12 ± 1)	n.b.	>10 (20 ± 2)	
108	NH-CO	CO ₂ CH ₃	n.b.	>10 (29 ± 2)	>10 (8 ± 4)	>10 (16 ± 4)	n.b.	>10 (10 ± 3)	
111	NH-CO	CO ₂ H	n.b.	>10 (35 ± 7)	>10 (4 ± 1)	>10 (-11 ± 5)	n.b.	>10 (12 ± 2)	
109	-	CO ₂ CH ₃	n.b.	>10 (5 ± 2)	>10 (8 ± 0)	>10 (-1 ± 1)	n.b.	>10 (9 ± 1)	
112	-	CO ₂ H	n.b.	>10 (1 ± 1)	>10 (7 ± 0)	>10 (1 ± 1)	n.b.	>10 (6 ± 1)	

Die Rezeptoren wurden in 1321N1-Astrozytomazellen exprimiert. Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 μM oder ^g100 μM durchgeführt. Es wurde die Inhibition des Effektes gemessen, der durch ^a1 μM ATP, ^b3 μM ATP, ^c1 μM UTP, ^d3 μM UDP, ^e10 μM ATP oder ^f1 μM MDL29,951 (jeweils ~ EC₈₀) induziert wurde. ⁱSubstanzen fielen milchig trüb aus und wurden daher vor dem Zupipettieren auf 50 °C erwärmt und mit Ultraschall für 2 min behandelt.

Ein Verschieben der Methylgruppe in **4** von der *meta*- in die *para*-Position führte zum Verlust der inhibitorischen Aktivität am P2Y₂-Rezeptor (vgl. **4**, *m*-CH₃, IC₅₀ = 3.43 μM mit **66**, *p*-CH₃, IC₅₀ > 10 μM). Hingegen konnte durch das Versetzen des Chloratoms in **74** in die *ortho*- oder *para*-Position die antagonistische Aktivität gleichermaßen erhöht werden (vgl. **75**, *p*-Cl, IC₅₀ = 3.01 μM und **76**, *o*-Cl, IC₅₀ = 3.17 μM mit **74**, *m*-Cl, IC₅₀ = 5.55 μM). Eine *m,p*-Dichlorsubstitution (**77**) resultierte in einer Verringerung der inhibitorischen Wirksamkeit (IC₅₀ ≥ 10 μM).

Eine Veränderung der Sulfanilsäure-Struktur (*para*-Substitution in Ring B) in ein Metanilsäure-Derivat (*meta*-Substitution in Ring B) führte zu einem Verlust bzw. Verringerung der antagonistischen Aktivität am P2Y₂-Rezeptor (vgl. **4**, *p*-Substitution, IC₅₀ = 3.43 μM mit **79**, *m*-Substitution, IC₅₀ > 10 μM). Dasselbe Ergebnis konnte für die Verbindungen **81** (*m*-Cl) und **82** (*p*-Cl) beobachtet werden. Im Gegensatz zu den Sulfanilsäure-Derivaten schien bei den Metanilsäure-Derivaten ein Chloratom in *meta*-Position günstiger zu sein als in *para*-Position des Benzamidrings (vgl. **81**, *m*-Cl, Inhibition = 42 % mit **82**, *p*-Cl, Inhibition = 17 % bei einer Testkonzentration von 10 μM). Das dargestellte *m*-Fluor-Derivat **80** muss noch im Calciumionen-Mobilisationsassay am Rezeptor getestet werden.

Der endständige *m*-Nitrophenyl-Ring (Ring C) wurde nur geringfügig variiert, da durch ein Entfernen bzw. Ersetzen der Nitrogruppe eine Stabilitätsverringerng des Sulfonsäureesters befürchtet wurde (siehe Kapitel 3.1.4). Das Verschieben der Nitrogruppe in **4** von der *meta*- in die *para*-Position führte zu einem Verlust der inhibitorischen Wirksamkeit am P2Y₂-Rezeptor (vgl. **67**, IC₅₀ > 10 μM mit **4**, IC₅₀ = 3.43 μM). Ein Ersetzen der Nitrogruppe in der *m*-Position durch eine Nitrilfunktion (**68**), welche durch ihre elektronenziehenden Eigenschaften auch den Sulfonsäureester stabilisieren sollte, führte zu einer deutlichen Verringerung der antagonistischen Aktivität (vgl. **68**, IC₅₀ = 14.8 μM mit **4**, IC₅₀ = 3.43 μM). Jedoch ist dieser Wert mit Vorsicht zu betrachten, da **68** nur in einer Reinheit von 91 % gewonnen werden konnte. Dies lag wahrscheinlich an einer geringeren hydrolytischen Stabilität der Sulfonsäureester-Funktion als beim *m*-Nitro-Analogen.

Um das Problem der hydrolytischen Instabilität und der möglichen Spaltung von Sulfonsäureestern durch in Zellen ubiquitär vorliegende Esterasen zu umgehen, wurde die Sulfonsäureester-Funktion in **4** durch einen Sulfonamid-Linker (**89**) ersetzt. Jedoch führte dies zum Verlust der inhibitorischen Wirksamkeit am humanen P2Y₂-Rezeptor

(vgl. **89**, $IC_{50} > 10 \mu\text{M}$ mit **4**, $IC_{50} = 3.43 \mu\text{M}$). Auch die beiden Sulfonamid-Derivate **90** und **88** zeigten keine antagonistische Aktivität am Rezeptor. Der überraschende Aktivitätsverlust könnte mit der Einführung der zusätzlichen Wasserstoffbrücken-Donatorfunktion im Sulfonamid in Zusammenhang stehen, welche vom Rezeptor wahrscheinlich schlecht toleriert wird. Dieses Phänomen könnte näher untersucht werden, indem die NH-Funktion methyliert wird, wodurch die Wasserstoffbrücken-Donatorfunktion verloren geht. Dies sollte in Zukunft durchgeführt werden.

Das Ersetzen der Sulfonsäureester-Funktion in **4** durch eine Carbonsäureamidgruppe (**103**) führte ebenfalls zu einem Verlust der antagonistischen Aktivität am Rezeptor (vgl. **103**, $IC_{50} > 10 \mu\text{M}$ mit **4**, $IC_{50} = 3.43 \mu\text{M}$). Auch alle weiteren dargestellten Derivate **99** – **102** und **104** – **106** mit einer Carbonsäureamid-Funktion anstelle einer Sulfonsäureester-Gruppe waren am $P2Y_2$ -Rezeptor inaktiv. Des Weiteren wurden hydrolytisch stabile Harnstoff-Derivate mit einer endständigen Methylester- oder Säurefunktion (**107** – **112**) synthetisiert und am Rezeptor auf ihre inhibitorische Wirksamkeit hin evaluiert. Keine der Verbindungen zeigte bei einer Testkonzentration von $10 \mu\text{M}$ eine antagonistische Aktivität am Rezeptor außer das Derivat **110**, welches den Rezeptor geringfügig inhibierte (44 %).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass 4-Benzamidosulfonsäure-3-nitrophenylester eine neue Klasse von $P2Y_2$ -Rezeptor-Antagonisten darstellen mit IC_{50} -Werten im niedrigen mikromolaren Bereich. Jedoch konnte in der antagonistischen Wirksamkeit kaum eine Verbesserung gegenüber der Leitstruktur **4**, welche einen IC_{50} -Wert von $3.43 \mu\text{M}$ aufwies, erzielt werden. Die potentesten Antagonisten waren **75** mit einem Chloratom in *para*-Position und **76** mit einem Chloratom in *ortho*-Position des Benzamid-Rings. Die IC_{50} -Werte betragen $3.01 \mu\text{M}$ bzw. $3.17 \mu\text{M}$. Die Konzentrations-Inhibitionskurven des Sulfonsäuresteres **76** sowie der Leitstruktur **4** wurden in Abb. 3.7 dargestellt. Während **4** ein Vollantagonist ist, muss für **76** und die anderen aktiven Sulfonsäureester-Derivate noch geklärt werden, ob es sich eventuell um Partialagonisten oder allosterische Antagonisten handelt oder doch nur ein Löslichkeitsproblem bei hohen Konzentration vorlag.

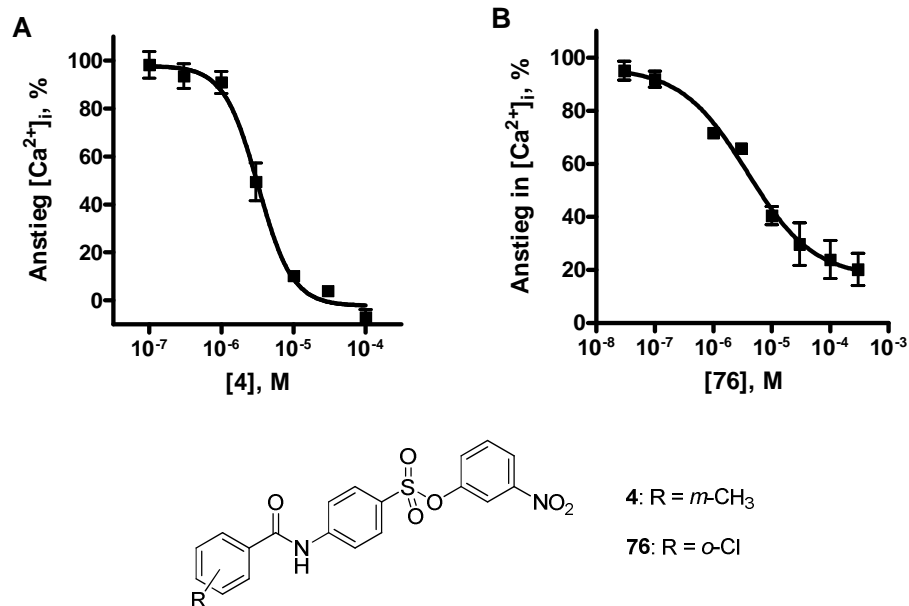


Abb. 3.7. Calciumionen-Mobilisationsassays an humanen P2Y₂-Rezeptoren. Konzentration-Inhibitionskurven für ausgewählte Verbindungen. IC₅₀-Werte: (A) **4**, 3.43 μM; (B) **76**, 3.17 μM.

Zur Verbesserung der hydrolytischen Stabilität der Verbindungen wurde der Sulfonsäurester-Linker durch eine Sulfonamid-, Carbonsäureamid- oder Harnstoff-Funktion ersetzt. Alle dargestellten Sulfonamid-, Carbonsäureamid- und Harnstoff-Derivate waren bei einer Testkonzentration von 10 μM am humanen P2Y₂-Rezeptor inaktiv. Die Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen P2Y₂-Rezeptor wurden in Abb. 3.8 zusammengefasst.

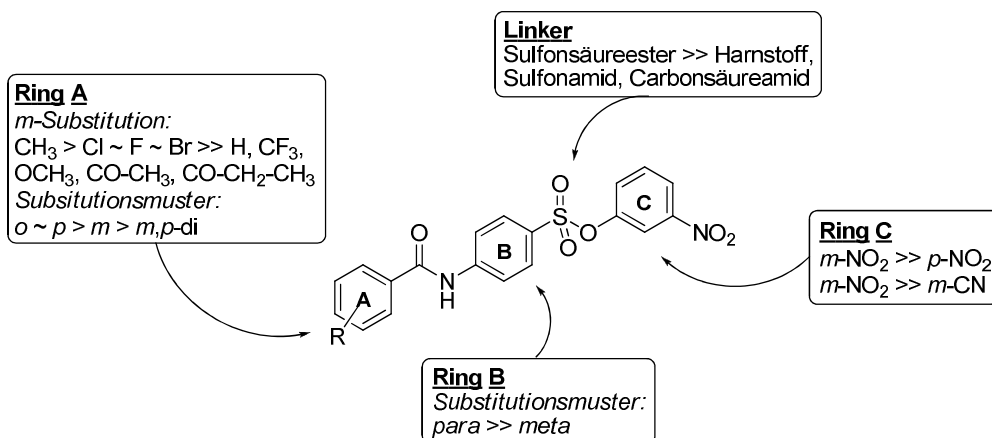


Abb. 3.8. Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen P2Y₂-Rezeptor.

Bisher wurde nur der Einfluss von relativ lipophilen Gruppen am Ring A untersucht. Daher sollten in Zukunft auch Substituenten mit Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften, wie z. B. einer Carbonsäure-, Hydroxyl oder Aminogruppe, und weitere Substituenten mit Wasserstoffbrückenakzeptor-Eigenschaften, wie z. B. einer

Nitrogruppe, eingeführt werden. Diese wäre auch wichtig, um die Wasserlöslichkeit der bisher lipophilen Verbindungen zu erhöhen. Das Ersetzen der Benzenringe durch Heterocyclen könnte sich ebenfalls positiv auf eine mögliche Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit auswirken. Zusätzlich könnten freie Sulfonsäuregruppen, wie sie in den Standard-Antagonisten Suramin oder Reactive Blue-2 vorzufinden sind, eingeführt werden.

3.2.3 Selektivität gegenüber P2Y-Rezeptorsubtypen

Zur Untersuchung der Selektivität dieser neuen Klasse von P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten gegenüber P2Y-Rezeptorsubtypen wurden sie auf ihre Wirksamkeit, eine P2Y-Rezeptor-abhängige intrazelluläre Calciumionen-Freisetzung zu inhibieren, getestet (siehe Tabelle 3.7). Alle Verbindungen wurden an den nächst verwandten P2Y-Rezeptorsubtypen, den humanen P2Y₄- und Ratten-P2Y₆-Rezeptoren, untersucht. Keines dieser Suramin-Derivate konnte diese Rezeptoren bei einer hohen Konzentration von 10 µM oder 100 µM inhibieren außer die Leitstruktur SW0402-1, die auch am Ratten-P2Y₆-Rezeptor einen Antagonisten mit einem IC₅₀-Wert von 6.19 µM darstellte.⁹⁶ Daher sind die untersuchten P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten, außer der Leitstruktur, gegenüber den humanen P2Y₄- und Ratten-P2Y₆-Rezeptoren selektiv.

Ausgewählte Verbindungen, die am P2Y₂-Rezeptor aktiv waren, wurden auch an den humanen P2Y₁- und P2Y₁₁-Rezeptoren getestet. Keines der untersuchten Sulfonsäureester-Derivate war in der Lage, diese Rezeptoren bei einer hohen Konzentration von 10 µM zu inhibieren. Daher sind die untersuchten P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten auch gegenüber den humanen P2Y₁- und P2Y₁₁-Rezeptoren selektiv.

Somit konnte zwar die inhibitorische Wirksamkeit der Sulfonsäureester-Derivate gegenüber der Leitstruktur SW0402-1 nicht erhöht werden, aber dafür die Selektivität gegenüber anderen P2Y-Rezeptorsubtypen verbessert werden. Einen potenten P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten mit einem IC₅₀-Wert im niedrigen mikromolaren Bereich stellte das Sulfonsäureester-Derivat **76** dar, welches zudem selektiv gegenüber den P2Y₁-, P2Y₄-, P2Y₆- und P2Y₁₁-Rezeptoren war (siehe Abb. 3.9).

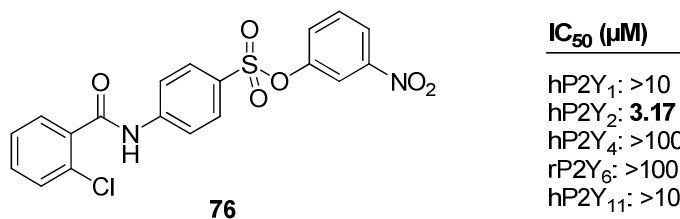


Abb. 3.9. Der potente und selektive P2Y₂-Rezeptor-Antagonist **76**. Die IC₅₀-Werte wurden in Calciumionen-Mobilisationsassays am humanen P2Y₁-Rezeptor gegen den Agonisten ATP (1 μM), am humanen P2Y₂-Rezeptor gegen ATP (3 μM), am humanen P2Y₄-Rezeptor gegen UTP (1 μM), am Ratten-P2Y₆-Rezeptor gegen UDP (3 μM) und humanen P2Y₁₁-Rezeptor gegen ATP (10 μM) bestimmt.

Für die gegenwärtigen Untersuchungen stand nur der Ratten-P2Y₆-Rezeptor zur Verfügung. Daher sollten diese Verbindungen zur besseren Vergleichbarkeit in Zukunft auch am humanen P2Y₆-Rezeptor getestet werden. Des Weiteren sollten zur Vervollständigung alle P2Y₂-Rezeptoren-Antagonisten auf ihre Selektivität gegenüber dem humanen P2Y₁₁-Rezeptor hin untersucht werden.

3.2.4 Selektivität gegenüber Enzymen des Purin-Signaltransduktionswegs

Neben den verschiedenen Rezeptoren spielen Enzyme zur Regulation des extrazellulären Nucleotidspiegels im Purin-Signaltransduktionsweg eine entscheidende Rolle. Zur Untersuchung der Selektivität der neuen Klasse von P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten gegenüber diesen Enzymen wurden die Suramin-Derivate auf ihre inhibitorische Wirksamkeit an der Alkalischen Phosphatase, den NTPDasen 1, 2 und 3 und der NPP1 getestet (siehe Tabelle 3.8).

Keine der untersuchten Verbindungen war in der Lage die Alkalische Phosphatase und die NTPDasen bei einer hohen Konzentration von 20 μM zu inhibieren. Daher sind die untersuchten P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten gegenüber der Alkalischen Phosphatase und den NTPDasen selektiv. Lediglich an der NPP1 zeigten die untersuchten Suramin-Derivate bei dieser Konzentration eine geringe Inhibition von ca. 30 bis 40 %. Zur Vervollständigung der Untersuchung der Selektivität gegenüber Enzymen des Purin-Signaltransduktionswegs sollten die Suramin-Derivate noch an der Ecto-5'-Nucleotidase getestet werden.

Tabelle 3.8. Inhibition der Alkalischen Phosphatase, der NTPDasen 1, 2 und 3 sowie der NPP1 durch Suramin-Derivate

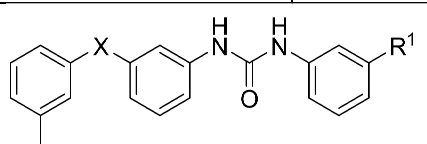
Verbg.	Substitutionsmuster				Alkalische Phosphatase ^a	NTPDase1 ^a	NTPDase2 ^a	NTPDase3 ^a	NPP1 ^b
	R ¹		R ²						
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>		(% Inhibition) ^c	(% Inhibition) ^d	(% Inhibition) ^e	(% Inhibition) ^e	(% Inhibition) ^f
65	H	H	H	<i>m</i> -NO ₂	(0±3)	(0 ± 3)	(-3 ± 5)	(-12 ± 6)	(36 ± 2)
4	H	CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	(-1±1)	(0 ± 1)	(-1 ± 5)	(-15 ± 11)	(38 ± 4)
66	H	H	CH ₃	<i>m</i> -NO ₂	(1±1)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
67	H	CH ₃	H	<i>p</i> -NO ₂	(2±5)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
69	H	CF ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	(3±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
70	H	CO-CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	(0±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
71	H	CO-CH ₂ -CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	(1±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
72	H	OCH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	(-1±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
73	H	F	H	<i>m</i> -NO ₂	(-5±3)	(0 ± 3)	(-1 ± 4)	(-20 ± 13)	(42 ± 1)
74	H	Cl	H	<i>m</i> -NO ₂	(-1±4)	(2 ± 3)	(-4 ± 5)	(-15 ± 8)	(39 ± 1)
75	H	H	Cl	<i>m</i> -NO ₂	(-3±3)	(0 ± 6)	(-4 ± 8)	(-11 ± 10)	(40 ± 0)
76	Cl	H	H	<i>m</i> -NO ₂	(0±6)	(-2 ± 5)	(-2 ± 5)	(-11 ± 7)	(38 ± 0)
77	H	Cl	Cl	<i>m</i> -NO ₂	(2±2)	(-7 ± 4)	(6 ± 13)	(-8 ± 9)	(34 ± 0)
78	H	Br	H	<i>m</i> -NO ₂	(-2±4)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

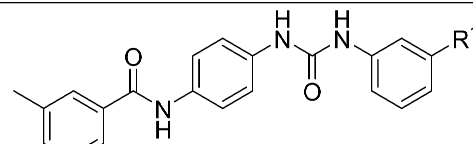
Fortsetzung Tabelle 3.8

79	H	CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	(1±1)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
80	H	F	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
81	H	Cl	H	<i>m</i> -NO ₂	(3±1)	(-5 ± 6)	(-3 ± 5)	(-20 ± 8)	(39 ± 3)
82	H	H	Cl	<i>m</i> -NO ₂	(5±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
89	H	CH ₃	H	-	(0±2)	(-2 ± 0)	(-3 ± 6)	(-8 ± 7)	(25 ± 2)
90	H	H	CH ₃	-	(1±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
88					(-2±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	X		R¹						
99	CO-NH		<i>m</i> -NO ₂		(2±1)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
100	CO-NH		<i>p</i> -NO ₂		(0±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

Fortsetzung Tabelle 3.8

Verbg.	X	R ¹	Alkalische Phosphatase ^a	NTPDase1 ^a	NTPDase2 ^a	NTPDase3 ^a	NPP1 ^b
			(% Inhibition) ^c	(% Inhibition) ^d	(% Inhibition) ^e	(% Inhibition) ^e	(% Inhibition) ^f
101	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	(1±1)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
102	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	(1±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
103	CO-NH	<i>m</i> -NO ₂	(-3±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
104	CO-NH	<i>p</i> -NO ₂	(-2±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
105	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	(0±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
106	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	(-2±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.





109, 112

	X	R ¹					
107	CO-NH	CO ₂ CH ₃	(0±3)	(-5 ± 5)	(-11 ± 5)	(-12 ± 7)	(42 ± 2)
110	CO-NH	CO ₂ H	(2±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
108	NH-CO	CO ₂ CH ₃	(-1±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
111	NH-CO	CO ₂ H	(0±2)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
109	-	CO ₂ CH ₃	(1±6)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
112	-	CO ₂ H	(0±3)	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

Die Enzyme waren in ^aCOS-Zellen oder in ^bNSO-Zelllinien aus Mausmyelom exprimiert. Die Testungen wurden bei einer Konzentration von 20 μM in Triplikaten durchgeführt. Es wurde die Reduktion der Umsetzung des entsprechenden Substrates ^c100 μM CDP-Star[®], ^d70 μM ATP, ^e100 μM ATP oder ^f400 μM *p*-Nitrophenyl-5'-TMP durch das Enzym gemessen.

3.2.5 Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen GPR17

Aufgrund der phylogenetischen Verwandtschaft des Waisen-Rezeptors GPR17 mit den P2Y-Rezeptoren wurden die Suramin-Derivate in Calciumionen-Mobilisationsassays auf ihre inhibitorische Wirksamkeit hin untersucht (siehe Tabelle 3.7). Dabei waren 14 von den 32 getesteten Verbindungen Antagonisten am GPR17 mit IC_{50} -Werten im niedrigen mikromolaren Bereich. Auffällig war, dass alle P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten auch am humanen GPR17 aktiv waren und zwar mit vergleichbaren IC_{50} -Werten. Dies deutet darauf hin, dass die Verbindungen auf ähnliche Art und Weise in die jeweilige Bindungstasche der Rezeptoren binden.

Struktur-Wirkungsbeziehungen am GPR17 ließen sich schwer aufstellen, da die potenten Suramin-Derivate den Rezeptor in vergleichbarem Ausmaß inhibierten. Alle bestimmten IC_{50} -Werte lagen zwischen 1.33 μ M und 5.75 μ M. Dennoch konnten auch einige Tendenzen gefunden werden. Die einfachste Struktur (**65**) mit einem unsubstituierten endständigen Benzamid-Ring (Ring A) wies einen IC_{50} -Wert von 3.20 μ M am humanen GPR17 auf. Eine Einführung eines Substituenten in den Ring führte nur zu einer unwesentlichen Veränderung der inhibitorischen Wirksamkeit. Alle folgenden Substituenten hatten in der *m*-Position des Benzamid-Rings einen vergleichbaren Einfluss auf die antagonistische Aktivität am humanen GPR17: CH₃ (**4**, IC_{50} = 1.92 μ M), Cl (**74**, IC_{50} = 3.00 μ M), H (**65**, IC_{50} = 3.20 μ M), CF₃ (**69**, IC_{50} = 3.88 μ M), Br (**78**, IC_{50} = 4.18 μ M) und F (**73**, IC_{50} = 4.62 μ M). Lediglich ein zu großer Substituent in dieser Position wurde schlechter (OCH₃, **72**, IC_{50} \leq 10 μ M) bzw. gar nicht (CO-CH₂-CH₃, **71**, IC_{50} > 10 μ M) toleriert. Vergleich man das Substitutionsmuster am Benzamid-Ring der Verbindungen **76** (*o*-Cl, IC_{50} = 1.67 μ M), **74** (*m*-Cl, IC_{50} = 3.00 μ M) und **75** (*p*-Cl, IC_{50} = 3.37 μ M) miteinander, so wurde deutlich, dass eine *ortho*-Substitution etwas günstiger für eine Inhibition am Rezeptor war als eine *meta*- und *para*-Substitution. Der vergleichbare Einfluss einer *meta*- und *para*-Substitution auf die antagonistische Aktivität war auch beim Betrachten der Verbindungen **4** (*m*-CH₃, IC_{50} = 1.92 μ M) und **66** (*p*-CH₃, IC_{50} = 1.33 μ M) erkennbar. Eine Dichlorsubstitution am Benzamid-Ring führte auch zu keiner Erhöhung der inhibitorischen Aktivität am GPR17 gegenüber einer Monosubstitution (vgl. **77**, *m,p*-di-Cl, IC_{50} = 3.33 μ M mit **74**, *m*-Cl, IC_{50} = 3.00 μ M und **75**, *p*-Cl, IC_{50} = 3.37 μ M).

Im Gegensatz zu den Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen P2Y₂-Rezeptor wurde eine *meta*-Substitution am Ring B gut toleriert. Die Metanilsäure-Derivate waren

äquipotent wie die entsprechenden Sulfanilsäure-Analoga am humanen GPR17 (vgl. **81**, *m*-Cl (Ring A), *m*-Substitution (Ring B), $IC_{50} = 2.32 \mu\text{M}$ mit **74**, *m*-Cl (Ring A), *p*-Substitution (Ring B), $IC_{50} = 3.00 \mu\text{M}$ und **82**, *p*-Cl (Ring A), *m*-Substitution (Ring B), $IC_{50} = 3.06 \mu\text{M}$ mit **75**, *p*-Cl (Ring A), *p*-Substitution (Ring B), $IC_{50} = 3.37 \mu\text{M}$). In Übereinstimmung mit den Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen P2Y₂-Rezeptor war eine Nitrogruppe in *meta*-Position des Rings C günstiger als in *para*-Position (vgl. **4**, *m*-NO₂, $IC_{50} = 1.92 \mu\text{M}$ mit **67**, *p*-NO₂, $IC_{50} \geq 10 \mu\text{M}$).

Das Ersetzen des Sulfonsäureester-Linkers in **4** durch eine hydrolytisch stabilere Sulfonamid-Funktion (**89**) wurde gut toleriert und führte nur zu einer Verringerung der inhibitorischen Wirksamkeit um den Faktor 3 (vgl. Sulfonamid **89**, $IC_{50} = 5.75 \mu\text{M}$ mit **4**, $IC_{50} = 1.92 \mu\text{M}$). Am humanen P2Y₂-Rezeptor führte ein Sulfonamid-Linker zum Verlust der antagonistischen Wirksamkeit. Für die Sulfonamid-Derivate war eine Methylgruppe in *m*-Position des Benzamid-Rings (Ring A) günstiger als in *p*-Position (vgl. **90**, *p*-CH₃, $IC_{50} > 10 \mu\text{M}$ mit **4**, *m*-CH₃, $IC_{50} = 1.92 \mu\text{M}$) während für die Sulfonsäureester-Derivate kein Unterschied beobachtet werden konnte. Alle dargestellten Suramin-Derivate, die zwei Carbonsäureamid-Funktionen als Linker aufwiesen (**99** – **106**), waren wie schon am humanen P2Y₂-Rezeptor inaktiv. Von den Harnstoff-Derivaten **107** – **112** war nur **107** mit einer endständigen Methylester-Funktion am humanen GPR17-Rezeptor aktiv. Diese Verbindung wies einen IC_{50} -Wert von $4.07 \mu\text{M}$ am Rezeptor auf.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine neue Klasse von GPR17-Antagonisten entwickelt werden konnte. Sie wiesen IC_{50} -Werte im niedrigen mikromolaren Bereich auf. In Abb. 3.10 wurden die Struktur-Wirkungsbeziehungen der Suramin-Derivate am humanen GPR17 zusammengefasst. In Zukunft sollten weitere Sulfonamid- und Harnstoff-Derivate dargestellt werden, da sie gegenüber den Sulfonsäureester-Derivaten, welche nur als *m*-Nitrophenylester hinreichend stabil waren, eine große Vielfalt an Modifikationen zu lassen. In den Ring C könnte eine Vielzahl von unterschiedlichen Substituenten, wie z. B. lipophile Gruppe (Halogene, Alkylgruppen) und polare Gruppen (Hydroxyl-, Amino-, Carbonsäureamid- und Nitrilgruppen), eingeführt werden. Eine Carbonsäure-Funktion am Benzamid-Ring (Ring A) und die Einführung von Heterocyclen könnten günstig für eine hohe inhibitorische Wirksamkeit am GPR17 sein. Viele der in der Literatur beschriebenen GPR17-Liganden weisen

Carbonsäurefunktionen und heterocyclische Strukturen auf, unter anderem auch der im Assay eingesetzte Agonist MDL29,951 (**22**) (siehe auch Kapitel 3.4).¹⁷⁸

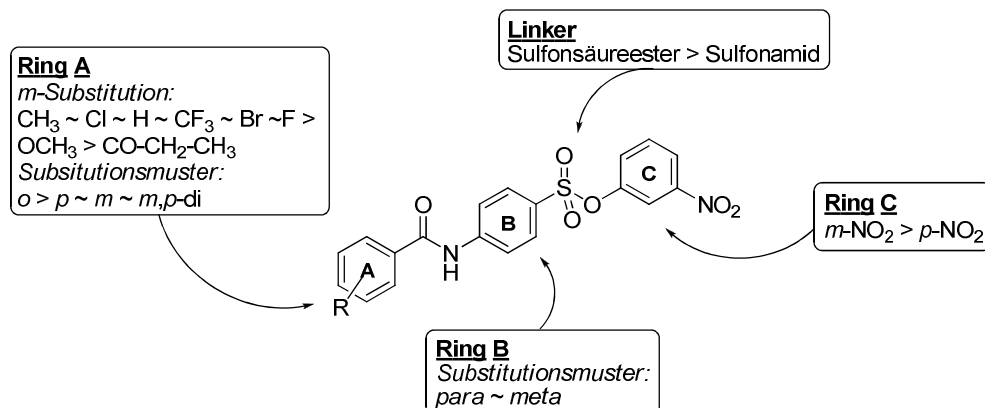


Abb. 3.10. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Suramin-Derivate am humanen GPR17.

3.2.6 Testergebnisse am humanen GPR84

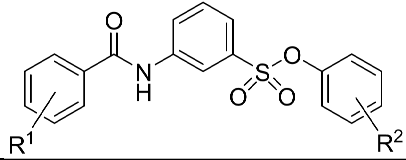
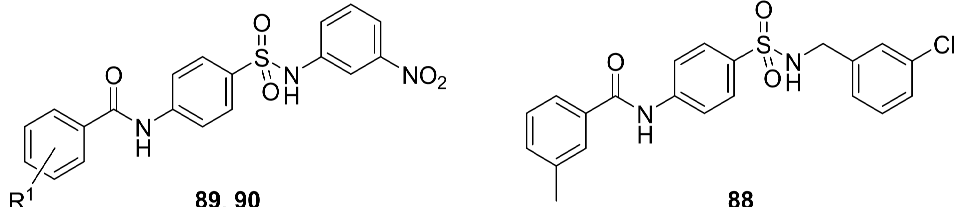
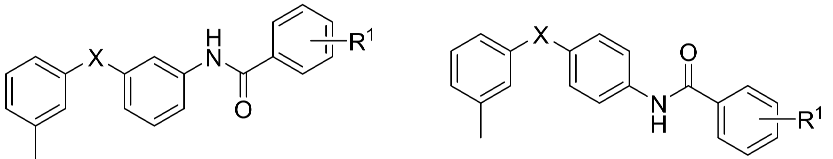
Ausgewählte Suramin-Derivate wurden auch auf ihre inhibitorische Wirksamkeit am humanen GPR84 hin evaluiert (siehe Tabelle 3.9). In cAMP-Akkumulationsexperimenten konnten bisher drei Antagonisten am humanen GPR84 identifiziert werden und zwar die Sulfonsäure-*m*-nitrophenylester **72**, **73** und **75** mit IC₅₀-Werten im niedrigen mikromolaren Bereich. Die potenteste Verbindung war **75** mit einem Chlor-Substituenten in *p*-Position des Benzamidrings, welche einen IC₅₀-Wert von 1.03 μM am humanen GPR84 aufwies. Jedoch inhibierte dieses Sulfonsäureester-Derivat auch den humanen P2Y₂-Rezeptor und GPR17 in vergleichbarem Ausmaß. Die Verbindung **72** mit einem IC₅₀-Wert von 1.48 μM, die eine Methoxygruppe in *m*-Position des Benzamidrings besaß, konnte den P2Y₂-Rezeptor nicht ausreichend bei einer Testkonzentration von 10 μM inhibieren, zeigte aber eine Inhibition von 54 % am humanen GPR17 bei 10 μM. Damit war diese Verbindung der bisher potenteste GPR84-Antagonist in dieser Serie mit einer schwachen Selektivität gegenüber anderen Rezeptoren. Struktur-Wirkungsbeziehungen konnte bisher noch nicht am GPR84 aufgestellt werden, da zu wenige Daten vorliegen.

In β-Arrestin-Rekrutierungsexperimenten konnten weitere GPR84-Antagonisten identifiziert werden, jedoch mit IC₅₀-Werten in der Regel im zweistelligen Bereich. Acht Verbindungen zeigten bei einer Testkonzentration von 20 μM eine Inhibition von >50 %, von denen für vier Derivate ein IC₅₀-Wert bestimmt werden konnte.

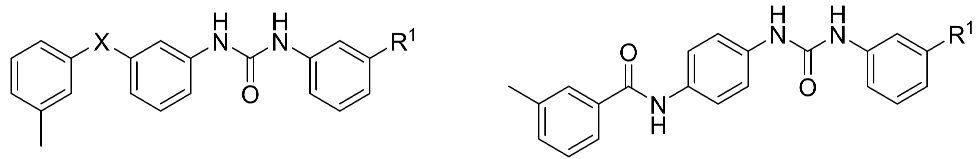
Tabelle 3.9. Inhibitionswerte und Affinität von Suramin-Derivaten an den humanen Rezeptoren GPR84, GPR18, GPR55, CB₁ und CB₂

Verbg.	Substitutionsmuster				hGPR84		hGPR18	hGPR55	hCB ₁	hCB ₂
	R ¹		R ²		<i>cAMP</i> - Akkumulations- assay	<i>β</i> -Arrestin- Rekrutierungs-assay	<i>β</i> -Arrestin- Rekrutierungs- assay	<i>β</i> -Arrestin- Rekrutierungs- assay	Radioligand- bindungsassay	Radioligand- bindungsassay
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>		IC ₅₀ ± SEM (μM) ^a (% Inhibition) ^g (n = 2-4)	IC ₅₀ ± SEM (μM) ^b (% Inhibition) ^g (n = 2-4)	IC ₅₀ ± SEM (μM) ^c (% Inhibition) ^f (n = 2)	IC ₅₀ ± SEM (μM) ^d (% Inhibition) ^f (n = 2)	K _i ± SEM (μM) ^e (% Inhibition) ^f (n = 2)	K _i ± SEM (μM) ^e (% Inhibition) ^f (n = 2)
65	H	H	H	<i>m</i> -NO ₂	>20 (0)	< 20 (63)^f	>10 (26±4)	>10 (39±6)	>10 (-3±22)	< 10 (85±2)
4	H	CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	>20 (0)	>20 (8)	>10 (35±3)	≥10 (45±14)	>10 (14±15)	< 10 (97±3)
66	H	H	CH ₃	<i>m</i> -NO ₂	>20 (0)	< 20 (77)^f	>10 (29±3)	>10 (14±9)	n.d.	n.d.
67	H	CH ₃	H	<i>p</i> -NO ₂	>20 (0)	>20 (45)	>10 (0±7)	>10 (28±12)	n.d.	n.d.
69	H	CF ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (34±21)	>10 (12±9)	>10 (6±32)	< 10 (85±5)
70	H	CO-CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (-1±10)	>>10 (1±15)	n.d.	n.d.
71	H	CO-CH ₂ - CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (-9±5)	>>10 (-4±10)	n.d.	n.d.
72	H	OCH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	1.48 ± 0.27	>20 (41)	>10 (37±6)	>10 (32±14)	>10 (22±14)	< 10 (103±28)
73	H	F	H	<i>m</i> -NO ₂	4.64 ± 1.19	34.3 ± 5.1	>10 (32±13)	>10 (38±16)	n.d.	n.d.
74	H	Cl	H	<i>m</i> -NO ₂	> 20 (36)	35.6 ± 15.2	>10 (25±5)	≥10 (43±10)	n.d.	n.d.
75	H	H	Cl	<i>m</i> -NO ₂	1.03 ± 0.23	8.95 ± 3.0	>10 (23±9)	≥10 (46±9)	n.d.	n.d.
76	Cl	H	H	<i>m</i> -NO ₂	>20 (4)	>20 (33)	>10 (17±7)	≤10 (58±9)	n.d.	n.d.
77	H	Cl	Cl	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	≤10 (54±15)	>10 (39±9)	≤10 (48±11)	< 10 (91±13)
78	H	Br	H	<i>m</i> -NO ₂	>20 (2)	>20 (41)	>10 (31±12)	>10 (43±9)	≤10 (55±11)	< 10 (95±11)

Fortsetzung Tabelle 3.9

										
79	H	CH ₃	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.d.	n.d.
80	H	F	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (20±10)	>10 (10±15)	n.d.	n.d.
81	H	Cl	H	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (29±11)	>10 (25±17)	>10 (0±13)	n.d.
82	H	H	Cl	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	≥10 (48±11)	>10 (20±11)	>10 (19±5)	< 10 (85±5)
										
					89, 90		88			
89	H	CH ₃	H	-	>20 (0)	28.9 ± 5.3	>10 (35±5)	6.94 ± 3.88	>10 (0±2)	≥10 (47±11)
90	H	H	CH ₃	-	>20 (2)	<20 (66)^f	>>10 (0±9)	>10 (30±8)	n.d.	n.d.
88					>20 (0)	≤20 (59)	>>10 (-12±7)	>10 (11±8)	n.d.	n.d.
										
					99-102			103-106		
		X	R¹							
99		CO-NH	<i>m</i> -NO ₂		n.b.	n.b.	>>10 (5±9)	>>10 (8±15)	n.b.	n.b.
100		CO-NH	<i>p</i> -NO ₂		n.b.	n.b.	>>10 (-8±3)	n.b.	n.b.	n.b.

Fortsetzung Tabelle 3.9

Verbg.	X	R ¹	hGPR84		hGPR18	hGPR55	hCB ₁	hCB ₂
			IC ₅₀ ± SEM (μM) ^a (% Inhibition) ^g	IC ₅₀ ± SEM (μM) ^b (% Inhibition) ^g	IC ₅₀ ± SEM (μM) ^c (% Inhibition) ^f	IC ₅₀ ± SEM (μM) ^d (% Inhibition) ^f	K _i ± SEM (μM) ^e (% Inhibition) ^f	K _i ± SEM (μM) ^e (% Inhibition) ^f
101	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (10±3)	>>10 (6±13)	n.b.	n.b.
102	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (10±10)	n.b.	n.b.	n.b.
103	CO-NH	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>>10 (4±11)	>>10 (-15±16)	n.b.	n.b.
104	CO-NH	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (13±3)	>>10 (-21±14)	n.b.	n.b.
105	NH-CO	<i>m</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (18±1)	>>10 (-5±12)	n.b.	n.b.
106	NH-CO	<i>p</i> -NO ₂	n.b.	n.b.	>10 (24±2)	n.b.	n.b.	n.b.
			109, 112					
	X	R ¹						
107	CO-NH	CO ₂ CH ₃	n.b.	n.b.	>>10 (-14±7)	n.b.	n.b.	n.b.
110	CO-NH	CO ₂ H	n.b.	n.b.	>>10 (-8±11)	n.b.	n.b.	n.b.
108	NH-CO	CO ₂ CH ₃	n.b.	n.b.	>10 (10±26)	n.b.	n.b.	n.b.
111	NH-CO	CO ₂ H	n.b.	n.b.	>>10 (-5±11)	n.b.	n.b.	n.b.
109	-	CO ₂ CH ₃	n.b.	n.b.	>>10 (-3±4)	>>10 (-4±12)	n.b.	n.b.
112	-	CO ₂ H	n.b.	n.b.	>>10 (-6±13)	>>10 (-29±4)	n.b.	n.b.

Die Testungen wurden bei einer Konzentration von ^f10 oder ^g20 μM durchgeführt. Die humanen Rezeptoren GPR84, GPR18, GPR55 wurden in CHO-β-Arrestin-Zellen stabil exprimiert. Es wurde die Inhibition des Effektes gemessen, der durch ^a20 μM Decansäure, ^b20 μM Embelin, ^c10 μM THC oder ^d1 μM LPI (jeweils ~ EC₈₀) induziert wurde. ^eAffinitäten wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von 0.1 nM [³H]CP55,940 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den hCB₁- oder hCB₂-Rezeptor rekombinant exprimieren, bestimmt. ^fEine vollständige Konzentration-Inhibitionskurve konnte aufgrund der schlechten Löslichkeit der Verbindung nicht aufgenommen werden.

Bei den anderen Verbindungen war es aus Löslichkeitsproblemen bei hohen Konzentrationen nicht möglich einen IC_{50} -Wert zu ermitteln. Der potenteste Antagonist in diesem Assay war das Sulfonsäureester-Derivat **75** mit einem IC_{50} -Wert von $8.95 \mu\text{M}$, welches auch in cAMP-Akkumulationsexperimenten die höchste Inhibition am Rezeptor zeigte. Die inhibitorische Aktivität von **73** am GPR84 konnte auch in diesem Assay bestätigt werden. Es war auffällig, dass die im β -Arrestin-Rekrutierungsassay ermittelten IC_{50} -Werte durchschnittlich um den Faktor 9 höher waren als die aus cAMP-Akkumulationsexperimenten bestimmten Werte. Dies kann damit erklärt werden, dass bei β -Arrestin-Rekrutierungsassays eine vollständige Besetzung aller Rezeptoren notwendig ist, während in cAMP-Akkumulationsassays nicht alle Rezeptoren besetzt werden müssen um einen Maximaleffekt zu bewirken.

In cAMP-Akkumulationsassays konnten neben den Sulfonsäureestern **65**, **66** und **74** auch die Sulfonamide **89**, **90** und **88** als schwache Antagonisten am GPR84 identifiziert werden. Diese Verbindungen zeigten in β -Arrestin-Rekrutierungsexperimenten keine Inhibition am Rezeptor.

Um Aussagen über Struktur-Wirkungsbeziehungen treffen und eventuell weitere Optimierungen vornehmen zu können, um eventuell potentere GPR84-Antagonisten zu entwickeln, müssen noch weitere Suramin-Derivate in beiden Assays getestet werden. Da bisher noch keine Antagonisten für den noch wenig erforschten GPR84 in der Literatur beschrieben sind, ist es von großem Interesse potente GPR84-Antagonisten zu identifizieren.

3.2.7 Testergebnisse an den humanen Waisen-Rezeptoren GPR18 und GPR55

Zur Bestimmung der Selektivität wurden die dargestellten Suramin-Derivate auch in β -Arrestin-Rekrutierungsexperimenten an den Waisen-Rezeptoren GPR18 und GPR55 getestet (siehe Tabelle 3.9). Von den 34 untersuchten Verbindungen zeigten zwei Derivate eine Inhibition von ca. 50 % am humanen GPR18 bei einer Testkonzentration von $10 \mu\text{M}$ und zwar die Sulfonsäureester-Derivate **77** und **82**. Es handelte sich dabei zum einen um ein Sulfanilsäure-Derivat mit einer *m,p*-Dichlorsubstitution am Benzamid-Ring (**77**) und zum anderen um eine Metanilsäure-Derivat mit einem

Chloratom in *p*-Position des Benzamid-Rings (**82**). Mit diesen zwei Ausnahmen waren die untersuchten Suramin-Derivate inaktiv am humanen GPR18.

Am humanen GPR55 zeigten vier Verbindungen eine Inhibition von ca. 50 % und höher. Dabei handelte es sich um die Sulfonsäure-*m*-nitrophenylester **4**, **75** und **76** und das Sulfonamid **89**. Bei den drei Sulfonsäurerester-Derivaten handelte es um die potentesten P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten in dieser Serie, die auch den GPR17 in vergleichbarem Ausmaß inhibierten. Für das Sulfonamid **89** konnte ein IC₅₀-Wert von 6.94 µM bestimmt werden. Diese Verbindung war selektiv gegenüber den untersuchten P2Y-Rezeptoren, inhibierte jedoch den GPR17 und den GPR84, aber nur im β-Arrestin-Rekrutierungsassay.

3.2.8 Testergebnisse an den Cannabinoid-Rezeptoren

In Radioligand-Bindungsassays wurde die Affinität ausgewählter Suramin-Derivate an den Cannabinoid-Rezeptoren CB₁ und CB₂ untersucht (siehe Tabelle 3.9). Zwei der neun getesteten Verbindungen waren gering affin am CB₁-Rezeptor mit einem K_i-Wert von ca. 10 µM. Dabei handelte es sich um die Sulfonsäureester-Derivate **77** und **78** mit einer *m,p*-Dichlorsubstitution bzw. einer *m*-Monobromsubstitution am endständigen Benzamid-Ring. Überraschenderweise zeigten bei einer Testkonzentration von 10 µM acht der neun getesteten Suramin-Derivate eine hohe Affinität am CB₂-Rezeptor (>90 %). Kompetitionskurven müssen noch aufgenommen werden. Um weitere Aussagen treffen zu können, müssen die restlichen Suramin-Derivate auch am CB₂-Rezeptor getestet werden. Es scheint aber, dass alle oder der Großteil der Sulfonsäureester-Derivate eine hohe Affinität am humanen CB₂-Rezeptor zeigen, obwohl die CB-Rezeptoren mit den P2Y-Rezeptoren phylogenetisch kaum verwandt sind, außer dass sie zur Rhodopsin-Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren gehören.⁴

3.2.9 Zusammenfassung der Testergebnisse

Ausgehend von der Leitstruktur SW0402-1 (**4**) wurden verschiedene Sulfonsäureester, Sulfonamide, Harnstoff- und Carbonsäureamid-Derivate dargestellt. Mit den Sulfonsäure-*m*-nitrophenylestern konnten wir eine neue Klasse von P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten mit IC₅₀-Werten im niedrigen mikromolaren Bereich identifizieren. Die Verbindung **76** stellte eine der potentesten Antagonisten in dieser Serie dar, die selektiv gegenüber den P2Y-Rezeptorsubtypen hP2Y₁, hP2Y₄, rP2Y₆ und hP2Y₁₁ war. Diese

neuartigen P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten waren auch selektiv gegenüber den Enzymen des Purin-Signaltransduktionswegs, und zwar gegenüber der Alkalischen Phosphatase, den NTPDasen 1, 2 und 3 und der NPP1. Der Großteil der Sulfonsäureester-Derivate stellt auch Antagonisten am humanen Waisen-Rezeptor GPR17 mit ebenfalls IC₅₀-Werten im niedrigen mikromolaren Bereich dar. Zu den potentesten Verbindungen an diesem Rezeptor zählen die Sulfonsäureester **66**, **76** und **4**. Im Gegensatz zu den Ergebnissen am humanen P2Y₂-Rezeptor waren auch das hydrolytisch stabilere Sulfonamid-Derivat **89** und das Harnstoff-Derivat **107** am humanen GPR17 mit IC₅₀-Werten von 5.75 µM bzw. 4.07 µM aktiv. Unter den Sulfonsäureester- und Sulfonamid-Derivaten konnten auch Antagonisten am humanen Waisen-Rezeptor GPR84 identifiziert werden. Am potentesten waren die Verbindungen **72** und **75** mit IC₅₀-Werten von 1.48 µM bzw. 1.03 µM. Besonders für den GPR84 ist es von großem Interesse potente Antagonisten zu finden, da bisher noch keine für diesen Rezeptor in der Literatur beschrieben waren. Alle Suramin-Derivate, mit Ausnahme der Sulfonsäureester **77** und **82** waren selektiv gegenüber dem humanen Waisen-Rezeptor GPR18. Beide Verbindungen zeigten bei einer hohen Testkonzentration von 10 µM eine Inhibition von ca. 50 %. Drei Sulfonsäureester-Derivate inhibierten auch in geringem Ausmaß (zu ca. 50 % bei einer Testkonzentration von 10 µM) den humanen Waisen-Rezeptor GPR55, und zwar die Sulfonsäureester **4**, **75** und **76**, die auch zu den potentesten Antagonisten am humanen P2Y₂-Rezeptor zählten. Abschließend wurden mit ausgewählten Suramin-Derivaten auch Radioligand-Bindungsexperimenten an den CB-Rezeptoren durchgeführt. Am CB₁-Rezeptor zeigten nur die Sulfonsäureester-Derivate **77** und **78** mit K_i-Werten von ca. 10 µM eine geringe Affinität. Überraschenderweise waren alle untersuchten Sulfonsäureester-Derivate hochaffin am CB₂-Rezeptor. Jedoch müssen erst noch Kompetitionskurven aufgenommen werden, um genauere Aussagen treffen zu können.

Betrachtet man die Ergebnisse, so ist doch sehr überraschend, dass der Großteil der Suramin-Derivate, insbesondere der Sulfonsäureester-Derivate, mehrere Targets anspricht, obwohl ein Teil der untersuchten Targets nur fern phylogenetisch miteinander verwandt ist. In Abb. 3.11 sind die phylogenetischen Beziehungen zwischen den Rezeptoren dargestellt.

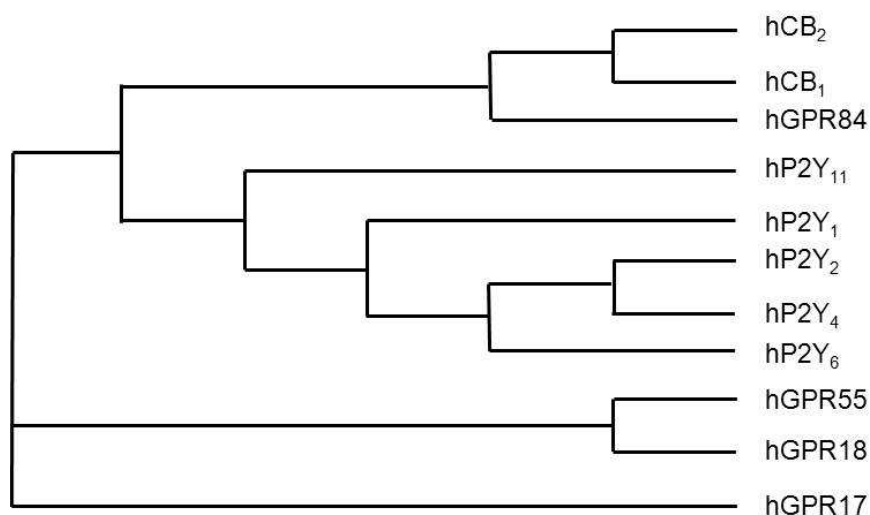


Abb. 3.11. Phylogenetischer Baum. Dieser wurde in modifizierter Form erstellt mit Clustal Omega 1.2.0^{285, 286} nach Sequenzabgleich der P2Y- und CB-Rezeptoren und der Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR18, GPR55 und GPR84 unter Verwendung der FASTA-Sequenzen von NP_002554, NP_788086, NP_002556, NP_001264134, NP_002557, NP_001153698, NP_001832, EAW95337, AAH66927, ACI96303, ACI96305.

Der P2Y₄-Rezeptor ist der nächste Verwandte des P2Y₂-Rezeptors und somit am ähnlichsten. Aber keines der Suramin-Derivate war in der Lage diesen Rezeptor zu inhibieren. Auch wenn es aus der Abbildung nicht hervorgeht, befindet sich der GPR17 zwischen den CysLT- und P2Y-Rezeptoren und ist damit phylogenetisch nah verwandt mit dem P2Y₂-Rezeptor. Dies ist besser im phylogenetischen Baum von R. Fredriksson et al. zu erkennen.⁴ Daher ist es nicht überraschend, dass die Sulfonsäureester-Derivate auch den GPR17 inhibieren könnten aufgrund von eventuellen Gemeinsamkeiten in der Bindungstasche. Jedoch ist es sehr interessant, dass einige Verbindungen auch den GPR84 inhibieren und die untersuchten Suramin-Derivate am CB₂-Rezeptor binden, obwohl der Rezeptor zwar auch zur Rhodopsin-Familie gehört, aber nicht zur gleichen Unterfamilie, und zwar zur α - und nicht zur δ -Unterfamilie. Der GPR18, GPR55 und die CB-Rezeptoren haben die Gemeinsamkeit, dass sie von Cannabinoiden aktiviert werden können.^{142, 162}

Es wurde in Betracht gezogen, dass die Suramin-Derivate nicht an die Rezeptoren, sondern an die G-Proteine binden, da bereits in der Literatur die Inhibition von G-Proteinen durch Suramin-Analoga beschrieben wurde.^{287, 288} Dies sollte aber ausgeschlossen werden, wenn man bedenkt, dass die Verbindungen in Assays aktiv waren, die auf unterschiedlichen Signaltransduktionswegen (G_q-, G_i- und β -Arrestin-Signaltransduktionsweg) basieren.

In der Regel möchte man einen Arzneistoff entwickeln, der eine hohe Affinität zu einem therapeutischen Target mit hoher Selektivität gegenüber anderen Targets hat, um eine maximale Wirksamkeit mit minimalen Nebenwirkungen zu erzielen. Jedoch kann die therapeutische Wirksamkeit verbessert und Wirkstoff-Resistenzen unterbunden werden, indem Arzneistoffe auch an mehrere krankheitsrelevante Targets binden.²⁸⁹ Somit muss es noch nicht von Nachteil sein, dass die Suramin-Derivate mehrere Targets ansprechen. Bisher konnte jedoch noch keine eindeutige Erklärung dafür gefunden werden, warum die Suramin-Derivate an so unterschiedliche Targets binden. Es müssen weitere Untersuchungen durchgeführt und die restlichen Verbindungen noch an allen Targets getestet werden.

3.3 Darstellung substituierter Chromen-4-on-2-carbonsäuren als potentielle Liganden verschiedener Waisen-Rezeptoren

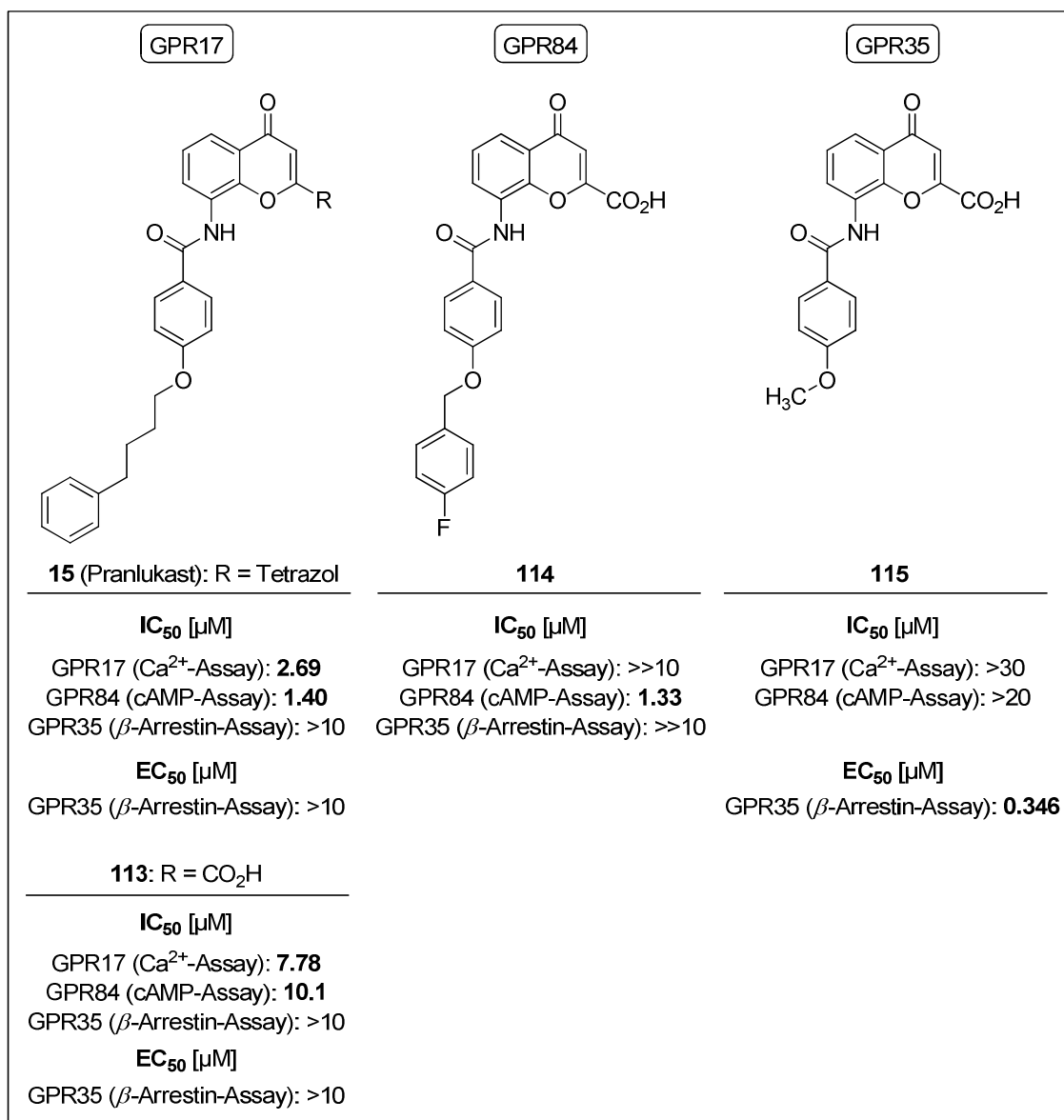
3.3.1 Einleitung

Wie bereits in Kapitel 1.4.2 erläutert wurde, stellt der Waisen-Rezeptor GPR17 ein vielversprechendes Target zur Entwicklung neuer Arzneistoffe dar. Pranlukast (**15**), ein bereits als Antiasthmikum auf dem japanischen Markt erhältlicher CysLT₁-Rezeptor-Antagonist, inhibiert auch den verwandten Rezeptor GPR17 im mikromolaren Bereich (siehe Schema 3.11).²⁹⁰⁻²⁹² Aus diesem Grund wurde Pranlukast als Leitstruktur für unterschiedliche Modifikationen gewählt, um neue GPR17-Antagonisten zu entwickeln. In Schema 3.12 sind durchgeführte Variationen abgebildet. Zum einen wurde in der 2-Position des Benzopyran-4-on-Grundgerüsts die Tetrazolgruppe durch eine bioisostere Carbonsäure ersetzt. Zum anderen wurde die Elektronendichte des Benzopyranon-Ringes durch Einführung von Halogenatomen in der 6-Position modifiziert. Des Weiteren wurde die lange lipophile Seitenkette in der 8-Position durch andere lipophile Reste variiert, indem über die Etherfunktion unterschiedlich lange *n*-Alkyl-, Cycloalkyl- und Arylalkylgruppen gebunden wurden. Abschließend wurde der Amid-Linker durch eine Harnstoff-, Thioharnstoff- oder Sulfonamidfunktion ersetzt, um erweiterte Struktur-Wirkungsbeziehungen am GPR17 untersuchen zu können.

Die Synthese von Pranlukast ist in der Literatur mehrfach beschrieben.²⁹³⁻²⁹⁶ Eine mögliche Strategie, welche auch eine umfangreiche Modifikation der Leitstruktur zulässt, ist in Schema 3.13 abgebildet. Zum einen wird von dem 4-Hydroxybenzoesäuremethylester ausgegangen, welcher in einer Williamson-Ether-Synthese mit 4-Phenylbutylchlorid umgesetzt und anschließend hydrolysiert wird. Zum anderen kann das 8-Amino-2-tetrazolylchromen-4-on durch eine Ringschluss- und Reduktionsreaktion aus dem entsprechenden 2'-Hydroxy-3'-nitroacetophenon gewonnen werden. Anschließend wird die Säure mit einem passenden Kupplungsreagenz an das Amin zum entsprechenden Amid gebunden. Mit Hilfe dieser Variante können leicht andere Alkyloxybenzamido-Reste eingeführt werden, indem das 4-Phenylbutylchlorid durch andere Alkylhalogenide ersetzt wird. Des Weiteren können

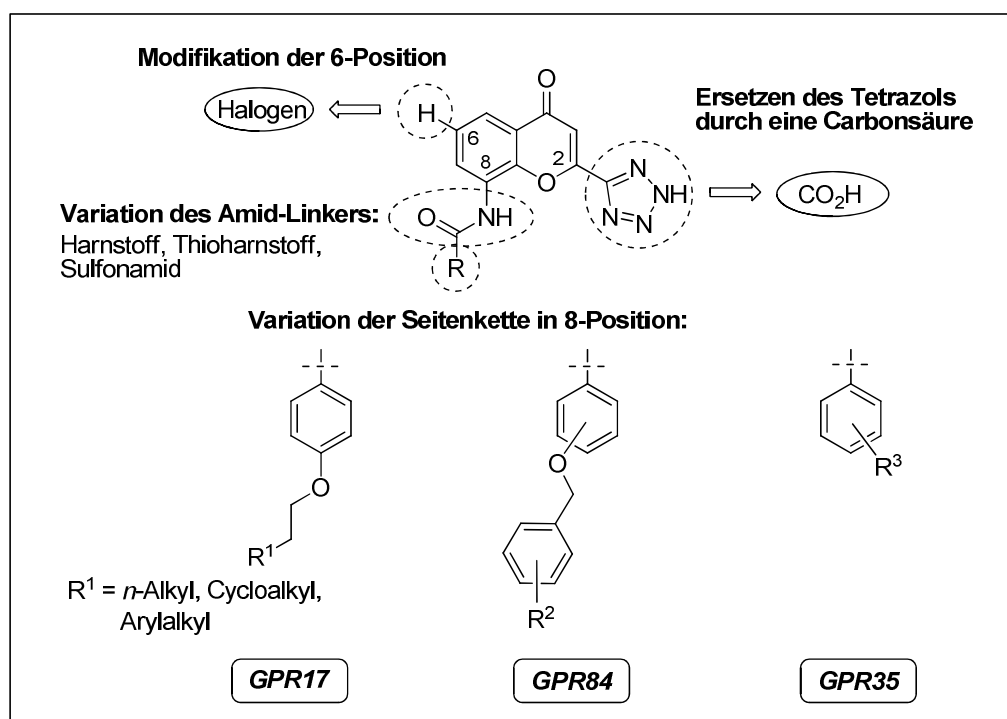
verschiedene kommerziell erhältliche Säure-Derivate eingesetzt und an das Amin gekuppelt werden. 2'-Hydroxy-3'-nitroacetophenone mit verschiedenen Halogenatomen in 5'-Position sind ebenfalls kommerziell erhältlich und ermöglichen damit die Variation in der 6-Position des Chromen-4-onrings. Chromen-4-on-2-carbonsäuren können dargestellt werden, indem das Acetophenon-Derivat mit Diethyloxalat umgesetzt wird wie von R. Griera beschrieben.²⁹⁷ Im letzten Schritt muss jedoch noch der Ethylester mit einer geeigneten Methode hydrolysiert werden.

Schema 3.11. Chromen-4-on-Derivate als Leitstrukturen für die Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR84 und GPR35. Die IC_{50} -Werte wurden am humanen GPR17 gegen den Agonisten MDL29,951 (**22**, 1 μ M im Ca^{2+} -Assay), am humanen GPR84 gegen Decansäure (**39**, 20 μ M im cAMP-Assay) und am humanen GPR35 gegen Zaprinast (**28**, 5 μ M im β -Arrestin-Assay) bestimmt.^{178, 291}



Im Rahmen dieser Arbeit wurden die bereits für den GPR17 entwickelten Chromen-4-on-2-carbonsäuren auch an den Waisen-Rezeptoren GPR84 und GPR35 getestet. Dabei zeigte sich, dass die am GPR17 inaktive Verbindung **114** den humanen GPR84 im unteren mikromolaren Bereich inhibiert ($IC_{50} = 1.33 \mu M$, siehe Schema 3.11). Daher wurde **114** als Leitstruktur zur Entwicklung von GPR84-Antagonisten ausgewählt. Dies ist von großem Interesse, da bisher, wie in Kapitel 1.4.5 bereits erläutert, noch keine Antagonisten für diesen noch wenig erforschten Rezeptor publiziert wurden. Wie in Schema 3.12 dargestellt ist, wurden gezielt Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit einem substituierten Benzyloxybenzamido-Rest in 8-Position synthetisiert. Des Weiteren wurde, wie für den GPR17, die 6-Position durch Einführung von Halogenatomen variiert und der Amid-Linker modifiziert.

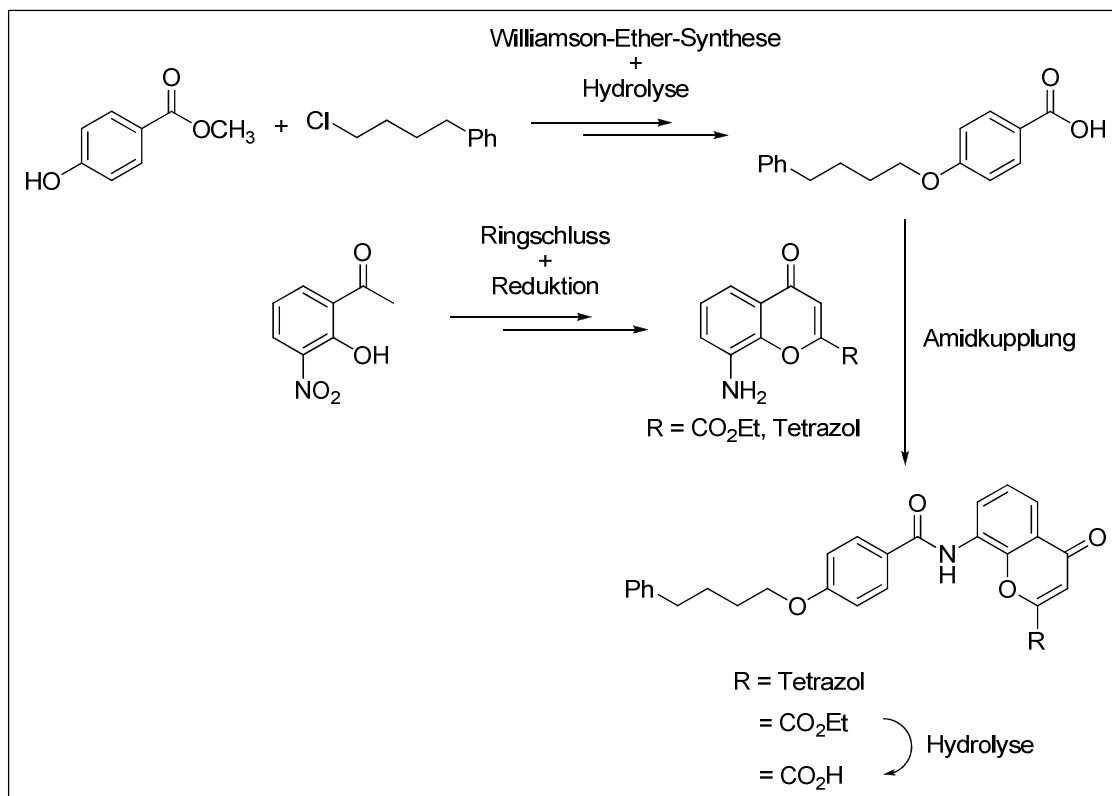
Schema 3.12. Durchgeführte Modifikationen am Chromen-4-on-Grundgerüst



Da das Grundgerüst der dargestellten Chromen-4-on-2-carbonsäuren dasselbe wie in dem GPR35-Agonisten Cromoglicinsäure ist, wurden die Verbindungen ebenfalls als potentielle Agonisten in β -Arrestin-Assays am GPR35 untersucht. Die Verbindung **115** mit einem kurzen 4-Methoxybenzamido-Rest in der 8-Position wies einen EC_{50} -Wert von 346 nM am humanen GPR35 auf (siehe Schema 3.11). Gleichzeitig zeigte die Verbindung keine signifikante inhibitorische Aktivität an den beiden anderen Waisen-Rezeptoren. Daher diente **115** als ideale Leitstruktur zur Entwicklung neuer potenter und selektiver GPR35-Agonisten. Dazu wurden zahlreiche Modifikationen an dem

Benzamido-Rest durchgeführt, wie in Schema 3.12 dargestellt. Außerdem wurden, wie für die beiden anderen Rezeptoren, der Amid-Linker und die 6-Position durch Einführung von Halogenatomen variiert.

Schema 3.13. Strategie zur Synthese von Pramlukast und des entsprechenden Säure-Analoges

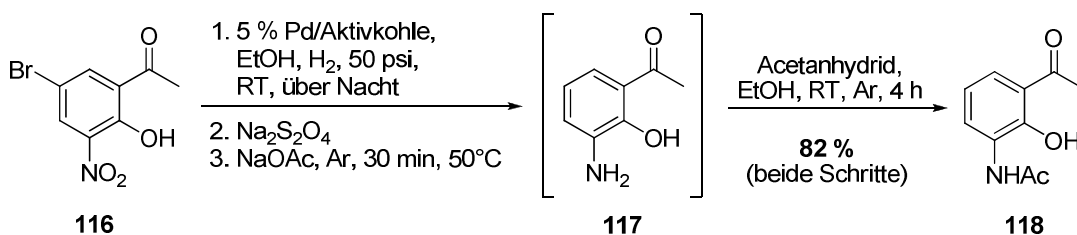


3.3.2 Synthesen

3.3.2.1 Aufbau des Benzopyran-4-on-Ringsystems

Im ersten Schritt zur Darstellung der 8-Amidochromen-4-on-Verbindungen musste der Benzopyran-4-on-Ring aufgebaut werden. Dazu wurde, wie in Schema 3.14 dargestellt, in Anlehnung an die Literaturvorschriften von T. Akama²⁹⁸ und H. Murata²⁹⁹ 5'-Brom-2'-hydroxy-3'-nitroacetophenon (**116**) mit H₂ unter Anwesenheit von Pd/C (5 %) als Katalysator über Nacht zum 3'-Amino-2'-hydroxyacetophenon-Hydrobromid reduziert.

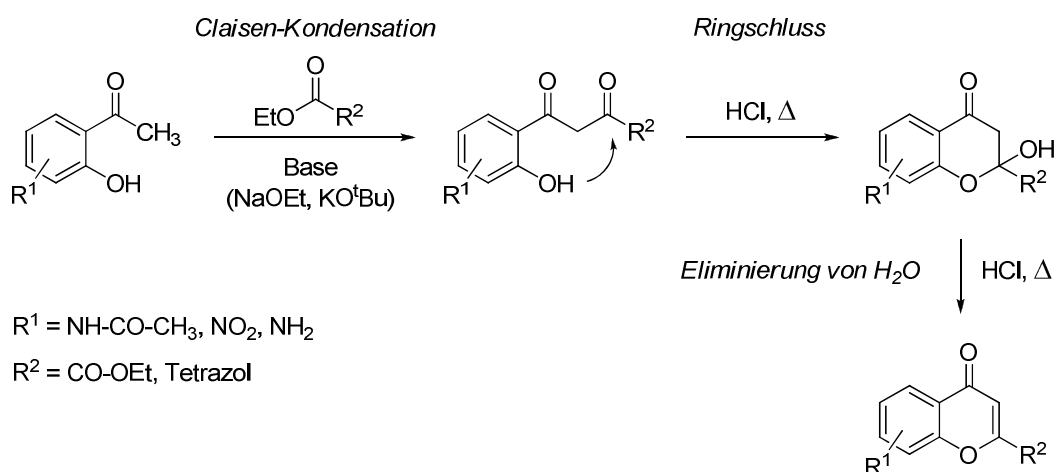
Schema 3.14. Darstellung von *N*-(3-Acetyl-2-hydroxyphenyl)acetamid (**118**)



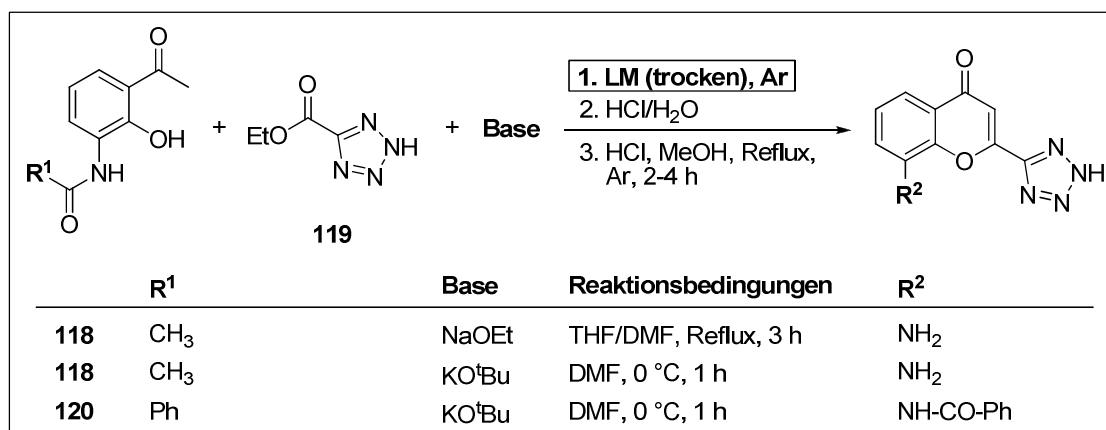
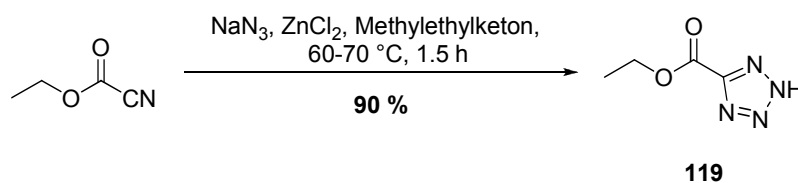
Durch anschließende Zugabe von Natriumacetat bei 50 °C konnte das freie Amin **117** isoliert werden. Da **117** sehr oxidationsempfindlich ist, wurde abweichend von den Literaturvorschriften direkt nach Beendigung der Reduktion eine gesättigte, wässrige Lösung des starken Reduktionsmittels Natriumdithionit zugegeben, wodurch eine schnelle Oxidation verhindert werden konnte. Durch weitere Umsetzung mit Acetanhydrid bei Raumtemperatur für vier Stunden konnte das *N*-(3-Acetyl-2-hydroxyphenyl)acetamid (**118**) in einer sehr guten Gesamtausbeute von 82 % gewonnen werden.

Die weiteren Schritte zum Aufbau des Benzopyran-4-on-Grundgerüsts umfassen eine Claisen-Kondensation unter basischen Bedingungen mit anschließender Cyclisierung und Eliminierung von Wasser im Sauren (siehe Schema 3.15). In Anlehnung an die Reaktionsbedingungen von G. Geen²⁹⁵ wurde, wie in Schema 3.16 dargestellt, versucht, **118** mit 5-(Ethoxycarbonyl)tetrazol (**119**) zur Reaktion zu bringen. Weder unter Verwendung von Natriumethylat als Base in einem Lösungsmittelgemisch aus THF und DMF unter Rückfluss für drei Stunden noch mit Kalium-*tert*-butylat in DMF bei 0 °C für eine Stunde erfolgte nach Erhitzen im sauren Milieu eine Umsetzung zum gewünschten Benzopyran-4-on. Die Verbindung **117** konnte als Hydrochlorid neben der Ausgangsverbindung **118** zurück gewonnen werden.

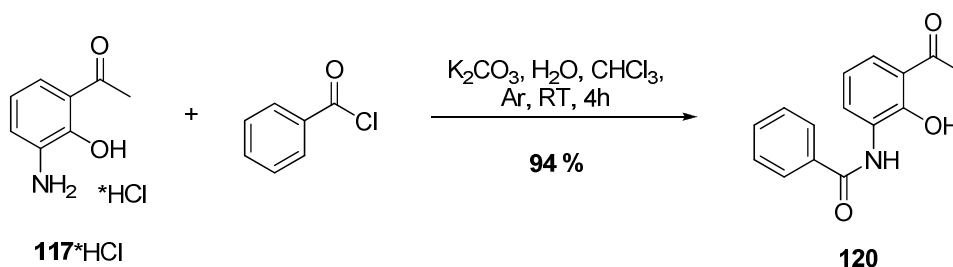
Schema 3.15. Aufbau des Benzopyran-4-on-Rings



Um das Tetrazol **119** zu erhalten, wurde Cyanomethansäureethylester einer Literatursynthese entsprechend mit Natriumazid und Zinn(II)-chlorid in Methyläthylketon bei 60 – 70 °C für 1.5 Stunden erhitzt (siehe Schema 3.17).³⁰⁰ Da das Acetophenon **118** nicht mit **119** umgesetzt werden konnte, wurde das Benzamid **120** dargestellt, welches auch in der Publikation von G. Geen²⁹⁵ eingesetzt wurde.

Schema 3.16. Darstellung von 2-Tetrazolylbenzopyran-4-onen – Variation der Reaktionsbedingungen**Schema 3.17.** Darstellung von Tetrazol-5-carbonsäureethylester (**119**)

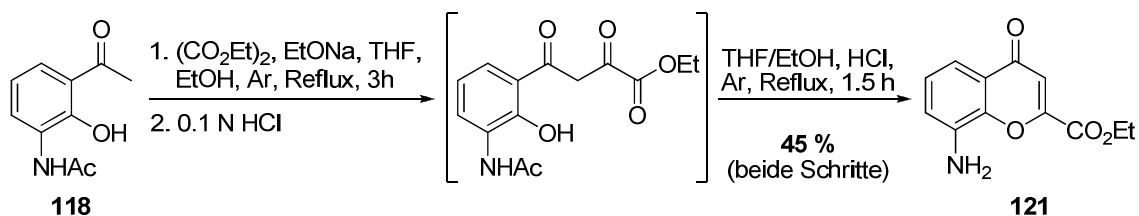
In Schema 3.18 ist die Reaktion von **117***HCl mit Benzoylchlorid in Anwesenheit von Kaliumcarbonat als Base in einem Chloroform-Wasser-Gemisch bei Raumtemperatur zu **120**²⁹⁶ veranschaulicht. Jedoch konnte auch das Acetophenon **120** unter den von G. Geen beschriebenen Bedingungen²⁹⁵ nicht in das entsprechende Benzopyran-4-on überführt werden (siehe Schema 3.16). Dadurch konnten auch bisher keine 8-Amido-2-tetrazolylchromen-4-one synthetisiert werden.

Schema 3.18. Darstellung von *N*-(3-Acetyl-2-hydroxyphenyl)benzamid

Um 8-Amidochromen-4-on-2-carbonsäuren darzustellen, wurde **118** in einer Claisen-Kondensation nach der Literaturvorschrift von R. Griera²⁹⁷ mit Diethyloxalat in Anwesenheit von Natriumethanolat als Base in EtOH in einer Argon-Atmosphäre refluxiert (siehe Schema 3.19). Durch Ansäuern konnte die entsprechende Dicarboxylverbindung isoliert werden, welche anschließend mit Salzsäure in einem THF-Ethanol-Gemisch unter Rückfluss erhitzt wurde. Dabei erfolgte die Cyclisierung

unter gleichzeitiger Abspaltung von Wasser und Spaltung des Acetamids zum Benzopyran-4-on **121**³⁰¹, welches in einer moderaten Gesamtausbeute von 45 % gewonnen werden konnte.

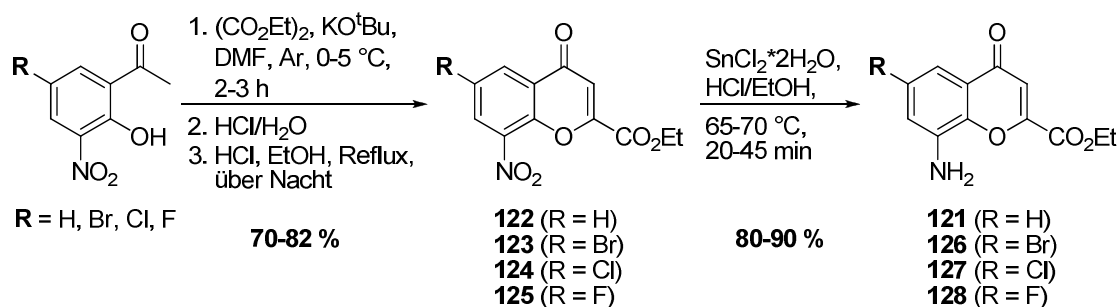
Schema 3.19. Darstellung des 8-Aminochromen-4-on-2-carbonsäureethylesters (**121**)



Da das Amin **121** eine sehr wichtige Zwischenstufe dargestellte und daher in großen Mengen für unter anderem zahlreiche Amidkupplungen benötigt wurde (siehe Kapitel 3.3.2.3), aber die Gesamtausbeute ausgehend von **116** relativ schlecht war, wurde nach einer alternativen Synthesestrategie gesucht.

Ausgehend von 2'-Hydroxy-3'-nitroacetophenon konnte basierend auf den oben beschriebenen Reaktionsbedingungen von G. Geen für Pranlukast-Derivate der entsprechende 8-Nitrochromen-4-on-2-carbonsäureethylester (**122**)^{293, 302} erfolgreich in einer guten Ausbeute von 70 % hergestellt werden (siehe Schema 3.20).

Schema 3.20. Darstellung der (6-Halogeno)-8-aminochromen-4-on-2-carbonsäureethylester



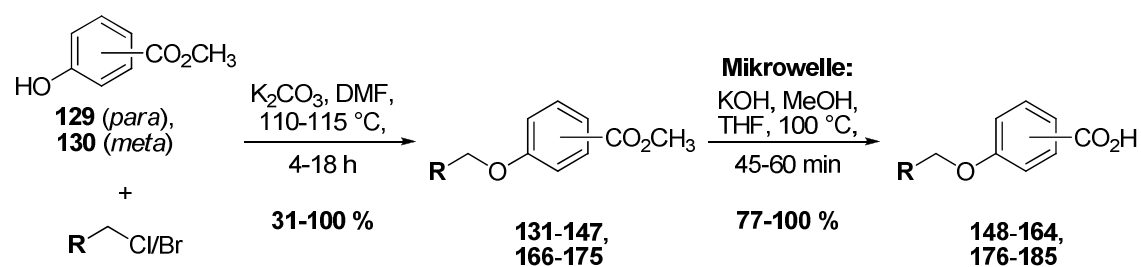
Weiterhin ermöglichte diese Methode eine leichte Einführung von Halogenatomen in 6-Position des Chromen-4-on-Rings, da die zur Reaktion benötigten Acetophenone kommerziell erhältlich waren. Die entsprechenden 6-Halogen-8-nitrochromen-4-on-2-carbonsäureethylester **123** – **125** wurden in guten bis sehr guten Ausbeuten von 71 – 82 % dargestellt, wobei Verbindung **123**^{303, 304} bereits in der Literatur unter Verwendung abweichender Reaktionsbedingungen beschrieben wurde. Im nächsten Schritt wurden die Nitrogruppen, wie in Schema 3.20 veranschaulicht, mit Zinn(II)-chlorid in einem Gemisch von verdünnter Salzsäure und Ethanol bei 65 – 70 °C nach C.

Raposo reduziert.³⁰¹ Die entsprechenden Amin-Derivate **121**³⁰¹ (R = H), **126**³⁰³ (R = Br), **127** (R = Cl) und **128** (R = F) konnten in sehr guten bis exzellenten Ausbeuten von 80 – 90 % gewonnen werden. LC-MS-Analysen zeigten, dass gegenüber den anderen Verbindungen (t = 20 min) eine deutlich längere Zeit von 45 min notwendig war, um die Nitrogruppe der Fluorverbindung **125** vollständig zu reduzieren. Diese deutliche Herabsetzung der Reaktivität aufgrund der stark elektronenziehenden Eigenschaften eines Fluoratoms konnte auch bei der Umsetzung der Amin-Verbindung **128** mit Säurechloriden beobachtet werden (siehe Kapitel 3.3.2.3).

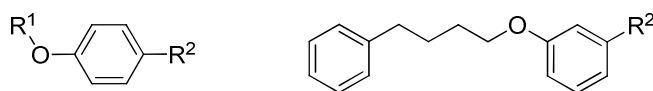
3.3.2.2 Darstellung alkylierter Benzoessäuren

Um die Struktur-Wirkungs-Beziehungen für 8-Amidochromen-4-on-2-carbonsäuren an den Waisen-Rezeptoren untersuchen zu können, sollte an der 8-Position eine möglichst heterogene Serie an Substituenten eingeführt werden. Daher wurde eine große Anzahl alkylierter Benzoessäuren synthetisiert, um diese in einer Amidkupplungsreaktion an den Chromen-4-on-Ring zu binden (siehe Kapitel 3.3.2.3). Während speziell für den GPR17 Benzoessäuren mit langen *n*-Alkyloxy-, Cyclohexylalkyloxy- und Arylalkyloxy-Seitenketten in *para*-Position synthetisiert wurden (siehe Tabelle 3.10), war die Darstellung substituierter Benzyloxybenzoessäuren für den GPR84 von großem Interesse (siehe Tabelle 3.11).

Schema 3.21. Darstellung alkylierter Benzoessäuren über Williamson-Ether-Synthese mit anschließender Hydrolyse



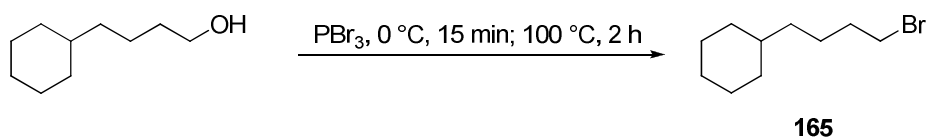
Um die alkylierten Benzoessäuren zu erhalten, wurde der 3- oder 4-Hydroxybenzoessäuremethylester (**130** bzw. **129**) mit den entsprechenden Alkylhalogeniden in einer Williamson-Ether-Synthese, wie in Schema 3.21 dargestellt, zur Reaktion gebracht. Dazu wurden die Reaktionsbedingungen von H. Hibino gewählt.³⁰⁵ Die Umsetzung erfolgte unter Anwesenheit von Kaliumcarbonat als Base in DMF bei 110 – 115 °C für vier bis 18 Stunden in größtenteils exzellenten Ausbeuten (siehe Tabelle 3.10 und Tabelle 3.11).

Tabelle 3.10. Ausbeuten von Alkyloxybenzoesäuren und ihrer Methylester**147, 164**

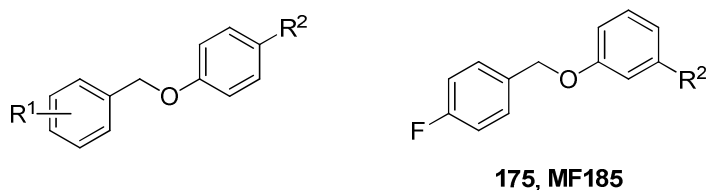
R¹	Ester R ² = CO ₂ CH ₃	Ausbeute^a (%)	Säure R ² = CO ₂ H	Ausbeute^a (%)
<i>n</i> -Propyl	131 ³⁰⁶	99	148 ³⁰⁷	95
<i>n</i> -Butyl	132 ³⁰⁸	99	149 ³⁰⁷	100
<i>n</i> -Pentyl	133 ³⁰⁹	96	150 ³⁰⁷	87
<i>n</i> -Hexyl	134 ³¹⁰	100	151 ³⁰⁷	98
<i>n</i> -Heptyl	135 ³¹¹	100	152 ³⁰⁷	98
4-Methylpentyl	136	97	153 ³¹²	92
Cyclopropylmethyl	137 ³¹³	78	154 ³¹⁴	98
2-Cyclohexylethyl	138	97	155 ³¹⁵	97
3-Cyclohexylpropyl	139 ³¹⁶	99	156 ³¹⁷	94
4-Cyclohexylbutyl	140	97 ^b	157	94
2-Phenylethyl	141 ³¹⁸	31	158 ²⁹⁴	96
3-Phenylpropyl	142 ³¹⁹	91 ^c	159 ²⁹⁴	97
4-Phenylbutyl	143 ³²⁰	87	160 ²⁹⁴	81
3-(4-Methoxyphenyl)propyl	144	76	161	88
3,3-Dimethyl-2-oxobutyl	145	96	162	93
2-Morpholinyl	146 ³²¹	100	163 ³²¹	98
Struktur: siehe oben	147	98	164 ³²²	92

^a Isolierte Ausbeute. ^b Alkylbromid wurde selber, wie in Schema 3.22 veranschaulicht, hergestellt. Es ist die Gesamtausbeute von beiden Schritten angegeben. ^c Verbindung wurde mit NaH in THF/DMF (Reflux, 6 h) synthetisiert.

Das nicht kommerziell erhältliche 4-Cyclohexylbutylbromid (**165**) wurde, wie in Schema 3.22 abgebildet, aus 4-Cyclohexylbutan-1-ol mit Phosphortribromid nach der Literaturvorschrift von C.-H. Lin³²³ dargestellt und ohne weitere Charakterisierung mit **129** zu **140** in einer Gesamtausbeute von 97 % umgesetzt.

Schema 3.22. Darstellung von 4-Cyclohexylbutylbromid (**165**)

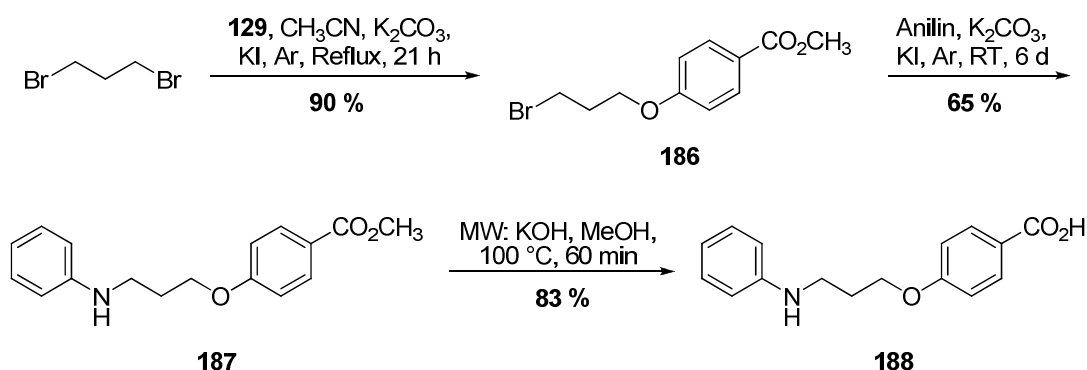
Die Verbindung **142** wurde abweichend von der oben beschriebenen Methode durch die Umsetzung von **129** und 3-Phenylpropylbromid mit Natriumhydrid in einem THF-DMF-Gemisch unter Rückfluss für sechs Stunden in einer exzellenten Ausbeute von 91 % gewonnen.

Tabelle 3.11. Ausbeuten substituierter Benzyloxybenzoesäuren und ihrer Methylester

Substitutionsmuster			Ester	Ausbeute	Säure	Ausbeute
R ²			R ² = CO ₂ CH ₃	(%)	R ² = CO ₂ H	(%)
<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>				
H	H	H	166 ³²⁴	95	176 ³²⁵	95
H	H	F	167 ³²⁶	98	177 ³²⁷	92
H	H	Cl	168 ³²⁸	86	178 ³²⁹	99
H	H	Br	169 ³²⁹	85	179 ³²⁹	77
H	H	CH ₃	170 ³²⁶	90	180 ³²⁹	95
H	H	CF ₃	171 ³³⁰	87	181 ³³¹	98
H	F	H	172 ³³²	99	182 ³¹⁷	94
H	Br	H	173 ³³³	94	183 ³³³	99
F	H	H	174 ³³⁴	97	184 ³³⁴	96
Struktur: siehe oben			175 ³²⁷	86	185 ³²⁷	93

^a Isolierte Ausbeute.

Im zweiten Schritt wurden die Methylester **131** – **147** und **166** – **175** in einer Mikrowellen-unterstützten Reaktion mit Kaliumhydroxid in einem Methanol-THF-Gemisch bei 100 °C in einem Zeitraum von 45 bis 60 Minuten zu den entsprechenden Benzoesäuren **148** – **164** und **176** – **185** hydrolysiert (Schema 3.21). Die Ausbeuten lagen, wie in Tabelle 3.10 und Tabelle 3.11 zusammengefasst, durchschnittlich bei 95 %. Damit konnten die dargestellten Benzoesäuren in einer wesentlich kürzeren Zeit in hoher Ausbeute gewonnen werden als größtenteils in der Literatur beschrieben.

Schema 3.23. Darstellung von 4-(3-(Phenylamino)propoxy)benzoesäure (**188**)

In Anlehnung an eine Literaturvorschrift von D. Rosenbaum³³⁵ wurde **129** und 1,3-Dibrompropan mit Kaliumcarbonat als Base und Kaliumiodid als Katalysator in Acetonitril für 21 Stunden refluxiert um die Brom-Verbindung **186**³³⁶ in einer sehr

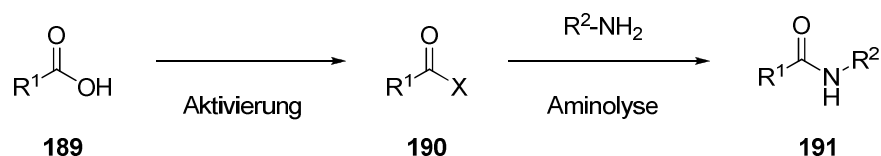
guten Ausbeute zu erhalten, welche eine zusätzliche Variation der Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts ermöglichte. Durch Substitutionsreaktionen könnten verschiedene Alkylamine, Aniline und Phenole eingeführt werden. Schema 3.23 beschreibt die Darstellung von **186** und die Weiterreaktion mit Anilin unter Anwesenheit von Kaliumcarbonat und Kaliumiodid bei Raumtemperatur. Das Produkt **187** konnte in einer ausreichenden Ausbeute von 65 % gewonnen werden. Im letzten Schritt wurde der Methylester in einer Mikrowellen-unterstützten Reaktion mit Kaliumhydroxid, wie zuvor beschrieben, zu **188** hydrolysiert. Die Ausbeute betrug 83 %.

Somit konnte eine große Anzahl substituierter Benzoesäuren dargestellt werden, welche mit dem Chromen-4-on-Grundgerüst gekuppelt werden konnten (siehe Kapitel 3.3.2.3). Neben lipophilen Resten, wie *n*-Alkylketten ($n = 3 - 7$), Cyclohexylalkyl- ($n = 2 - 4$), Phenylalkyl- ($n = 2 - 4$) und substituierter Benzyl-Reste konnten u. a. auch polare Gruppen, wie ein Morpholin-Rest und ein sekundäres Amin, in die Seitenkette eingeführt werden. Für die dargestellten Verbindungen **157**, **161**, **162** und **188** sowie die Methylester **140**, **144**, **145**, **147** und **187** sind bisher noch keine Synthesen bzw. analytischen Daten in der Literatur beschrieben.

3.3.2.3 Amidkupplung zu 8-Amidochromen-4-oncarbonsäureethylestern

Die im Kapitel 3.3.2.2 beschriebenen Benzoesäuren sollten an die Aminogruppen der 8-Aminochromen-4-on-2-carbonsäureethylestern **121** und **126 – 128** (siehe Kapitel 3.3.2.1) gekuppelt werden. Dazu gibt es prinzipiell eine Reihe von Synthesemöglichkeiten.^{293, 297, 337} Bei der Darstellung von Carbonsäureamiden (**191**) wird, wie in Schema 3.24 abgebildet, die Säurekomponente **189** in der Regel in einem ersten Schritt aktiviert (**190**) um anschließend an die Aminoverbindung zu kuppeln, da Carbonsäuren erst unter relativ drastischen Bedingungen (160 – 180 °C) als Salze mit Aminen kondensiert werden können.

Schema 3.24. Allgemeine Strategie zur Darstellung von Amididen



Zur Aktivierung einer Carbonsäure wurden mehrere Strategien entwickelt, wobei man generell zwischen der Bildung von Acylhalogeniden, Acylaziden, Acylimidazolen, Anhydriden und Estern unterscheidet (siehe Schema 3.25).³³⁷

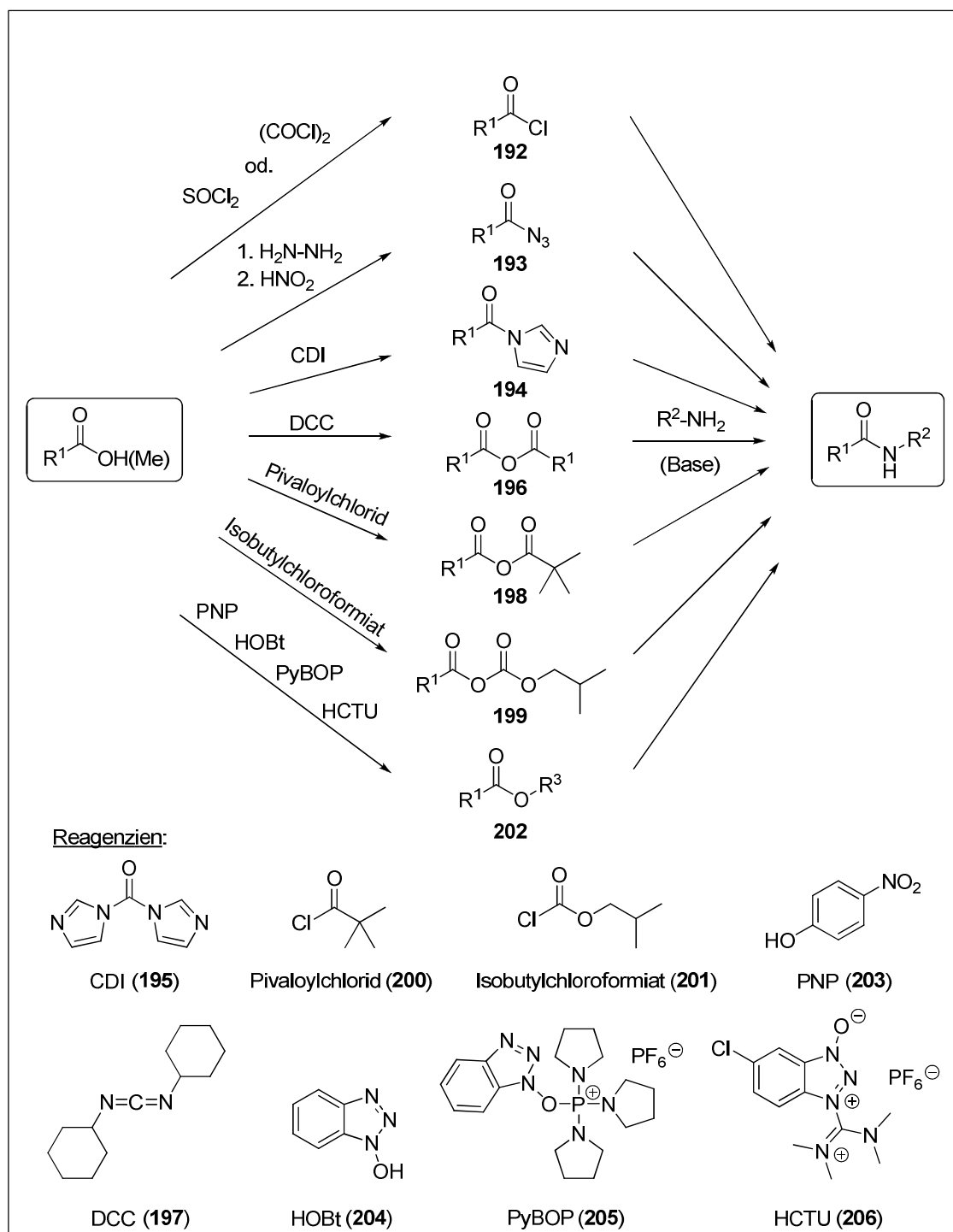
Die Bildung von Acylhalogeniden, insbesondere von Acylchloriden (**192**), ist eine relativ einfache Methode, bei der im ersten Schritt die Carbonsäure mit Thionylchlorid, Oxalylchlorid, Phosphortrichlorid, Phosphoroxychlorid oder Phosphorpentachlorid zum entsprechenden Säurechlorid reagiert. Meistens wird auch ein Tropfen DMF zugegeben, welches als Katalysator fungiert. Im zweiten Schritt reagiert das Acylchlorid mit der Aminkomponente unter Anwesenheit eines nicht-nucleophilen, tertiärenamins (z.B. Diisopropylethylamin oder Triethylamin), welches das entstehende HCl abfängt.

Eine der zuerst entwickelten Methoden zur Darstellung von Peptiden verläuft über Acylazide (**193**), welche aus dem entsprechenden Methylester mit Hydrazin und salpetriger Säure hergestellt werden. Es ist eine effiziente Kupplungsmethode, bei der jedoch die Curtius-Umlagerung als Nebenreaktion statt finden kann, die zu einem Isocyanat führen würde.

Acylimidazole (**194**) lassen sich in einer kurzen Reaktionszeit von circa einer Stunde mit Carbonylimidazol (CDI, **195**) synthetisieren und können im Ein-Pott-Verfahren ohne weitere Aufreinigung direkt mit dem Amin zum entsprechenden Amid umgesetzt werden. Von Vorteil ist, dass keine zusätzliche Base benötigt wird und die Amine als Hydrochloride eingesetzt werden können.

Weiterhin lassen sich Carbonsäuren als symmetrische oder gemischte Anhydride aktivieren. Symmetrische Anhydride (**196**) werden durch Reaktion von zwei Molekülen Säure mit einem Äquivalent Dicyclohexylcarbodiimid (DCC, **197**) erhalten und können ohne zusätzliche Base mit dem Amin zum entsprechenden Amid weiterreagieren. Ein Nachteil ist, dass nur die Hälfte der eingesetzten Säure zum Amid umgesetzt wird. Diese Verluste werden bei einer Aktivierung als gemischte Anhydride (**198** und **199**) vermieden. Als Reagenz wird üblicherweise entweder ein Carbonsäurechlorid, wie z.B. Pivaloylchlorid (**200**), oder ein Chlorameisensäureester (z.B. Isobutylchloroformat (**201**)) eingesetzt. Eine selektive Aminolyse wird bei einem gemischten Carbonsäureanhydrid (**198**) durch den sterischen Effekt der *tert*-Butyl-Gruppe und bei einem gemischten Kohlensäureanhydrid (**199**) durch die funktionell unterschiedlichen Carbonyl-Kohlenstoffatome begünstigt.

Schema 3.25. Methoden zur Darstellung von Carbonsäureamiden

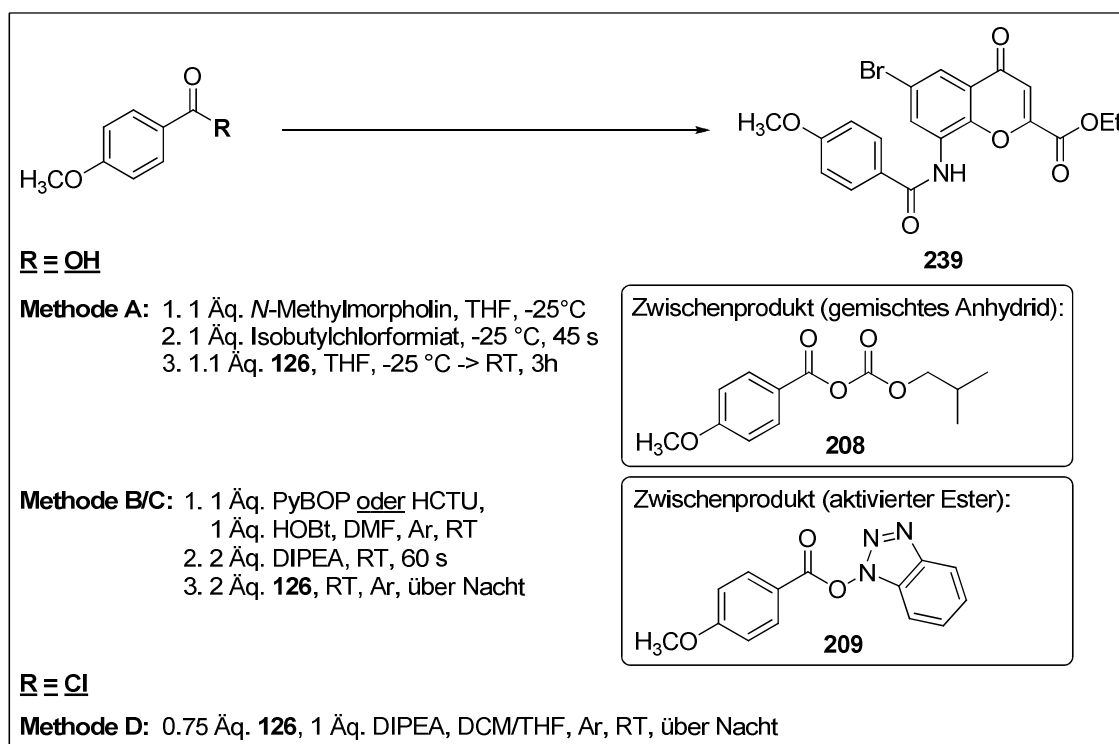


Zur Aktivierung von Carbonsäuren als Ester (**202**) findet man die größte Vielfalt an Kupplungsreagenzien. Das Carbonyl-Kohlenstoffatom soll dabei durch elektronenziehende Reste für einen nucleophilen Angriff des Amins aktiviert werden. Ausgewählte Beispiele für Kupplungsreagenzien sind *p*-Nitrophenol (PNP, **203**), 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt, **204**), das Phosponiumsalz (Benzotriazol-1-yl-oxy)tripyrrolidinophosphonium-Hexafluorophosphat (PyBOP, **205**) und das Uronium-

salz O-(6-Chlorbenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HCTU, **206**). Die beiden letzt genannten Reagenzien vereinigen die Vorteile der hohen Reaktivität des aktivierten Esters mit der Möglichkeit, die Bildung des Esters und die Aminolyse in einem Schritt durchzuführen.

Im Fall der Chromen-4-on-Derivate wurden am Beispiel der Reaktion von *p*-Methoxybenzoesäure (**207**) mit dem Amin **126** verschiedene Methoden ausprobiert, um die optimalen Reaktionsbedingungen für die Amidkupplung herauszufinden. Wie in Schema 3.26 zu erkennen ist, wurden die Methode des gemischten Anhydrids (Methode A), zwei Varianten der Esteraktivierung (Methoden B und C) und die Aktivierung durch Acylchloride (Methode D) untersucht.

Schema 3.26. Variation der Reaktionsbedingungen der Amidkupplungsreaktion



Bei der Methode des gemischten Anhydrids wurde **207** mit Isobutylchloroformiat (**201**) in der Gegenwart von *N*-Methylmorpholin als Base in THF bei -25 °C in das gemischte Anhydrid (**208**) überführt. Dieses wurde anschließend mit dem Amin **126** bei -25 °C und weitere drei Stunden bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht. Die Reaktion wurde zweimal durchgeführt, es konnte jedoch kein Produkt gewonnen werden. Stattdessen wurden das nicht umgesetzte Amin **126** und das gemischte Anhydrid **208** nach saurer Aufarbeitung und säulenchromatografischer Auftrennung (DCM bzw. DCM/EtOH 95:5) isoliert. Abb. 3.12 zeigt das ¹H-NMR-Spektrum des isolierten

gemischten Anhydrids **208**. Dessen überraschenderweise hohe Stabilität lässt sich eventuell über die Methoxygruppe erklären, die einen positiven mesomeren Effekt über den Benzenring auf die Anhydridfunktion ausübt und diese damit stabilisiert. Hinzu kommt, dass das Anilin-Derivat **126** sterisch gehindert und dessen Basizität durch das Bromatom in 6-Position des Chromen-4-on-Rings herabgesetzt ist, wodurch der nucleophile Angriff am Anhydrid erschwert wird.

In den Methoden B und C wurden zur Aktivierung von **207** die Kupplungsreagenzien PyBOP (**205**) bzw. HCTU (**206**) in Kombination mit HOBt (**204**) eingesetzt. Der aktivierte Ester (**209**) wurde anschließend mit dem Amin **126** in Anwesenheit von DIPEA als Base bei Raumtemperatur umgesetzt. Nach säulenchromatografischer Aufreinigung (EtOAc/Cyclohexan 1:1) konnte das gewünschte Amid jedoch ebenfalls nicht gewonnen werden, sondern es wurde nur nicht umgesetztes Amin **126** und die durch HOBt aktivierte *p*-Methoxybenzoesäure (**209**) erhalten. Der Ester konnte ¹H-NMR-spektroskopisch identifiziert werden (siehe Abb. 3.13). Da es sich bei **209** um eine relativ instabile Zwischenverbindung handelt, ist im ¹H-NMR-Spektrum auch die Zersetzung in die Zerfallsprodukte **207** und **204** zu erkennen. Als mögliche Gründe für die Nicht-Umsetzung desamins mit der als Ester aktivierten Säure sind wieder die zuvor diskutierten zu nennen: die sterische Hinderung und zu geringe Basizität bzw. damit verbundene reduzierte Nucleophilie desamins.

Bei der vierten Methode wurde statt der Säure das entsprechende kommerziell erhältliche Säurechlorid verwendet, welches eine sehr hohe Aktivität besitzt, aber sterisch nicht so anspruchsvoll wie die bisher besprochenen aktivierten Säuren ist, wodurch ein nucleophiler Angriff durch das weniger reaktive Amin erleichtert sein sollte. Dazu wurde **207** im Überschuss mit dem Amin **126** in Anwesenheit von DIPEA als Hilfsbase in einem DCM-THF-Gemisch (6:1) in einer Argon-Atmosphäre über Nacht zur Reaktion gebracht. Das gewünschte Amid konnte in einer sehr guten Ausbeute von 89 % gewonnen werden. Daher wurde diese Variante der Aktivierung von Säuren für alle weiteren Amidkupplungen verwendet.

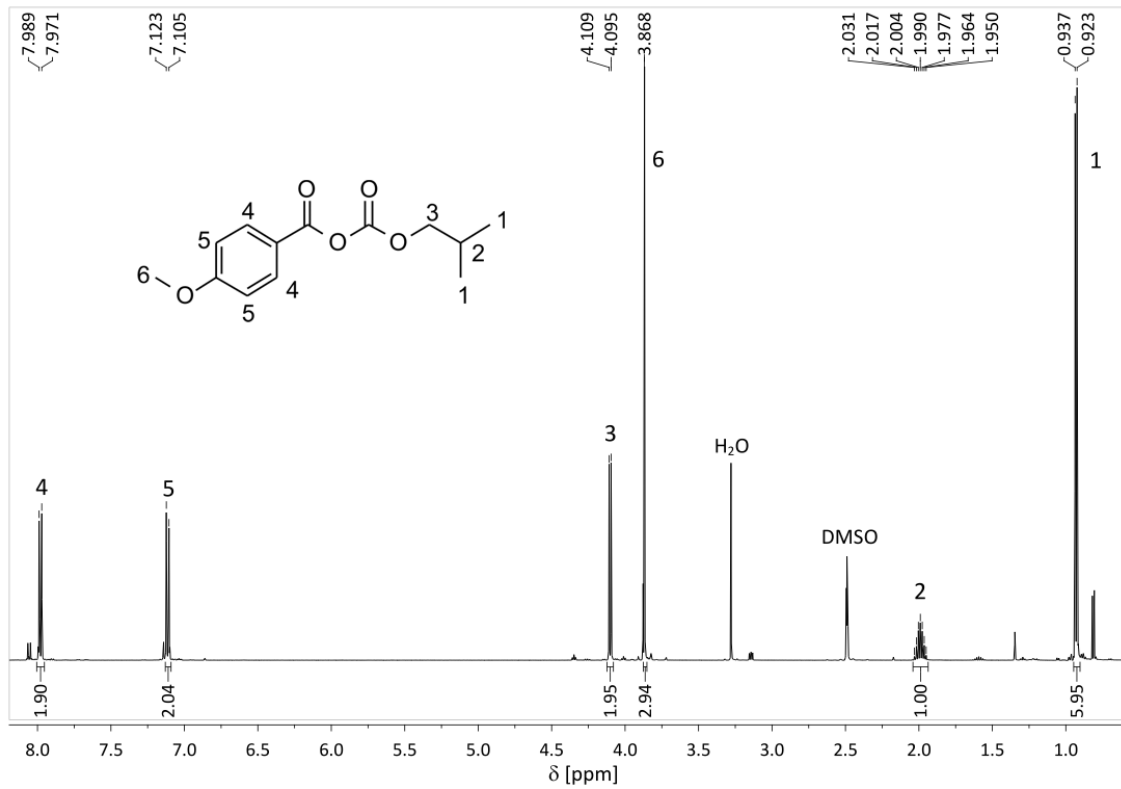


Abb. 3.12. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des gemischten Anhydrids **208** in $\text{DMSO-}d_6$.

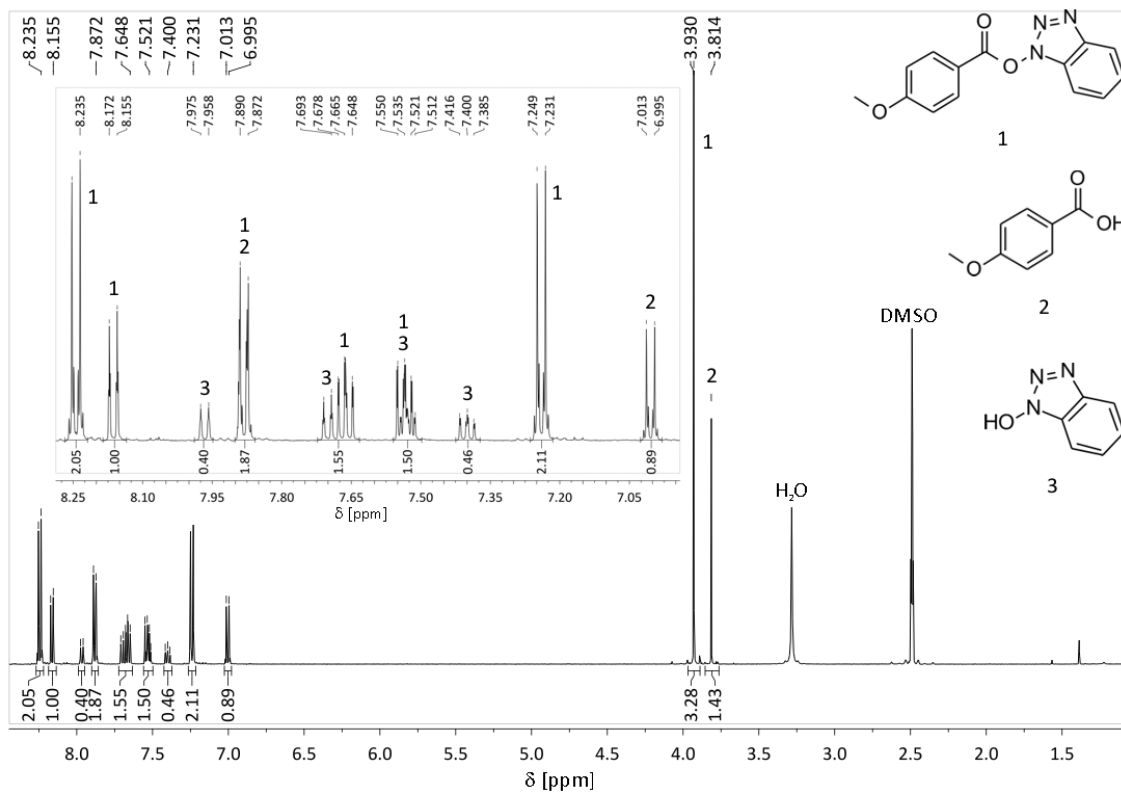
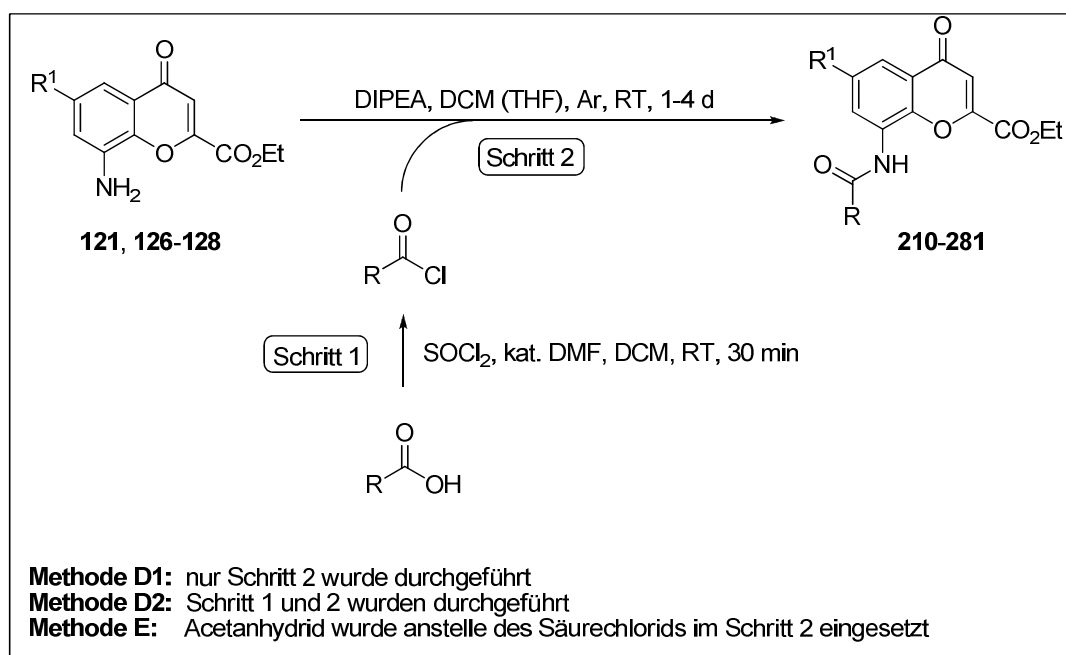


Abb. 3.13. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eines Gemisches aus dem aktivierten Ester **209** (1) und dessen Zerfallsprodukte **207** (2) und HOBT (3) in $\text{DMSO-}d_6$.

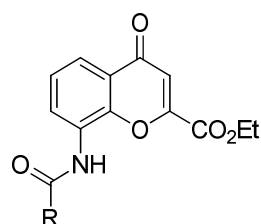
In einem ersten Schritt wurden die im Kapitel 3.3.2.2 beschriebenen alkylierten Benzoessäure-Derivate und kommerziell erhältliche Säuren mit Thionylchlorid in Gegenwart von DMF als Katalysator in DCM bei Raumtemperatur innerhalb von 30 Minuten in die entsprechenden Säurechloride überführt (siehe Schema 3.27, Methode D2). Diese wurden anschließend mit den Aminen **121** und **126 – 128** in Anwesenheit von DIPEA als Hilfsbase in einem DCM-THF-Gemisch (6:1) bei Raumtemperatur in ein bis vier Tagen in einer Argon-Atmosphäre zu den entsprechenden Amiden gekuppelt. Bei Verwendung des Amins **121** wurde die Reaktion in DCM anstelle eines Lösungsmittelgemisches mit THF durchgeführt, da das Amin ohne Zusatz von THF in DCM gelöst werden konnte. Säuren, die als Säurechloride kommerziell erhältlich waren, wurden in dieser Form mit den Aminen **121** und **126 – 128**, wie zuvor beschrieben, umgesetzt (siehe Schema 3.27, Methode D1). Alle dargestellten Amide sind in den Tabellen 3.12 – 3.15 zusammengefasst. Wie zu erkennen ist, konnte eine Vielzahl an sehr unterschiedlichen Resten in der 8-Position des Chromen-4-on-2-carbonsäureester-Derivats über einen Amid-Linker eingeführt werden: von kurzen alkylischen und arylischen Seitenketten (siehe Tabelle 3.12), über vielfältig substituierter Phenyl- und Pyridin-Derivate (siehe Tabelle 3.13) und Benzyloxybenzen-Reste (siehe Tabelle 3.15) bis hin zu langen lipophilen Alkyloxybenzen-Seitenketten (siehe Tabelle 3.14).

Schema 3.27. Darstellung der 8-Amido-(6-halogen)-chromen-4-on-2-carbonsäureethylester



Es konnten in der Regel sehr gute Ausbeuten von über 75 % erzielt werden. Schlechtere Ausbeuten könnten u.a. damit erklärt werden, dass zum einen die Säuren nicht immer vollständig in die entsprechenden Säurechloride überführt werden konnten und zum anderen auch kommerziell gekaufte Säurechloride nicht immer eine hohe Reaktivität zeigten.

Tabelle 3.12. Ausbeuten und Schmelzpunkte von 8-Amidochromen-4-on-2-carbonsäureethylestern

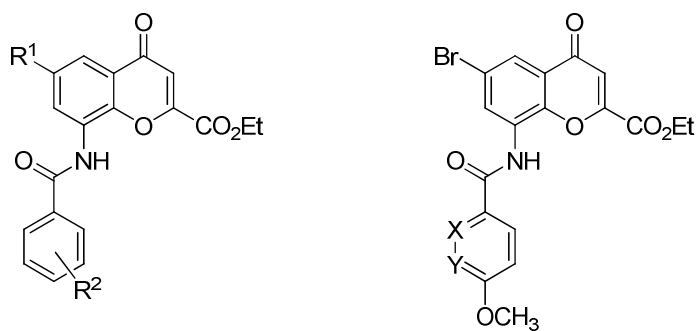


Verbindung	R ²	Methode ^a	Ausbeute (%) ^b	Smp (°C)
210 ²⁹⁷	Methyl	E	82	224-225 (Lit. ²⁹⁷ 216-217)
211	Ethyl	D1	80	207-208
212	2-Methoxy-2-oxoethyl	D1	85	170
213	Cyclohexyl	D1	93	176
214	Benzyl	D1	85	188-189
215	2-Naphthyl	D1	85	202-203
216	2-Chinolinyl	D1	80	215-216

^a siehe Schema 3.27. ^b Isolierte Ausbeute.

Des Weiteren konnte beobachtet werden, dass das Amin **121** eine wesentlich höhere Reaktivität als die in 6-Position halogenierten Anilin-Derivate **126** – **128** zeigte. Dadurch verlängerte sich in der Regel die Reaktionszeit von mehreren Stunden auf mehrere Tage bis eine vollständige Umsetzung zu den entsprechenden Amiden erfolgte. Halogenatome in der 6-Position der Chromen-4-on-Derivate senken durch ihren negativen induktiven Effekt, in der Reihenfolge F > Cl > Br, die Basizität und damit auch die Nucleophilie der Amino-Funktion, wobei auch die Fluor-Verbindung **128** die geringste Reaktivität zeigte, was in der Regel in der längsten Reaktionszeit von vier Tagen und in vergleichsweise schlechteren Ausbeuten resultierte im Vergleich zu den anderen Derivaten.

Das Amid **210**²⁹⁷ wurde abweichend von der oben beschriebenen Methode durch Reaktion von Acetanhydrid mit dem Amin **121** in Anwesenheit von DIPEA als Hilfsbase in DCM in zwei Tagen in einer Ausbeute von 82 % dargestellt.

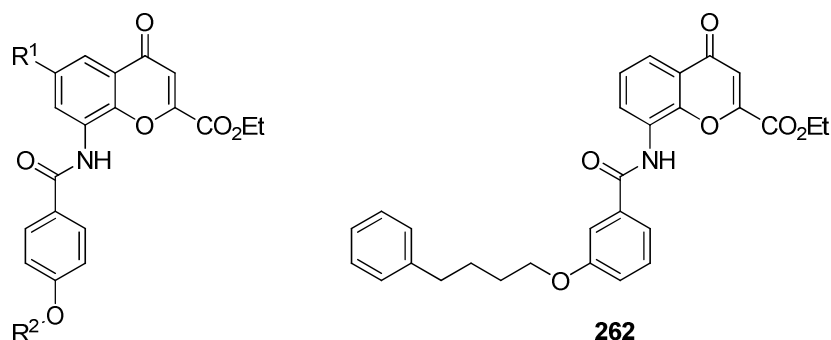
Tabelle 3.13. Ausbeuten und Schmelzpunkte substituierter 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester und substituierter Pyridin-Derivate

245: X = N, Y = H

246: X = H, Y = N

Verbindung	Substitutionsmuster				Methode ^a	Ausbeute ^b (%)	Smp (°C)
	R ¹	R ²					
		<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
217	H	H	H	H	D1	92	218-219
218	H	H	CH ₃	H	D1	94	170-171
219	H	H	NO ₂	H	D1	83	223-224
220	H	H	H	CH ₃	D1	75	217-218
221	H	H	H	CF ₃	D1	71	219
222	H	H	H	OCH ₃	D1	89	202-203
223	H	H	H	Br	D1	76	216-217
224	F	Cl	Cl	H	D1	21	202-204
225	F	Cl	H	Cl	D1	78	229-230
226	F	H	Cl	Cl	D1	66	195-197
227	F	H	H	OCH ₃	D1	88	218-219
228	Cl	H	H	H	D1	78	231-232
229	Cl	H	CH ₃	H	D1	91	170-171
230	Cl	H	H	NO ₂	D1	55	223-224
231	Cl	H	H	OCH ₃	D1	88	252-253
232	Cl	F	H	OCH ₃	D2	82	212-213
233	Br	H	H	H	D1	81	218
234	Br	H	CH ₃	H	D1	71	186
235	Br	H	H	Cl	D1	80	237-238
236	Br	Cl	H	Cl	D1	73	221-223
237	Br	H	Cl	Cl	D1	71	206-207
238	Br	H	H	CN	D1	57	229-230
239	Br	H	H	OCH ₃	D1	89	248-249
240	Br	H	H	Ethoxy	D1	65	208-209
241	Br	OCH ₃	H	H	D1	85	196-197
242	Br	H	OCH ₃	OCH ₃	D1	76	221-223
243	Br	H	O-CH ₂ -O		D1	79	231-232
244	Br	Cl	H	OCH ₃	D2	81	223-224
245	Struktur: siehe oben				D2	80	242-244
246	Struktur: siehe oben				D2	79	252-253

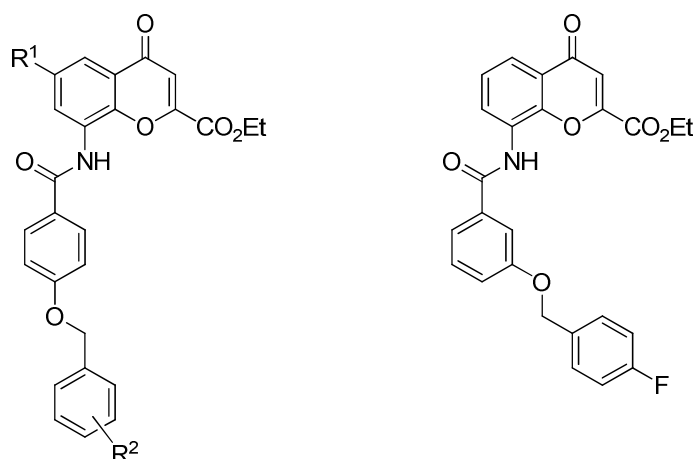
^a siehe Schema 3.27. ^b Isolierte Ausbeute.

Tabelle 3.14. Ausbeuten und Schmelzpunkte substituierter 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester

Verbindung	Substitutionsmuster		Methode ^a	Ausbeute ^b (%)	Smp (°C)
	R ¹	R ²			
247	H	<i>n</i> -Propyl	D2	79	215-216
248	H	<i>n</i> -Butyl	D2	80	192-193
249	H	<i>n</i> -Pentyl	D2	75	192-193
250	H	<i>n</i> -Hexyl	D2	88	184
251	H	<i>n</i> -Heptyl	D2	62	183-184
252	H	4-Methylpentyl	D2	76	190-191
253	H	Cyclopropylmethyl	D2	74	231-232
254	H	2-Cyclohexylethoxy	D2	61	179
255	H	3-Cyclohexylpropyl	D2	71	198-199
256	H	4-Cyclohexylbutyl	D2	76	167
257	H	2-Phenylethyl	D2	57	175-176
258	H	3-Phenylpropyl	D2	90	186
259 ³³⁸	H	4-Phenylbutyl	D2	65	159
260	H	3-(4-Methoxyphenyl)propyl	D2	55	190-191
261	H	3,3-Dimethyl-2-oxobutyl	D2	61	191-193
262	Struktur: siehe oben		D2	89	140
263	F	3-Phenylpropyl	D2	78	179
264	Cl	3-Phenylpropyl	D2	72	185
265	Br	3-Phenylpropyl	D2	45	177-178
266	Br	4-Cyclohexylbutyl	D2	56	164-165

^a siehe Schema 3.27. ^b Isolierte Ausbeute.

Schema 3.28 beschreibt die Synthese des Amids **285** ausgehend von *p*-Hydroxybenzoesäure, deren Hydroxygruppe in einem ersten Schritt durch Reaktion mit *tert*-Butyldimethylsilan in Anwesenheit von DIPEA als Base in DMF geschützt wurde.³³⁹ Als Produkt entstand jedoch nicht nur der gewünschte Silylether **282**,³⁴⁰ sondern in einem weiteren Produkt wurde zusätzlich die Säurefunktion zum entsprechenden Silylester **283**³⁴¹ umgesetzt. Dieser konnte jedoch sehr einfach durch basische Hydrolyse³⁴² mit NaOH in THF bei RT für 5 min in die Verbindung **282** überführt werden, die damit in einer Gesamtausbeute von 70 % gewonnen werden konnte.

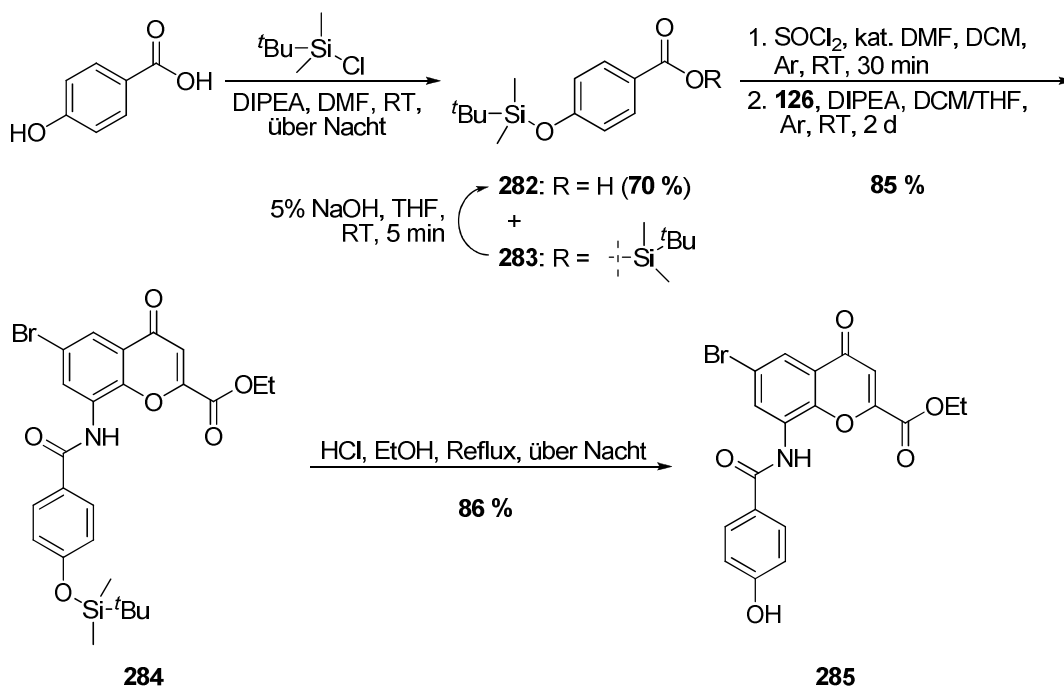
Tabelle 3.15. Ausbeuten und Schmelzpunkte substituierter 8-(Benzyloxy)benzamidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester**275**

Verbindung	Substitutionsmuster				Methode ^a	Ausbeute ^b (%)	Smp (°C)
	R ¹	R ²					
		<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
267	H	H	H	H	D2	75	216-217
268	H	H	H	F	D2	80	242-243
269	H	H	H	Cl	D2	46	220-221
270	H	H	H	Br	D2	61	224-226
271	H	H	H	CH ₃	D2	77	212
272	H	H	H	CF ₃	D2	84	234-235
273	H	H	F	H	D2	76	198-199
274	H	F	H	H	D2	81	194-195
275	Struktur: siehe oben				D2	75	198
276	F	H	H	F	D2	60	214-215
277	Cl	H	H	F	D2	61	230-232
278	Cl	H	H	Br	D2	74	251-252
279	Br	H	H	F	D2	85	227
280	Br	H	H	Br	D2	79	257-258
281	Br	H	Br	H	D2	70	219-221

^a siehe Schema 3.27. ^b Isolierte Ausbeute.

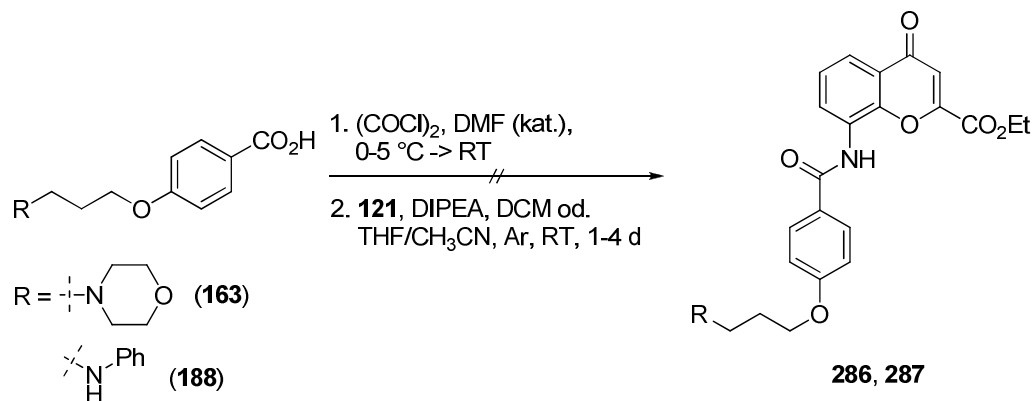
Die Schützung der Hydroxyfunktion war notwendig, da in einem nächsten Schritt die Säure mit Thionylchlorid in DCM bei RT zum Säurechlorid umgesetzt wurde. Das Thionylchlorid wäre dabei mit der freien Hydroxygruppe eine Reaktion zum entsprechenden Sulfitderivat eingegangen, welches zu Nebenreaktionen im folgenden Schritt geführt hätte. Das dargestellte Säurechlorid wurde unter den bereits oben beschriebenen Bedingungen an das Amin **126** zum entsprechenden Amid **284** in einer sehr guten Ausbeute von 85 % gekuppelt. Durch saure Hydrolyse mit HCl in EtOH unter Rückfluss konnte die Silylschutzgruppe abgespalten werden und die Verbindung **285** in einer Ausbeute von 86 % gewonnen werden.

Schema 3.28. Darstellung von 6-Brom-8-(4-hydroxybenzamido)chromen-4-on-2-carbonsäureethylester (**285**)



Für eine bessere Wasserlöslichkeit der Chromen-4-on-Derivate sollte ein Morpholin-Rest bzw. eine Aminfunktion in die Seitenketten eingeführt werden (siehe Schema 3.29). Dazu wurden die Säuren **163** und **188** mit Oxalylchlorid in Gegenwart von DMF als Katalysator bei 0 – 5 °C und anschließend bei RT zu den entsprechenden Säurechloriden umgesetzt. Eine Weiterreaktion mit dem Amin **121** in Anwesenheit von DIPEA in einem THF-Acetonitril-Gemisch bzw. DCM bei RT erfolgte nicht. Eine Analyse der Reaktionsgemische durch LC-MS zeigte, dass viele Nebenreaktionen, vor allem Zersetzungen, statt gefunden haben, was auf die höhere Reaktivität des Chlorierungsmittels Oxalylchlorid zurückzuführen ist, welches noch in kleinen Mengen bei der Umsetzung mit dem Amin vorhanden war. Damit ist das weniger reaktive Thionylchlorid viel besser als Chlorierungsmittel geeignet, und die Reaktionen müssten noch einmal mit Thionylchlorid wiederholt werden.

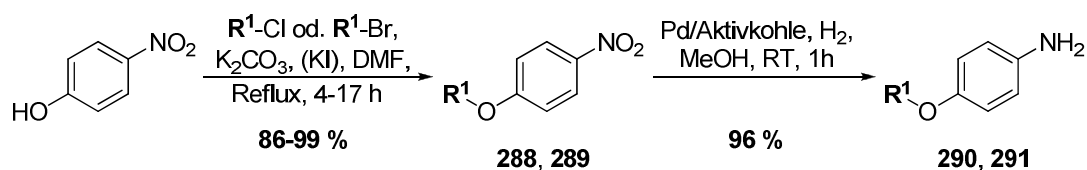
Insgesamt konnten 73 8-Amido-(6-halogen)chromen-4-on-2-carbonsäureethylester erfolgreich in überwiegend sehr guten Ausbeuten dargestellt und vollständig charakterisiert werden, von denen 71 noch nicht in der Literatur beschrieben waren. Ein Teil der Ergebnisse wurde von uns bereits publiziert.^{202, 343}

Schema 3.29. Erfolgreiche Darstellung der Amide **286** und **287**

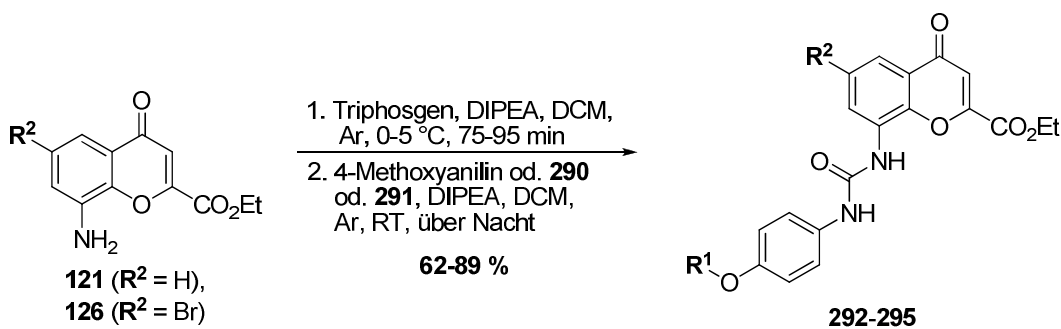
3.3.2.4 Variation des Amid-Linkers

Um weitere Informationen über Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-Derivate an den untersuchten Waisen-Rezeptoren zu erhalten, sollte der Amid-Linker in 8-Position durch andere Funktionalitäten ersetzt werden. Im Folgenden wird daher die Darstellung von Harnstoff-, Thioharnstoff- und Sulfonamid-Derivaten beschrieben.

Die 8-Ureidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester wurden ausgehend von 4-Nitrophenol synthetisiert, welches in einer Williamson-Ether-Synthese mit dem entsprechenden Alkylhalogenid in Anwesenheit von Kaliumcarbonat als Base in DMF unter Rückfluss zu den Ethern **288**³²⁶ und **289**³⁴⁴ in sehr guten bis exzellenten Ausbeuten umgesetzt wurde (siehe Schema 3.30).

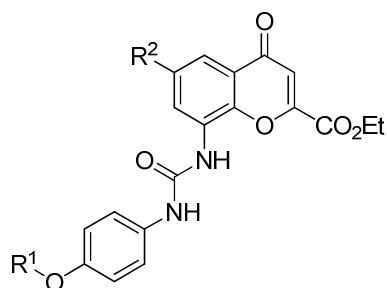
Schema 3.30. Darstellung von 8-Ureidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester

R^1 = 4-Phenylbutyl, 4-Fluorbenzyl



Die Nitrogruppe dieser Ether-Derivate wurde im nachfolgenden Schritt durch katalytische Hydrierung an Pd/Aktivkohle in Methanol bei RT für eine Stunde reduziert. Die entsprechenden Amine **290**³⁴⁵ und **291**³⁴⁶ konnten in einer Ausbeute von 96 % gewonnen werden. Die Kupplung an die Amine **121** bzw. **126** erfolgte, indem diese in einem ersten Schritt mit Triphosgen in Gegenwart von DIPEA als Base in DCM bei 0 – 5 °C in einer Argon-Atmosphäre in die entsprechenden Isocyanate überführt wurden. Diese wurden anschließend entweder mit 4-Methoxyanilin oder mit den Aminen **290** und **291** in Anwesenheit von DIPEA in DCM bei RT in einer Argon-Atmosphäre zu den entsprechenden Harnstoffen umgesetzt, die in Tabelle 3.16 zusammengefasst sind. Die Ausbeuten betrugen 62 – 89 %. Bei der Darstellung der Harnstoffe war es notwendig, dass die Isocyanate aus den weniger reaktiven Aminen **121** und **126** gebildet wurden, da sie selber mit Isocyanaten nur sehr schlecht bis keine Reaktion eingehen. Weiterhin war es wichtig, dass zur Isocyanatbildung die Amin-Komponente sehr langsam über einen Zeitraum von 70 – 90 Minuten zu der Lösung des Triphosgens in DCM zugetropft wurde, da sonst der symmetrische Harnstoff gebildet wurde.

Tabelle 3.16. Ausbeuten und Schmelzpunkte von 8-Ureidochromen-4-on-2-carbonsäureethylestern



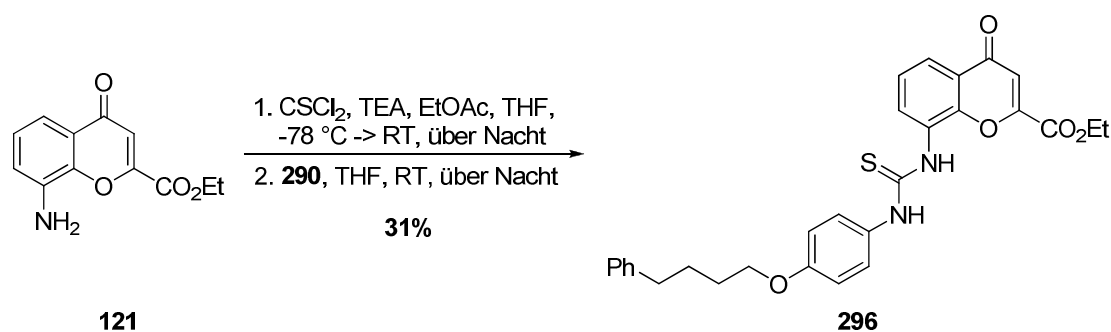
Verbindung	Substitutionsmuster		Ausbeute ^a (%)	Smp (°C)
	R ¹	R ²		
292	Methyl	H	89	239-240
293	Methyl	Br	66	235-236
294	4-Phenylbutyl	H	62	204-205
295	4-Fluorbenzyl	Br	69	n.b.

^a Isolierte Ausbeute.

Die Synthese des Thioharnstoffs **296** ist in Schema 3.31 dargestellt. In einem ersten Schritt wurde das Amin **121** durch Reaktion mit Thiophosgen in Anwesenheit von Triethylamin in einem THF-EtOAc-Gemisch bei – 78 °C und anschließend bei RT über Nacht in das Thioisocyanat überführt. Dieses wurde mit dem Amin **290** in THF bei RT in den Thioharnstoff **296** in einer Gesamtausbeute von 31 % umgesetzt. Die geringe Ausbeute lässt sich damit erklären, dass keine scharfe säulenchromatografische

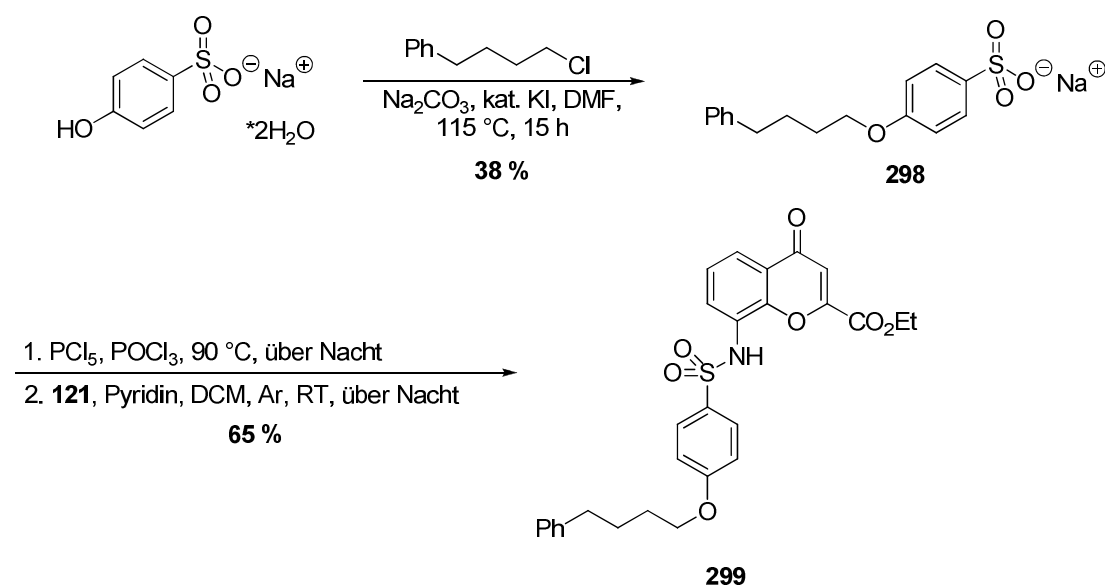
Auftrennung über Kieselgel erfolgte und sich die Isolierung des Produkts als Feststoff als problematisch herausstellte. Durch Umkristallisation in Diethylether konnte der Thioharnstoff rein als Feststoff gewonnen werden.

Schema 3.31. Synthese des Thioharnstoffs **296**



Das Sulfonamid **299** wurde ausgehend von Natrium-4-hydroxybenzensulfonat-Dihydrat synthetisiert, welches in einer Williamson-Ether-Synthese mit 4-Phenylbutylchlorid in Gegenwart von Natriumcarbonat als Base und Kaliumiodid als Katalysator in DMF bei $115\text{ }^\circ\text{C}$ für 15 Stunden erhitzt wurde (siehe Schema 3.32). Das gewünschte Produkt **298** konnte in einer Ausbeute von 38 % gewonnen werden. Im nächsten Schritt wurde die Sulfonatgruppe mit Phosphorpentachlorid in Phosphoroxychlorid bei $90\text{ }^\circ\text{C}$ über Nacht chloriert. Das gebildete Sulfonsäurechlorid wurde anschließend in einer Amidkupplungsreaktion mit dem Amin **121** in Anwesenheit von Pyridin als Base in DCM bei RT in einer Argon-Atmosphäre zum Sulfonamid **299** umgesetzt. Die Ausbeute betrug 65 %.

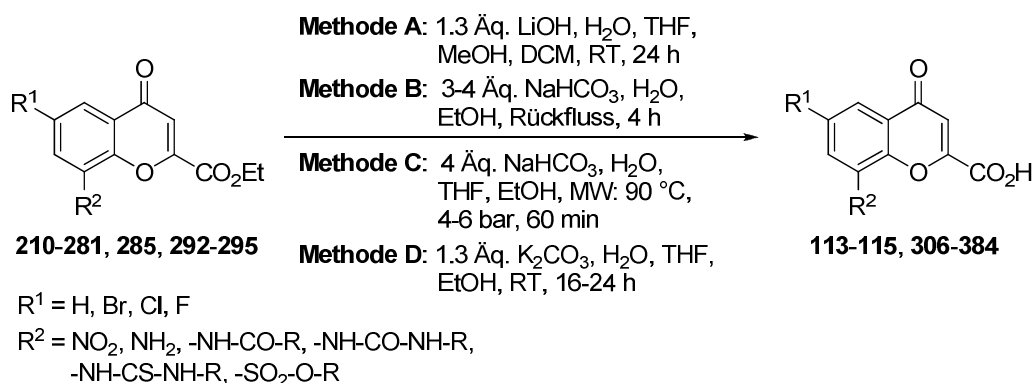
Schema 3.32. Darstellung des Sulfonamids **299**



3.3.2.5 Hydrolyse der Chromen-4-on-2-carbonsäureethylester

Die Hydrolyse der Chromen-4-on-2-carbonsäureethylester stellt den letzten Schritt in der Synthese neuer Liganden für die Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR84 und GPR35 dar. Dazu wurden verschiedene Methoden angewendet, um die optimalen Reaktionsbedingungen für eine Hydrolyse der Ethylester herauszufinden (siehe Schema 3.33).

Schema 3.33. Hydrolyse der Chromen-4-on-2-carbonsäureethylester



Als Erstes wurde anhand der Hydrolyse von **217** eine Literaturvorschrift von R. Griera²⁹⁷ ausprobiert, wonach der Ester mit einer wässrigen Lösung von Lithiumhydroxid (1.3 Äquivalente) in einem THF-MeOH-DCM-Gemisch (1:1:1) bei RT für 24 Stunden umgesetzt wurde (Methode A). Dabei wurde neben dem gewünschten Produkt **316** auch ein Zersetzungsprodukt **300** ($M_r + 18$), und zwar als Hauptprodukt, isoliert und durch LC-MS identifiziert (siehe Abb. 3.14). Es erfolgte eine Addition von einem Molekül Wasser an die Doppelbindung zwischen dem C2- und C3-Kohlenstoffatom. Dies entspricht der Umkehrung der letzten Reaktion beim Aufbau des Benzopyran-4-onrings, bei der unter sauren Bedingungen ein Molekül Wasser eliminiert wurde (siehe Schema 3.15). Aus diesem Grund wurde in der Methode B eine schwächere Base, und zwar Natriumhydrogencarbonat, gewählt. Der Ester wurde mit 3 – 4 Äquivalenten NaHCO₃ in einem Wasser-EtOH-Gemisch für 4 h refluxiert. Die freie Säure wurde anschließend durch 1 N HCl-Lösung ausgefällt. Jedoch führte diese Methode zu einer unvollständigen Hydrolyse der Ethylesterfunktion. In der Variante C wurden diese Reaktionsbedingungen in einem Mikrowellenofen am Beispiel von Verbindung **214** angewendet. Der Ester wurde mit 4 Äquivalenten NaHCO₃ in einem Wasser-EtOH-THF-Gemisch unter Mikrowellenbestrahlung bei 90 °C und 4 – 6 bar erhitzt. Insgesamt war eine Reaktionszeit von 60 Minuten notwendig, um den Ester vollständig zu hydrolysieren.

3 Ergebnisse und Diskussion

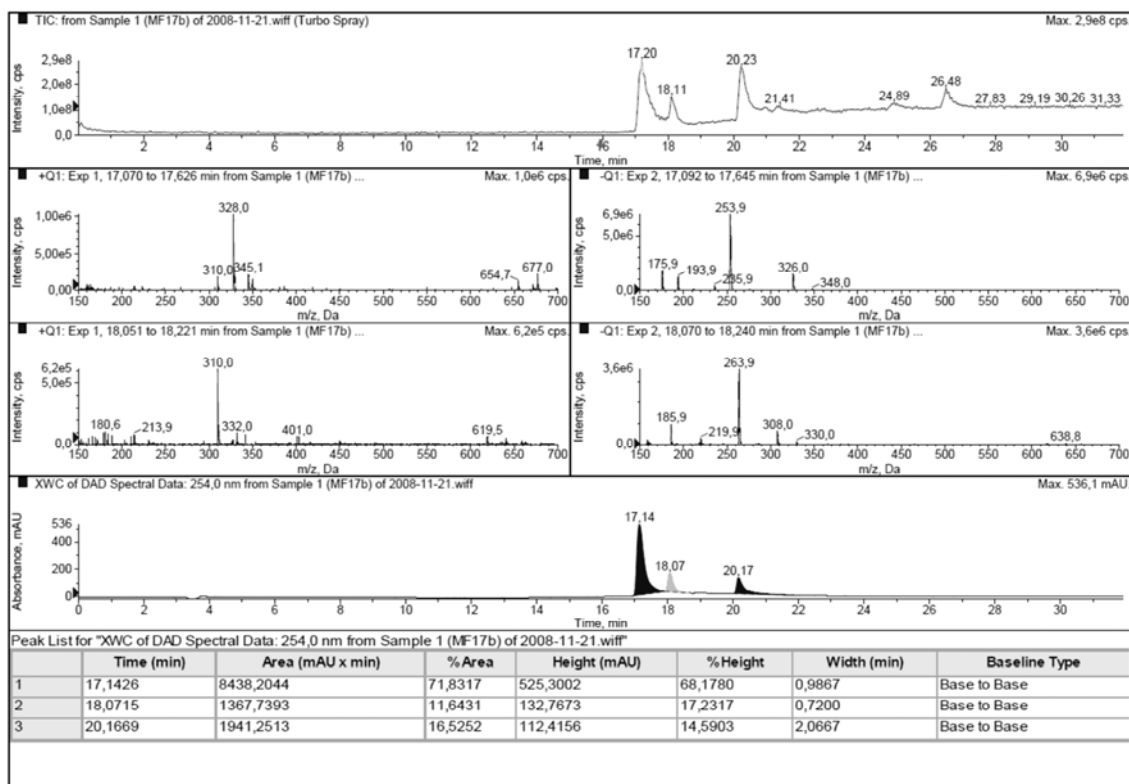


Abb. 3.14. LC/ESI-MS-Spektrum mit UV-Absorption (254 nm) von **316** ($M_r = 309.27$, $t_R = 18.07$ min) und des Zerfallsprodukts **300** ($M_r + 18$, $t_R = 17.14$ min).

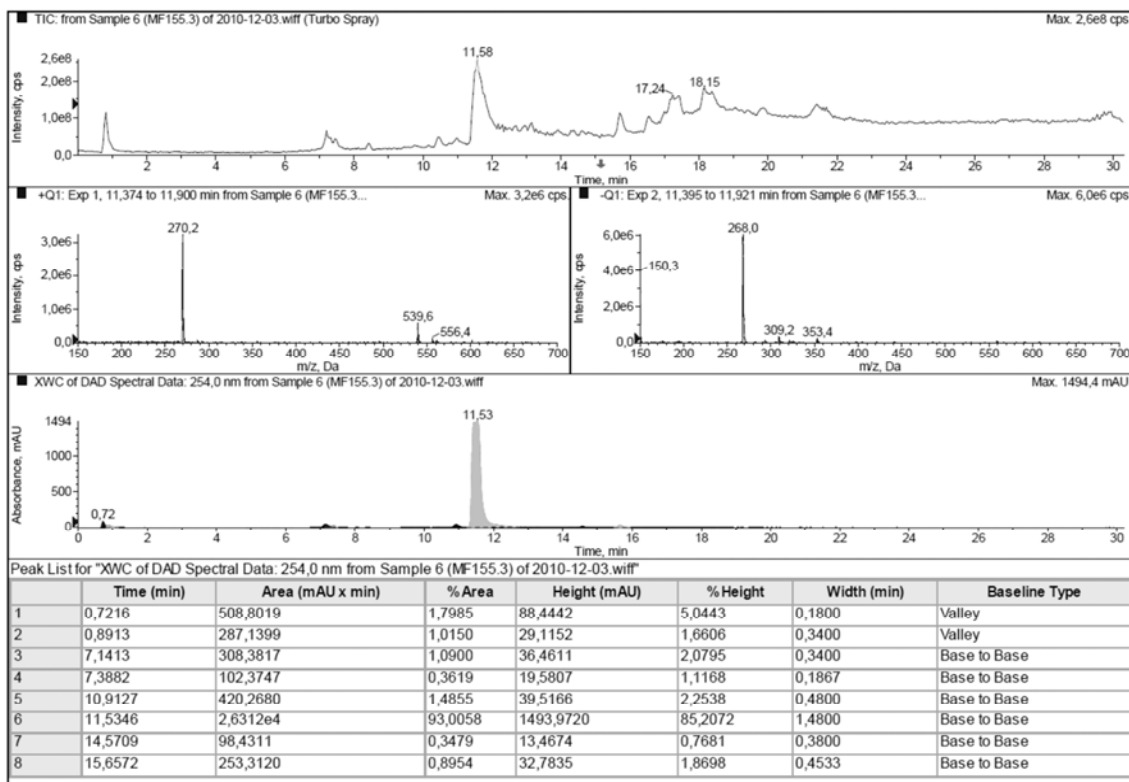
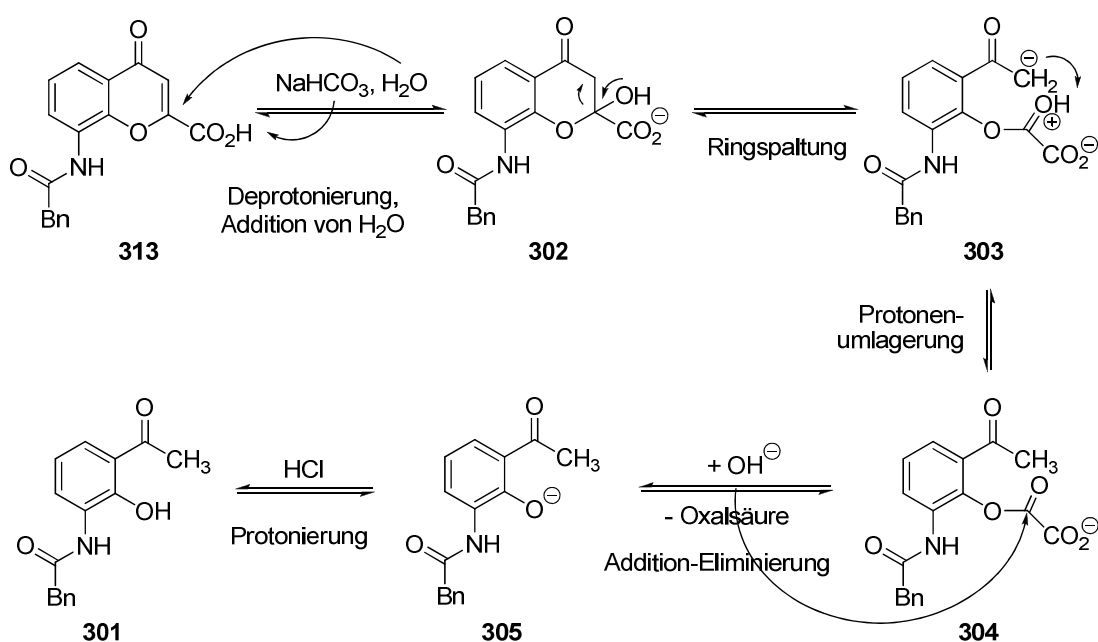


Abb. 3.15. LC/ESI-MS-Spektrum mit UV-Absorption (254 nm) des Zerfallsprodukts **301** ($M_r - 54$, $t_R = 11.53$ min) von **313** ($M_r = 323.30$).

Neben der gewünschten Säure **313**, die in einer geringen Ausbeute von 36 % gewonnen werden konnte, hat sich auch ein Nebenprodukt gebildet. Mit Hilfe von LC-MS und NMR-Spektroskopie wurde dies als *N*-(3-Acetyl-2-hydroxyphenyl)-2-phenylacetamid (**301**) identifiziert. Das LC-MS-Spektrum ist in Abb. 3.15 dargestellt. Verbindung **301** stellt ein Zersetzungsprodukt dar und bildet sich unter basisch wässrigen Bedingungen in einer möglichen Umkehrreaktion der Claisen-Kondensation mit anschließender Cyclisierung und Eliminierung von Wasser. Ein vorgeschlagener Mechanismus ist in Schema 3.34 dargestellt. Eine Addition von Wasser sollte als erstes erfolgen, da dies auch bei der Hydrolyse von **217** (Methode A) beobachtet und durch LC-MS nachgewiesen wurde. Anschließend wird der Benzopyranonring von **302** gespalten, was zur Zwischenverbindung **303** führt. Nach einer Protonenumlagerung (zu **304**) wird Oxalsäure durch Angriff eines zweiten Hydroxidions abgespalten. Nach Protonierung von **305** erhält man das Zerfallsprodukt **301**.

Schema 3.34. Postulierter Mechanismus für den Zerfall des Benzopyran-4-onrings

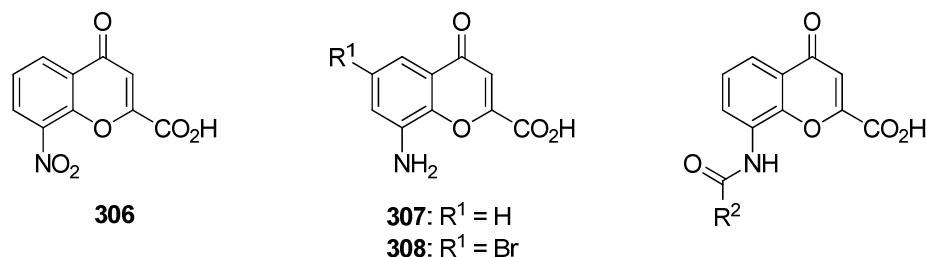


Die vierte Methode (D) stellte sich als optimaler Weg zur milden basischen Hydrolyse der Ethylester heraus. Dabei wurde der entsprechende Ester mit 1.3 Äquivalenten Kaliumcarbonat in einem THF-EtOH-Wasser-Gemisch (8:3:2) bei RT für 16 bis 24 Stunden zur Chromen-4-on-2-carbonsäure umgesetzt. Nach Ansäuern mit verd. HCl-Lösung und Entfernung der organischen Lösungsmittel wurde das Endprodukt in der Regel abfiltriert und mit Wasser gewaschen. In Einzelfällen wurde die Säure in EtOH/Aceton (1:1) umkristallisiert. Wasserlösliche Endverbindungen wurden durch

RP-HPLC aufgearbeitet. Anfangs wurde die Hydrolyse nach drei Stunden abgebrochen um sicher zu gehen, dass keine Zersetzung einsetzte. Dabei wurde jedoch der Ester nicht vollständig umgesetzt und musste, nachdem das Reaktionsgemisch mit verd. NaOH-Lösung verdünnt wurde, mit Chloroform ausgewaschen werden.

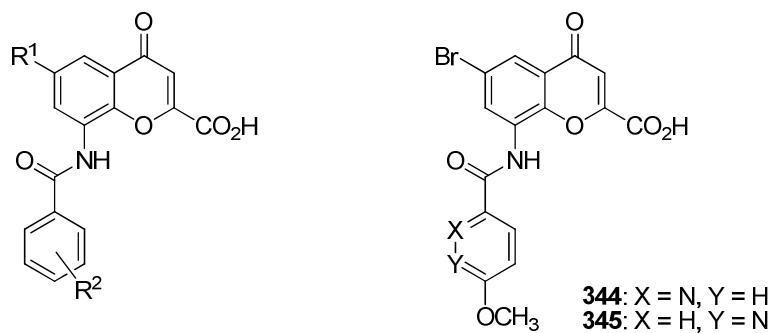
Alle dargestellten Chromen-4-on-2-carbonsäuren sind unter Angabe der Ausbeute, Schmelzpunkt und Reinheit in den Tabellen 3.17 – 3.21 zusammengefasst und wurden nach der zuvor beschriebenen Methode gewonnen. Es konnten größtenteils exzellente Ausbeuten von über 90 % erzielt werden. Um Struktur-Wirkungsbeziehungen am GPR35 untersuchen zu können, wurden vielseitig substituierte 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren dargestellt (siehe Tabelle 3.18). Während für den GPR84 substituierte Benzyloxybenzamidoyl-Reste in der 8-Position eingeführt wurden (siehe Tabelle 3.20), konnten für den GPR17 lange lipophile Seitenketten über eine Etherfunktion an den Benzamido-Rest in 8-Position des Chromenonrings gebunden werden (siehe Tabelle 3.19). Zusätzlich wurden die 6-Position durch Einführung von Halogenatomen und der Amid-Linker als Harnstoff-, Thioharnstoff- und Sulfonamidfunktion variiert (siehe Tabelle 3.21).

Insgesamt wurden 82 Chromen-4-on-2-carbonsäuren dargestellt, von denen nur drei bereits in der Literatur beschrieben sind. Ein Teil der Ergebnisse wurde von uns bereits veröffentlicht.^{202, 343} Die Strukturen aller Endverbindungen wurden neben ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie durch HPLC-Analyse, die mit der Elektronenspray-Ionisations-Massenpektrometrie gekoppelt war (LC/ESI-MS) und auch zur Bestimmung der Reinheit genutzt wurde, identifiziert.

Tabelle 3.17. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten von 8-Nitro-, 8-Amino- und 8-Amidochromen-4-on-2-carbonsäuren

Verbindung	R ²	Ausbeute (%) ^a	Smp (°C) ^b	Reinheit (%) ^c
306 ³⁴⁷	Struktur: siehe oben	96	248	100.0
307 ²⁹⁴	Struktur: siehe oben	96	237	100.0
308	Struktur: siehe oben	99	260	99.2
309	Methyl	77	286-288	99.4
310	Ethyl	82	282-284	100.0
311	2-Methoxy-2-oxoethyl	90	248-250	99.2
312	Cyclohexyl	82	274-276	99.5
313	Benzyl	97	260-262	100.0
314	2-Naphthyl	94	271-273	100.0
315	2-Chinolinyl	49	288-290	97.6

^a Isolierte Ausbeute. ^b Alle Verbindungen schmelzen unter Zersetzung. ^c bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

Tabelle 3.18. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten substituierter 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren und substituierter Pyridin-Derivate

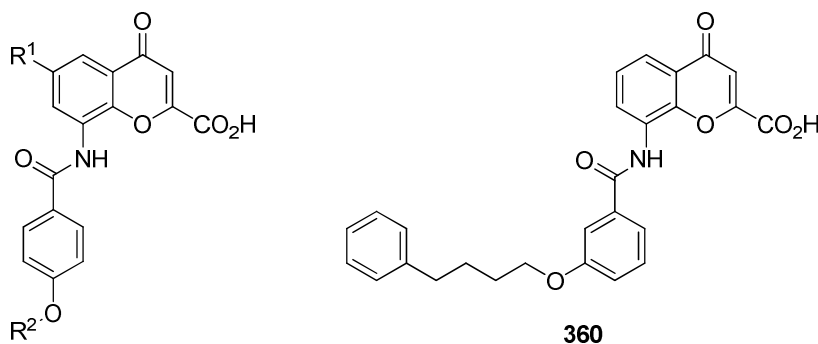
Verbindung	Substitutionsmuster				Ausbeute ^a (%)	Smp ^b (°C)	Reinheit ^c (%)
	R ¹	R ²					
		<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
316	H	H	H	H	89	276-278	98.5
317	H	H	CH ₃	H	95	267-269	100.0
318	H	H	NO ₂	H	79	273-275	99.5
319	H	H	H	CH ₃	49	284-286	99.4
320	H	H	H	CF ₃	62	290-292	100.0
115	H	H	H	OCH ₃	85	277-279	99.8
321	H	H	H	Br	45	286-288	100.0
322	F	Cl	Cl	H	89	275-277	100.0
323	F	Cl	H	Cl	97	282-283	100.0
324	F	H	Cl	Cl	92	275-276	100.0

3 Ergebnisse und Diskussion

325	F	H	H	OCH ₃	98	277	99.8
326	Cl	H	H	H	95	289-290	99.2
327	Cl	H	CH ₃	H	82	277-278	99.5
328	Cl	H	H	NO ₂	99	271-272	100.0
329	Cl	H	H	OCH ₃	98	278-280	99.8
330	Cl	F	H	OCH ₃	80	279-280	99.3
331	Br	H	H	H	73	291-292	100.0
332	Br	H	CH ₃	H	99	284-286	100.0
333	Br	H	H	Cl	98	281-283	100.0
334	Br	Cl	H	Cl	91	284-286	100.0
335	Br	H	Cl	Cl	98	281-282	100.0
336	Br	H	H	CN	71	279-280	100.0
337	Br	H	H	OH	79	288-290	97.8
338	Br	H	H	OCH ₃	95	278-279	99.6
339	Br	H	H	Ethoxy	99	275-276	100.0
340	Br	OCH ₃	H	H	86	278-279	100.0
341	Br	H	OCH ₃	OCH ₃	97	264-265	100.0
342	Br	H	O-CH ₂ -O		96	281-282	100.0
343	Br	Cl	H	OCH ₃	95	281-282	99.7
344	Struktur: siehe oben				68	282-284	100.0
345	Struktur: siehe oben				98	273	99.7

^a Isolierte Ausbeute. ^b Alle Verbindungen schmelzen unter Zersetzung. ^c bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

Tabelle 3.19. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten substituierter 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren

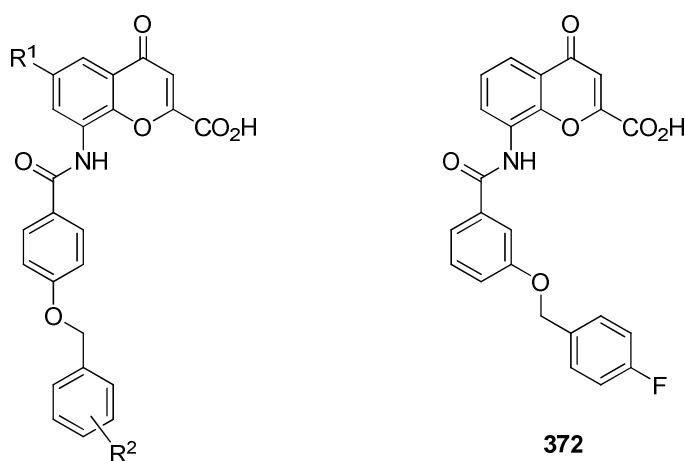


Verbindung	Substitutionsmuster		Ausbeute ^a (%)	Smp ^b (°C)	Reinheit ^c (%)
	R ¹	R ²			
346	H	<i>n</i> -Propyl	99	253	99.9
347	H	<i>n</i> -Butyl	99	241	99.3
348	H	<i>n</i> -Pentyl	99	232-233	100.0
349	H	<i>n</i> -Hexyl	94	233-234	100.0
350	H	<i>n</i> -Heptyl	97	224-225	99.7
351	H	4-Methylpentyl	99	229-230	100.0
352	H	Cyclopropylmethyl	99	237-239	99.3
353	H	2-Cyclohexylethoxy	99	240-241	100.0
354	H	3-Cyclohexylpropyl	98	233-234	99.7
355	H	4-Cyclohexylbutyl	72	237-238	100.0

356	H	2-Phenylethyl	95	215-216	98.8
357	H	3-Phenylpropyl	89	224-225	97.5
113	H	4-Phenylbutyl	88	204-205	99.7
358	H	3-(4-Methoxyphenyl)propyl	98	220-221	99.7
359	H	3,3-Dimethyl-2-oxobutyl	94	246-249	100.0
360	Struktur: siehe oben		97	211-212	99.2
361	F	3-Phenylpropyl	63	240-241	100.0
362	Cl	3-Phenylpropyl	74	238-239	99.6
363	Br	3-Phenylpropyl	97	242-243	99.3
364	Br	4-Cyclohexylbutyl	65	237-238	100.0

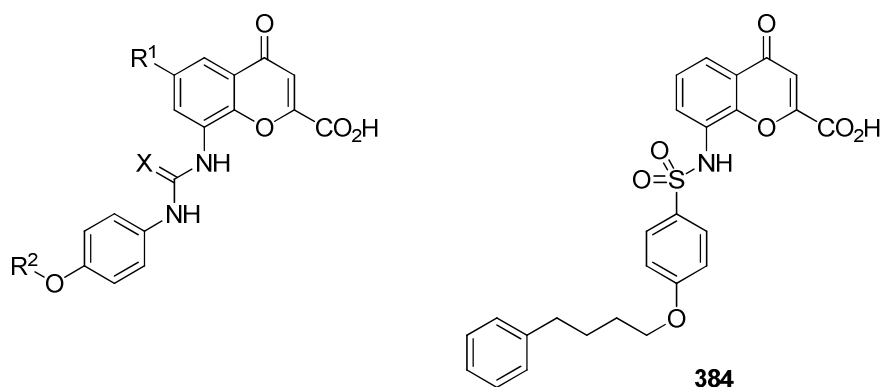
^a Isolierte Ausbeute. ^b Alle Verbindungen schmelzen unter Zersetzung. ^c bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

Tabelle 3.20. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten substituierter 8-(Benzyloxy)benzamido-chromen-4-on-2-carbonsäuren



Verbindung	Substitutionsmuster				Ausbeute ^a (%)	Smp ^b (°C)	Reinheit ^c (%)
	R ¹	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
365	H	H	H	H	100	257-258	100.0
114	H	H	H	F	99	248-249	100.0
366	H	H	H	Cl	78	250-251	99.9
367	H	H	H	Br	97	251-253	99.8
368	H	H	H	CH ₃	96	226-227	99.6
369	H	H	H	CF ₃	99	251-253	99.6
370	H	H	F	H	97	260-261	99.4
371	H	F	H	H	96	261-263	99.5
372	Struktur: siehe oben				97	251-252	100.0
373	F	H	H	F	92	244-245	99.4
374	Cl	H	H	F	98	246-247	99.3
375	Cl	H	H	Br	91	262-264	99.8
376	Br	H	H	F	97	239-240	99.2
377	Br	H	H	Br	100	259-261	99.5
378	Br	H	Br	H	94	252-254	100.0

^a Isolierte Ausbeute. ^b Alle Verbindungen schmelzen unter Zersetzung. ^c bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

Tabelle 3.21. Ausbeuten, Schmelzpunkte und Reinheiten von 8-Ureido-, 8-Thioureido- und 8-Sulfonamidochromen-4-on-2-carbonsäuren

Verbindung	Substitutionsmuster			Ausbeute ^a (%)	Smp (°C)	Reinheit ^c (%)
	R ¹	R ²	X			
379	H	Methyl	O	98	242-243	100.0
380	Br	Methyl	O	78	221-223	100.0
381	H	4-Phenylbutyl	O	96	226-227 ^b	99.5
382	Br	4-Fluorbenzyl	O	59	215-216	98.5
383	H	4-Phenylbutyl	S	56	151-152 ^b	99.6
384 ³⁴⁸	Struktur: siehe oben			68	184-185 ^b	98.0

^a Isolierte Ausbeute. ^b Verbindung schmilzt unter Zersetzung. ^c bestimmt mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS.

3.3.3 Stabilitätsuntersuchungen

Hydrolytische Stabilitätsuntersuchungen wurden von der aktivsten Verbindung, der Chromen-4-on-2-carbonsäure **338**, bei drei verschiedenen pH-Werten durchgeführt. Dafür wurden drei Proben hergestellt: (i) eine 1.20 millimolare Lösung von **338** in Acetonitril/Wasser (1:1, pH = 3.5), die Essigsäure (300 mM) und Ammoniumacetat (2 mM) enthielt, (ii) eine 1.20 millimolare Lösung von **338** in Acetonitril/Wasser (1:1, pH = 5.5) und (iii) eine 1.20 millimolare Lösung von **338** in Acetonitril/Wasser (1:1, pH = 8.0) mit Ammoniak (1 M) und Ammoniumacetat (2 mM). Alle Proben wurden durch LC-MS sofort nach Herstellung, nach 90 Minuten, vier Stunden und zwei bis vier Tagen analysiert. Wie in Abb. 3.16 zu erkennen ist, konnte in allen Fällen keine Zersetzung von **338** beobachtet werden. Es wurden die Peakflächen über den DAD-Bereich zu jedem Messzeitpunkt bei dem jeweiligen pH-Wert bestimmt und zum Ausgangswert, also zur Messzeit $t = 0$, ins Verhältnis gesetzt. Es wurden keine Zerfallsprodukte detektiert und die Unterschiede in der Peakfläche waren nicht signifikant. Diese Ergebnisse bestätigen die hydrolytische Stabilität der Chromen-4-on-2-carbonsäuren

über einen weiten pH-Bereich von sauren bis zu basischen Bedingungen, die im menschlichen Körper vorgefunden werden können.

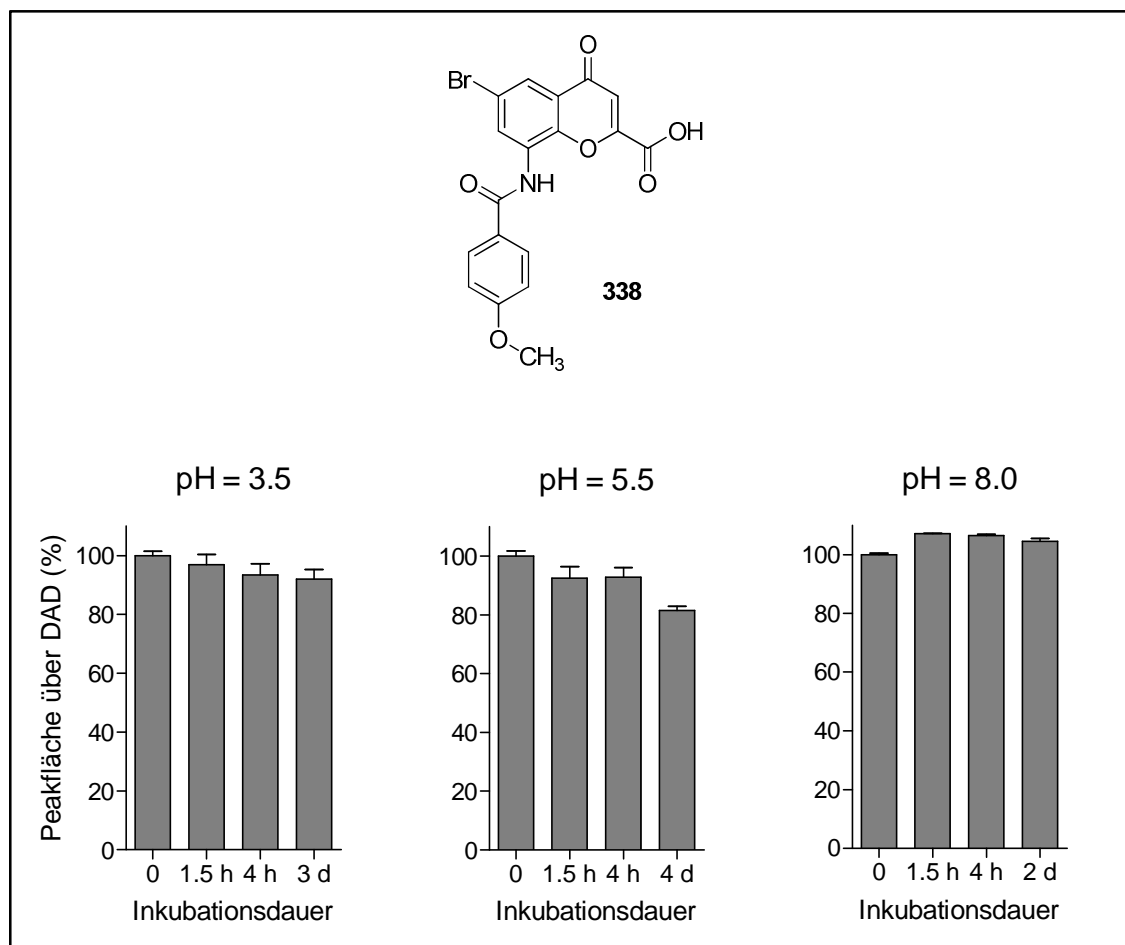


Abb. 3.16. Hydrolytische Stabilität von **338** bei verschiedenen pH-Werten (pH = 3.5, 5.5 und 8.0). Die Bestimmung erfolgte durch LC-MS zu den angegebenen Zeitpunkten unter Angabe der Peakfläche des Analyts über DAD-Bereich (n = 3). Der Ausgangswert wurde auf 100 % gesetzt.

Jedoch konnte, wie in Abb. 3.17 zu erkennen, bei einem pH-Wert von 12 eine Zersetzung der Verbindung **338** durch Addition von Wasser (**385**, $M_r + 18$) sowie nach Addition eines zweiten Moleküls Wasser eine Abspaltung von Oxalsäure (**386**, $M_r - 54$) beobachtet werden. Dieser Zerfall von Chromen-4-on-2-carbonsäuren wurden bereits im vorhergehenden Kapitel (siehe Schema 3.34) ausführlich diskutiert und konnte hiermit noch einmal bestätigt werden. Die Zersetzung im Fall von **338** ist in Schema 3.35 dargestellt. Die Untersuchung erfolgte mit einer 1.20 millimolaren Lösung von **338** in Acetonitril/Wasser (1:1, pH ≥ 12), welche 4 mM Natriumhydroxid enthielt (n = 2). Die Probe wurde durch LC-MS sofort nach Herstellung und nach 4 und 18 Stunden analysiert. Die Bildung beider Zerfallsprodukte nahm mit der Zeit zu. Eine genaue Untersuchung der Zunahme der Zersetzung war nicht möglich, da sich die Retentionszeiten der Zerfallsprodukte teilweise überschneiden. Weitere LC/ESI-MS-

3 Ergebnisse und Diskussion

Spektren sind im Experimentellen Teil in dem Kapitel 5.4.2 abgebildet. Es ist aber anzumerken, dass der Zerfall unter physiologischen Bedingungen keine Rolle spielt, da so hohe pH-Werte physiologisch niemals vorliegen.

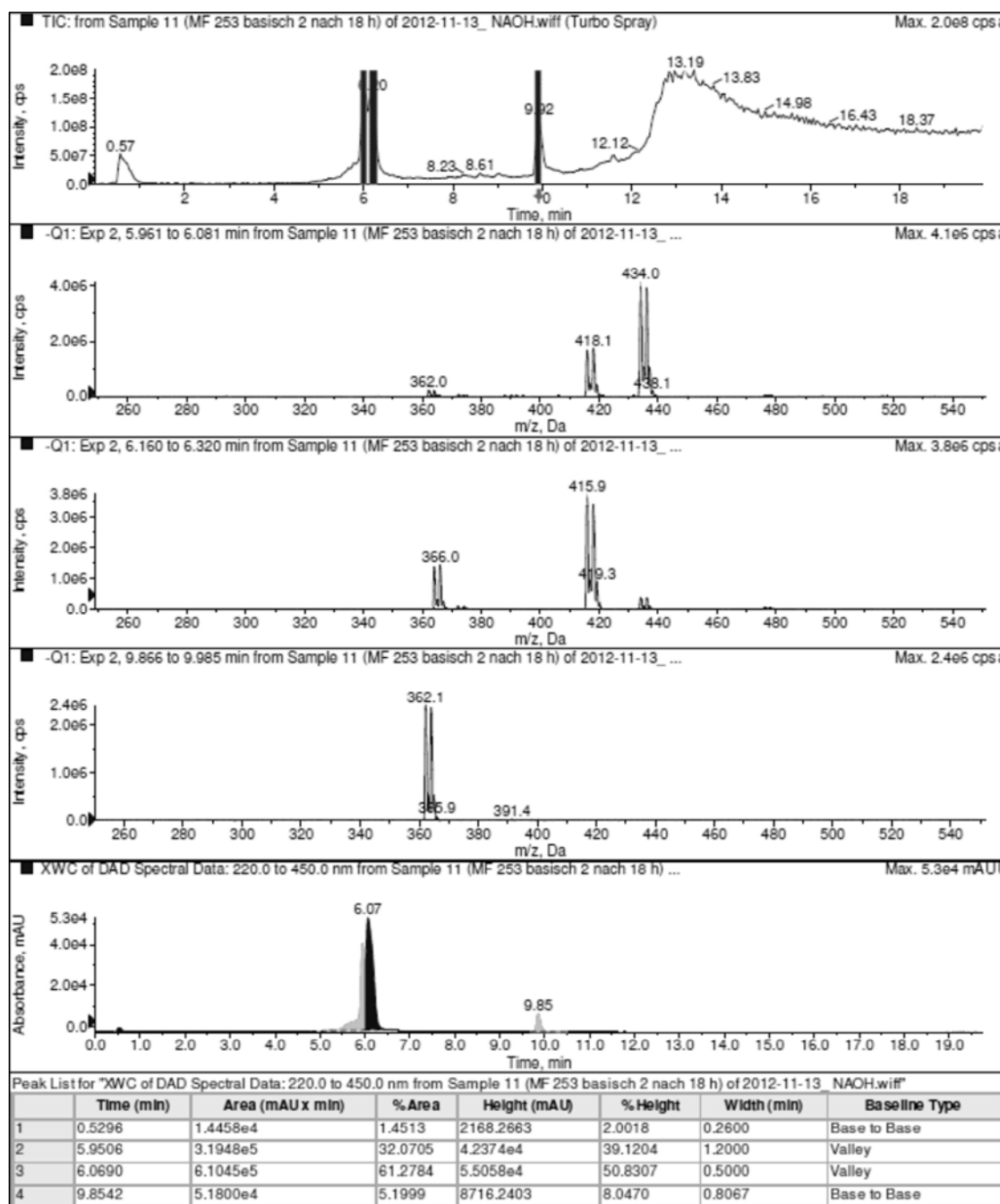
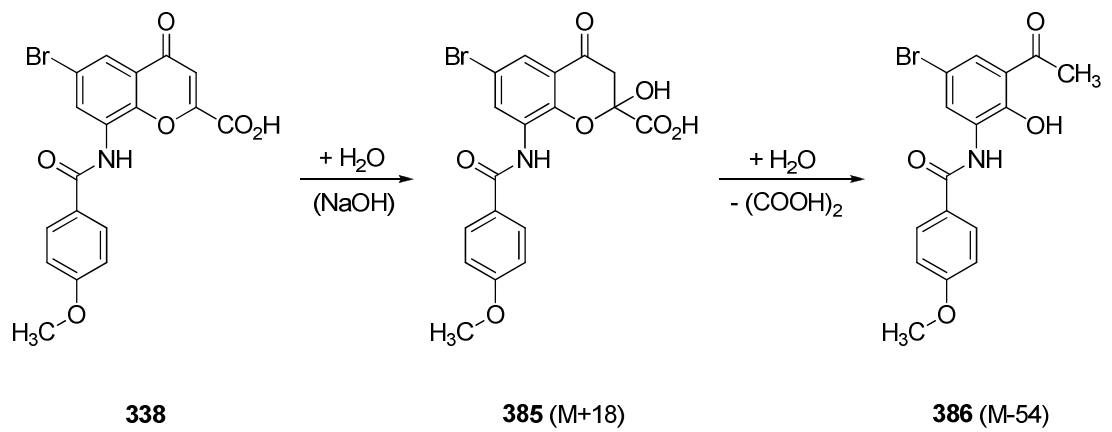


Abb. 3.17. LC/ESI-MS-Spektrum mit UV-Absorption (220-450 nm) von **338** ($M_r = 418.19$, $t_R = 6.07$ min) und den Zerfallsprodukten **385** ($M_r + 18$, $t_R = 5.95$ min) und **386** ($M_r - 54$, $t_R = 9.85$ min).

Schema 3.35. Bildung von zwei Zerfallsprodukten (**385** und **386**) der Verbindung **338** ($M_r = 418.19$) bei $\text{pH} \geq 12$



3.4 Testung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am GPR17

3.4.1 Einleitung

Pranlukast ist ein als Antiasthmatikum auf dem japanischen Markt erhältlicher CysLT₁-Rezeptor-Antagonist.^{290, 292} Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass dieser Ligand auch den verwandten Waisen-Rezeptor GPR17 inhibiert.^{173, 291} Aus diesem Grund wurde Pranlukast als Leitstruktur zur Entwicklung neuer potenter und selektiver GPR17-Antagonisten ausgewählt und, wie in Kapitel 3.3 beschrieben, eine Serie von Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivaten dargestellt. Diese wurden in Calciumionen-Mobilisationsassays als potentielle Antagonisten am humanen GPR17, der in 1321N1-Astrozytomazellen stabil exprimiert war, evaluiert (siehe Tabellen 3.22 – 3.26).

Der Calciumionen-Mobilisationsassay wurde bereits in Kapitel 3.2.1 ausführlich beschrieben. Der humane GPR17 war in 1321N1-Astrozytomazellen stabil exprimiert und es wurde die Inhibition der durch 1 μM ($\approx \text{EC}_{80}$) MDL29,951 (**22**)¹⁷⁸ induzierten intrazellulären Calciumionen-Freisetzung gemessen. Zunächst wurde die Messung bei einer hohen Konzentration (10 oder 30 μM) durchgeführt. Wenn die Testverbindungen eine Inhibition von >50 % zeigten, wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus dessen Verlauf IC₅₀-Werte ermittelt werden konnten.

Die Testung am humanen GPR17, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Dr. Aliaa Abdelrahman, Dr. Meryem Köse, Karen Schmeling und Stefanie Weyer durchgeführt.

3.4.2 Struktur-Wirkungsbeziehungen

Von den 80 getesteten Chromen-4-on-2-carbonsäuren erwiesen sich 22 Verbindungen als Antagonisten am humanen GPR17. Die übrigen getesteten Derivate waren an diesem Rezeptor bei einer Konzentration von 10 bzw. 30 μM inaktiv. Zum einen wurden über einen Amid-Linker sehr unterschiedliche und verschieden lange Reste in der 8-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts eingeführt und zum anderen wurde die 6-Position studiert. Das Chromen-4-on-Derivat **332** mit einer 3-Methylbenzamid-Seitenkette in 8-Position und einem Brom-Substituenten in 6-Position war die kleinste

Struktur, die noch sehr schwache antagonistische Eigenschaften mit einem IC_{50} -Wert von 39.7 μM zeigte. Alle Verbindungen, die eine kurze Seitenkette, von einer Nitrogruppe über eine Acetylfunktion bis hin zu einem Benzamid-Rest, in der 8-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts aufwiesen, zeigten keine signifikante inhibitorische Wirksamkeit an diesem Rezeptor (siehe Tabellen 3.22 und 3.23). In Anlehnung an die Pramlukast-Struktur wurden in der *para*-Position der 8-Benzamido-Seitenkette lipophile Reste über eine Etherfunktion eingeführt. Als erstes wurden *n*-Alkylketten an die Etherfunktion gebunden. Die Verbindungen mit einer Kettenlänge von $n = 1$ (Methyl, **115**) bis $n = 6$ (*n*-Hexyl, **349**) waren inaktiv am GPR17. Erst die Einführung einer *n*-Heptyl-Seitenkette führte zu einer deutlichen Steigerung der inhibitorischen Wirksamkeit (**350**, $n = 7$, $IC_{50} = 1.63 \mu\text{M}$). Des Weiteren konnte durch eine Verzweigung der *n*-Hexylkette zu einem 4-Methylpentyl-Rest eine Inhibition im niedrigen mikromolaren Bereich erzielt werden (**351**, $IC_{50} = 3.90 \mu\text{M}$). Dies deutet darauf hin, dass die Seitenkette in 8-Position des Chromenon-Grundgerüsts in eine wahrscheinlich relativ voluminöse lipophile Bindungstasche gebunden wird. Durch Verlängerung der Seitenkette könnte die inhibitorische Wirksamkeit am Rezeptor möglicherweise erhöht werden. Daher wurden verschiedene Ringsysteme über eine Etherfunktion terminal an die Seitenkette gebunden. Ein Cyclopropylmethoxy-Rest in *p*-Position der 8-Benzamido-Seitenkette führte zum Verlust der inhibitorischen Wirksamkeit (**352**, $IC_{50} > 10.0 \mu\text{M}$). Jedoch war ein endständiger voluminöser Cyclohexylring günstig für eine Inhibition am Rezeptor. Zudem konnte beobachtet werden, dass mit zunehmender Kettenlänge des *n*-Alkyloxylinkers zwischen Cyclohexylring und Benzamidfunktion auch die inhibitorische Wirksamkeit am GPR17 anstieg ($n = \text{Anzahl der C-Atome}$): **355** ($n = 4$, $IC_{50} = 0.583 \mu\text{M}$) > **354** ($n = 3$, $IC_{50} = 0.945 \mu\text{M}$) > **353** ($n = 2$, $IC_{50} = 11.8 \mu\text{M}$). Beim Austausch des Cyclohexylrings durch eine Phenylfunktion konnte dieselbe Tendenz beobachtet werden ($n = \text{Anzahl der C-Atome des } n\text{-Alkyloxylinkers}$): **113** ($n = 4$, $IC_{50} = 7.78 \mu\text{M}$) > **357** ($n = 3$, $IC_{50} = 10.9 \mu\text{M}$) > **356** ($n = 2$, $IC_{50} = 24.9 \mu\text{M}$) > **365** ($n = 1$, $IC_{50} > 10 \mu\text{M}$). Jedoch war ein Cyclohexyl- um bis zu einem Faktor 13 günstiger als ein Phenylring (vgl. **355**, $IC_{50} = 0.583 \mu\text{M}$ und **113**, $IC_{50} = 7.78 \mu\text{M}$). Eine Methoxygruppe in *p*-Position der terminalen Phenylfunktion wurde gut toleriert (vgl. **358**, *p*-OCH₃, $IC_{50} = 6.95 \mu\text{M}$ und **113**, *p*-H, $IC_{50} = 7.78 \mu\text{M}$). Diese Tatsache deutet darauf hin, dass noch freier Raum in der Bindungstasche sein könnte. Daher sollte in Zukunft der terminale Cyclohexyl- bzw. Phenylring durch Einführung anderer, eventuell noch größerer substituierter

Ringsysteme variiert werden. Es wurde auch eine Serie substituierter 4-Benzylxybenzamido-Derivate am Rezeptor getestet, die speziell für den GPR84 entwickelt wurden. Der Großteil dieser Verbindungen ist selektiv für den GPR84 außer **369** und **368**, die eine Trifluormethyl- bzw. Methylgruppe in *p*-Position der Benzylfunktion trugen. Beide Verbindungen waren in der Lage, den GPR17 im niedrigen mikromolaren Bereich zu inhibieren (**369**, $IC_{50} = 7.03 \mu\text{M}$ und **368**, $IC_{50} = 13.8 \mu\text{M}$). Ein 3,3-Dimethyl-2-oxobutoxy-Rest in *p*-Position der 8-Benzamido-Seitenkette war nicht für eine Inhibition am GPR17 geeignet und führte zu einem Verlust der inhibitorischen Wirksamkeit (**359**, $IC_{50} > 10.0 \mu\text{M}$). Eine Verschiebung des 4-Phenylbutoxy-Rests von der *para*- in die *meta*-Position wurde ebenfalls toleriert (vgl. **360**, *meta*-Substitution, $IC_{50} = 8.92 \mu\text{M}$ mit **113**, *p*-Substitution, $IC_{50} = 7.78 \mu\text{M}$).

Als nächstes wurde der Einfluss einer Halogenierung in 6-Position des Chromenon-Ringsystems auf die Inhibition am Rezeptor untersucht. Die folgende Reihenfolge konnte für die inhibitorische Wirksamkeit der Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit einer 4-(3-Phenylpropoxy)benzamido-Seitenkette in 8-Position aufgestellt werden: Br (**363**, $IC_{50} = 3.30 \mu\text{M}$) \geq F (**361**, $IC_{50} = 4.65 \mu\text{M}$) \geq Cl (**362**, $IC_{50} = 5.94 \mu\text{M}$) $>$ H (**357**, $IC_{50} = 10.9 \mu\text{M}$). Alle eingeführten Halogenatome führten zu einer Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit um den Faktor 2 – 3. Der größte Substituent, das Bromatom, hatte dabei die stärkste Auswirkung, gefolgt von einer Fluor- und Chlor-Substitution, wobei der Unterschied relativ gering war. Aufgrund dieses Ergebnisses wurde in **364** eine 6-Bromierung mit der potenten 4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzamido-Seitenkette in der 8-Position des Chromenon-Grundgerüsts kombiniert. Jedoch zeigte diese Verbindung unerwarteter Weise eine geringere inhibitorische Wirksamkeit (um den Faktor 2) als das nicht bromierte Analoge (vgl. **364**, 6-Br, $IC_{50} = 1.31 \mu\text{M}$ mit **355**, 6-H, $IC_{50} = 0.583 \mu\text{M}$). Die zuvor beobachtete Bevorzugung eines Bromatoms gegenüber anderer Halogensubstituenten bzw. eines Wasserstoffatoms an der 6-Position spiegelte sich auch in der Serie der 4-Benzylxybenzamido-Derivate wieder. Während die 6-Bromverbindung **376** mit einer 4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamid-Seitenkette in der 8-Position des Chromen-4-onringsystems eine Inhibition mit einem IC_{50} -Wert von $4.84 \mu\text{M}$ zeigte, waren das 6-Chlor- (**374**), 6-Fluor- (**373**) und das unsubstituierte Analoge (**114**) bei einer Konzentration von $10 \mu\text{M}$ inaktiv am Rezeptor. Um den Einfluss einer 6-Substitution des Chromenon-Grundsystems besser untersuchen zu können, muss diese Position in Zukunft umfassend variiert werden, indem neben unpolaren und aromatischen Resten (z.B. Methyl oder Phenyl) auch Substituenten mit

Wasserstoffbrückendonator- (z.B. Hydroxyl) bzw. Wasserstoffbrückenakzeptor- (z. B. Carbonylfunktionalitäten) -eigenschaften eingeführt werden. Hierbei müssen auch die physikochemischen Eigenschaften der Verbindungen berücksichtigt werden, insbesondere muss eine ausreichend hohe Wasserlöslichkeit der recht lipophilen Substanzen vorhanden sein.

Abschließend wurde der Carbonsäureamidlinker von **113** in der 8-Position des Chromen-4-onringsystems variiert (siehe Tabelle 3.26). Dabei zeigte sich, dass eine Harnstoff-Funktion als Linker (in **381**) eine Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit um den Faktor 10 bewirkte (vgl. **381**, $IC_{50} = 0.748 \mu\text{M}$ und **113**, $IC_{50} = 7.78 \mu\text{M}$). Aber auch ein Sulfonamid (**384**) oder ein Thioharnstoff (**383**) als Linker führten zu einer Verbesserung der inhibitorischen Wirksamkeit, wenn auch schwächer (**384**, $IC_{50} = 1.99 \mu\text{M}$ und **383**, $IC_{50} = 2.74 \mu\text{M}$). Daher sollten in Zukunft weitere Harnstoff-Derivate dargestellt werden, um eventuell noch potentere GPR17-Antagonisten zu entwickeln.

Bisher wurden nur 6- und 8-substituierte Chromen-4-on-2-carbonsäuren dargestellt und getestet. Ein Vergleich des IC_{50} -Wertes von **113** mit dem von Pranlukast (**15**) zeigte jedoch, dass eine bioisostere Tetrazolfunktion eine um den Faktor 3 höhere antagonistische Wirksamkeit aufwies als eine Carbonsäuregruppe in der 2-Position (Pranlukast, $IC_{50} = 2.69 \mu\text{M}$ und **113**, $IC_{50} = 7.78 \mu\text{M}$). Somit sollte in Zukunft auch die Darstellung von Tetrazol-Derivaten ins Auge gefasst werden trotz der bisherigen Probleme in der Synthese dieser Verbindungen. Eventuell müssen alternative Synthesewege gegangen werden. Der Ersatz der Carboxylgruppe durch weitere bioisostere Gruppen wäre ebenfalls von großem Interesse.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine Serie von 80 Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR17 getestet wurde, wobei nur Verbindungen mit einer langen, lipophilen Seitenkette in der 8-Position eine inhibitorische Wirksamkeit am Rezeptor im niedrigen mikromolaren bis nanomolaren Bereich zeigten. Die Struktur-Wirkungsbeziehungen sind in Abb. 3.18 zusammengefasst und Konzentration-Inhibitionskurven ausgewählter Verbindungen sind in Abb. 3.19 dargestellt. Betrachtet man die Kurve von **113**, so fällt auf, dass diese Verbindung nicht in der Lage war den Rezeptor vollständig zu inhibieren. Diese Verbindung ist daher zwar ein Antagonist, aber wie es scheint kein Vollantagonist.

3 Ergebnisse und Diskussion

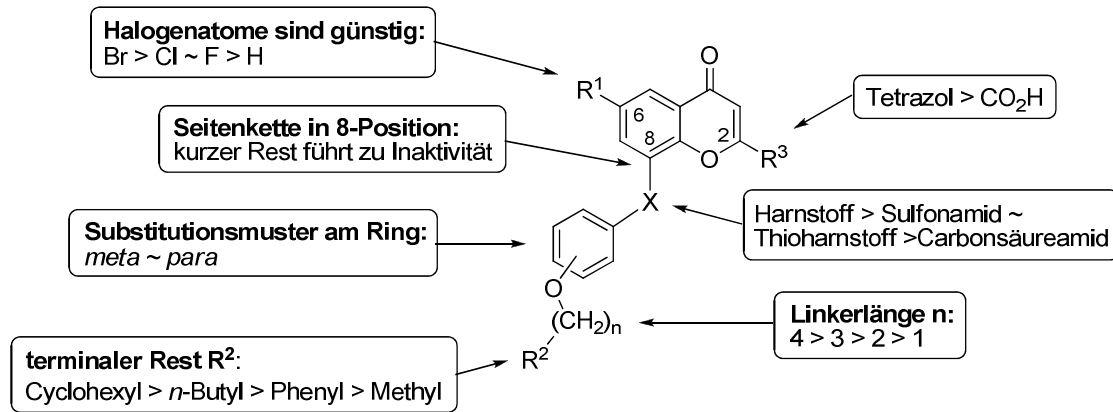


Abb. 3.18. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR17.

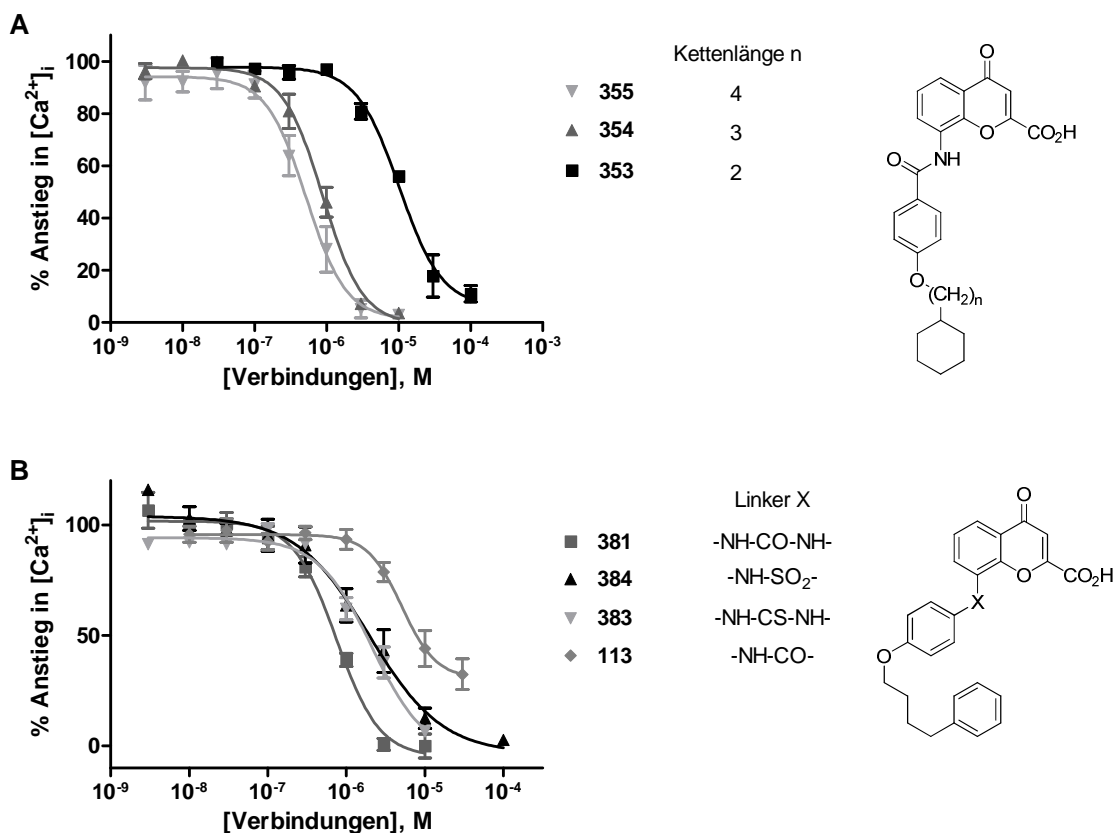
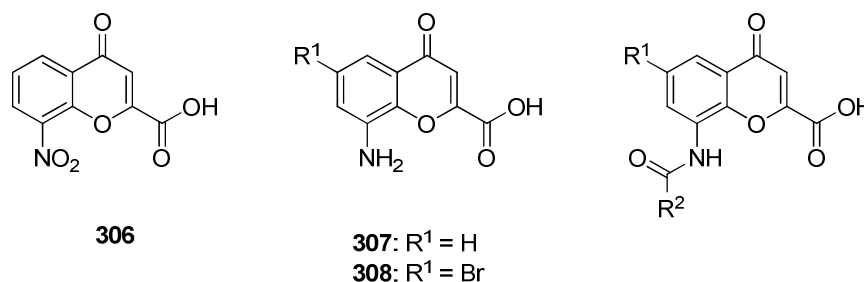


Abb. 3.19. Calciumionen-Mobilisationsassays am humanen GPR17. Konzentration-Inhibitionskurven für ausgewählte Verbindungen. IC_{50} -Werte: (A) **355**, 0,583 μ M; **354**, 0,945 μ M; **353**, 11,8 μ M; (B) **381**, 0,748 μ M; **384**, 1,99 μ M; **383**, 2,74 μ M; **113**, 7,78 μ M.

Der potenteste Antagonist in der Serie von Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivaten war die Verbindung **355**, welche eine 4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzamid-Seitenkette in der 8-Position trug, mit einem IC_{50} -Wert von 583 nM. Eine Substitution der 6-Position durch Halogenatome, insbesondere ein Bromatom, führte in der Regel zu einer leichten Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit am Rezeptor. Durch einen Austausch des Carbonsäureamidlinkers durch eine Harnstoff-Funktion konnte die antagonistische

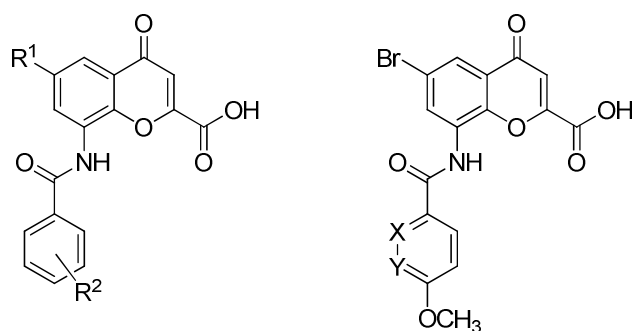
Wirksamkeit ebenfalls gesteigert werden. Da Pranlukast den Rezeptor stärker inhibierte als das entsprechende Carbonsäure-Analoge **113** sollten in Zukunft Chromen-4-on-Derivate mit einer Tetrazolfunktion oder anderen sauren Heterocyclen in der 2-Position dargestellt werden. Desweiteren sollte die Seitenkette in der 8-Position weitreichender modifiziert werden, wobei eine lange lipophile Seitenkette mit einer terminalen voluminösen Ringstruktur günstig für eine Inhibition am GPR17 zu sein scheint. Besonders die terminale Ringstruktur sollte weiter variiert werden durch Einführen von Substituenten oder Ersetzen durch bicyclische oder heterocyclische, nicht aromatische Ringsysteme. Aber auch glykosidisch gebundene Zucker wären denkbar, welche unter anderem die Wasserlöslichkeit der Verbindungen erhöhen könnten.

Tabelle 3.22. Inhibition der humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84 durch substituierte Chromen-4-on-2-carbonsäuren




Verbindung	Substitutionsmuster		hGPR17 ^a		hGPR84 ^b	
	R ¹	R ²	Calcium-Assay ^c IC ₅₀ ± SEM (µM) (% Inhibition) (n = 3)	cAMP-Assay ^d IC ₅₀ ± SEM (µM) (% Inhibition) (n = 2)	β-Arrestin-Assay ^e IC ₅₀ ± SEM (µM) (% Inhibition) (n = 2)	
306	Struktur: siehe oben		>> 30 (7 ± 4) ^f	> 20 (0) ^g	≈ 20 (49) ^g	
307	Struktur: siehe oben		>> 30 (3 ± 2) ^f	> 20 (0) ^g	≈ 20 (51) ^g	
308	Struktur: siehe oben		>> 30 (7 ± 3) ^f	> 20 (0) ^g	> 20 (21) ^g	
309	H	Methyl	> 30 (8 ± 4) ^f	n.b.	n.b.	
310	H	Ethyl	> 30 (16 ± 2) ^f	n.b.	n.b.	
311	H		> 30 (6 ± 3) ^f	n.b.	n.b.	
312	H	Cyclohexyl	≥ 30 (31 ± 3) ^f	n.b.	n.b.	
316	H	Phenyl	> 30 (25 ± 6) ^f	> 20 (18) ^g	≈ 20 (53) ^g	
313	H	Benzyl	≥ 30 (46 ± 3) ^f	> 20 (9) ^g	≥ 20 (41) ^g	
314	H	2-Naphthyl	>> 30 (15 ± 2) ^f	n.b.	n.b.	
315	H	2-Chinolinyll	> 30 (14 ± 1) ^f	n.b.	n.b.	

^aexprimiert in Astrocytoma-1321N1-Zellen; ^bexprimiert in CHO-β-Arrestin-GPR84-Zellen; ^cgemessen wurde gegen 1 µM Agonist MDL29,951¹⁷⁸; ^dgemessen wurde gegen 20 µM Decansäure; ^egemessen wurde gegen 20 µM Embelin; ^fInhibition (%) durch 30 µM Testsubstanz; ^gInhibition (%) durch 20 µM Testsubstanz.

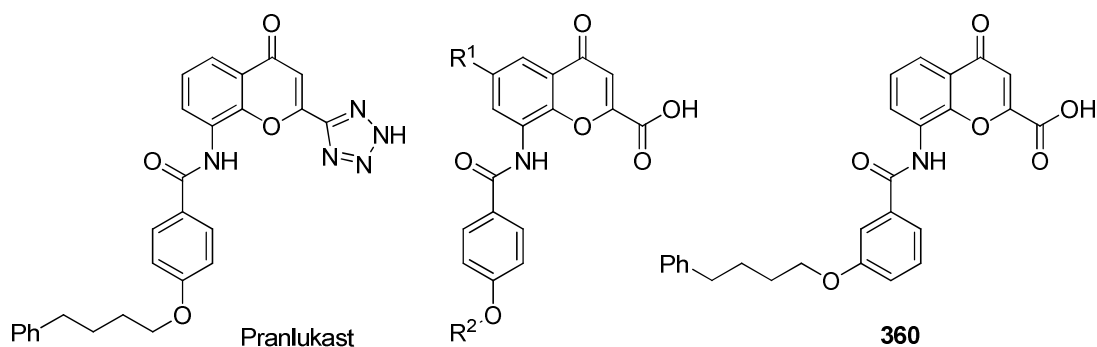
Tabelle 3.23. Inhibition der humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84 durch substituierte Chromen-4-on-2-carbonsäuren**344** (X = N, Y = CH)**345** (X = CH, Y = N)

Verbg.	Substitutionsmuster				hGPR17 ^a Calcium-Assay ^c IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition) (n = 3)	hGPR84 ^b	
	R ¹	R ²				cAMP-Assay ^d IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition) (n = 2-3)	β-Arrestin-Assay ^e IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition) (n = 2-4)
		<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
317	H	H	CH ₃	H	≥ 30 (44 ± 2) ^h	18.9 ± 7.4	51.4 ± 9.5
318	H	H	NO ₂	H	> 30 (13 ± 4) ^h	n.b.	n.b.
319	H	H	H	CH ₃	≥ 30 (46 ± 3) ^h	> 20 (37) ^h	> 20 (35) ^h
320	H	H	H	CF ₃	≥ 30 (46 ± 2) ^h	> 20 (39) ^h	> 20 (21) ^h
115	H	H	H	OCH ₃	> 30 (25 ± 7) ^h	> 20 (16) ^h	≈ 20 (56)
321	H	H	H	Br	>> 30 (15 ± 3) ^h	n.b.	n.b.
322	F	Cl	Cl	H	>> 10 (9 ± 4) ^f	n.b.	n.b.
323	F	Cl	H	Cl	> 10 (22 ± 3) ^f	n.b.	n.b.
324	F	H	Cl	Cl	> 10 (23 ± 6) ^f	n.b.	n.b.
325	F	H	H	OCH ₃	>> 10 (0 ± 2) ^f	8.28 ± 1.97	25.1 ± 1.3
326	Cl	H	H	H	n.b.	n.b.	n.b.
327	Cl	H	CH ₃	H	>> 10 (1 ± 2) ^f	4.24 ± 0.35	27.6 ± 4.8
328	Cl	H	H	NO ₂	> 10 (20 ± 5) ^f	n.b.	n.b.
329	Cl	H	H	OCH ₃	> 10 (26 ± 7) ^f	> 20 (48) ^h	n.b.
330	Cl	F	H	OCH ₃	>> 10 (7 ± 1) ^f	n.b.	n.b.
331	Br	H	H	H	n.b.	n.b.	n.b.
332	Br	H	CH ₃	H	39.7 ± 0.7	2.19 ± 1.00	32.6 ± 11.9
333	Br	H	H	Cl	>> 10 (-3 ± 4) ^f	14.9 ± 0.35	n.b.
334	Br	Cl	H	Cl	>> 10 (0 ± 1) ^f	n.b.	n.b.
335	Br	H	Cl	Cl	> 10 (26 ± 4) ^f	n.b.	n.b.

336	Br	H	H	CN	$\gg 10 (9 \pm 4)^f$	n.b.	n.b.
338	Br	H	H	OCH ₃	$\gg 10 (-9 \pm 4)^f$	29.9 \pm 4.3	n.b.
339	Br	H	H	Ethoxy	$> 10 (18 \pm 6)^f$	20.7 \pm 3.6	31.0 \pm 4.7
340	Br	OCH ₃	H	H	$\gg 10 (8 \pm 1)^f$	n.b.	n.b.
341	Br	H	OCH ₃	OCH ₃	$\gg 10 (-35 \pm 1)^f$	1.07 \pm 0.44	n.b.
342	Br	H			$\gg 10 (0 \pm 16)^f$	$> 30 (36)^h$	n.b.
343	Br	Cl	H	OCH ₃	$\gg 10 (4 \pm 7)^f$	n.b.	n.b.
337	Br	H	H	OH	$\gg 10 (0 \pm 7)^f$	n.b.	n.b.
344	Struktur: siehe oben				$\gg 10 (12 \pm 1)^f$	n.b.	n.b.
345	Struktur: siehe oben				$\gg 10 (17 \pm 3)^f$	n.b.	n.b.

^aexprimiert in Astrocytoma-1321N1-Zellen; ^bexprimiert in CHO- β -Arrestin-GPR84-Zellen; ^cgemessen wurde gegen 1 μ M Agonist MDL29,951¹⁷⁸; ^dgemessen wurde gegen 20 μ M Decansäure; ^egemessen wurde gegen 20 μ M Embelin; ^fInhibition (%) durch 10 μ M Testsubstanz; ^gInhibition (%) durch 20 μ M Testsubstanz; ^hInhibition (%) durch 30 μ M Testsubstanz.

Tabelle 3.24. Inhibition der humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84 durch Pranlukast und substituierte 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren



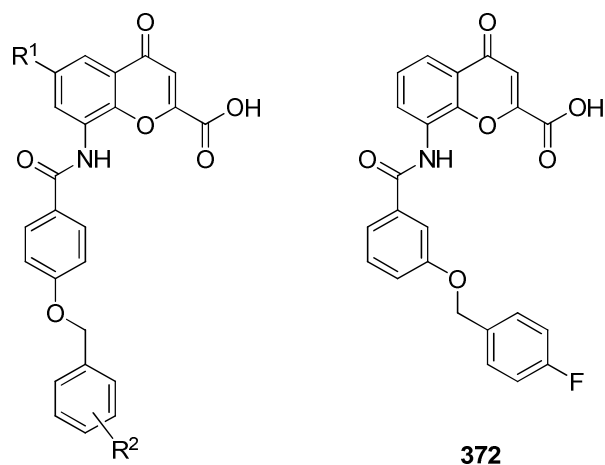
Verbg.	Substitutionsmuster		hGPR17 ^a Calcium-Assay ^c IC ₅₀ \pm SEM (μ M) (% Inhibition) (n = 3) ^f	hGPR84 ^b cAMP-Assay ^d β -Arrestin-Assay ^e IC ₅₀ \pm SEM IC ₅₀ \pm SEM (μ M) (μ M) (% Inhibition) (% Inhibition) (n = 2-3) (n = 2)	
	R ¹	R ²			
Pranlukast	Struktur: siehe oben		2.69 \pm 0.12 ²⁹¹	1.40 \pm 0.05	19.7 \pm 1.1
346	H	<i>n</i> -Propyl	$\gg 10 (17 \pm 3)^f$	$\geq 20 (43)^g$	n.b.
347	H	<i>n</i> -Butyl	$\gg 10 (16 \pm 0)^f$	13.4 \pm 0.9	n.b.
348	H	<i>n</i> -Pentyl	$\geq 10 (30 \pm 5)^f$	$> 20 (38)^g$	23.6 \pm 6.3
349	H	<i>n</i> -Hexyl	$> 100 (12 \pm 11)^h$	n.b.	n.b.
350	H	<i>n</i> -Heptyl	1.63 \pm 0.05	$> 20 (25)^g$	n.b.
351	H	4-Methylpentyl	3.90 \pm 0.76	$> 20 (15)^g$	28.4 \pm 4.5
352	H	Cyclopropylmethyl	$\gg 10 (15 \pm 2)^f$	$> 20 (12)^g$	n.b.
353	H	2-Cyclohexylethoxy	11.8 \pm 0.5	2.21 \pm 0.75	14.4 \pm 2.6
354	H	3-Cyclohexylpropyl	0.945 \pm 0.58	$> 100 (14)^h$	n.b.

3 Ergebnisse und Diskussion

355	H	4-Cyclohexylbutyl	0.583 ± 0.202	n.b.	n.b.
356	H	2-Phenylethyl	24.9 ± 3.8	2.76 ± 0.31	26.0 ± 3.4
357	H	3-Phenylpropyl	10.9 ± 2.9	> 20 (46) ^g	> 20 (31) ^g
113	H	4-Phenylbutyl	7.78 ± 1.72	10.1 ± 1.62	≈ 20 (46) ^g
358	H	3-(4-Methoxyphenyl)propyl	6.95 ± 1.00	n.b.	n.b.
359	H	3,3-Dimethyl-2-oxobutyl	>> 10 (15 ± 2) ^f	>> 20 (0) ^g	>> 20 (0) ^g
360	Struktur: siehe oben		8.92 ± 0.72	2.00 ± 0.30	n.b.
361	F	3-Phenylpropyl	4.65 ± 0.46	n.b.	n.b.
362	Cl	3-Phenylpropyl	5.94 ± 0.78	n.b.	n.b.
363	Br	3-Phenylpropyl	3.30 ± 0.95	1.41 ± 0.14	n.b.
364	Br	4-Cyclohexylbutyl	1.31 ± 0.26	n.b.	n.b.

^aexprimiert in Astrocytoma-1321N1-Zellen; ^bexprimiert in CHO- β -Arrestin-GPR84-Zellen; ^cgemessen wurde gegen 1 μ M Agonist MDL29,951¹⁷⁸; ^dgemessen wurde gegen 20 μ M Decansäure; ^egemessen wurde gegen 20 μ M Embelin; ^fInhibition (%) durch 10 μ M Testsubstanz; ^gInhibition (%) durch 20 μ M Testsubstanz; ^hInhibition (%) durch 100 μ M Testsubstanz.

Tabelle 3.25. Inhibition der humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84 durch substituierte 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren

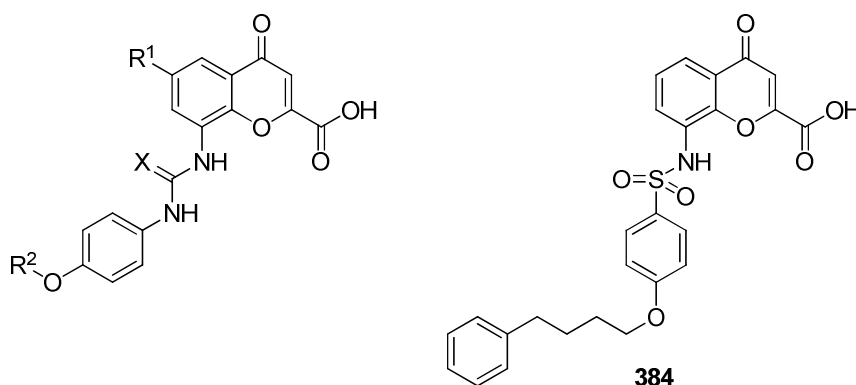


Verbg.	Substitutionsmuster				hGPR17 ^a Calcium-Assay ^c IC ₅₀ ± SEM (μ M) (% Inhibition) (n = 3)	hGPR84 ^b	
	R ¹	R ²				cAMP-Assay ^d IC ₅₀ ± SEM (μ M) (% Inhibition) (n = 2-3)	β -Arrestin-Assay ^e IC ₅₀ ± SEM (μ M) (% Inhibition) (n = 2-5)
		<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>			
365	H	H	H	H	> 10 (34 ± 4) ^f	1.94 ± 0.36	12.3 ± 0.1
114	H	H	H	F	>> 10 (4 ± 1) ^f	1.33 ± 0.18	7.16 ± 1.12
366	H	H	H	Cl	> 10 (37 ± 6) ^f	3.19 ± 1.42	13.3 ± 0.5
367	H	H	H	Br	> 10 (29 ± 3) ^f	1.85 ± 0.94	15.1 ± 6.6
368	H	H	H	CH ₃	13.8 ± 0.3	4.43 ± 0.86	29.4 ± 0.9

369	H	H	H	CF ₃	7.03 ± 0.75	19.6 ± 0.3	31.9 ± 6.3
370	H	H	F	H	> 10 (33 ± 7) ^f	1.71 ± 0.37	24.1 ± 4.8
371	H	F	H	H	> 10 (31 ± 8) ^f	14.4 ± 3.1	73.7 ± 6.6
372					> 10 (32 ± 1) ^f	0.503 ± 0.171	2.44 ± 0.82
373	F	H	H	F	≥ 10 (45 ± 6) ^f	2.17 ± 0.12	6.59 ± 0.89
374	Cl	H	H	F	> 10 (34 ± 5) ^f	0.527 ± 0.055	3.91 ± 0.78
375	Cl	H	H	Br	> 10 (27 ± 2) ^f	0.331 ± 0.019	10.1 ± 2.5
376	Br	H	H	F	4.84 ± 0.19	0.391 ± 0.017	1.45 ± 0.07
377	Br	H	H	Br	2.32 ± 0.24	0.426 ± 0.053	2.99 ± 0.38
378	Br	H	Br	H	> 10 (29 ± 10) ^f	1.29 ± 0.12	19.1 ± 3.1

^aexprimiert in Astrocytoma-1321N1-Zellen; ^bexprimiert in CHO-β-Arrestin-GPR84-Zellen; ^cgemessen wurde gegen 1 μM Agonist MDL29,951¹⁷⁸; ^dgemessen wurde gegen 20 μM Decansäure; ^egemessen wurde gegen 20 μM Embelin; ^fInhibition (%) durch 10 μM Testsubstanz.

Tabelle 3.26. Inhibition der humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84 durch 8-Ureido-, 8-Thioureido- und 8-Sulfonamidochromen-4-on-2-carbonsäuren



Verbg.	Substitutionsmuster			hGPR17 ^a Calcium-Assay ^c IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition) (n = 3)	hGPR84 ^b	
	R ¹	R ²	X		cAMP-Assay ^d IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition) (n = 2-3)	β-Arrestin-Assay ^e IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibition) (n = 3)
379	H	Methyl	O	>> 10 (5 ± 1) ^f	n.b.	n.b.
380	Br	Methyl	O	> 10 (35 ± 2) ^f	n.b.	n.b.
381	H	4-Phenylbutyl	O	0.748 ± 0.076	2.33 ± 0.63	52.8 ± 0.9
383	H	4-Phenylbutyl	S	2.74 ± 0.84	4.41 ± 0.16	n.b.
384	Struktur: siehe oben			1.99 ± 0.61	> 20 (0) ^g	> 20 (7) ^h
382	H	4-Fluorbenzyl	O	n.b.	0.457 ± 0.103	n.b.

^aexprimiert in Astrocytoma-1321N1-Zellen; ^bexprimiert in CHO-β-Arrestin-GPR84-Zellen; ^cgemessen wurde gegen 1 μM Agonist MDL29,951¹⁷⁸; ^dgemessen wurde gegen 20 μM Decansäure; ^egemessen wurde gegen 20 μM Embelin; ^fInhibition (%) durch 10 μM Testsubstanz; ^gInhibition (%) durch 20 μM Testsubstanz.

3.5 Testung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am GPR84

3.5.1 Einleitung

Da der GPR84 durch Fettsäuren mittlerer Kettenlänge stimuliert wird, wurden auch einige der für den GPR17 entwickelten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR84 getestet. Verbindung **114** zeigte dabei eine inhibitorische Wirksamkeit mit einem IC_{50} -Wert von 1330 nM und diente als Leitstruktur zur Entwicklung potenter GPR84-Antagonisten, von denen bisher in der Literatur noch keine beschrieben worden. Es wurden speziell für diesen Rezeptor 8-(Benzyloxybenzamido)chromen-4-on-2-carbonsäuren dargestellt, die in cAMP-Akkumulations- und β -Arrestin-Rekrutierungsassays auf ihre inhibitorische Wirksamkeit hin getestet wurden. Alle Testungsergebnisse wurden in den Tabellen 3.22 – 3.26 zusammengefasst.

Der cAMP-Akkumulations- und der β -Arrestin-Rekrutierungsassay wurden bereits in Kapitel 3.2.1 ausführlich beschrieben. Für cAMP-Akkumulationsexperimente wurden CHO- β -Arrestin-hGPR84-Zelllinien verwendet. Als Agonist wurde die Dekansäure (20 μ M) mit einem EC_{50} -Wert von $5.34 \pm 0.56 \mu$ M verwendet. Vortestungen wurden in der Regel bei einer Konzentration von 20 μ M Testsubstanz durchgeführt. Wenn die Verbindungen eine Inhibition von >50 % zeigten, wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus dessen Verlauf IC_{50} -Werte ermittelt werden konnten.

Der Großteil der Verbindungen wurde in β -Arrestin-Rekrutierungsexperimenten auf ihre inhibitorische Wirkung hin getestet. Dafür wurden CHO-Zelllinien des Pathhunter β -Arrestin-Rekrutierungsassay-Systems verwendet. Als Agonist wurde Embelin (20 μ M) mit einem $EC_{50} = 0.424 \pm 0.192 \mu$ M eingesetzt. Die Messungen wurden zunächst bei einer hohen Konzentration (20 μ M) durchgeführt. Wenn die Verbindungen eine Inhibition von >50 % zeigten, wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen, aus deren Verlauf IC_{50} -Werte ermittelt werden konnten.

Die Testung am humanen GPR84, inklusive der Auswertung der Daten, wurde in unserem Arbeitskreis durch Dr. Meryem Köse und Inge Renner durchgeführt.

3.5.2 Struktur-Wirkungsbeziehungen

Insgesamt wurden 51 Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR84 getestet, von denen 33 Verbindungen in cAMP-Akkumulationsassays eine inhibitorische Wirksamkeit mit einem IC_{50} -Wert im mikromolaren bis nanomolaren Bereich zeigten. Wie bereits zuvor beschrieben, wies die Leitstruktur **114** mit einer 4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamid-Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-onringsystems eine antagonistische Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von 1330 nM am GPR84 auf. Um Struktur-Wirkungsbeziehungen aufstellen zu können, wurde die *p*-Position der endständigen Benzylfunktion durch Einführung verschiedener Substituenten variiert. Es ergab sich folgende Reihenfolge für die inhibitorische Wirksamkeit unter diesen Verbindungen: F (**114**, IC_{50} = 1330 nM) \geq Br (**367**, IC_{50} = 1850 nM) \approx H (**365**, IC_{50} = 1940 nM) $>$ Cl (**366**, IC_{50} = 3190 nM) \geq CH₃ (**368**, IC_{50} = 4430 nM) $>$ CF₃ (**369**, IC_{50} = 19600 nM). Damit scheint ein Fluor-Substituent in dieser Position optimal zu sein, obwohl bisher noch wenige Substituenten mit unterschiedlichen Eigenschaften eingeführt wurden, um genauere Aussagen treffen zu können. Es fehlen unter anderem noch Substituenten mit Wasserstoffbrückenakzeptor- und Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften. Eine Variation der Position des Fluoratoms führte zu folgendem Ergebnis: eine *p*-Substitution (**114**, IC_{50} = 1330 nM) war für eine Inhibition am Rezeptor ungefähr genauso gut geeignet wie eine *m*-Substitution (**370**, IC_{50} = 1710 nM) während ein Fluoratom in *o*-Position (**371**, IC_{50} = 14400 nM) zu einer deutlichen Verringerung der inhibitorischen Wirksamkeit führte. Des Weiteren wurde die Position des 4-Fluorbenzyloxy-Restes am Benzamidring untersucht. Dabei zeigte sich, dass eine *m*-Substitution die Inhibition am Rezeptor um den Faktor 2 – 3 gegenüber einem Substituenten in *p*-Position steigerte (vgl. **372**, *m*-Substitution, IC_{50} = 503 nM mit **114**, *p*-Substitution, IC_{50} = 1330 nM).

Eine 4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamido-Seitenkette in 8-Position (**114**) wurde nun in Hinblick auf eine mögliche Verbesserung der inhibitorischen Wirksamkeit am hGPR84 mit der Einführung verschiedener Halogenatome in der 6-Position des Chromenonringsystems kombiniert. Nach einem Vergleich von **114** (6-H, IC_{50} = 1330 nM) mit **373** (6-F, IC_{50} = 2170 nM), **374** (6-Cl, IC_{50} = 527 nM) und **376** (6-Br, IC_{50} = 391 nM) wurde deutlich, dass ein eingeführtes Brom- oder Chloratom zu einer deutlichen Erhöhung der antagonistischen Wirksamkeit (um den Faktor 2.5 – 3) führte während ein Fluorsubstituent in dieser Position eine Verringerung zur Folge hatte. Der

größte Substituent, das Bromatom, hatte dabei die stärkste Auswirkung. Eine Kombination einer 4-(4-Brombenzyloxy)benzamido-Seitenkette in 8-Position mit einer 6-Halogenierung führte zu einem abweichenden Ergebnis: ein Chloratom (**375**, $IC_{50} = 331$ nM) war günstiger als ein Brom-Substituent (**377**, $IC_{50} = 426$ nM). Wie zu erkennen ist, war bei Anwesenheit eines Chloratoms in 6-Position, im Gegensatz zu einem 6-Bromsubstituenten, ein Bromatom in *p*-Position der endständigen Benzylfunktion (in der Seitenkette in 8-Position des Chromenonringsystems) etwas günstiger als ein Fluorsubstituent (vgl. **375**, 6-Cl, *p*-Br, $IC_{50} = 331$ nM mit **374**, 6-Cl, *p*-F, $IC_{50} = 527$ nM) und führte zu dem bisher potentesten bekannten Antagonisten am humanen GPR84. Die 6-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts sollte für eine mögliche Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit weiter studiert werden, indem unter anderem größere Reste wie Phenylfunktionen eingeführt werden. Es deutet sich an, dass ein 6-Substituent in eine größere unpolare Bindungstasche bindet, die durch Halogenatome nicht vollständig ausgefüllt wurde. Damit könnte eine deutliche Steigerung der antagonistischen Aktivität an diesem Rezeptor erzielt werden. In der 6-Brom-Serie war eine *p*-Substitution eines Bromatoms am endständigen Benzylring in der Seitenkette in 8-Position des Chromenonringsystems günstiger (um den Faktor 3) als eine entsprechende *m*-Substitution (vgl. **377**, *p*-Br, $IC_{50} = 426$ nM mit **378**, *m*-Br, $IC_{50} = 1290$ nM). Wie bereits besprochen, war bei einem Fluorsubstituenten am Benzylring in Kombination mit einem Wasserstoffatom in der 6-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts eine *p*-Substitution nur unwesentlich günstiger für eine Inhibition am Rezeptor als eine *m*-Substitution (vgl. **114**, *p*-F, $IC_{50} = 1330$ nM mit **370**, *m*-F, $IC_{50} = 1710$ nM). Somit war der Einfluss eines großen Bromatoms auf die inhibitorische Wirksamkeit wesentlich stärker als der eines kleinen Fluor-Substituenten am Benzylring und ein Substituent in *p*-Position sollte somit einer *m*-Substitution vorgezogen werden.

Neben Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit einer substituierten Benzyloxybenzamido-Seitenkette in der 8-Position wurden auch Verbindungen mit einer kürzeren Seitenkette getestet, von denen nur einige aktiv waren, die mindestens einen Benzamido-Rest in dieser Position aufwiesen (siehe Tabellen 3.22 und 3.23). Diese Verbindungen zeigten aber in der Regel eine geringere inhibitorische Wirksamkeit am Rezeptor als die zuvor diskutierten Chromenon-Derivate. Es war also eine ausreichend lange Seitenkette in der 8-Position des Chromenonringsystems notwendig, um eine genügend hohe Inhibition des Rezeptors zu erzielen. Jedoch konnten zuvor dargestellte Tendenzen bestätigt werden. Eine Halogenierung der 6-Position von Verbindung **317**, die eine 3-

Methylbenzamido-Seitenkette in 8-Position trägt, führte zu einer deutlichen Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit, wobei ein Bromatom einen stärkeren Einfluss hatte als ein Chlorsubstituent (vgl. **332**, 6-Br, $IC_{50} = 2190$ nM und **327**, 6-Cl, $IC_{50} = 4240$ nM mit **317**, 6-H, $IC_{50} = 18900$ nM). Interessant war außerdem, dass die Einführung einer zusätzlichen Methoxygruppe in *m*-Position in Verbindung **338**, die neben einer 4-Methoxybenzamido-Seitenkette in 8-Position ein Bromatom in 6-Position des Chromenonringsystems trug, in einer deutlichen Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit um den Faktor 28 resultierte (vgl. **341**, *m,p*-di-OCH₃, $IC_{50} = 1070$ nM mit **338**, *p*-OCH₃, $IC_{50} = 29900$ nM). Damit könnte eine Einführung zusätzlicher Substituenten in der Benzamido-Seitenkette in Nachbarstellung zum Benzyloxy-Rest zu einer weiteren Steigerung der antagonistischen Aktivität an diesem Rezeptor führen. Dies sollte in Zukunft weiter untersucht werden.

Weiterhin wurden auch die Chromen-4-on-2-carbonsäuren getestet, die speziell für den GPR17 entwickelt worden waren (siehe Tabelle 3.24). Dabei handelte es sich in der Regel um Verbindungen, die eine längere lipophile Seitenkette, zum Teil größer als ein Benzyloxybenzamid-Rest, in der 8-Position aufwiesen. Es zeigte sich, dass in den Serien, die synthetisiert worden waren, in der Regel nur bestimmte Verbindungen mit einer definierten Kettenlänge aktiv am Rezeptor waren. So führte in der Serie von 8-(4-(*n*-Alkyloxy)benzamido)chromen-4-on-2-carbonsäuren (mit $n = 1 - 5$ Kohlenstoffatomen) nur eine *n*-Butyloxy-Seitenkette zu einer Inhibition am GPR84 (**347**, $IC_{50} = 13400$ nM). Dasselbe Phänomen wurde beobachtet, wenn der *n*-Alkyloxy-Rest durch eine Cyclohexyl-*n*-alkyloxy-Seitenkette (mit $n = 2 - 3$ Kohlenstoffatomen) ersetzt wurde. Dabei zeigte nur Verbindung **353** mit dem kürzesten *n*-Alkyl-Linker ($n = 2$) eine inhibitorische Aktivität mit einem IC_{50} -Wert von 2210 nM. In der Serie von Chromenonsäuren mit einer 4-(Phenyl-*n*-alkyloxy)benzamid-Seitenkette in der 8-Position (mit $n = 1 - 4$ Kohlenstoffatomen) waren die beiden Verbindungen mit der kürzesten Linkerlänge die potentesten Antagonisten (**365**, $n = 1$, $IC_{50} = 1940$ nM und **356**, $n = 2$, $IC_{50} = 2760$ nM). Damit konnte gezeigt werden, dass die Seitenkette in der 8-Position des Chromenon-Grundgerüsts eine ganz bestimmte Länge, die ungefähr der eines Benzyloxybenzamido-Restes entsprach, aufweisen muss, um eine postulierte unpolare Bindungstasche auszufüllen und damit eine möglichst hohe Inhibition des Rezeptors zu erzielen. Wie bereits zuvor diskutiert, scheint eine *m*-Substitution an der Benzamido-Seitenkette in 8-Position günstiger zu sein als ein Substituent in *p*-Position (vgl. **360**, *m*-Substitution, $IC_{50} = 2000$ nM mit **113**, *p*-Substitution, $IC_{50} = 10100$ nM).

Außerdem führte wieder eine 6-Bromierung zu einer deutlichen Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit am Rezeptor (vgl. **363**, 6-Br, $IC_{50} = 1410$ nM mit **357**, 6-H, $IC_{50} > 20000$ nM).

Beim Vergleich des IC_{50} -Wertes von Pranlukast mit dem des Säure-Analogen **113** wurde deutlich, dass das Tetrazol-Derivat Pranlukast eine um den Faktor 7 höhere antagonistische Aktivität am humanen GPR84 aufweist (vgl. Pranlukast, $IC_{50} = 1400$ nM mit **113**, $IC_{50} = 10100$ nM). Daher sollte auch zur weiteren Optimierung dieser Substanzklasse als potentielle GPR84-Antagonisten die Säurefunktion in 2-Position des Chromen-4-onringsystems durch einen Tetrazolring bzw. weitere Säure-Bioisostere ersetzt werden.

Abschließend wurde in **114** der Carbonsäureamidlinker der 4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamido-Seitenkette in 8-Position des Chromenon-Grundgerüsts variiert. Eine Harnstoff-Funktion (in **382**) führte dabei zu einer Steigerung der inhibitorischen Wirksamkeit um den Faktor 3 gegenüber dem Carbonsäureamid-Analogen (vgl. **382**, $IC_{50} = 457$ nM mit **114**, $IC_{50} = 1330$ nM). Diese Tatsache konnte auch bei dem Chromenon-Derivat **113** mit einer 4-(4-Phenylbutoxy)benzamido-Seitenkette in der 8-Position beobachtet werden: ein Ersetzen des Carbonsäureamidlinkers durch eine Thioharnstoff- (**383**) oder Harnstoff-Funktion (**381**) resultierte in einer Erniedrigung des IC_{50} -Wertes um den Faktor 2 bzw. 4 (vgl. **381**, $IC_{50} = 2330$ nM und **383**, $IC_{50} = 4410$ nM mit **113**, $IC_{50} = 10100$ nM). Die Verbindung **384** mit einer Sulfonamidgruppe in dieser Position war hingegen bei einer Konzentration von 20 μ M nicht aktiv am Rezeptor. Daher sollte man sich in Zukunft zur Entwicklung potenterer GPR84-Antagonisten auf die Darstellung von Harnstoff-Derivaten konzentrieren.

In Abb. 3.20 sind die in cAMP-Akkumulationsassays bestimmten Konzentration-Inhibitionskurven ausgewählter Verbindungen am humanen GPR84 dargestellt.

Die im cAMP-Akkumulationsassay identifizierten GPR84-Antagonisten wurden auch in β -Arrestin-Rekrutierungsassays evaluiert und zeigten in der Regel auch in diesen Experimenten eine inhibitorische Wirksamkeit am Rezeptor. Die für 14 ausgewählte Verbindungen über beide Assays ermittelten pIC_{50} -Werte korrelierten gut, wobei der Spearmans Rangkorrelationskoeffizient 0.73 betrug.³⁴⁹ Ein Korrelationsdiagramm ist in Abb. 3.21 dargestellt.

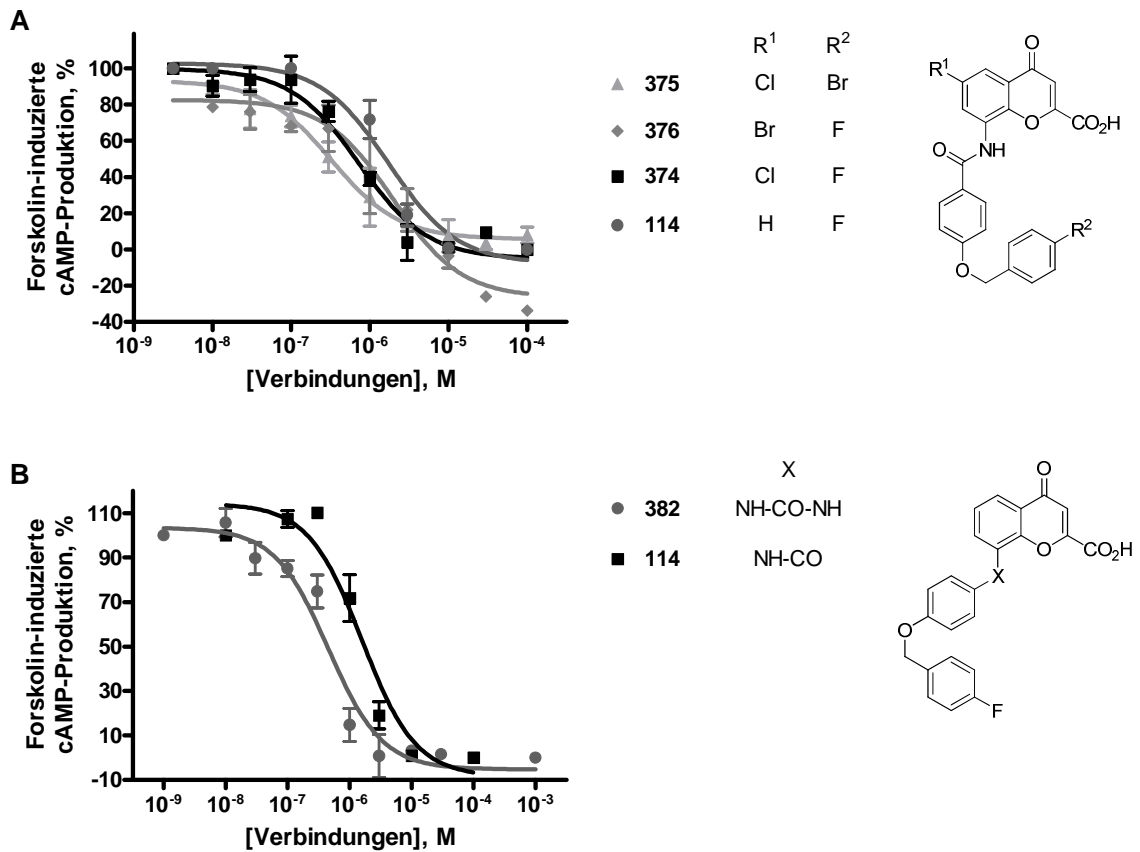


Abb. 3.20. cAMP-Akkumulationsassays am humanen GPR84. Konzentration-Inhibitionskurven für ausgewählte Verbindungen am hGPR84. IC₅₀-Werte: (A) **375**, 331 nM; **376**, 391 nM; **374**, 527 nM; **114**, 1330 nM; (B) **382**, 457 nM; **114**, 1330 nM.

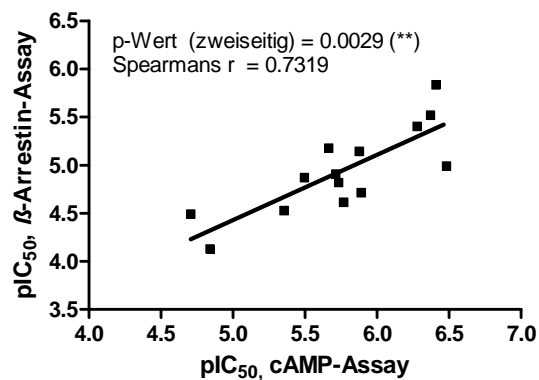


Abb. 3.21. Korrelationsdiagramm. Die für 14 ausgewählte 8-(4-Benzyloxy)benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren im β -Arrestin-Rekrutierungsassay ermittelten pIC₅₀-Werte wurden gegen die im cAMP-Akkumulationsassay bestimmten pIC₅₀-Werte aufgetragen. Es wurde ein Spearman's Rangkorrelationskoeffizient von 0.73 ermittelt.³⁴⁹

Die Struktur-Wirkungsbeziehungen, die anhand der Daten aus dem cAMP-Akkumulationsassay aufgestellt wurden, konnten im großen und ganzen bestätigt

werden, wobei prinzipiell die im β -Arrestin-Rekrutierungsassay ermittelten IC_{50} -Werte durchschnittlich um den Faktor 5 höher waren. Dies kann damit erklärt werden, dass bei β -Arrestin-Rekrutierungsassays eine vollständige Besetzung aller Rezeptoren notwendig ist, während in cAMP-Akkumulationsassays nicht alle Rezeptoren besetzt werden müssen, um einen Maximaleffekt zu bewirken.

In der Regel gehörten die im cAMP-Akkumulationsassay aktivsten Verbindungen auch im β -Arrestin-Rekrutierungsassay zu den potentesten Antagonisten, wie z.B. **372** (cAMP-Assay: $IC_{50} = 0.503 \mu\text{M}$; β -Arrestin-Assay: $IC_{50} = 2.44 \mu\text{M}$), **374** (cAMP-Assay: $IC_{50} = 0.527 \mu\text{M}$; β -Arrestin-Assay: $IC_{50} = 3.91 \mu\text{M}$), **376** (cAMP-Assay: $IC_{50} = 0.391 \mu\text{M}$; β -Arrestin-Assay: $IC_{50} = 1.45 \mu\text{M}$) und **377** (cAMP-Assay: $IC_{50} = 0.426 \mu\text{M}$; β -Arrestin-Assay: $IC_{50} = 2.99 \mu\text{M}$). Nur der im GPR84-cAMP-Akkumulationsassay potenteste Antagonist **375** zeigte im GPR84- β -Arrestin-Rekrutierungsassay eine deutlich geringere inhibitorische Wirksamkeit am GPR84 (cAMP-Assay: $IC_{50} = 0.331 \mu\text{M}$; β -Arrestin-Assay: $IC_{50} = 10.1 \mu\text{M}$). Der positive Einfluss eines Halogensubstituenten in der 6-Position des Chromenonringsystem (vgl. **376**, 6-Br, $IC_{50} = 1.45 \mu\text{M}$ und **374**, 6-Cl, $IC_{50} = 3.91 \mu\text{M}$ mit **114**, 6-H, $IC_{50} = 7.16 \mu\text{M}$) spiegelte sich genauso in den aus β -Arrestin-Rekrutierungsassays ermittelten Daten wieder, wie die Bevorzugung einer *meta*- gegenüber einer *para*-Substitution des Benzylrings in der Benzamid-Seitenkette in 8-Position (vgl. **372**, *m*-Substitution, $IC_{50} = 2.44 \mu\text{M}$ mit **114**, *p*-Substitution, $IC_{50} = 7.16 \mu\text{M}$).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir Chromen-4-on-2-carbonsäuren, insbesondere solche, die eine substituierte Benzyloxybenzamid-Seitenkette in der 8-Position tragen, als die ersten bekannten Antagonisten am humanen GPR84 identifizieren konnten. Es wurden cAMP-Akkumulations- und β -Arrestin-Rekrutierungsassays durchgeführt, deren Daten gut miteinander korrelierten. Als Leitstruktur diente **114** mit einem IC_{50} -Wert von $1.33 \mu\text{M}$. Durch verschiedene Optimierungen dieser Struktur konnte der bisher potenteste GPR84-Antagonist, und zwar **375** mit einem Chlorsubstituenten in 6-Position und einer 4-(4-Brombenzyloxy)benzamid-Seitenkette in 8-Position des Chromenon-Grundgerüsts, entwickelt werden. Der IC_{50} -Wert lag im nanomolaren Bereich ($IC_{50} = 331 \text{ nM}$). Die Struktur-Wirkungsbeziehungen am humanen GPR84 sind in Abb. 3.22 zusammengefasst.

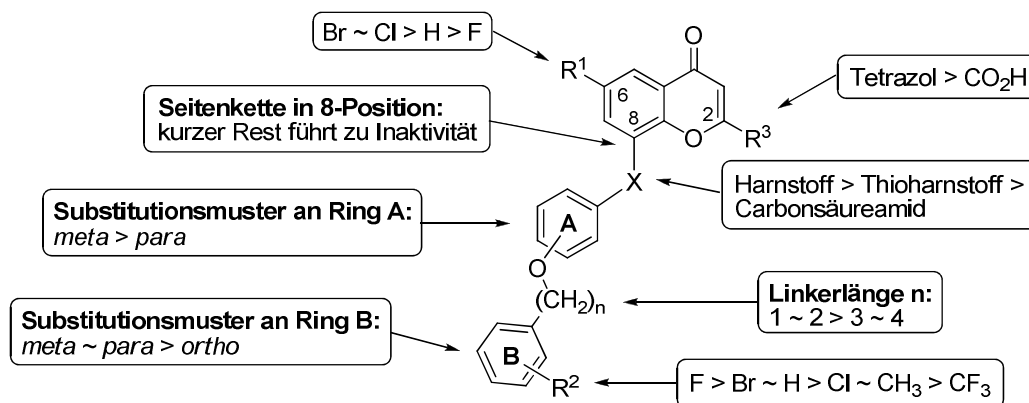


Abb. 3.22. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR84.

In Zukunft könnten noch vielfältige und sehr vielversprechende Variationen dieser Struktur vorgenommen werden, um einen noch potenteren und selektiven GPR84-Antagonisten zu entwickeln. Mögliche Modifikationen wären das Ersetzen der Carbonsäurefunktion durch eine bioisostere Tetrazolgruppe und des Amidlinkers durch eine Harnstoff-Funktion. Des Weiteren sollten Substituenten in 6-Position des Chromenonringsystems ausführlich studiert werden. Eine Einführung eines unpolaren voluminösen Substituenten, wie einer Phenylfunktion, erscheint vielversprechend, um die inhibitorische Wirksamkeit weiter zu steigern. Ein selektiver GPR84-Antagonist könnte zum Beispiel zur Entwicklung eines Radioliganden genutzt werden, der als pharmakologisches Tool dienen könnte. Die hergestellten Liganden werden dazu dienen, die (patho)physiologische Rolle des Rezeptors und dessen Potential als mögliches Target zur Arzneimittelentwicklung weiter zu untersuchen.

3.6 Untersuchung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am GPR35

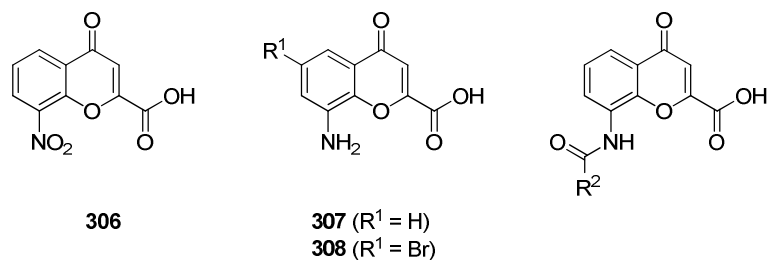
3.6.1 Funktionelle Studien

3.6.1.1 Einleitung

Auf Grund des gemeinsamen Grundgerüsts der für den GPR17 dargestellten Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit der am GPR35 aktiven Verbindung Cromoglicinsäure (**31**) wurden diese Substanzen auch am GPR35 getestet, und daraufhin speziell für den GPR35 optimierte Liganden entwickelt. Insgesamt wurde eine Serie von 77 überwiegend neuen Chromen-4-on-2-carbonsäuren und einem Ethylester-Derivat (Verbindungen **113 – 115**, **227** und **306 – 384**, siehe Tabellen 3.27 – 3.31) am humanen GPR35 evaluiert.

Die Testungen erfolgten, wie am humanen GPR84, in einem Pathhunter β -Arrestin-Rekrutierungsassay (DiscoverX, Fremont, CA), der in Kapitel 3.5.1 bereits beschrieben wurde. Die Verbindungen wurden zunächst auf ihre agonistische Wirksamkeit am humanen GPR35 bei einer Konzentration von 10 μ M getestet. Die Effekte wurden auf das durch 30 μ M Zaprinast (**28**) induzierte Signal normalisiert, welches dem Maximaleffekt entspricht. Wenn Verbindungen einen Effekt von >50 % zeigten, wurden Konzentrations-Wirkungskurven aufgenommen. Substanzen, die keine agonistische Aktivität zeigten, wurden auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber einer Rezeptoraktivierung durch 5 μ M Zaprinast ($\sim EC_{80}$) hin untersucht. Die Verbindungen wurden zur Bestimmung ihrer Selektivität weiterhin in β -Arrestin-Rekrutierungsassays am Maus- und Ratten-GPR35 und am humanen GPR55-Rezeptor evaluiert. Die Effekte wurden für den Maus- bzw. Ratten-GPR35 auf das durch 30 bzw. 10 μ M Zaprinast sowie für den GPR55 auf das durch 1 μ M Lysophosphatidylinositol (LPI) induzierte Signal normalisiert. Weiterhin wurden die dargestellten Verbindungen auf ihre inhibitorische Wirksamkeit gegenüber einer GPR55- β -Arrestin-Rekrutierung durch 1 μ M LPI hin untersucht.

Alle Testungen, inklusive der Auswertung der Daten, wurden in unserem Arbeitskreis von Dominik Thimm durchgeführt.

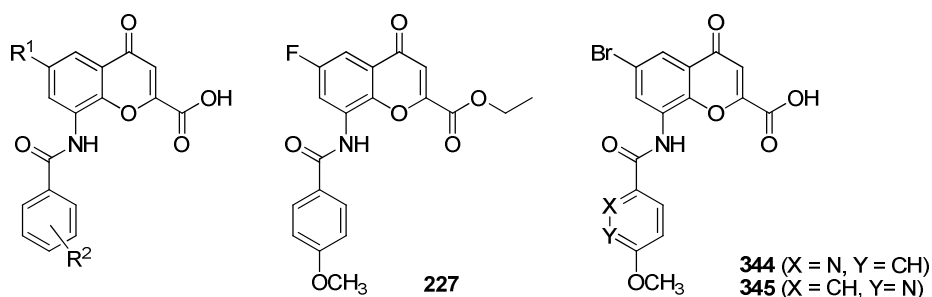
Tabelle 3.27. Wirksamkeit und Inhibitionswerte von Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen, Maus- und Ratten-GPR35 im β -Arrestin-Rekrutierungsassay

Verbg.	Substitutions- muster	hGPR35			mGPR35		rGPR35	
		EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	IC ₅₀ ± SEM (μM) (% Inhibit. ^c ± SEM)	EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
Zaprinast (28)	R ²	1.96 ± 0.24	100	-	1.60 ± 0.04	100	0.0611 ± 0.0061	100
Cromoglicinsäure (31)		1.26 ± 0.17	119	-	4.84 ± 0.60	102	0.986 ± 0.126	104
306	Struktur: siehe oben	46.3 ± 3.2	101	-	(4 ± 6)	-	(38 ± 3)	-
307	Struktur: siehe oben	(2 ± 4)	-	(15 ± 9)	(4 ± 2)	-	(40 ± 2)	-
308	Struktur: siehe oben	12.6 ± 1.5	84	-	(18 ± 4)	-	(40 ± 4)	-
309	Methyl	24.1 ± 3.3	91	-	(3 ± 1)	-	(31 ± 3)	-
310	Ethyl	13.4 ± 3.4	119	-	(12 ± 1)	-	(30 ± 5)	-
311	2-Methoxy-2- oxoethyl	20.2 ± 5.7	87	-	(15 ± 4)	-	6.65 ± 0.34	89
312	Cyclohexyl	4.20 ± 0.38	118	-	(38 ± 5)	-	1.20 ± 0.12	79
316	Phenyl	4.91 ± 0.65	107	-	(13 ± 4)	-	(39 ± 3)	-
313	Benzyl	8.96 ± 0.43	107	-	(19 ± 4)	-	(47 ± 5)	-
314	2-Naphthyl	4.67 ± 1.00	125	-	2.99 ± 0.51	79	(46 ± 3)	-
315	2-Chinolinylnyl	1.34 ± 0.06	81	-	3.59 ± 0.30	65	(41 ± 6)	-

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 μM durchgeführt. Effekte wurden auf das induzierte Signal von ^a30 μM oder ^b10 μM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt. ^cInhibition des Effektes, der durch 5 μM Zaprinast (~ EC₈₀) induziert wurde.

3 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 3.28. Wirksamkeit und Inhibitionswerte von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen, Maus- und Ratten-GPR35 im β -Arrestin-Rekrutierungsassay

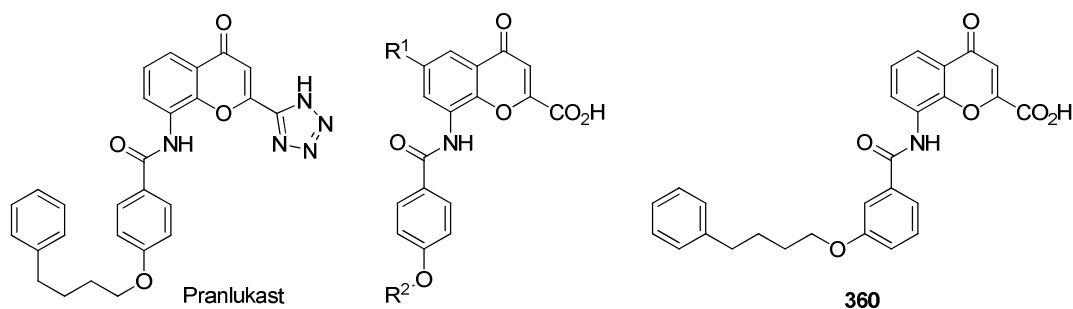


Verbg.	Substitutionsmuster				hGPR35		mGPR35		rGPR35	
	R ¹	R ²			EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>							
317	H	H	CH ₃	H	5.44 ± 1.34	70	(18 ± 4)	-	2.75 ± 0.35	71
318	H	H	NO ₂	H	6.97 ± 0.30	112	(26 ± 3)	-	(32 ± 6)	-
319	H	H	H	CH ₃	1.38 ± 0.14	104	(43 ± 2)	-	(43 ± 3)	-
320	H	H	H	CF ₃	15.5 ± 3.1	81	(23 ± 2)	-	(38 ± 4)	-
115	H	H	H	OCH ₃	0.346 ± 0.037	104	5.03 ± 0.67	66	2.16 ± 0.22	85
321	H	H	H	Br	0.804 ± 0.148	122	(28 ± 1)	-	(49 ± 6)	-
322	F	Cl	Cl	H	0.382 ± 0.056	106	n.b.	-	3.13 ± 0.28	82
323	F	Cl	H	Cl	0.0170 ± 0.0017	113	(24 ± 4)	-	(46 ± 3)	-
324	F	H	Cl	Cl	0.117 ± 0.026	131	(37 ± 4)	-	2.65 ± 0.36	80
325	F	H	H	OCH ₃	0.112 ± 0.011	123	(30 ± 4)	-	1.76 ± 0.08	78
227	Struktur: siehe oben				0.112 ± 0.024	80	(7 ± 2)	-	(1 ± 1)	-
326	Cl	H	H	H	0.430 ± 0.063	115	(31 ± 3)	-	2.84 ± 0.41	65
327	Cl	H	CH ₃	H	1.22 ± 0.17	102	(31 ± 5)	-	2.10 ± 0.21	92
328	Cl	H	H	NO ₂	1.71 ± 0.16	130	(18 ± 1)	-	3.14 ± 0.65	115
329	Cl	H	H	OCH ₃	0.0168 ± 0.0021	110	(34 ± 3)	-	1.83 ± 0.27	86
330	Cl	F	H	OCH ₃	0.00606 ± 0.000882	111	n.b.	-	n.b.	
331	Br	H	H	H	0.303 ± 0.021	110	(40 ± 4)	-	2.75 ± 0.60	75
332	Br	H	CH ₃	H	0.842 ± 0.165	138	(27 ± 5)	-	2.08 ± 0.33	79
333	Br	H	H	Cl	0.0251 ± 0.0019	115	(27 ± 4)	-	(47 ± 1)	-
334	Br	Cl	H	Cl	0.0164 ± 0.0011	110	(12 ± 4)	-	(32 ± 3)	-
335	Br	H	Cl	Cl	0.0154 ± 0.0030	110	(29 ± 2)	-	3.25 ± 0.35	62
336	Br	H	H	CN	0.399 ± 0.060	108	(41 ± 1)	-	2.26 ± 0.21	99
337	Br	H	H	OH	0.716 ± 0.085	106	1.07 ± 0.12	98	0.349 ± 0.020	86

338	Br	H	H	OCH ₃	0.0121 ± 0.0010	121	(36 ± 1)	-	1.40 ± 0.03	88
339	Br	H	H	Ethoxy	0.634 ± 0.076	99	(36 ± 3)	-	1.36 ± 0.16	74
340	Br	OCH ₃	H	H	1.66 ± 0.28	91	4.95 ± 0.81	71	1.10 ± 0.18	73
341	Br	H	OCH ₃	OCH ₃	0.425 ± 0.075	102	6.40 ± 0.48	73	1.30 ± 0.16	106
342	Br	H		O-CH ₂ -O	0.0599 ± 0.0042	107	(34 ± 4)	-	2.05 ± 0.55	86
343	Br	Cl	H	OCH ₃	0.0111 ± 0.0031	120	(35 ± 2)	-	4.17 ± 0.33	81
344	Struktur: siehe oben				0.144 ± 0.017	115	(27 ± 5)	-	1.54 ± 0.21	68
345	Struktur: siehe oben				0.0305 ± 0.0016	117	4.98 ± 0.35	64	0.991 ± 0.064	94

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 µM durchgeführt. Effekte wurden auf das induzierte Signal von ^a30 µM oder ^b10 µM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt.

Tabelle 3.29. Wirksamkeit und Inhibitionswerte von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen, Maus- und Ratten-GPR35 im β-Arrestin-Rekrutierungsassay



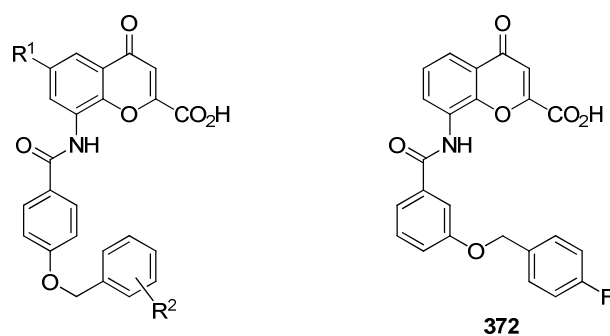
Verbg.	Substitutionsmuster		hGPR35		mGPR35		rGPR35	
	R ¹	R ²	(% Effekt ^a ± SEM)	(% Inhibition ^c ± SEM)	(% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	EC ₅₀ ± SEM (µM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
Pramlukast	Struktur: siehe oben		(12 ± 2)	(12 ± 4)	(58 ± 1)	-	0.480 ± 0.036	100
346	H	<i>n</i> -Propyl	(4 ± 2)	(2 ± 5)	(13 ± 4)	-	3.61 ± 0.38	80
347	H	<i>n</i> -Butyl	(8 ± 5)	(-3 ± 2)	(14 ± 3)	-	(29 ± 4)	-
348	H	<i>n</i> -Pentyl	(4 ± 2)	(-1 ± 6)	(16 ± 2)	-	(31 ± 1)	-
349	H	<i>n</i> -Hexyl	n.b.	n.b.	n.b.	-	n.b.	-
350	H	<i>n</i> -Heptyl	(0 ± 4)	(2 ± 2)	(18 ± 4)	-	(6 ± 3)	-
351	H	4-Methylpentyl	(1 ± 2)	(1 ± 4)	(18 ± 4)	-	(20 ± 3)	-
352	H	Cyclopropylmethyl	(10 ± 3)	(4 ± 2)	(13 ± 3)	-	(48 ± 1)	-
353	H	2-Cyclohexylethyl	(10 ± 8)	(3 ± 6)	(17 ± 4)	-	(19 ± 3)	-
354	H	3-Cyclohexylpropyl	(-8 ± 9)	(15 ± 2)	(24 ± 4)	-	(3 ± 2)	-
355	H	4-Cyclohexylbutyl	n.b.	n.b.	n.b.	-	n.b.	-
356	H	2-Phenylethyl	(26 ± 3)	(-3 ± 5)	(24 ± 3)	-	2.45 ± 0.38	94
357	H	3-Phenylpropyl	(2 ± 3)	(-1 ± 7)	(39 ± 5)	-	(22 ± 2)	-
113	H	4-Phenylbutyl	(18 ± 3)	(14 ± 5)	(11 ± 1)	-	(37 ± 1)	-

3 Ergebnisse und Diskussion

358	H	3-(4-Methoxyphenyl)propyl	(2 ± 3)	(17 ± 3)	(26 ± 4)	-	(15 ± 1)	-
359	H	3,3-Dimethyl-2-oxobutyl	(7 ± 7)	(-9 ± 2)	(21 ± 3)	-	3.88 ± 0.45	68
360	Struktur: siehe oben		(2 ± 5)	(-2 ± 3)	(32 ± 4)	-	(19 ± 2)	-
361	F	3-Phenylpropyl	n.b.	n.b.	n.b.	-	n.b.	-
362	Cl	3-Phenylpropyl	(-3 ± 2)	(10 ± 3)	(11 ± 3)	-	(17 ± 2)	-
363	Br	3-Phenylpropyl	(6 ± 4)	(10 ± 3)	(14 ± 3)	-	(16 ± 2)	-
364	Br	4-Cyclohexylbutyl	n.b.	n.b.	n.b.	-	n.b.	-

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 µM durchgeführt. Effekte wurden auf das induzierte Signal von ³⁰ µM oder ¹⁰ µM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt. ¹Inhibition des Effektes, der durch 5 µM Zaprinast (~ EC₈₀) induziert wurde.

Tabelle 3.30. Wirksamkeit und Inhibitionswerte von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen, Maus- und Ratten-GPR35 im β-Arrestin-Rekrutierungsassay

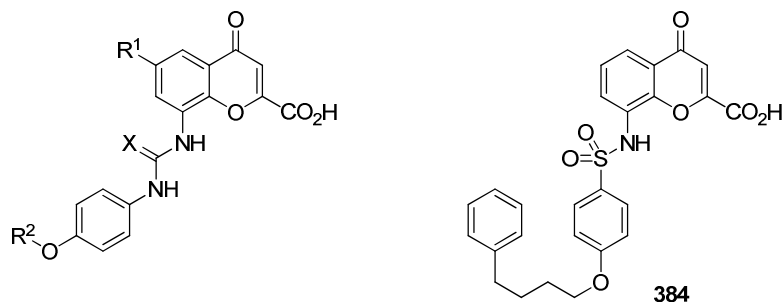


Verbg.	Substitutionsmuster				hGPR35			mGPR35	rGPR35	
	R ¹		R ²		EC ₅₀ ± SEM (µM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	(% Inhibit. ^c ± SEM)	(% Effekt ^a ± SEM)	EC ₅₀ ± SEM (µM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>							
365	H	H	H	H	(9 ± 4)	-	(2 ± 3)	(34 ± 3)	(47 ± 2)	-
114	H	H	H	F	(10 ± 2)	-	(0 ± 1)	(38 ± 2)	(39 ± 4)	-
366	H	H	H	Cl	(9 ± 5)	-	(8 ± 4)	(33 ± 4)	(21 ± 3)	-
367	H	H	H	Br	(6 ± 1)	-	(1 ± 2)	(38 ± 1)	(21 ± 3)	-
368	H	H	H	CH ₃	(25 ± 6)	-	(12 ± 2)	(23 ± 5)	(31 ± 2)	-
369	H	H	H	CF ₃	(3 ± 2)	-	(1 ± 2)	(35 ± 2)	(5 ± 2)	-
370	H	H	F	H	(9 ± 2)	-	(14 ± 7)	(26 ± 4)	(40 ± 2)	-
371	H	F	H	H	(12 ± 5)	-	(14 ± 3)	(9 ± 3)	(43 ± 4)	-
372	Struktur: siehe oben				(31 ± 1)	-	(4 ± 4)	(6 ± 1)	(31 ± 5)	-
373	F	H	H	F	(18 ± 5)	-	(9 ± 4)	(11 ± 3)	5.75 ± 0.52	70
374	Cl	H	H	F	7.08 ± 2.21	73	-	(9 ± 1)	(48 ± 1)	-
375	Cl	H	H	Br	(-3 ± 3)	-	(8 ± 5)	(28 ± 3)	(24 ± 4)	-
376	Br	H	H	F	4.11 ± 1.04	89	-	(11 ± 4)	(36 ± 2)	-

377	Br	H	H	Br	(11 ± 4)	-	(5 ± 2)	(31 ± 5)	(28 ± 3)	-
378	Br	H	Br	H	(36 ± 3)	-	(-6 ± 6)	(26 ± 2)	(30 ± 2)	-

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 µM durchgeführt. Effekte wurden auf das induzierte Signal von ^a30 µM oder ^b10 µM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt. ^cInhibition des Effektes, der durch 5 µM Zaprinast (~ EC₅₀) induziert wurde.

Tabelle 3.31. Wirksamkeit und Inhibitionswerte von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen, Maus- und Ratten-GPR35 im β-Arrestin-Rekrutierungsassay



Verbg.	Substitutionsmuster			hGPR35			mGPR35		rGPR35	
	R ¹	R ²	X	EC ₅₀ ± SEM (µM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	IC ₅₀ ± SEM (µM) (% Inhibit. ^c ± SEM)	EC ₅₀ ± SEM (µM) (% Effekt ^a ± SEM)	E _{max} ^a	EC ₅₀ ± SEM (µM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
379	H	Methyl	O	2.89 ± 0.12	96	-	5.49 ± 0.77	98	0.677 ± 0.178	80
380	Br	Methyl	O	0.458 ± 0.055	110	-	3.05 ± 0.34	94	0.729 ± 0.110	80
381	H	4-Phenyl-butyl	O	(-26 ± 11)	-	46.6 ± 3.5	5.85 ± 0.14	75	1.30 ± 0.09	85
382	Br	4-Fluor-benzyl	O	n.b.	-	n.b.	n.b.	-	n.b.	-
383	H	4-Phenyl-butyl	S	(2 ± 3)	-	(-2 ± 4)	(12 ± 2)	-	(11 ± 3)	-
384	Struktur: siehe oben			(-10 ± 4)	-	266 ± 49 ^c	(0 ± 3)	-	(-25 ± 3)	-

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 µM durchgeführt. Effekte wurden auf das induzierte Signal von ^a30 µM oder ^b10 µM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt. ^cInhibition des Effektes, der durch 5 µM Zaprinast (~ EC₅₀) induziert wurde.

3.6.1.2 Struktur-Wirkungsbeziehungen am hGPR35

Es konnte gezeigt werden, dass von den 77 getesteten Chromen-4-on-2-carbonsäuren die Verbindungen **115**, **306**, **309** – **315**, **317** – **345**, **374**, **376**, **379** und **380** Agonisten am humanen GPR35 sind, während **381** ein sehr schwacher Antagonist ist, und die Verbindungen **113**, **114**, **307**, **308**, **346** – **373**, **375**, **377**, **378** und **381** – **384** keine signifikanten Effekte an diesem Rezeptor aufwiesen. Einige der Verbindungen zeigten im Vergleich zum Standard-Agonisten Zaprinast eine erhöhte oder reduzierte intrinsische Aktivität. Jedoch konnte kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen der Struktur einer Verbindung und ihrer intrinsischen Aktivität gefunden werden; die

meisten Unterschiede waren zudem nicht statistisch signifikant. Daher kann der Großteil der Verbindungen als Vollagonisten betrachtet werden.

Die 8-Nitroverbindung **306** ist die einfachste Struktur, die schwache agonistische Eigenschaften aufwies ($EC_{50} = 46300$ nM). Wenn man diese Nitrogruppe zu einer Aminofunktion (in **307**) reduzierte, so hatte dies einen Verlust der agonistischen Aktivität zur Folge. Die Verbindung **307** war auch in Antagonismus-Experimenten inaktiv. Dies deutete darauf hin, dass lipophile Reste und Wasserstoffbrücken-Akzeptorfunktionen in der 8-Position günstig sein könnten. Daher wurde ein Amid-Linker zur Einführung unterschiedlich großer Substituenten in der 8-Position gewählt. Das Acetamid (**309**) zeigte eine zweifache Erhöhung der Wirksamkeit ($EC_{50} = 24100$ nM) gegenüber dem Nitro-Derivat **306**. Eine Einführung längerer und größerer Alkyl-Reste verbesserte erneut die Aktivität: das Ethyl- (**310**, $EC_{50} = 13400$ nM) und das Cyclohexyl-Derivat (**312**, $EC_{50} = 4200$ nM) wiesen eine 2- bzw. 6-fach höhere agonistische Wirksamkeit als **309** auf. Die Einführung eines Alkylsubstituenten mit einer endständigen Methylesterfunktion (**311**, $EC_{50} = 20200$ nM), welche die Polarität der Seitenkette erhöhte, erwies sich als nicht geeignet. Im Gegensatz dazu waren Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit aromatischen Seitenketten in dieser Position, wie Phenyl- (**316**, $EC_{50} = 4910$ nM), 2-Naphthyl- (**314**, $EC_{50} = 4670$ nM) und 2-Chinolinyl-Reste (**315**, $EC_{50} = 1340$ nM), gleich oder sogar besser wirksam als das Cyclohexyl-Derivat **312**. Eine Verlängerung des Linkers zwischen dem Chromenon-Gerüst und dem endständigen Phenylring führte, wie in dem Benzyl-Derivat (**313**, $EC_{50} = 8960$ nM) zu erkennen ist, zu einer Aktivitätsverringerung. Ein Brom-Substituent in der 6-Position des Chromenon-Gerüsts scheint einen starken Einfluss auf die Wirksamkeit zu haben: eine Bromierung der 6-Position des inaktiven 8-Amino-Derivates **307** führte zu **308** mit einem EC_{50} -Wert von 12600 nM.

8-Benzamid-Derivate schienen vielversprechende potentielle Agonisten am humanen GPR35 zu sein. Daher wurde ausgehend von **316** eine große Anzahl solcher Derivate synthetisiert. Dies war leicht möglich, da viele Benzoesäure-Derivate kommerziell als Säuren oder Säurechloride erhältlich waren (siehe Kapitel 3.3.2.3). Weiterhin wurden verschiedene Halogenatome in der 6-Position der Chromen-4-on-2-carbonsäuren eingeführt auf Grund der zuvor diskutierten Beobachtung, dass ein Bromatom in dieser Position die Wirksamkeit verbesserte (vgl. **308** gegenüber **307**). 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren mit einer großen Anzahl unterschiedlicher Substituenten in *ortho*-

meta- und *para*-Position (Mono- und Disubstitutionen) wurden untersucht. Wir haben dabei vorrangig die *para*-Position studiert, da einige Substituenten in dieser Position zu einer deutlichen Erhöhung der Wirksamkeit führten. Die folgende Reihenfolge der Wirksamkeit unter Verbindungen mit unterschiedlichen Substituenten in *para*-Position konnte am hGPR35 aufgestellt werden: Methoxy (**115**, EC₅₀ = 346 nM) > Brom (**321**, EC₅₀ = 804 nM) > Methyl (**319**, EC₅₀ = 1380 nM) > Wasserstoff (**316**, EC₅₀ = 4910 nM) > Trifluormethyl (**320**, EC₅₀ = 15500 nM). Eine zusätzliche Verlängerung der Alkyloxyfunktion in *para*-Position führte zu inaktiven Verbindungen sowohl in Agonismus- als auch Antagonismus-Experimenten (siehe Tabelle 3.29). Die Verbindungen mit langen Seitenketten in 8-Position des Chromen-4-onringsystems konnten aber als Antagonisten für den GPR17 entwickelt werden. Eine *meta*-Substitution mit einer Methyl- (**317**, EC₅₀ = 5440 nM) oder Nitrogruppe (**318**, EC₅₀ = 6970 nM) führte gegenüber dem unsubstituierten Benzamidochromenon-Derivat **316** zu keiner Verbesserung der agonistischen Aktivität. Da eine *para*-Methoxysubstitution optimal zu sein schien (**115**, EC₅₀ = 346 nM), wurde diese mit der Einführung verschiedener Halogenatome in der 6-Position des Chromenonringsystems kombiniert im Hinblick auf eine mögliche Verbesserung der Wirksamkeit am hGPR35. Nach einem Vergleich von **115** (6-H, EC₅₀ = 346 nM) mit **325** (6-F, EC₅₀ = 112 nM), **329** (6-Cl, EC₅₀ = 16.8 nM) und **338** (6-Br, EC₅₀ = 12.1 nM) wurde deutlich, dass alle eingeführten Halogenatome zu einer deutlichen Erhöhung der Wirksamkeit führten. Der größte Substituent, das Bromatom, hatte dabei die stärkste Auswirkung, gefolgt von der Chlor- und Fluor-Substitution. Obwohl der Aktivitätsunterschied zwischen Brom- und Chlor-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren relativ gering war, so war er aber gleichbleibend zu beobachten (vgl. **331**, 6-Br, EC₅₀ = 303 nM gegenüber **326**, 6-Cl, EC₅₀ = 430 nM; **338**, 6-Br, EC₅₀ = 12.1 nM gegenüber **329**, 6-Cl, EC₅₀ = 16.8 nM und **332**, 6-Br, EC₅₀ = 842 nM gegenüber **327**, 6-Cl, EC₅₀ = 1200 nM). Interessanterweise hat eine andere Forschergruppe ebenfalls festgestellt, dass die Einführung eines Bromatoms als Substituent eines bicyclischen aromatischen Grundgerüsts die agonistische Aktivität der Verbindung am humanen GPR35 deutlich erhöhte.³⁵⁰ Es scheint, als ob eine lipophile Bindungstasche vorhanden wäre, die von einem Bromatom ausgefüllt wird.

Da festgestellt wurde, dass ein Bromatom der beste Substituent in 6-Position zu sein scheint, wurden weitere Derivate, die ein Bromatom in dieser Position besaßen, aber nur wenige 6-Fluor- und 6-Chlor-Derivate dargestellt. Ein *p*-Methoxy-Substituent in der 8-

Benzamid-Seitenkette stellte sich in der 6-Brom-Serie als beste Monosubstitution heraus (**338**, $EC_{50} = 12.1$ nM). Diese Verbindung war doppelt so potent als das *p*-Chlor-Derivat **333** mit einem EC_{50} -Wert von 25.1 nM. Die Reihenfolge für die agonistische Aktivität unter den 8-Benzamido-6-bromchromen-4-on-2-carbonsäuren mit variierenden Substituenten in der *p*-Position war wie folgt: Methoxy (**338**, $EC_{50} = 12.1$ nM) > Chlor (**333**, $EC_{50} = 25.1$ nM) > Wasserstoff (**331**, $EC_{50} = 303$ nM) \geq Nitril (**336**, $EC_{50} = 399$ nM) > Ethoxy (**339**, $EC_{50} = 634$ nM) > Hydroxy (**337**, $EC_{50} = 716$ nM). Verglich man die Wirksamkeiten der Verbindungen **338** und **339** miteinander, so war wieder deutlich zu erkennen, dass eine Verlängerung der Alkyloxy-Seitenkette in der *p*-Position zu einer starken Absenkung der Wirkung (53-fach) am hGPR35 führte. Weiterhin wurde ein Wasserstoffbrücken-Donator wie eine Hydroxygruppe in *p*-Position nur gering toleriert (**337**, $EC_{50} = 716$ nM). Es scheint, als ob das Molekül an dieser Position in einer relativ lipophilen Bindungstasche bindet, wenn man auch in Betracht zieht, dass ein Wasserstoffbrücken-Akzeptor wie ein Nitril auch nur wenig besser toleriert wurde (**336**, $EC_{50} = 399$ nM).

In der 6-Chlor-Serie, die als vergleichbar mit der 6-Brom-Serie angenommen wurde, konnte gezeigt werden, dass eine polare *p*-Nitrogruppe zu einer deutlich verringerten Wirksamkeit von Verbindung **328** mit einem EC_{50} -Wert von 1710 nM führte (im Vergleich zu **326**, $EC_{50} = 430$ nM). Dies bestätigte die vorherige Aussage einer relativ lipophilen Bindungstasche, in welche die Benzamid-Seitenkette bindet.

Eine Methoxyfunktion in der *o*-Position, die in der 6-Brom-Serie untersucht wurde, führte zu einer Aktivitätsverringering um den Faktor 6 im Vergleich zum nicht substituierten Derivat (vgl. **340**, $EC_{50} = 1660$ nM und **331**, $EC_{50} = 303$ nM). Eine Methylgruppe in der *m*-Position wurde hingegen besser toleriert und senkte die Wirksamkeit nur zweifach (**332**, $EC_{50} = 842$ nM). Ein vergleichbarer Effekt wurde in der 6-Chlor-Serie beobachtet: 3-fache Aktivitätsverringering durch eine Methylgruppe in *m*-Position (vgl. **327**, $EC_{50} = 1220$ nM mit unsubstituiertem Derivat **326**, $EC_{50} = 430$ nM).

Wie in den Tabellen 3.29 und 3.30 zu erkennen ist, wurden keine längeren Reste in der *p*-Position der Benzamido-Seitenkette toleriert, außer eine *p*-Fluorbenzyloxygruppe in der 6-Chlor- bzw. 6-Brom-Verbindung **374** ($EC_{50} = 7080$ nM) bzw. **376** ($EC_{50} = 4110$ nM). Beide Derivate, die als GPR84-Antagonisten entwickelt wurden, zeigten aber auch nur eine sehr geringe Wirksamkeit am humanen GPR35.

Des Weiteren wurden Disubstitutionen am Benzamidring untersucht. In der 6-Fluor-Serie konnte folgende Reihenfolge für die Wirksamkeit der dichlorsubstituierten Verbindungen aufgestellt werden: *o,p*-Dichlor- (**323**, EC₅₀ = 17.0 nM) >> *m,p*-Dichlor- (**324**, EC₅₀ = 117 nM) > *o,m*-Dichlor- (**322**, EC₅₀ = 382 nM) Substitution. Dieses Ergebnis unterstrich noch einmal die Wichtigkeit eines *p*-Substituenten wie ein Chloratom oder eine Methoxygruppe. Daher wurden in der 6-Brom-Serie nur die *o,p*-Dichlor- (**334**) und *m,p*-Dichlor- (**335**) substituierten Derivate untersucht. Beide Substitutionsmuster führten zu potenten GPR35-Agonisten mit einer vergleichbaren Wirksamkeit wie das mono-methoxysubstituierte Derivat **338** (**334**, EC₅₀ = 16.4 nM; **335**, EC₅₀ = 15.4 nM; **338**, EC₅₀ = 12.1 nM). Dieses Ergebnis veranschaulichte die Interdependenz der Substituenten in der 6- und 8-Position. Deswegen waren die Struktur-Wirkungsbeziehungen in der 6-Fluor- und 6-Brom-Serie nicht immer parallel gewesen.

Eine *m,p*-Dimethoxysubstitution in dem 6-Brom-Derivat **341** führte zu einer starken Erniedrigung der Wirksamkeit im Vergleich zur Verbindung mit nur einer *p*-Methoxygruppe (**341**, EC₅₀ = 425 nM; **338**, EC₅₀ = 12.1 nM). Eine weniger voluminöse *m,p*-Methyldioxy substitution in Verbindung **342** wurde besser toleriert (EC₅₀ = 59.9 nM). Eine Verbindung, die neben einer *p*-Methoxygruppe auch ein Chloratom in *o*-Position besaß, zeigte keine signifikante Verbesserung in der agonistischen Aktivität, wurde aber sehr gut toleriert (**343**, EC₅₀ = 11.1 nM; **338**, EC₅₀ = 12.1 nM). Wurde aber in der 6-Chlor-Serie das Chloratom durch ein Fluoratom in der *o*-Position ersetzt, so führte dies zu einer Erhöhung der Wirksamkeit um den Faktor 3 gegenüber dem entsprechenden Derivat **329** mit nur einem Wasserstoffatom in *o*-Position (**330**, EC₅₀ = 6.06 nM; **329**, EC₅₀ = 16.8 nM). Daher wurde auch in der 6-Brom-Serie die Einführung von Fluoratomen in *ortho*- und *meta*-Position in Kombination mit einer *p*-Methoxygruppe untersucht, um eventuell noch potentere GPR35-Agonisten zu entwickeln. Diese Verbindungen wurden von Anne Meyer synthetisiert und die Ergebnisse bereits von uns veröffentlicht.³⁴³

Weiterhin wurde das *p*-Methoxybenzamid durch entsprechende, ein Stickstoffatom enthaltende, Methoxypyridinringe ersetzt. Ein Stickstoffatom in der 3-Position (**345**, EC₅₀ = 30.5 nM) wurde besser toleriert als in der 2-Position (**344**, EC₅₀ = 144 nM). Jedoch zeigten beide Verbindungen eine verringerte Wirksamkeit im Vergleich zum *p*-Methoxybenzamid-Derivat **338** (EC₅₀ = 12.1 nM).

Um noch besser Struktur-Wirkungsbeziehungen aufstellen zu können, wurde abschließend der Amid-Linker durch eine Harnstofffunktion ersetzt (siehe Tabelle 3.31). Jedoch führte dies zu einer deutlichen Verringerung der agonistischen Aktivität um den Faktor 8 (**379**, $EC_{50} = 2890$ nM; **115**, $EC_{50} = 346$ nM) bzw. 38 (**380**, $EC_{50} = 458$ nM; **338**, $EC_{50} = 12.1$ nM). Dieses Ergebnis verdeutlichte noch einmal die Bevorzugung eines Bromatoms gegenüber einem Wasserstoffatom in 6-Position des Chromen-4-onrings. Verlängerte man die Seitenkette an dem Harnstoff-Linker mit einem 4-(4-Phenylbutoxy)phenyl-Rest, so entstand die Verbindung **381**, die sehr schwache antagonistische Eigenschaften am GPR35 aufwies ($IC_{50} = 46600$ nM).

Die meisten der in der Literatur beschriebenen GPR35-Agonisten sind unter physiologischen Bedingungen negativ geladen. Um die Frage zu klären, ob die negative Ladung der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate für die Wirksamkeit der Verbindungen verantwortlich ist, wurde auch die Zwischenverbindung **227**, der Ethylester des potenten Agonists **325**, getestet. Beide Verbindungen waren gleich potent ($EC_{50} = 112$ nM). Dies war überraschend, weil Ethylester anderer saurer GPR35-Agonisten eine stark verringerte Wirksamkeit auswiesen.^{223, 224, 350} Trotz derselben Wirksamkeit von **227** war dessen intrinsische Aktivität deutlich verringert im Vergleich zu der von **325** (um 40 %). Eine mögliche Erklärung wäre eine Spaltung des Ethylesters während des Experiments, z. B. durch Esterasen. Jedoch unterscheiden sich der Ester und die freie Säure deutlich in ihrer Wirksamkeit am Ratten-GPR35. Die Säure war aktiv ($EC_{50} = 1760$ nM) während der Ester inaktiv war (siehe Tabelle 3.28). In Radioligand-Bindungsassays (siehe Kapitel 3.6.3) wies der Ester eine deutlich schlechtere Bindung als die freie Säure auf (**227**, $K_i = 198$ nM; **325**, $K_i = 25.4$ nM). Da gereinigte Membran-Präparationen für die Radioligand-Bindungsassays verwendet wurden, konnten keine nicht löslichen Esterasen im Assay anwesend sein. Jedoch könnten an die Membran gebundene Esterasen zu einer partiellen Hydrolyse von **227** geführt haben. Unsere Ergebnisse deuten an, dass eine negativ geladene Carboxylfunktion wichtig für eine hoch-affine Bindung sein könnte. In Zukunft werden stabile, nicht saure Derivate dargestellt, um diese Frage genauer zu klären.

Insgesamt konnten wir zeigen, dass durch die Einführung eines Phenylrings über einen Amid-Linker in 8-Position die Wirksamkeit der Chromen-4-on-2-carbonsäure **307** deutlich erhöht wurde (**316**, $EC_{50} = 4910$ nM). Eine Bromierung der 6-Position des Chromen-4-onrings (**331**, $EC_{50} = 303$ nM) und die Einführung einer Methoxygruppe in

para-Position der 8-Benzamido-Seitenkette (**115**, $EC_{50} = 346$ nM) steigerte weiter die agonistische Wirksamkeit am humanen GPR35. Die Kombination beider Substitutionen hatte additive Effekte und führte zu einem sehr potenten Agonisten mit einem EC_{50} -Wert von 12.1 nM (**338**, PSB-13253). Diese Verbindung wurde gewählt, um den ersten Radioliganden für den GPR35 zu entwickeln (siehe Kapitel 3.6.2). Mit diesem Radioliganden ($[^3H]$ -PSB-13253) wurden anschließend Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien durchgeführt (siehe Kapitel 3.6.3). Weiterhin konnten wir beobachten, dass eine Einführung von Chlor-Substituenten in die 8-Benzamid-Seitenkette zu einer Erhöhung der Wirksamkeit am GPR35 führte: das *p*-Chlor-Derivat **333** wies einen EC_{50} -Wert von 25.1 nM auf, während die Aktivität für die dichlorsubstituierten Verbindungen **334** und **335** noch etwas höher war (EC_{50} -Werte lagen bei 16.4 bzw. 15.4 nM). Die Kombination eines Fluoratoms in *o*-Position mit einer *p*-Methoxygruppe führte zu dem potentesten GPR35-Agonisten mit einem EC_{50} -Wert von 6.06 nM (**330**). Diese Verbindung wurde erst nach Analyse der Struktur-Wirkungsbeziehungen basierend auf den Ergebnissen der Radioligand-Rezeptorbindungsstudien entwickelt (siehe Kapitel 3.6.3).

Die Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35 sind in Abb. 3.23 zusammengefasst; Konzentration-Wirkungskurven ausgewählter Verbindungen sind in Abb. 3.24 und Abb. 3.25 dargestellt. Wir konnten erfolgreich eine kleine Bibliothek von neuen, hoch aktiven GPR35-Agonisten entwickeln, mit **338**, **343** und **330** als die wirksamsten Agonisten für den humanen GPR35, die bisher in der Literatur beschrieben wurden.²⁰² Mit Hilfe der Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien konnten diese Ergebnisse bestätigt werden. Von Anne Meyer konnten mittlerweile noch weitere vergleichbar potente Verbindungen dargestellt werden.³⁴³

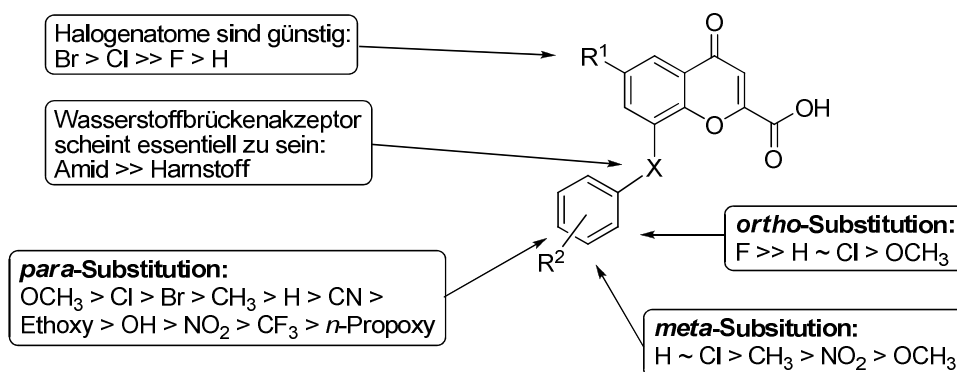


Abb. 3.23. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35.

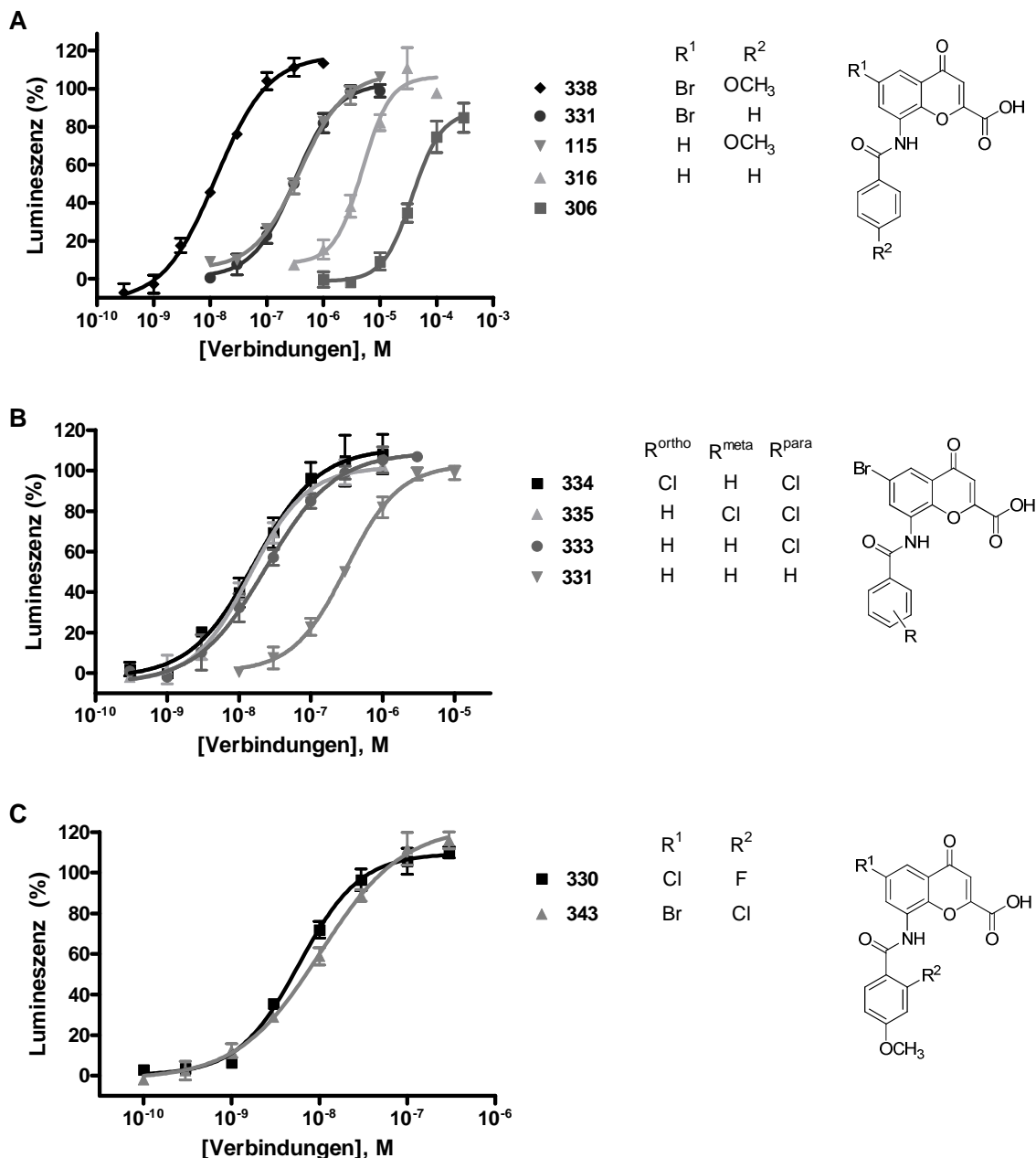


Abb. 3.24. β -Arrestin-Rekrutierungsassays am humanen GPR35. Konzentration-Wirkungskurven für ausgewählte, erfolgreich optimierte Verbindungen am hGPR35. EC₅₀-Werte: (A) **338**, 12.1 nM; **331**, 303 nM; **115**, 346 nM; **316**, 4910 nM; **306**, 46300 nM; (B) **334**, 16.4 nM; **335**, 15.4 nM; **333**, 25.1 nM; **331**, 303 nM; (C) **330**, 6.06 nM; **343**, 11.1 nM.

3.6.1.3 Spezies-Selektivität

Zur Untersuchung der Spezies-Unterschiede der Chromen-4-on-2-carbonsäuren wurde zusätzlich ihre Wirksamkeit in β -Arrestin-Rekrutierungsexperimenten am Maus- und Ratten-GPR35 bestimmt.²⁰² Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3.27 – 3.31 dargestellt. Die meisten Verbindungen scheinen auch Agonisten am Ratten-GPR35 zu sein. Jedoch waren sie in der Regel weniger wirksam als am humanen GPR35. Zudem lagen, wenn

Konzentrations-Wirkungskurven aufgenommen wurden, die erhaltenen Maximaleffekte vieler Verbindungen unter dem von Zaprinast. Folglich sind die meisten dieser Verbindungen Partialagonisten am Ratten-GPR35.

Am Maus-Rezeptor waren Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit längeren und voluminösen Substituenten, die über einen Amid-Linker in der 8-Position eingeführt wurden (z. B. 2-Naphthyl in **314**, $EC_{50} = 2990$ nM; 2-Chinolinyll in **315**, $EC_{50} = 3590$ nM), potenter als einfachere Verbindungen wie das 8-Aminosubstituierte Derivat **307**. Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen am humanen GPR35. Eine Erhöhung der Wirksamkeit konnte nur für Verbindungen mit bicyclischen Substituenten oder für wenige substituierte 8-Benzamid-Derivate verzeichnet werden: *p*-Methoxyphenyl (**115**, $EC_{50} = 5030$ nM), *o*-Methoxyphenyl (**340**, in Kombination mit einer 6-Bromsubstitution, $EC_{50} = 4950$ nM) und *m,p*-Dimethoxyphenyl (**341**, in Kombination mit einer 6-Bromsubstitution, $EC_{50} = 6400$ nM). Die potenste Chromen-4-on-2-carbonsäure am Maus-GPR35 enthält eine 4-Hydroxybenzamid-Seitenkette in 8-Position in Kombination mit einer 6-Bromsubstitution (**337**, $EC_{50} = 1070$ nM). Das einfache 8-Benzamidochromenon **316**, welches als Leitstruktur zur Entwicklung potenter Agonisten am humanen GPR35 diente, war am Maus-Rezeptor bei einer Testkonzentration von 10 μ M inaktiv. Ein weiterer großer Unterschied in den Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen dem Maus- und humanen Rezeptor ist, dass Halogenatome in der 6-Position der Chromen-4-on-Grundstruktur eine Herabsetzung der Wirksamkeit am Maus-Rezeptor bewirkten. Dies wird deutlich beim Vergleich des unsubstituierten Derivates **115** ($EC_{50} = 5030$ nM) mit den entsprechenden Halogen-Analoga **325** (6-F), **329** (6-Cl) und **338** (6-Br). Der EC_{50} -Wert betrug in allen drei Fällen > 10000 nM. Des Weiteren führte die Einführung von Chlor-Substituenten an verschiedene Positionen der Benzamid-Seitenkette zu keinen potenten Agonisten. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen am humanen Rezeptor erhöhte eine Methoxygruppe in *para*-Position des Phenylrings (**115**, $EC_{50} = 5030$ nM) die Wirksamkeit am Maus-Rezeptor. Der Austausch des Phenylrings von **338** mit einem Stickstoffatom enthaltenden 3-Pyridyl-Rest (**345**, $EC_{50} = 4980$ nM), aber nicht mit einem 2-Pyridylring (**344**, $EC_{50} > 10000$ nM), führte zu einer Erhöhung der Wirksamkeit. Das Ersetzen des Amid-Linkers durch eine Harnstoff-Funktion führte ebenfalls zu potenten Agonisten am Maus-Rezeptor. Während ein Harnstoff-Linker in Kombination mit einem Wasserstoffatom in 6-Position des Chromenon-Rings zu keiner Erhöhung der Wirksamkeit im Vergleich zum Amid-Derivat führte (**379**, $EC_{50} =$

5490 nM; **115**, 5038 nM), war das entsprechende Harnstoff-Derivat in der 6-Brom-Serie deutlich potenter als das Amid (**380**, $EC_{50} = 3050$ nM; **338**, $EC_{50} > 10000$ nM). Eine vergleichbare Wirksamkeit wie **379** zeigte der Harnstoff mit einer längeren Seitenkette, und zwar einem 4-(4-Phenylbutoxy)phenyl-Rest, der an die Harnstoff-Funktion in der 8-Position gebunden ist (**381**, $EC_{50} = 5850$ nM). Im Vergleich dazu wies das entsprechende Amid **113** keine signifikante agonistische Aktivität am Maus-Rezeptor auf. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass im Gegensatz zum humanen Rezeptor eine Harnstoff-Funktion gegenüber einem Amid-Linker in der 8-Position bevorzugt gebunden wird.

Am Ratten-Rezeptor zeigten Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit kleinen Substituenten in der 8-Position, wie z. B. das 8-Amino-Derivat **307**, eine geringe Wirksamkeit. Vergleichbar zum humanen Rezeptor führte eine Einführung eines Cyclohexyl-Restes in der 8-Position über einen Amid-Linker zu einer erhöhten Wirksamkeit am Ratten-Rezeptor (**312**, $EC_{50} = 1200$ nM). Dieser Effekt konnte aber im Gegensatz zum humanen GPR35 nicht für Verbindungen mit aromatischen Resten in dieser Position beobachtet werden (Phenyl in **316**, Benzyl in **313**, 2-Naphthyl in **314** oder 2-Chinolinyl in **315**, alle mit $EC_{50} > 10000$ nM). Dies verhielt sich auch, die Derivate mit bicyclischen Seitenketten (**314** und **315**) betreffend, gegensätzlich zum Maus-Rezeptor. Als nächstes untersuchten wir die Derivate der Chromen-4-on-2-carbonsäure **316** mit einer großen Anzahl unterschiedlicher Substituenten an verschiedenen Positionen des Phenylrings. Eine *p*-Methoxysubstitution (**115**, $EC_{50} = 2160$ nM) führte zu einer Wirksamkeitssteigerung, die ein genereller Effekt bei allen drei Spezies zu sein schien. Weiterhin wurde ein bioisosteres Ersetzen des Phenylrings in **338** ($EC_{50} = 1400$ nM) durch einen 2-Pyridylrest (**344**, $EC_{50} = 1540$ nM) oder einen 3-Pyridylring (**345**, $EC_{50} = 991$ nM) gut toleriert. Diese Beobachtungen waren konsistent mit denen für den Maus-Rezeptor. Ein Austausch der Methoxygruppe in **338** ($EC_{50} = 1400$ nM) durch eine Hydroxygruppe mit Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften führte im Gegensatz zum humanen Rezeptor zu einer Wirksamkeitssteigerung um den Faktor 4 und führte zum potenten Agonist am Ratten-Rezeptor in der Serie der Chromen-4-on-2-carbonsäuren (**337**, $EC_{50} = 346$ nM). Diese Wirksamkeitssteigerung konnte aber auch am Maus-Rezeptor beobachtet werden. Diese Verbindung war damit neben **340** mit einer *o*-Methoxygruppe am Phenylring die einzige Verbindung, die in der Lage war, alle drei Spezies in fast gleichem Ausmaß zu aktivieren (**337**: human, 716 nM; Ratte,

349 nM; Maus, 1070 nM und **340**: human, 1660 nM; Ratte, 1100 nM; Maus, 4950 nM). Die entsprechenden Konzentrations-Wirkungskurven wurden in Abb. 3.25 dargestellt.

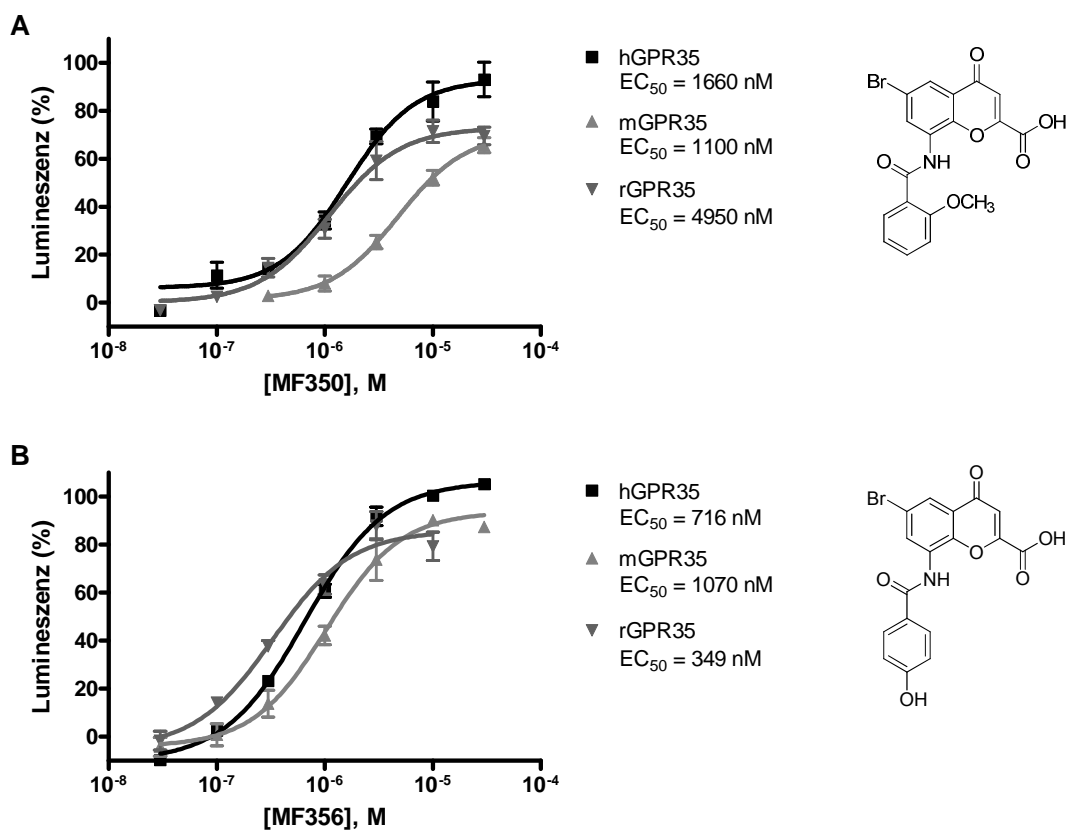


Abb. 3.25. β -Arrestin-Rekrutierungsassays am humanen, Maus- und Ratten-GPR35. Konzentrations-Wirkungskurven der Verbindungen **340** (A) und **337** (B).

Es gibt aber auch einige Struktur-Wirkungsbeziehungen, die für den Ratten-GPR35 einzigartig sind: Halogenatome in der 6-Position des Chromenon-Grundgerüsts hatten kaum einen Einfluss auf die Wirksamkeit am Ratten-Rezeptor. Dies wird anhand der *p*-Methoxybenzamid-Derivate **115** (6-H, EC₅₀ = 2160 nM), **325** (6-F, EC₅₀ = 1760 nM), **329** (6-Cl, EC₅₀ = 1830 nM) und **338** (6-Br, EC₅₀ = 1400 nM) deutlich. Ein Vergleich der Verbindungen mit Chlorsubstituenten in der Benzamid-Seitenkette (**322**, *o,m*-Dichlor (6-F), EC₅₀ = 3130 nM; **323**, *o,p*-Dichlor (6-F), EC₅₀ > 10000 nM; **324**, *m,p*-Dichlor (6-F), EC₅₀ = 2650 nM; **333**, *p*-Cl (6-Br), EC₅₀ > 10000 nM; **334**, *o,p*-Dichlor (6-Br), EC₅₀ > 10000 nM und **335**, *m,p*-Dichlor (6-Br), EC₅₀ = 3250 nM) zeigte, dass hauptsächlich ein Chloratom in der *m*-Position die Wirksamkeit erhöhte. Im Gegensatz zum humanen und Maus-Rezeptor waren auch wenige Chromen-4-on-2-carbonsäuren mit längeren und voluminösen Resten in der *p*-Position der 8-Benzamid-Seitenkette aktiv: **346** (*n*-Propoxy, EC₅₀ = 3610 nM), **356** (2-Phenylethoxy, EC₅₀ = 2450 nM), **359** (3,3-Dimethyl-2-oxobutoxy, EC₅₀ = 3880 nM) und **373** (*p*-Fluorbenzyloxy in

Kombination mit 6-F, $EC_{50} = 5750$ nM). Vergleicht man die Wirksamkeit von **113** (mit einer 4-(4-Phenylbutoxy)benzamido-Seitenkette) mit der von Pramlukast, welches einen Tetrazolring anstelle einer Säurefunktion in 2-Position des Chromenon-Grundgerüsts trägt, wird die deutliche Bevorzugung eines Tetrazols gegenüber einer Säurefunktion deutlich (**113**, $EC_{50} > 10000$ nM; Pramlukast (**15**), $EC_{50} = 480$ nM). Ein Ersetzen des Amid-Linkers von **115** bzw. **338** durch eine Harnstofffunktion führte zu einer deutlichen Erhöhung der agonistischen Aktivität am Ratten-Rezeptor um den Faktor 3 (**379**, $EC_{50} = 677$ nM; **115**, $EC_{50} = 2160$ nM) bzw. 2 (**380**, $EC_{50} = 729$ nM; **338**, $EC_{50} = 1400$ nM). An diesem Beispiel wurde auch noch einmal deutlich, dass Halogenatome in der 6-Position des Chromen-4-on-Rings kaum einen Einfluss auf die Wirksamkeit am Ratten-Rezeptor haben. Im Gegensatz zum humanen Rezeptor schien die negative Ladung der Säurefunktion von Bedeutung zu sein, da der Ethylester **227** im Gegensatz zur entsprechenden Säure **325** ($EC_{50} = 1760$ nM) inaktiv war.

Wir konnten zeigen, dass die meisten Chromen-4-on-2-carbonsäuren hoch spezies-selektiv für den humanen GPR35 sind, wie z. B. **338** (>100-fach im Vergleich zum Ratten-GPR35 und >1000-fach gegenüber dem Maus-GPR35). Jedoch konnten wir auch Verbindungen identifizieren, die zwei der drei untersuchten Spezies in fast gleichem Ausmaß aktivierten: (a) humaner und Ratten-GPR35, **312** (human, $EC_{50} = 4200$ nM; Ratte, $EC_{50} = 1200$ nM), **317** (human, $EC_{50} = 5440$ nM; Ratte, $EC_{50} = 2750$ nM), **327** (human, $EC_{50} = 1220$ nM; Ratte, $EC_{50} = 2100$ nM), **328** (human, $EC_{50} = 1710$ nM; Ratte, $EC_{50} = 3140$ nM) und **332** (human, $EC_{50} = 842$ nM; Ratte, $EC_{50} = 2080$ nM); (b) humaner und Maus-GPR35, **314** (human, $EC_{50} = 4670$ nM; Maus, $EC_{50} = 2990$ nM) und **315** (human, $EC_{50} = 1340$ nM; Maus, $EC_{50} = 3590$ nM); (c) Ratten- und Maus-GPR35, **115** (Ratte, $EC_{50} = 2160$ nM; Maus, $EC_{50} = 5030$ nM).

Durch die Kombination verschiedener Strukturelemente ist die Entwicklung neuer, hoch potenter und Ratten-selektiver GPR35-Agonisten für die Nagetier-Rezeptoren vorstellbar. Dabei sollten diese Verbindungen einen Tetrazolring in 2-Position des Chromen-4-Grundgerüsts und einen 4-Hydroxyphenyl-Rest verknüpft über einen Harnstoff-Linker in der 8-Position tragen. Ein zusätzliches Chloratom in *m*-Position des Phenylrings könnte zu einer weiteren Erhöhung der Wirksamkeit führen. Hoch potente Nagetier-GPR35-Agonisten wären von großer Bedeutung, um die von uns entwickelten Chromen-4-on-2-carbonsäuren in Zukunft in Tierversuchen untersuchen zu können.

3.6.1.4 Selektivität gegenüber dem GPR55-Rezeptor

Zur Untersuchung der Selektivität unserer neuen GPR35-Agonisten gegenüber dem nahe verwandten Waisen-Rezeptor GPR55 wurden sie auf ihre Wirksamkeit, eine GPR55-abhängige β -Arrestin-Rekrutierung zu induzieren, getestet. Keines der getesteten Chromenon-Derivate konnte den GPR55 bei einer hohen Konzentration von 10 μ M aktivieren. Daher sind die untersuchten GPR35-Agonisten gegenüber dem GPR55 selektiv. Weiterhin wurden die Chromenon-Derivate als potentielle GPR55-Antagonisten evaluiert. Verschiedene Verbindungen waren in der Lage eine durch LPI induzierte β -Arrestin-Rekrutierung mit moderater Wirksamkeit zu inhibieren. Für einige der potenteren Antagonisten wurden Konzentration-Inhibitionskurven aufgenommen. Wir konnten damit neuartige, wenn auch unselektive GPR55-Antagonisten mit IC_{50} -Werten im mikromolaren Bereich identifizieren (**314**, $IC_{50} = 29.1 \mu$ M; **338**, $IC_{50} = 21.7 \mu$ M; **343**, $IC_{50} = 21.7 \mu$ M; **344**, $IC_{50} = 8.92 \mu$ M und **345**, $IC_{50} = 6.20 \mu$ M). Interessanterweise gehörten die Verbindungen **338** und **343** auch zu den potentesten GPR35-Agonisten. Jedoch waren beide Chromenon-Derivate mehr als 1700-fach selektiv für den GPR35.

3.6.2 Entwicklung und Charakterisierung des ersten GPR35-Radioliganden

Wie in Kapitel 3.6.1.2 beschrieben wurde, konnte mit PSB-13253 (**338**) ein hochpotenter Vollagonist am hGPR35 entwickelt werden, der zum Zeitpunkt seiner Veröffentlichung der potenteste Agonist war, der für den hGPR35 bekannt war.²⁰² Daher wurde diese Verbindung gewählt, um einen Radioliganden für den GPR35 herzustellen. Er könnte wertvolle Informationen für die pharmakologische Charakterisierung des Rezeptors liefern und dazu beitragen, noch potentere GPR35-Agonisten zu entwickeln. Zur Radiomarkierung des Liganden ist die endständige Methoxygruppe in der Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-onringsystems sehr gut geeignet, da drei Tritiumatome eingeführt werden könnten. Die Verwendung von Tritium zur Radiomarkierung des Liganden hat den Vorteil einer sehr hohen Sensitivität und einer langen Halbwertszeit (12.32 Jahre). Die Verbindung bleibt chemisch unverändert und ist daher biologisch ununterscheidbar von dem nicht radioaktiv markierten Liganden. Zur Radiomarkierung wird üblicherweise von der entsprechenden Phenolverbindung ausgegangen, die anschließend mit tritiiertem Methyljodid oder

Methyltosylat in Anwesenheit einer ausreichenden Menge Base wie z. B. Kaliumcarbonat umgesetzt wird. In unserem Fall könnte die Phenolverbindung **285** durch eine klassische Spaltung der Methoxygruppe mit Bortribromid aus **239** gewonnen werden. Jedoch war **239** in allen gängigen organischen Lösungsmitteln schwer- oder unlöslich und konnte daher nicht zur Reaktion gebracht werden.

Schema 3.36. Erfolgreiche Darstellung von **285**

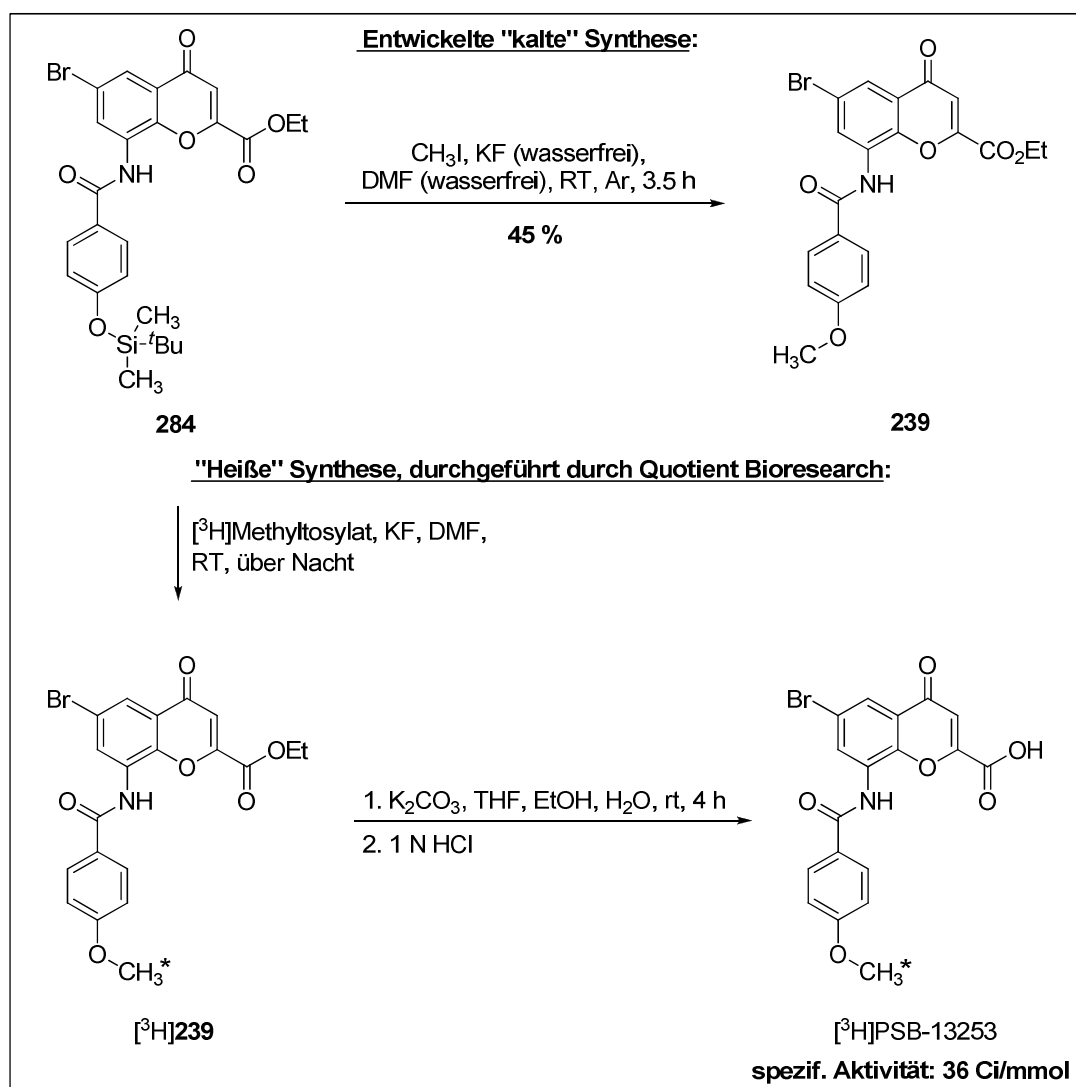


Es musste nach einer alternativen Strategie zur Radiomarkierung bzw. zur Darstellung eines passenden Precursors gesucht werden. Dies war auch deshalb wichtig, weil die Umsetzung eines Phenols zum entsprechenden Methoxy-Derivat in der Regel unter stark basischen Bedingungen durch Zusatz großer Mengen an Base (Kaliumcarbonat) und teilweise auch bei erhöhter Temperatur erfolgt. Es wurde befürchtet, dass das Chromen-4-on-Ringsystem, wie bereits in den Kapiteln 3.3.2.5 und 3.3.3 diskutiert, teilweise hydrolytisch gespalten werden könnte. In der Veröffentlichung von K. Sinhababu wurde eine direkte Umwandlung eines Silyl-geschützten Phenols zum entsprechenden Methylether beschrieben, die zur Darstellung des Radioliganden [³H]PSB-13253 angewendet werden konnte.³⁵¹ Die Synthese des *tert*-Butylsilyldimethylethers **284** wurde bereits in Kapitel 3.3.2.3 (Schema 3.28) ausführlich erläutert. Der Precursor wurde anschließend, wie in Schema 3.37 beschrieben, in einer „kalten“ Synthese mit Methyljodid in Anwesenheit von Kaliumfluorid in einer Argon-Atmosphäre in DMF bei Raumtemperatur für 3,5 Stunden umgesetzt. Nach säulenchromatografischer Aufreinigung konnte das gewünschte Produkt **239** in einer moderaten Ausbeute von 45 % gewonnen werden. Die Hydrolyse des Ethylesters kann unter den in Kapitel 3.3.2.5 erläuterten milden basischen Bedingungen erfolgen.

Die „heiße“ Synthese des Radioliganden [³H]PSB-13253 wurde von der Firma Quotient Bioresearch in England durchgeführt (siehe Schema 3.37). Der Precursor **284** wurde mit

triiertem Methyltosylat in Anwesenheit von Kaliumfluorid in DMF bei RT über Nacht zur Reaktion gebracht. Der nach säulenchromatografischer Aufreinigung isolierte Ethylester [^3H]239 wurde mit Kaliumcarbonat in einem THF-MeOH-H₂O-Gemisch für vier Stunden bei RT hydrolysiert. Nach Ansäuern mit 1 N HCl-Lösung wurde das Reaktionsgemisch durch HPLC aufgereinigt, um [^3H]PSB-13253 rein zu gewinnen. Die Gesamtausbeute betrug ausgehend von 100 mCi eingesetztem [^3H]Methyltosylat nur 7.8 % (7.8 mCi). Dies könnte damit erklärt werden, dass in der „heißen“ Synthese die über 200-fache Konzentration von Kaliumcarbonat eingesetzt wurde und daher eine partielle Zersetzung der Chromen-4-onringstruktur stattgefunden haben könnte.

Schema 3.37. Darstellung des Radioliganden [^3H]PSB-13253 ([^3H]338)



[^3H]PSB-13253 wurde massenspektrometrisch charakterisiert und zeigte eine spezifische Aktivität von 36 Ci/mmol (1.33 TBq/mmol). Diese ist relativ gering und lässt darauf schließen, dass nur ein bis zwei Tritiumatome pro Molekül vorhanden

waren. Nach RP-HPLC wurde eine radiochemische Reinheit von >99.9 % nachgewiesen.

Mit diesem Radioliganden wurden in unserem Arbeitskreis von Dominik Thimm Sättigungs-, Kinetik- und Konkurrenzexperimente an Membranpräparationen von CHO-Zellen durchgeführt, die den humanen GPR35 rekombinant exprimieren. Es stellte sich heraus, dass eine Zugabe von Magnesiumionen zum Inkubationspuffer zu einem signifikanten Anstieg der spezifischen Bindung des Radioliganden führte. Ähnliche Beobachtungen mit agonistischen Radioliganden waren für verschiedene GPCRs berichtet worden.³⁵²⁻³⁵⁵ Daher wurde wie in vielen agonistischen Radioligandbindungsassays dem Inkubationspuffer MgCl_2 (10 mM) zugesetzt.^{354, 356-359} Sättigungsexperimente wurden unter Verwendung eines großen Konzentrationsbereichs des Radioliganden, 10 μg Protein pro Reaktionsansatz und eines Puffers, der aus 50 mM Tris und 10 mM MgCl_2 (pH = 7.4) bestand, durchgeführt (Abb. 3.26).

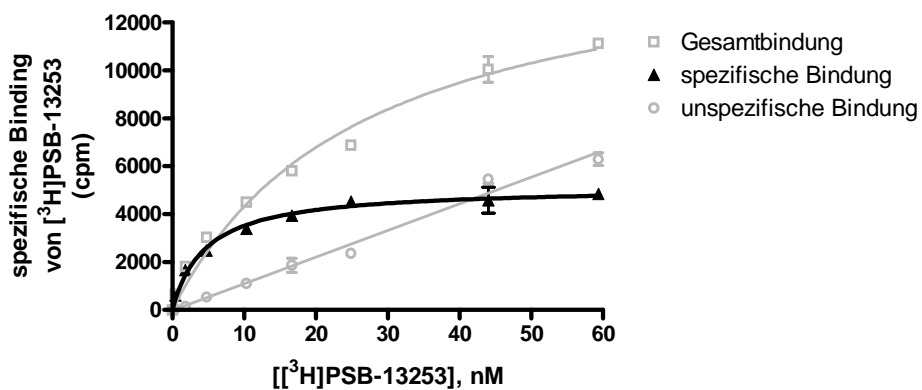


Abb. 3.26. Sättigung der Bindung von [³H]PSB-13253 am humanen GPR35, der rekombinant in CHO-Zellen exprimiert wurde (10 μg Protein pro Reaktionsansatz). Es sind die Mittelwerte eines typischen Experiments, welches in Duplikaten durchgeführt wurde, dargestellt.

Die Ergebnisse der Experimente ergaben, dass eine Inkubationszeit von 150 min ausreichend sein sollte, um eine stabile Gleichgewichtsbindung zu erzielen. Aus drei unabhängigen Experimenten, jeweils als Duplikate durchgeführt, wurde ein K_D -Wert von 5.27 ± 0.18 nM bestimmt und ein hoher B_{max} -Wert von 12.6 ± 1.2 pmol/mg Protein für Membranpräparationen von rekombinant GPR35 exprimierenden CHO-Zellen berechnet. In Experimenten, welche die Assoziations- und Dissoziationskinetik bestimmen, wurden 5 nM Radioligand und 10 μg Protein eingesetzt. In Assoziationsexperimenten wurden der Radioligand und das Rezeptorprotein für bis zu 200 min inkubiert. Die Dissoziation wurde durch die Zugabe einer hohen Konzentration

von Embonsäure (10 μM) nach 100 min Präinkubation eingeleitet. Eine Gleichgewichtsbindung war nach 60 min erreicht und für mindestens 200 min bei Raumtemperatur stabil (siehe Abb. 3.27).

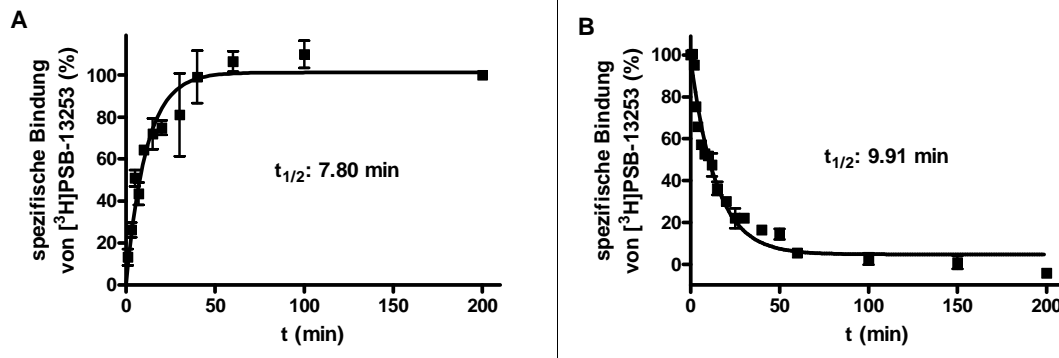


Abb. 3.27. Kinetik der Bindung von $[^3\text{H}]$ PSB-13253 am humanen GPR35. (A) Assoziations- und (B) Dissoziationskurve. Die Dissoziation wurde durch Zugabe von Embonsäure (10 μM) nach einer 100-minütigen Präinkubation ausgelöst. Radioligand-Bindungsexperimente wurden unter Verwendung einer Endkonzentration von 5 nM $[^3\text{H}]$ PSB-13253 durchgeführt. Es sind die Mittelwerte von zwei unabhängigen Experimenten, die in Duplikaten durchgeführt wurden, dargestellt.

Alle nachfolgenden Konkurrenzexperimente wurden unter Verwendung einer Radioligandkonzentration von 5 nM, 10 μg Protein pro Probe und einer Inkubationszeit von 100 min in 50 mM Tris-Puffer, dem 10 mM MgCl_2 (pH = 7.4) zugesetzt wurden, durchgeführt (außer es wurde anders angegeben). Anschließend wurde über einen GF/B-Filter filtriert und mit Tris-Puffer gewaschen. Die auf dem Filter verbliebene Radioaktivität wurde durch Flüssigszintillationszählung bestimmt. Drei bis vier unabhängige Experimente wurden jeweils in Duplikaten durchgeführt.

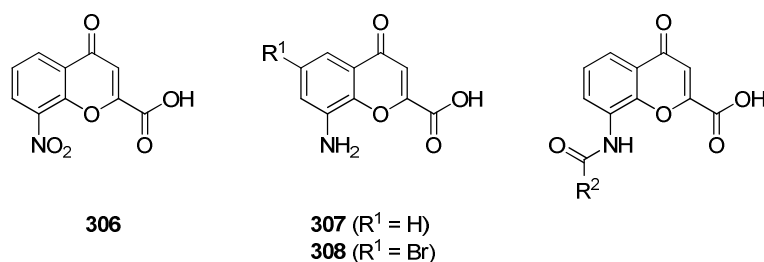
In Vorexperimenten wurde der Radioligand auch an Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den Maus- oder Ratten-GPR35 stabil exprimierten, unter Verwendung einer höheren Konzentration von 15 nM $[^3\text{H}]$ PSB-13253, 100 μg Protein pro Probe und einer Inkubationszeit von 2 h getestet. Die nichtspezifische Bindung wurde in Anwesenheit von 250 μM Zaprinast (**28**) bestimmt. Während die spezifische Bindung des Radioliganden am humanen Rezeptor bei ca. 90 % der Gesamtbindung unter vergleichbaren Bedingungen lag, war sie an beiden murinen Rezeptoren mit ca. 20 % am Ratten- und nur 8 % am Maus-GPR35 sehr niedrig. Zuvor konnten wir bereits zeigen, dass **338** in β -Arrestin-Rekrutierungsassays nur eine schwache Wirksamkeit an murinen Rezeptoren aufwies. Da der Radioligand auch nur mit einer geringen Affinität

am Maus- und Ratten-Rezeptor gebunden hat, schien er nicht zur Markierung von murinen GPR35-Rezeptoren geeignet.

3.6.3 Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien

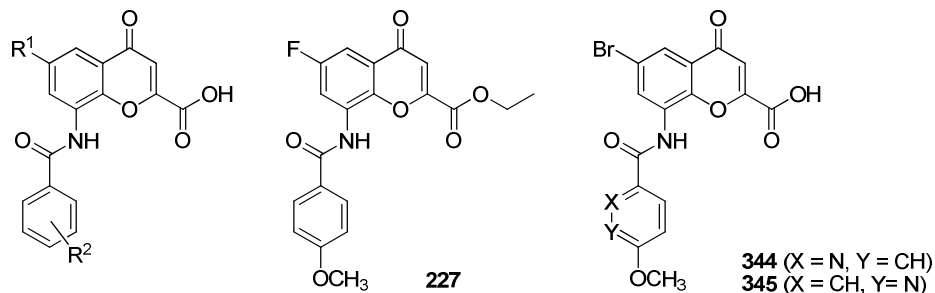
Für alle dargestellten Chromen-4-on-2-carbonsäuren konnte nun unter Verwendung des neuen Radioliganden [³H]PSB-13253 die Affinität am humanen GPR35 bestimmt werden (siehe Tabellen 3.32 – 3.36).

Tabelle 3.32. Affinität und Wirksamkeit von Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35



Verbindung	Substitutionsmuster R ²	hGPR35	
		Radioligandbindungsassay K _i ^a ± SEM (μM) (% Inhibition ± SEM)	β-Arrestin-Rekrutierungsassay EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^c ± SEM) E _{max} ^c
Zaprinast (28)		0.401 ± 0.015	1.96 ± 0.24 100
Cromoglicinsäure (31)		2.34 ± 0.04 ^b	1.26 ± 0.17 119
306	Struktur: siehe oben	13.6 ± 0.7	46.3 ± 3.2 101
307	Struktur: siehe oben	(7 ± 2)	(2 ± 4) -
308	Struktur: siehe oben	3.01 ± 0.30	12.6 ± 1.5 84
309	Methyl	18.5 ± 0.5	24.1 ± 3.3 91
310	Ethyl	6.77 ± 0.80	13.4 ± 3.4 119
311	2-Methoxy-2-oxoethyl	18.6 ± 1.0	20.2 ± 5.7 87
312	Cyclohexyl	3.58 ± 0.26	4.20 ± 0.38 118
316	Phenyl	3.29 ± 0.19	4.91 ± 0.65 107
313	Benzyl	2.72 ± 0.07	8.96 ± 0.43 107
314	2-Naphthyl	0.714 ± 0.041	4.67 ± 1.00 125
315	2-Chinolinyl	0.691 ± 0.056	1.34 ± 0.06 81

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 μM durchgeführt. ^aAffinitäten wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von 5 nM [³H]PSB-13253 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den hGPR35 rekombinant exprimieren, bestimmt. ^bInhibitionskurve wurde extrapoliert. ^cEffekte wurden auf das induzierte Signal von 30 μM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt.

Tabelle 3.33. Affinität und Wirksamkeit von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35

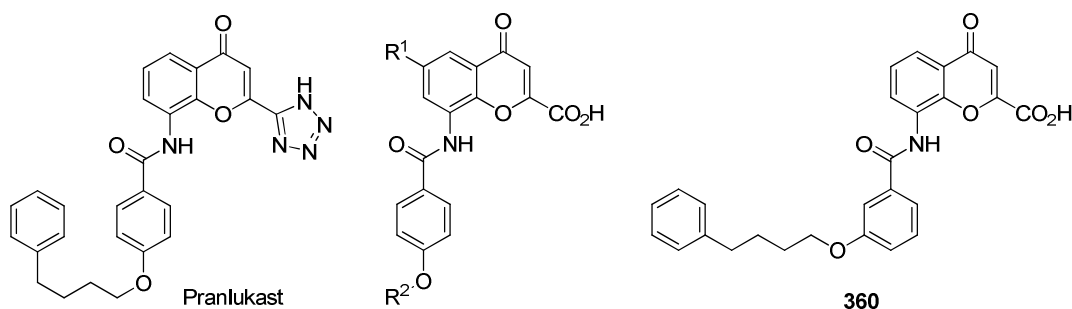
Verbindung	Substitutionsmuster				hGPR35		
	R ¹	R ²			Radioligandbindungsassay K _i ^a ± SEM (μM)	β-Arrestin-Rekrutierungsassay	
		ortho	meta	para		EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
317	H	H	CH ₃	H	4.78 ± 0.36	5.44 ± 1.34	70
318	H	H	NO ₂	H	4.39 ± 0.17	6.97 ± 0.30	112
319	H	H	H	CH ₃	0.697 ± 0.033	1.38 ± 0.14	104
320	H	H	H	CF ₃	10.3 ± 0.8	15.5 ± 3.1	81
115	H	H	H	OCH ₃	0.221 ± 0.020	0.346 ± 0.037	104
321	H	H	H	Br	0.233 ± 0.014	0.804 ± 0.148	122
322	F	Cl	Cl	H	0.119 ± 0.004	0.382 ± 0.056	106
323	F	Cl	H	Cl	0.00412 ± 0.00009	0.0170 ± 0.0017	113
324	F	H	Cl	Cl	0.0115 ± 0.0005	0.117 ± 0.026	131
325	F	H	H	OCH ₃	0.0254 ± 0.0023	0.112 ± 0.011	123
227	Struktur: siehe oben				0.198 ± 0.019	0.112 ± 0.024	80
326	Cl	H	H	H	0.138 ± 0.013	0.430 ± 0.063	115
327	Cl	H	CH ₃	H	0.250 ± 0.012	1.22 ± 0.17	102
328	Cl	H	H	NO ₂	0.183 ± 0.006	1.71 ± 0.16	130
329	Cl	H	H	OCH ₃	0.00550 ± 0.00012	0.0168 ± 0.0021	110
330	Cl	F	H	OCH ₃	0.00192 ± 0.00012	0.00606 ± 0.000882	111
331	Br	H	H	H	0.0816 ± 0.0056	0.303 ± 0.021	110
332	Br	H	CH ₃	H	0.128 ± 0.001	0.842 ± 0.165	138
333	Br	H	H	Cl	0.00479 ± 0.00044	0.0251 ± 0.0019	115
334	Br	Cl	H	Cl	0.000938 ± 0.000097	0.0164 ± 0.0011	110
335	Br	H	Cl	Cl	0.00218 ± 0.00005	0.0154 ± 0.0030	110
336	Br	H	H	CN	0.148 ± 0.014	0.399 ± 0.060	108
337	Br	H	H	OH	0.125 ± 0.009	0.716 ± 0.085	106
338	Br	H	H	OCH ₃	0.00518 ± 0.00033	0.0121 ± 0.0010	121
339	Br	H	H	Ethoxy	0.0984 ± 0.0017	0.634 ± 0.076	99
340	Br	OCH ₃	H	H	0.331 ± 0.021	1.66 ± 0.28	91
341	Br	H	OCH ₃	OCH ₃	0.228 ± 0.014	0.425 ± 0.075	102
342	Br	H	O-CH ₂ -O		0.0150 ± 0.0015	0.0599 ± 0.0042	107
343	Br	Cl	H	OCH ₃	0.00112 ± 0.00009	0.0111 ± 0.0031	120

3 Ergebnisse und Diskussion

344	Struktur: siehe oben	0.0568 ± 0.0056	0.144 ± 0.017	115
345	Struktur: siehe oben	0.0257 ± 0.0022	0.0305 ± 0.0016	117

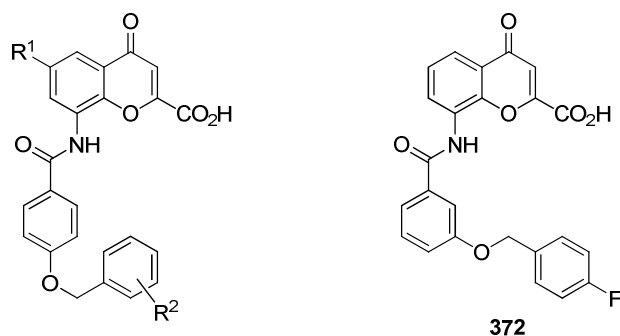
Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 µM durchgeführt. ^aAffinitäten wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von 5 nM [³H]PSB-13253 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den hGPR35 rekombinant exprimieren, bestimmt. ^bEffekte wurden auf das induzierte Signal von 30 µM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt.

Tabelle 3.34. Affinität und Wirksamkeit von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35



Verbindung	Substitutionsmuster		hGPR35	
	R ¹	R ²	Radioligandbindungsassay K _i ^a ± SEM (µM) (% Inhibition ± SEM)	β-Arrestin-Rekrutierungsassay (% Effekt ^c ± SEM)
Pramlukast	Struktur: siehe oben		0.0407 ± 0.0073	(12 ± 2)
346	H	<i>n</i> -Propyl	8.06 ± 0.22	(4 ± 2)
347	H	<i>n</i> -Butyl	3.74 ± 0.44	(8 ± 5)
348	H	<i>n</i> -Pentyl	1.15 ± 0.07	(4 ± 2)
349	H	<i>n</i> -Hexyl	n.b.	n.b.
350	H	<i>n</i> -Heptyl	0.115 ± 0.013	(0 ± 4)
351	H	4-Methylpentyl	0.578 ± 0.043	(1 ± 2)
352	H	Cyclopropylmethyl	3.71 ± 0.43	(10 ± 3)
353	H	2-Cyclohexylethyl	0.380 ± 0.025	(10 ± 8)
354	H	3-Cyclohexylpropyl	0.102 ± 0.004	(-8 ± 9)
355	H	4-Cyclohexylbutyl	n.b.	n.b.
356	H	2-Phenylethyl	1.49 ± 0.12	(26 ± 3)
357	H	3-Phenylpropyl	0.830 ± 0.060	(2 ± 3)
113	H	4-Phenylbutyl	0.133 ± 0.011	(18 ± 3)
358	H	3-(4-Methoxyphenyl)propyl	0.217 ± 0.005	(2 ± 3)
359	H	3,3-Dimethyl-2-oxobutyl	(13 ± 1)	(7 ± 7)
360	Struktur: siehe oben		1.06 ± 0.08	(2 ± 5)
361	F	3-Phenylpropyl	n.b.	n.b.
362	Cl	3-Phenylpropyl	0.413 ± 0.038 ^b	(-3 ± 2)
363	Br	3-Phenylpropyl	0.343 ± 0.026 ^b	(6 ± 4)
364	Br	4-Cyclohexylbutyl	n.b.	n.b.

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 µM durchgeführt. ^aAffinitäten wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von 5 nM [³H]PSB-13253 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den hGPR35 rekombinant exprimieren, bestimmt. ^bInhibitionskurve wurde extrapoliert. ^cEffekte wurden auf das induzierte Signal von 30 µM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt.

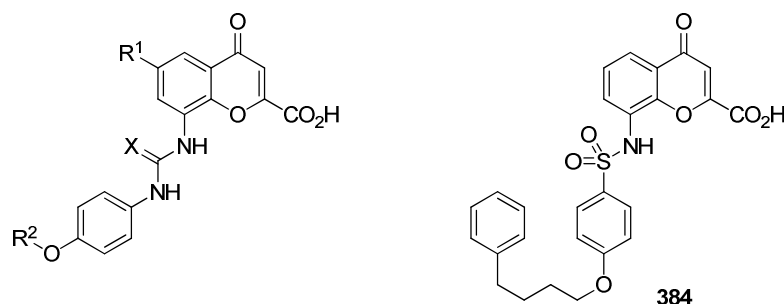
Tabelle 3.35. Affinität und Wirksamkeit von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35

Verbindung	Substitutionsmuster				hGPR35		
	R ¹	R ²			Radioligandbindungssassay	β-Arrestin-Rekrutierungssassay	
		<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>	K _i ^a ± SEM (μM) (% Inhibition ± SEM)	EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^c ± SEM)	E _{max} ^c
365	H	H	H	H	1.92 ± 0.06	(9 ± 4)	-
114	H	H	H	F	0.985 ± 0.020	(10 ± 2)	-
366	H	H	H	Cl	0.717 ± 0.047	(9 ± 5)	-
367	H	H	H	Br	0.379 ± 0.025	(6 ± 1)	-
368	H	H	H	CH ₃	0.797 ± 0.025	(25 ± 6)	-
369	H	H	H	CF ₃	0.640 ± 0.035	(3 ± 2)	-
370	H	H	F	H	1.68 ± 0.07	(9 ± 2)	-
371	H	F	H	H	1.56 ± 0.02	(12 ± 5)	-
372	Struktur: siehe oben				0.750 ± 0.066^b	(31 ± 1)	-
373	F	H	H	F	1.13 ± 0.07	(18 ± 5)	-
374	Cl	H	H	F	0.427 ± 0.036	7.08 ± 2.21	73
375	Cl	H	H	Br	0.350 ± 0.028	(-3 ± 3)	-
376	Br	H	H	F	0.327 ± 0.038	4.11 ± 1.04	89
377	Br	H	H	Br	0.432 ± 0.030	(11 ± 4)	-
378	Br	H	Br	H	0.265 ± 0.015	(36 ± 3)	-

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 μM durchgeführt. ^aAffinitäten wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von 5 nM [³H]PSB-13253 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den hGPR35 rekombinant exprimieren, bestimmt. ^bInhibitionskurve wurde extrapoliert. ^cEffekte wurden auf das induzierte Signal von 30 μM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt.

3 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 3.36. Affinität und Wirksamkeit von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen, Maus- und Ratten-GPR35



Verbindung	Substitutionsmuster			hGPR35		
	R ¹	R ²	X	Radioligandbindungsassay	β-Arrestin-Rekrutierungsassay	
				K _i ^a ± SEM (μM) (% Inhibition ± SEM)	EC ₅₀ ± SEM (μM) (% Effekt ^b ± SEM)	E _{max} ^b
379	H	Methyl	O	0.884 ± 0.043	2.89 ± 0.12	96
380	Br	Methyl	O	0.0555 ± 0.0026	0.458 ± 0.055	110
381	H	4-Phenylbutyl	O	0.102 ± 0.009	(-26 ± 11)	-
382	Br	4-Fluorbenzyl	O	n.b.	n.b.	-
383	H	4-Phenylbutyl	S	0.618 ± 0.049	(2 ± 3)	-
384	Struktur: siehe oben			1.01 ± 0.10	(-10 ± 4)	-

Testungen wurden bei einer Konzentration von 10 μM durchgeführt. ^aAffinitäten wurden in Konkurrenzexperimenten unter Verwendung von 5 nM [³H]PSB-13253 und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den hGPR35 rekombinant exprimieren, bestimmt. ^bEffekte wurden auf das induzierte Signal von 30 μM Zaprinast normalisiert. Dieser entspricht dem jeweiligen Maximaleffekt.

Basierend auf der Analyse der Struktur-Wirkungsbeziehungen, die durch diese Bindungsdaten erhalten wurden, konnten neue Derivate als GPR35-Agonisten mit verbesserter Bindung vorgeschlagen, synthetisiert und getestet werden. Die Affinitäten und Wirksamkeiten, die in Radioligand-Bindungsassays bzw. β-Arrestin-Rekrutierungsassays bestimmt wurden, korrelierten sehr gut ($r^2 = 0.943$, bestimmt in einem zweiseitigen Pearson-Test). Der Scatterplot ist in Abb. 3.28 dargestellt.

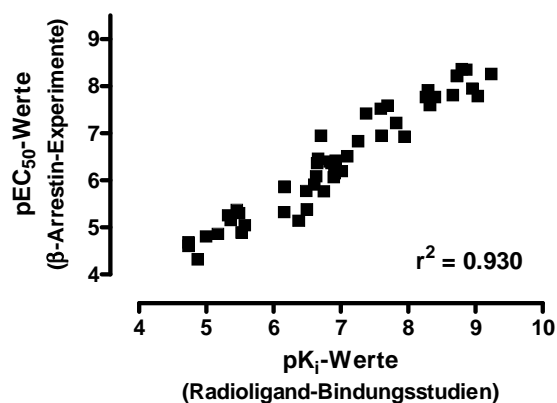


Abb. 3.28. Scatterplot. pEC₅₀-Werte von 8-substituierten Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivaten wurden gegen ihre pK_i-Werte aufgetragen. r^2 wurde mit einem zweiseitigen Pearson-Test bestimmt.

Die Struktur-Wirkungsbeziehungen, die anhand der Daten aus funktionellen Assays aufgestellt wurden, konnten mit den Daten aus Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien bestätigt werden. Jedoch konnten wir auch einige Unterschiede finden.

Für eine hohe Wirksamkeit und Bindung scheint ein Wasserstoffbrückenakzeptor in 8-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts notwendig zu sein (vgl. **306**, $K_i = 13600$ nM mit Verbindung **307**, die den Radioliganden bei einer Konzentration von $10 \mu\text{M}$ kaum verdrängen konnte). Die Einführung von unpolaren, voluminösen Substituenten über einen Amid-Linker in die 8-Position erhöhte schrittweise die Affinität der Verbindungen: Methyl in **309** ($K_i = 18500$ nM), Ethyl in **310** ($K_i = 6770$ nM), Cyclohexyl in **312** ($K_i = 3580$ nM) und Phenyl in **316** ($K_i = 3290$ nM). Durch die Einführung von voluminösen bicyclischen Substituenten in dieser Position, wie z. B. 2-Naphthyl (**314**, $K_i = 714$ nM, $\text{EC}_{50} = 4670$ nM) und 2-Chinolinyl (**315**, $K_i = 691$ nM, $\text{EC}_{50} = 1340$ nM), konnte die Affinität und für letzteres auch die Wirksamkeit im β -Arrestin-Rekütierungsassay weiter erhöht werden. Die Einführung von noch voluminöseren unpolaren Gruppen könnte die Affinität eventuell weiter steigern. Da die Efficacy von **315** erniedrigt ist, könnte diese Verbindung ein möglicher Ausgangspunkt zur Entwicklung potenter Partialagonisten am GPR35 sein.

Eine Halogenierung in 6-Position des Chromenonrings erhöhte die Wirksamkeit und die Affinität der Verbindungen deutlich (vgl. **115**, 6-H, $K_i = 221$ nM, $\text{EC}_{50} = 346$ nM; **325**, 6-F, $K_i = 25.4$ nM, $\text{EC}_{50} = 112$ nM; **329**, 6-Cl, $K_i = 5.50$ nM, $\text{EC}_{50} = 16.8$ nM; **338**, 6-Br, $K_i = 5.18$ nM, $\text{EC}_{50} = 12.1$ nM). Die Reihenfolge für Affinität und Wirksamkeit war wie folgt: 6-Br > 6-Cl > 6-F > 6-H. Interessanterweise hatte ein Fluoratom in dieser Position einen stärkeren Einfluss auf die Affinität als auf die in β -Arrestin-Rekütierungsassays bestimmte Wirksamkeit. In Kapitel 3.6.1.2 haben wir postuliert, dass ein Substituent in der 6-Position mit einem großen Van-der-Waals-Radius günstig sein könnte, um eine hydrophobe Bindungstasche im Rezeptorprotein auszufüllen. Um zwischen dem Substituenteneffekt, der durch die räumliche Ausdehnung verursacht wird, und dem Effekt, der durch negative induktive Effekte auf das benachbarte aromatische Ringssystem bewirkt wird, zu unterscheiden, sollten weitere Chromen-4-one mit unterschiedlichen Substituenten in 6-Position, wie z. B. Methyl oder Methoxy, dargestellt werden. Diese Verbindungen wurden inzwischen von Anne Meyer synthetisiert; die Ergebnisse wurden bereits veröffentlicht.³⁴³

Als nächstes wurde eine Serie von Derivaten mit unterschiedlichen Substituenten in verschiedenen Positionen der Benzamid-Seitenkette und mit verschiedenen Halogenatomen in der 6-Position des Chromenon-Grundgerüsts getestet. Struktur-Wirkungsbeziehungen, die aus Radioligand-Bindungsdaten abgeleitet werden konnten, stimmten mit denen, die für β -Arrestin-Rekrutierungsassays diskutiert wurden, größtenteils überein. Substituenten in *p*-Position wurden gut toleriert, wobei eine Methoxygruppe (vgl. **331**, $K_i = 81.6$ nM, $EC_{50} = 303$ nM mit **338**, $K_i = 5.18$ nM, $EC_{50} = 12.1$ nM) und nachfolgend ein Chlorsubstituent (vgl. **331**, $K_i = 81.6$ nM, $EC_{50} = 303$ nM mit **333**, $K_i = 4.79$ nM, $EC_{50} = 25.1$ nM) den größten Einfluss auf die Affinität und Wirksamkeit hatten. Die meisten Substituenten in den *ortho*- und *meta*-Positionen führten zu einer Verringerung der Affinität und Wirksamkeit, außer eine *o*- und *m*-Chlorsubstitution (vgl. **333**, *p*-Cl, $K_i = 4.79$ nM, $EC_{50} = 25.1$ nM mit **334**, *o,p*-Di-Cl, $K_i = 0.938$ nM, $EC_{50} = 16.4$ nM und **335**, *m,p*-Di-Cl, $K_i = 4.79$ nM, $EC_{50} = 25.1$ nM). Interessanterweise führte ein Chloratom in *ortho*-Position zu einem 87-fachen Anstieg der Affinität, aber nur zu einer 18-fachen Erhöhung der Wirksamkeit. Ein ähnlicher Effekt für eine *o*-Chlorsubstitution wurde beim Vergleich von **338** ($K_i = 5.18$ nM, $EC_{50} = 12.1$ nM) mit **343** ($K_i = 1.12$ nM, $EC_{50} = 11.1$ nM) beobachtet: nur die Affinität, aber nicht die Wirksamkeit wurde durch die Substitution positiv beeinflusst. Daher war ein Substituent, der einen negativen induktiven Effekt besitzt, günstig für eine Ligandbindung, hatte aber einen geringeren Einfluss auf die Wirksamkeit, die in β -Arrestin-Rekrutierungsassays bestimmt wurde. Basierend auf diesem Ergebnis wurde das 6-Chlor-Derivat **330** mit einem Fluorsubstituenten in *o*-Position synthetisiert. Es wies neben einer sehr hohen Affinität ($K_i = 1.92$ nM) auch eine sehr hohe Wirksamkeit ($EC_{50} = 6.06$ nM) auf. Weitere Verbindungen mit Fluorsubstituenten, die eine vergleichbar hohe Affinität und Wirksamkeit zeigten, wurden von Anne Meyer dargestellt.³⁴³

Desweiteren wurden auch Chromen-4-on-Derivate auf ihre Affinität am humanen GPR35 getestet, die für die humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84 entwickelt wurden (siehe Tabellen 3.34 und 3.35). Sie zeigten in der Regel keine Wirksamkeit am humanen GPR35. Für den GPR17 wurden gezielt Chromen-4-on-2-carbonsäuren dargestellt mit unterschiedlich großen und langen lipophilen Resten in der 8-Benzamido-Seitenketten, die über eine Etherfunktion an den Phenyling gebunden waren. Dabei war aufgefallen, dass prinzipiell mit zunehmender Kettenlänge die Affinität der Verbindungen zunahm. Dies kann sehr deutlich durch die Einführung von

n-Alkoxy-Resten in *p*-Position gezeigt werden: *n*-Heptoxy (**333**, $K_i = 115$ nM) \gg *n*-Pentoxy (**348**, $K_i = 1150$ nM) $>$ *n*-Butoxy (**347**, $K_i = 3740$ nM) $>$ *n*-Propoxy (**346**, $K_i = 8060$ nM). Die Verbindung mit einem *n*-Hexyloxy-Rest (**349**) wurde bisher noch nicht getestet, sollte sich aber nach *n*-Heptyloxy in diese Reihe einsortieren, da die Einführung einer verzweigten 4-Methylpentyl-oxy-Seitenkette (entspricht einem Isobutyloxy-Rest, **351**) zu einer Affinität von 578 nM führte. Eine Erhöhung der Affinität mit zunehmender Kettenlänge konnte auch bei der Einführung von Cyclohexylalkyloxy- (3-Cyclohexylpropoxy, **354**, $K_i = 102$ nM $>$ 2-Cyclohexylethoxy, **353**, $K_i = 102$ nM) und Phenylalkyloxy-Seitenketten (4-Phenylbutoxy, **113**, $K_i = 133$ nM \gg 3-Phenylpropoxy, **357**, $K_i = 830$ nM $>$ 2-Phenylethoxy, **356**, $K_i = 1490$ nM $>$ Benzyl-oxy, **365**, $K_i = 1920$ nM) in der *p*-Position beobachtet werden. Nicht nur die Kettenlänge hatte einen großen Einfluss auf die Affinität, sondern auch das Volumen der Seitenkette. So wurde ein endständiger Cyclohexylring besser toleriert als ein endständiger Phenylring oder eine endständige Methylgruppe (vgl. **354**, 3-Cyclohexylpropoxy, $K_i = 102$ nM $>$ **357**, 3-Phenylpropoxy, $K_i = 830$ nM $>$ **347**, *n*-Butoxy, $K_i = 3740$ nM). Folglich sollte die noch nicht gesteste Verbindung **355** mit einer 4-Cyclohexylbutoxy-Seitenkette eine noch höhere Affinität als **354** am GPR35 aufweisen. Eine zusätzliche Methoxygruppe in der *p*-Position eines endständigen Phenylrings führte zu einer Verringerung der Affinität (vgl. **358**, $K_i = 217$ nM; **113**, $K_i = 133$ nM). Ein Wasserstoffbrückenakzeptor in der Seitenkette wie in Verbindung **359** (3,3-Dimethyl-2-oxobutyl-Seitenkette) scheint nicht toleriert zu werden. Die Verbindung wies bei einer Testkonzentration von 10 μ M keine signifikante Affinität zum humanen GPR35 auf. Der Vergleich der Verbindungen **360** und **113** zeigte, dass eine *para*-Substitution günstiger war als ein Substituent in *meta*-Position (**360**, $K_i = 1060$ nM; **113**, $K_i = 133$ nM). Dieser Effekt wurde auch bereits bei den substituierten 8-Benzamid-Derivaten in Tabelle 3.33 beobachtet. Eine Halogenierung der 6-Position des Chromenon-Grundgerüsts führte wieder zu einer 2-fachen Steigerung der Affinität (vgl. **363**, 6-Br, $K_i = 343$ nM; **362**, 6-Cl, $K_i = 413$ nM; **357**, 6-H, $K_i = 830$ nM), wobei ein Bromatom wieder etwas günstiger war als ein Chlorsubstituent. Eine Betrachtung der Affinität von Pranlukast (**15**) mit der von **113** zeigte, dass ein Tetrazolring gegenüber einer Carbonsäurefunktion in 2-Position der Chromen-4-on-Grundstruktur zu einer Erhöhung der Affinität um den Faktor 3 führte (Pranlukast, $K_i = 40.7$ nM; **113**, $K_i = 133$ nM). Daher sollten in Zukunft weitere Verbindungen mit einer Tetrazolfunktion in der 2-Position dargestellt werden. Besonders ein Chromen-4-on-Derivat mit einem

Tetrazolring in 2-Position, einem Bromsubstituenten in 6-Position und einer 4-Methoxy-2-fluorbenzamid-Seitenkette in 8-Position sollte eine sehr hohe Affinität in Kombination mit einer hohen Wirksamkeit am humanen GPR35 aufweisen.

Die speziell für den GPR84 entwickelten 8-Benzyloxybenzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren mit unterschiedlichen Substituenten am Benzylring wiesen auch eine Affinität zum humanen GPR35 auf, aber zeigten mit zwei Ausnahmen keine signifikante Wirksamkeit bei einer Konzentration von 10 μM an diesem Rezeptor (siehe Tabelle 3.35). Als erstes wurde die Position eines Fluoratoms am Benzylring variiert: *p*-Substitution (**114**, $K_i = 985 \text{ nM}$) > *o*-Substitution (**371**, $K_i = 1560 \text{ nM}$) \approx *m*-Substitution (**370**, $K_i = 1680 \text{ nM}$). In der *p*-Position des Benzylrings konnten mehrere Substituenten eingeführt werden und es ergab sich die folgende Reihenfolge für die Affinität der Verbindungen: Br (**367**, $K_i = 379 \text{ nM}$) > CF_3 (**369**, $K_i = 640 \text{ nM}$) > Cl (**366**, $K_i = 717 \text{ nM}$) > CH_3 (**368**, $K_i = 797 \text{ nM}$) > F (**114**, $K_i = 985 \text{ nM}$) > H (**365**, $K_i = 1920 \text{ nM}$). Auch in diesem Fall zeigte sich wieder, dass die Affinität mit zunehmenden Volumen des Substituenten anstieg. Eine Verschiebung des 4-Fluorbenzyl-Restes von der *para*- zur *meta*-Position der 8-Benzamido-Seitenkette führte zu einer geringen Erhöhung der Affinität am GPR35 (vgl. **372**, $K_i = 750 \text{ nM}$; **114**, $K_i = 985 \text{ nM}$). Eine Halogenierung der 6-Position von **114** (außer mit Fluor) erhöhte in der Regel wieder die Affinität zum Rezeptor. Die Reihenfolge für die Affinität war wie folgt: Br (**376**, $K_i = 327 \text{ nM}$) > Cl (**374**, $K_i = 427 \text{ nM}$) \gg H (**114**, $K_i = 985 \text{ nM}$) \approx F (**373**, $K_i = 1130 \text{ nM}$). Im Gegensatz zu einer Fluorsubstitution am Benzylring war in Kombination mit einer 6-Bromierung ein Bromatom in *m*-Position des Benzylrings geringfügig günstiger als in *p*-Position (vgl. **378**, *m*-Br, $K_i = 265 \text{ nM}$; **377**, *p*-Br, $K_i = 432 \text{ nM}$).

Abschließend wurde der Amid-Linker variiert. Unabhängig von einer Substitution in der 6-Position des Chromenon-Grundgerüsts war die Affinität sowie auch die Wirksamkeit durch Ersetzen des Amid-Linkers in **115** (6-H, $K_i = 221 \text{ nM}$) oder **338** (6-Br, $K_i = 5.18 \text{ nM}$) mit einer Harnstoff-Funktion herabgesetzt (**379**, 6-H, $K_i = 884 \text{ nM}$ und **380**, 6-Br, $K_i = 55.5 \text{ nM}$). Der Amid-Linker der Chromen-4-on-2-carbonsäure **113**, die eine 4-(4-Phenylbutoxy)benzamid-Seitenkette in der 8-Position trägt, wurde zusätzlich durch eine Thioharnstoff-Funktion und Sulfonamidgruppe ausgetauscht. Es ergab sich die folgende Reihenfolge für die Affinität der Verbindungen am humanen GPR35: Harnstoff (**381**, $K_i = 102 \text{ nM}$) \approx Amid (**113**, $K_i = 133 \text{ nM}$) > Thioharnstoff (**383**, $K_i = 618 \text{ nM}$) > Sulfonamid (**384**, $K_i = 1010 \text{ nM}$). Bei einer langen lipophilen

Seitenkette in der 8-Position des Chromenons wurde also auch eine Harnstoff-Funktion als Linker toleriert und führte zu einer gleich hohen Affinität wie eine Amid-Funktion.

Es stellte sich noch die Frage, warum in der Regel alle getesteten Chromen-4-on-2-carbonsäuren in Radioligand-Bindungsassays Affinität zum GPR35 zeigten, aber Verbindungen mit einer längeren Seitenkette in der 8-Position in β -Arrestin-Rekrutierungsassays weder agonistisch noch antagonistisch aktiv waren. Eine mögliche Erklärung basiert auf dem Konzept des „biased agonism“, wonach die funktionelle Selektivität eines Liganden auf die Eigenschaften des Liganden selbst zurückgeführt werden.³⁶⁰ Unter funktioneller Selektivität versteht man das Phänomen, dass ein Ligand nach dessen Bindung an einen Rezeptor bevorzugt einen von mehreren möglichen Signaltransduktionswegen aktivieren kann.³⁶¹ In unserem Fall wurde daher der β -Arrestin-Signaltransduktionsweg in Abhängigkeit von dem Aussehen der Seitenkette in 8-Position des Chromenonringsystems aktiviert. Alle getesteten Verbindungen binden in der Regel an den humanen GPR35, offensichtlich aktivieren aber nicht alle den β -Arrestin-Signaltransduktionsweg.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir erfolgreich den ersten agonistischen Radioliganden für den humanen GPR35 entwickeln und vollständig charakterisieren konnten. Wir waren dadurch in der Lage die Struktur-Wirkungsbeziehungen für die Chromen-4-on-2-carbonsäuren, die wir aus Daten von β -Arrestin-Rekrutierungsassays gewonnen haben, mithilfe von Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien größtenteils zu bestätigen. Von wenigen Ausnahmen abgesehen, zeigten alle Chromen-4-on-2-carbonsäuren Affinität zum humanen GPR35 mit K_i -Werten im subnanomolaren bis niedrigen mikromolaren Bereich. Kompetitionskurven der am humanen GPR35 affinsten Chromenon-Derivate sind in Abb. 3.29 dargestellt. Durch Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien konnte eine neue Verbindung (**330**) mit sehr hoher Affinität und Wirksamkeit entwickelt werden, die als neue Leitstruktur für weitere Optimierungen dienen kann. In Zukunft sollte vor allem die 2- und die 6-Position des Chromen-4-on-Grundgerüsts weiter variiert werden. Besonders die Einführung einer Tetrazolfunktion in der 2-Position sollte zu einer Erhöhung der Affinität der Verbindungen beitragen.

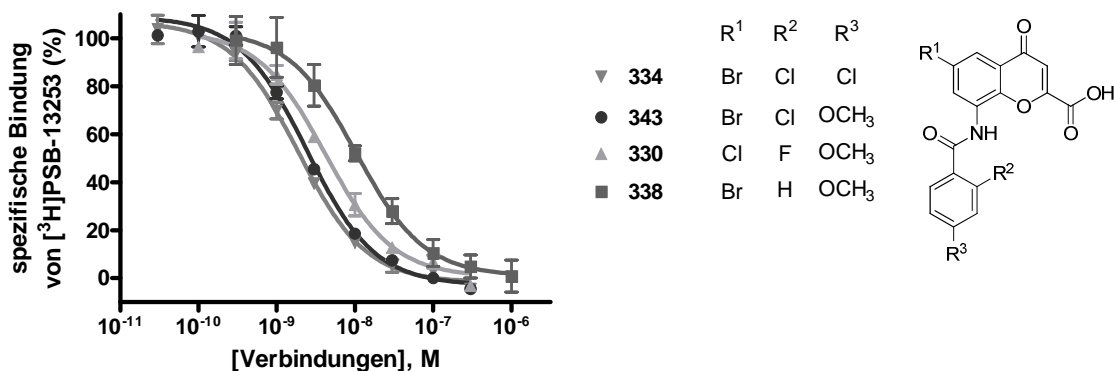


Abb. 3.29. Kompetitionskurven ausgewählter Chromenon-Derivate am humanen GPR35. Radioligand-Bindungsexperimente wurden mit Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den GPR35 exprimieren, unter Verwendung einer Endkonzentration von 5 nM [³H]PSB-13253 durchgeführt. Es wurden die Mittelwerte aus drei bis vier Experimenten, die in Duplikaten durchgeführt wurden, angegeben. K_i -Werte: **334** 0.938 nM, **343** 1.12 nM, **330** 1.92 nM und **338** 5.18 nM.

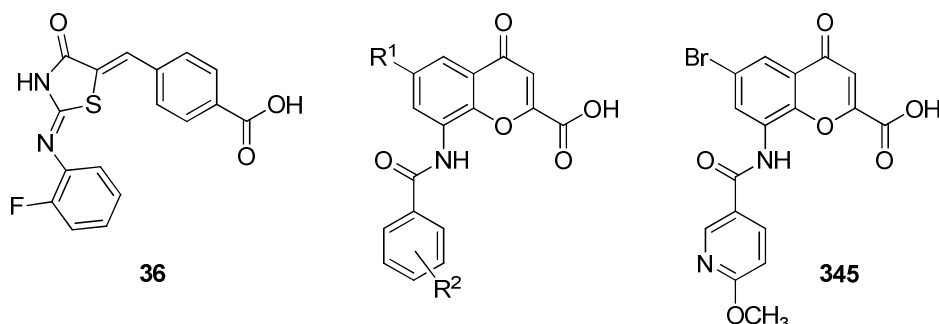
3.6.4 Physikochemische Eigenschaften

Um die Eignung einer Verbindung als Arzneistoff, die so genannte „Druglikeness“, zu beurteilen, können verschiedene physikochemische Eigenschaften berechnet werden. Zu nennen sind dabei unter anderem der Verteilungskoeffizient (clogP), die Polar Surface Area (PSA), die Ligand Efficiency (LE) und die Ligand-Lipophilicity Efficiency (LLE oder LipE).³⁶²⁻³⁶⁴ Wir haben diese Parameter für ausgewählte 8-Benzamidochromen-4-on-2-carbonsäuren bestimmt, und diese mit dem potentesten in der Literatur beschriebenen GPR35-Agonisten **36** verglichen (siehe Tabelle 3.37).

Der clogP-Wert war in allen Fällen kleiner 5, was mit der „Rule of 5“, die zum ersten Mal von C. Lipinsky zur Beurteilung der Bioverfügbarkeit aufgestellt wurde, konsistent war.^{268, 365} Die Säuren **115**, **329**, **330**, **337**, **341** und **345** besaßen einen clogP-Wert zwischen 2 und 3, der in der Regel als optimal für eine orale Verabreichung eines Arzneistoffs angesehen wird. Die PSA wird als die Fläche über alle polaren Atome, hauptsächlich Sauerstoff und Stickstoff einschließlich aller benachbarten Wasserstoffatome, definiert. Dieser Parameter wird genutzt, um eine Aussage über die Penetrationsfähigkeit einer Verbindung durch Zellen treffen zu können. Für die potentesten Verbindungen der gegenwärtigen Studie rangierten die PSA-Werte zwischen 93 Å² and 115 Å². Verbindungen mit einem PSA-Wert von kleiner 140 Å² sollten in der Lage sein Zellmembranen zu durchdringen. Jedoch könnte der PSA-Wert

zu hoch sein, um in das Gehirn penetrieren zu können, da die PSA für eine Gehirn-Permeabilität einen Wert von 60 \AA^2 nicht übersteigen sollte.

Tabelle 3.37. Physikochemische Eigenschaften ausgewählter Verbindungen



Verbg.	R^1				R^2	pEC ₅₀	clogP ^a	PSA ^a (\AA)	LLE	LE
	<i>ortho</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>							
36	Struktur: siehe oben					7.59	3.71	78.8	3.88	0.22
115	H	H	H	OCH ₃		6.46	2.23	102	4.23	0.26
323	F	Cl	H	Cl		7.77	3.74	92.7	4.03	0.30
329	Cl	H	H	OCH ₃		7.77	2.84	102	4.93	0.30
330	Cl	F	H	OCH ₃		8.22	2.98	102	5.24	0.30
334	Br	Cl	H	Cl		7.79	4.37	92.7	3.42	0.30
335	Br	H	Cl	Cl		7.81	4.37	92.7	3.44	0.30
337	Br	H	H	OH		6.15	2.85	113	3.30	0.25
338	Br	H	H	OCH ₃		7.92	3.00	102	4.92	0.30
340	Br	OCH ₃	H	H		5.78	3.00	102	2.78	0.22
341	Br	H	OCH ₃	H		6.37	2.84	111	3.53	0.23
343	Br	Cl	H	OCH ₃		7.95	3.60	102	4.35	0.29
345	Struktur: siehe oben					7.52	2.38	115	5.14	0.29

^aberechnet mit dem Programm MarvinSketch (5.12.3), 2013, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>)

Die Ligand Efficiency stellt die Bindungsenergie pro Atom eines Liganden zu seinem Rezeptor dar. Die LE verbindet physikochemische mit pharmakologischen Eigenschaften und wird wie folgt berechnet: $LE = pEC_{50} / N$ (N = Anzahl von Nicht-Wasserstoffatomen). Ein LE-Wert von > 0.30 wird angestrebt. Für die meisten der ausgewählten Verbindungen wurde ein LE-Wert von ca. 0.30 berechnet. Im Vergleich dazu wies die Verbindung **36** einen geringeren LE-Wert von 0.22 auf. Ein weiterer nützlicher Parameter stellt die LLE (oder LipE) dar und verbindet die Wirksamkeit mit der Lipophilie eines Liganden ($LLE = pEC_{50} - clogP$). Ein LLE-Wert von > 5 wird als optimal angesehen. Für die Verbindungen **329**, **338** und **345** wurden LLE-Werte von ca. 5 berechnet, während die anderen untersuchten Verbindungen, einschließlich

Verbindung **36**, eine geringere Ligand-Lipophilicity Efficiency aufwies. Verbindungen mit einem LE-Wert von >0.3 und einem LLE-Wert von >5 können als mögliche Arzneistoffkandidaten in Frage kommen. Durch Einführung eines Fluor-Substituenten in die *ortho*-Position der Benzamido-Seitenkette konnte neben der Wirksamkeit, bei gleichbleibend guter Ligand Efficiency, auch die Ligand-Lipophilicity Efficiency der Verbindung erhöht werden. Die LLE von **330** betrug 5.24. Damit stellt **330** eine mögliche Leitstruktur für weitere Optimierungen dieser neuen Klasse von GPR35-Agonisten, nicht nur hinsichtlich der Wirksamkeit, sondern auch physikochemischer Eigenschaften, dar. Eine Einführung weiterer Fluoratome in die Benzamid-Seitenkette in Kombination mit einem Bromatom in 6-Position des Chromen-4-on-Rings, welches sich als optimal herausstellte, sollte daher untersucht werden. Dies wurde mittlerweile von Anne Meyer durchgeführt.³⁴³

3.7 Diskussion der Testergebnisse der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate in Hinblick auf die phylogenetische Verwandtschaft der Rezeptoren

Die dargestellten Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate wurden als potentielle Liganden an den drei Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR84 und GR35 getestet. Die Verbindung **355** war der potenteste Antagonist am humanen GPR17 mit einem IC_{50} -Wert $0.583 \mu\text{M}$ in dieser Serie (siehe Abb. 3.30). Sie weist einen sehr langen lipophilen Rest in 8-Position und nur ein Wasserstoffatom in 6-Position des Chromenon-Gerüsts auf. Die Selektivität gegenüber den beiden anderen Waisen-Rezeptoren wurde bisher noch nicht bestimmt. Jedoch zeigte Verbindung **354** (siehe Abb. 3.30) mit einer um eine Methylengruppe kürzeren Seitenkette in 8-Position keine signifikante Inhibition am humanen GPR84 und humanen GPR35 sowie auch keine agonistische Wirksamkeit am humanen GPR35. Somit ist zu erwarten, dass auch **355** selektiv für den GPR17 ist. Das Chromenon-Derivat **375** war der potenteste Antagonist am humanen GPR84 in dieser Serie und weist eine 4-(4-Brombenzyloxy)benzamid-Seitenkette in 8-Position und ein Chloratom in 6-Position des Chromen-4-on-Rings auf. Die Seitenkette in 8-Position ist damit ebenfalls lipophil und relativ lang wie in dem GPR17-Antagonisten **355**, jedoch starrer und damit nicht so flexibel wie ein endständiger 4-Cyclohexylbutoxy-Rest. Der IC_{50} -Wert betrug $0.331 \mu\text{M}$ und **375** zeigte keine Inhibition an den Rezeptoren GPR84 und GPR35 bei einer hohen Testkonzentration von $10 \mu\text{M}$. Nur Verbindungen mit einer kurzen Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-on-Rings zeigten eine Wirksamkeit am humanen GPR35. Und zwar handelt es sich bei diesen Verbindungen um hoch-potente Agonisten und nicht um Antagonisten wie an den beiden anderen Waisen-Rezeptoren. Die potenteste Verbindung war **330** (siehe Abb. 3.30) mit einem EC_{50} -Wert von $0.00606 \mu\text{M}$; sie zählte damit zum Zeitpunkt der Veröffentlichung zu den potentesten GPR35-Agonisten, die in der Literatur beschrieben sind. Verbindungen mit einer kurzen Seitenkette in 8-Position zeigten keine Inhibition am GPR17 sowie keine oder nur sehr geringe Inhibition am humanen GPR84, z. B. **338** (siehe Abb. 3.30, $IC_{50} = 29.9 \mu\text{M}$). Damit zeigen die Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate in Abhängigkeit von ihrer Struktur, insbesondere des Aussehens bzw. der Länge der Seitenkette in 8-Position, unterschiedliche Wirksamkeiten an den untersuchten Waisen-Rezeptoren.

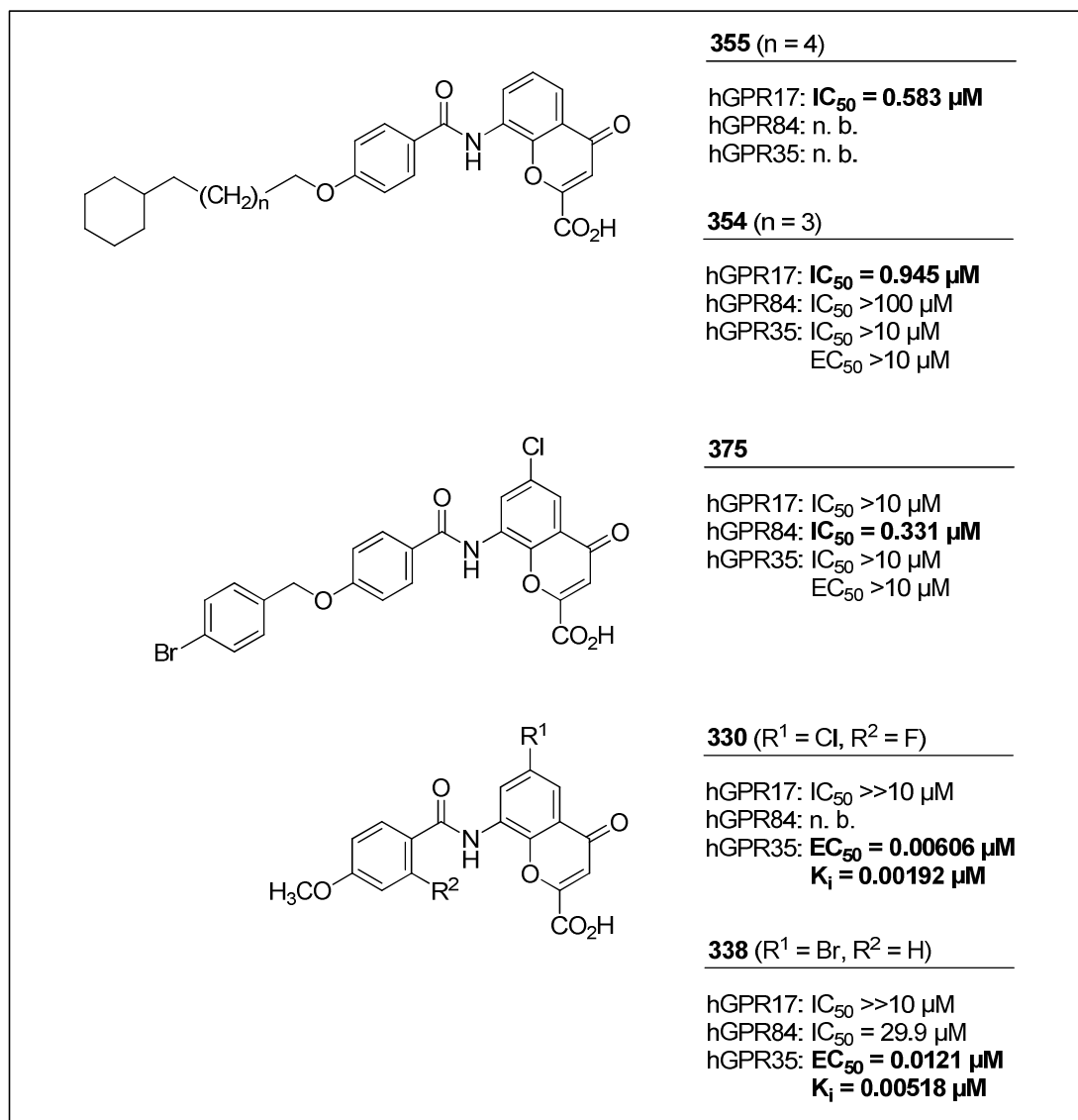


Abb. 3.30. Die potentesten Chromen-4-on-2-carbonsäuren an den humanen Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR84 und GPR35. Es sind die ermittelten Wirksamkeiten (IC₅₀-Werte, EC₅₀-Werte) und Affinitäten (K_i-Werte) an den untersuchten Rezeptoren angegeben (n. b. - nicht bestimmt).

Vergleicht man nun die Aminosäuresequenzen der Rezeptoren miteinander, so wird deutlich, dass die Rezeptoren phylogenetisch nur entfernt verwandt sind. Die Aminosäuresequenzen sind zu 17 - 26 % identisch zwischen GPR17, GPR35 und GPR84 (siehe Abb. 3.31). Der GPR17 ist phylogenetisch mit den P2Y- und CysLT-Rezeptoren verwandt und Uracil-Nucleotide sowie Cysteinyl-Leukotriene wurden als endogene Liganden postuliert, was aber nicht bestätigt werden konnte (siehe Kapitel 1.4.2.2). Jedoch wurde ein Indol-Derivat (MDL29,951, **22**) als potenter GPR17-Agonist beschrieben, das zwei Säuregruppen aufweist. Als erster physiologischer Agonist des GPR35 wurde die Kynurensäure in der Literatur diskutiert. Lysophosphatidsäuren und Tyrosin-Metabolite wurden ebenfalls als potentielle endogene Liganden beschrieben

(siehe Kapitel 1.4.4.1). Für den GPR84, einen Lipid-Rezeptor, wurden mittellange freie Fettsäuren (MCFAs) mit einer Kettenlänge von 9 bis 14 Kohlenstoffatomen als physiologische Agonisten des GPR84 identifiziert (siehe Kapitel 1.4.6). Damit weisen der Großteil der für die drei Waisen-Rezeptoren beschriebenen Liganden eine oder mehrere Carbonsäure- oder bioisostere Gruppen auf und es wird deutlich, warum die Chromen-4-on-2-carbonsäuren zu allen drei Rezeptoren eine Affinität aufweisen. Trotz der Bevorzugung von Carbonsäuren werden die Bindungstaschen, in welche die Liganden binden, deutlich unterschiedlich aussehen. Der GPR17 scheint eine große lipophile Bindungstasche aufzuweisen, wodurch nur Chromen-4-on-Derivate mit einer sehr langen lipophilen Seitenkette in 8-Position in der Lage sind, den Rezeptor potent zu inhibieren. Die Bindungstasche des GPR84 scheint ebenfalls lange lipophile Reste in 8-Position des Chromenon-Rings zu bevorzugen, die jedoch starrer sind. Jedoch hat sich auch gezeigt, dass ein großer Substituent in 6-Position in einer zweiten relativ lipophilen Bindungstasche die antagonistische Wirksamkeit am Rezeptor weiter zu erhöhen scheint. Beim GPR35 ist die Bindungstasche etwas kleiner, wobei nur eine kurze substituierte Benzamid-Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-on-Rings toleriert wird.

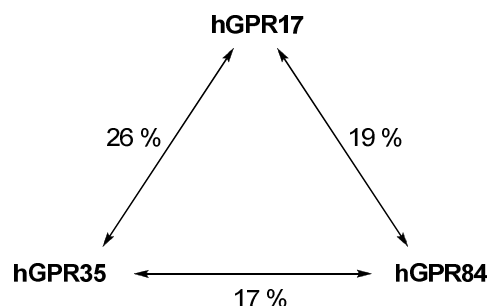


Abb. 3.31. Identität in der Aminosäuresequenz zwischen den Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR35 und GPR84. Die Werte wurden mit Clustal Omega 1.2.0^{285, 286} nach Sequenzabgleich der Rezeptoren unter Verwendung der FASTA-Sequenzen von AAH31653, CAG46564 und ACI96305.

Durch den von uns entwickelten Radioliganden [³H]PSB-13253 konnten Radioligandbindungsstudien am GPR35 durchgeführt werden. Es konnte gezeigt werden, dass die hoch-potenten GPR35-Agonisten an den Rezeptor mit sehr hoher Affinität im einstelligen nanomolaren Bereich binden (siehe Abb. 3.30). Jedoch zeigte der Großteil der untersuchten Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate eine Bindung an dem GPR35, auch wenn diese deutlich geringer war für Verbindungen, die in β -Arrestin-Rekrutierungsassays keine Agonisten am GPR35 waren. Eine mögliche Erklärung beruht auf dem Konzept des "biased antagonism".³⁶⁰ Danach könnte zwar der

Großteil der Chromenon-Derivate am humanen GPR35 binden, aber nicht alle sind in der Lage, in Abhängigkeit von der Seitenkette in 8-Position, den β -Arrestin-Signaltransduktionsweg über den GPR35 zu aktivieren.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Die Arzneimittelentwicklung ist ein langwieriger und kostenintensiver Prozess. Zur Validierung neuer krankheitsrelevanter Zielstrukturen ist die Synthese potenter und selektiver Wirkstoffe von zentraler Bedeutung. Gegenwärtig stellen für ca. **30 % aller zugelassenen Arzneistoffe G-Protein-gekoppelte Rezeptoren die Zielstrukturen** dar. Damit besitzt diese große Familie von Membranproteinen eine große therapeutische Relevanz. Unter den ca. 800 identifizierten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren existieren ca. 100 sogenannte **"Waisen"- oder "Orphan"-Rezeptoren**, deren endogene Liganden noch nicht zugeordnet und deren physiologische Funktionen noch nicht vollständig aufgeklärt werden konnten. Dadurch wird diesen Rezeptoren **im Hinblick auf die Entwicklung neuartiger Arzneistoffe ein besonders großes Potential** zugeschrieben. Im Fokus dieser Arbeit standen vier phylogenetisch verwandte GPCRs, die der δ -Unterfamilie der Rhodopsin-Gruppe angehören: der P2Y₂-Rezeptor aus der Klasse der purinergen Rezeptoren und die drei Waisen-Rezeptoren GPR17, GPR84 und GPR35. Es sollten potente und selektive Liganden für diese Rezeptoren entwickelt werden. Die wichtigsten Ergebnisse sind im Nachfolgenden zusammengefasst.

Aufgrund der (patho)physiologischen Funktionen des P2Y₂-Rezeptors besitzen Antagonisten für diesen Rezeptor ein **großes Potential zur Behandlung verschiedener Krankheiten**, wie Atherosklerose, grünem Star, Lungenkrankheiten und Krebs. Jedoch sind derzeit **kaum potente und selektive P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten in der Literatur beschrieben**. Deswegen diente die in unserem Arbeitskreis von S. Weyler dargestellte, vom Suramin abgeleitete Verbindung SW0402-1 (**4**) als Leitstruktur für die Entwicklung neuer P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten (siehe Abb. 4.1). Die Verbindung zeigte am Ratten-P2Y₂-Rezeptor eine Inhibition im niedrigen mikromolaren Bereich. Es wurden weitere **Sulfonsäureester-Derivate** mit dem Fokus auf eine umfangreiche Variation der Methylfunktion synthetisiert.

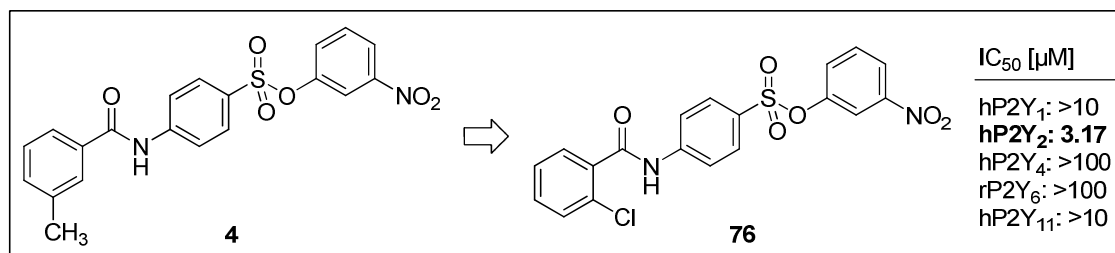


Abb. 4.1. Entwicklung eines potenten und selektiven P2Y₂-Antagonisten.

Aufgrund der bekannten Instabilität mancher Sulfonsäureester wurde mithilfe von HPLC-MS-Untersuchungen die hydrolytische Stabilität am Beispiel von **76** (siehe Abb. 4.1) bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass **76** über einen **weiten pH-Bereich stabil** ist. Da unklar war, ob die Sulfonsäureester trotzdem durch in Zellen ubiquitär vorhandene Esterasen gespalten werden könnten, wurden auch **hydrolytisch stabilere Sulfonamid-, Dicarbonsäureamid- und Harnstoff-Derivate synthetisiert**. Alle 36 Derivate wurden in unserem Arbeitskreis in Calciumionen-Mobilisationsassays auf ihre inhibitorische Wirksamkeit am humanen P2Y₂-Rezeptor hin untersucht. Die Struktur-Wirkungsbeziehungen der Suramin-Derivate am humanen P2Y₂-Rezeptor sind in Abb. 4.2 zusammengefasst.

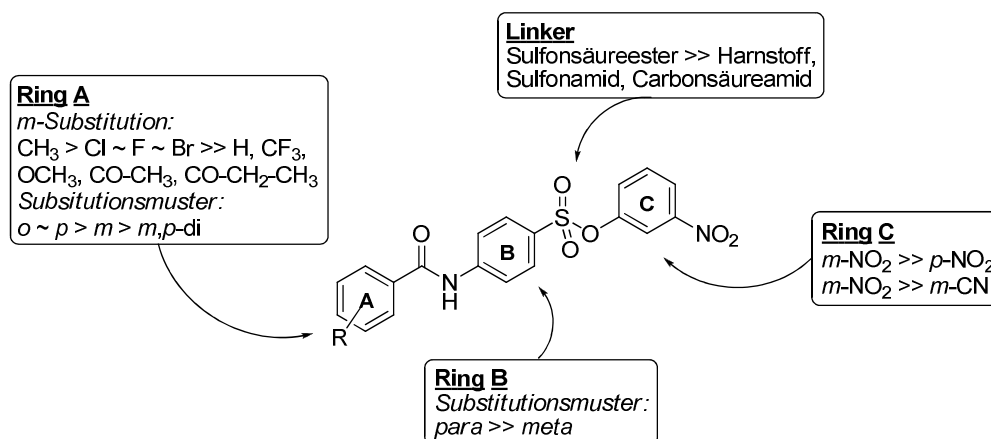


Abb. 4.2. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Suramin-Derivate am humanen P2Y₂-Rezeptor.

4-(Benzamido)benzensulfonsäure-*m*-phenylester konnten als P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten mit IC₅₀-Werten im niedrigen mikromolaren Bereich identifiziert werden. Einen der potentesten Antagonisten in dieser Serie stellt **76** mit einem IC₅₀-Wert von 3.17 μM dar (siehe Abb. 4.1). Diese **neue Klasse von P2Y₂-Rezeptor-Antagonisten war selektiv** sowohl **gegenüber anderen P2Y-Rezeptorsubtypen** (hP2Y₁, hP2Y₄, rP2Y₆ und hP2Y₁₁) als auch gegenüber **Enzymen des purinergen Signaltransduktionswegs** (Alkalische Phosphatase, NTPDasen und NPP1). Da bisher nur der Einfluss von relativ lipophilen Gruppen am Ring A untersucht wurde, sollten in

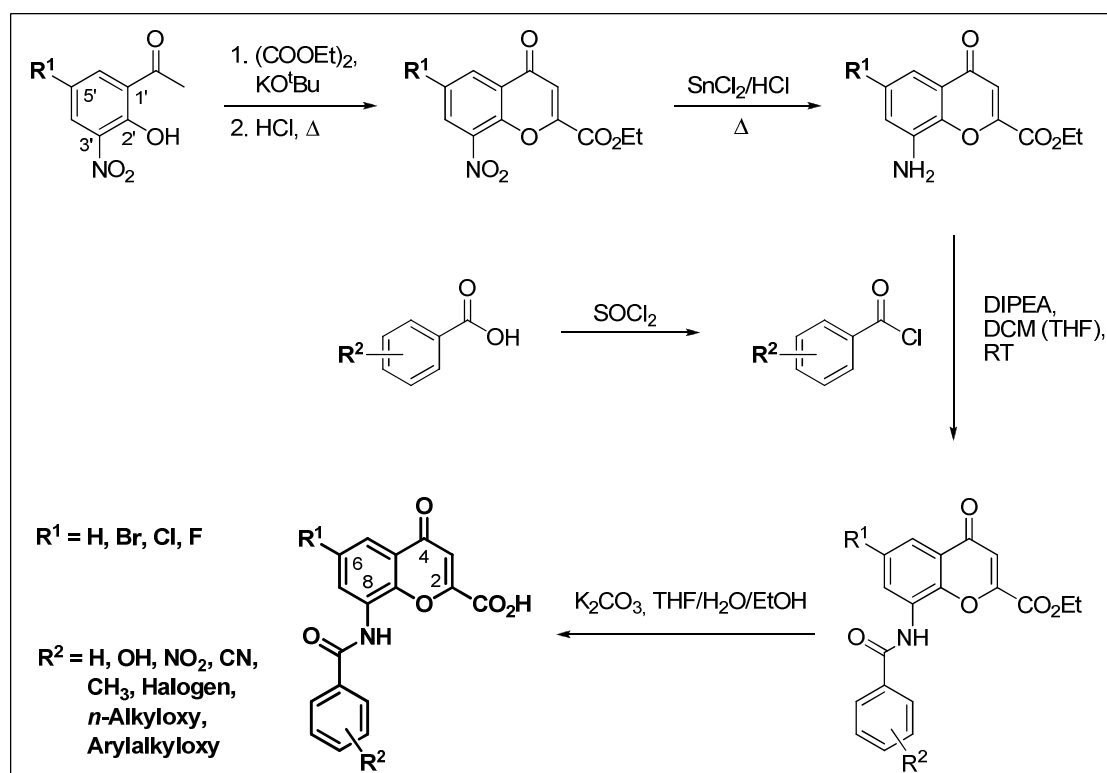
Zukunft auch Substituenten mit Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften, wie z. B. einer Carbonsäure- oder Hydroxylgruppe, eingeführt werden, um eine mögliche Erhöhung der inhibitorischen Wirksamkeit und Verbesserung der Löslichkeit zu erzielen. Zusätzlich könnten freie Sulfonsäuregruppen, wie sie in den Standard-Antagonisten Suramin oder Reactive Blue-2 vorzufinden sind, günstig sein.

Multiple Sklerose (MS) ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung des zentralen Nervensystems, die neben der Epilepsie eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen bei jungen Erwachsenen ist, deren Ursache aber noch kaum bekannt ist. Bei dieser Erkrankung kommt es zu einer Demyelinisierung der Nervenzellen. Der **Waisen-Rezeptor GPR17** wurde kürzlich als negativer Regulator für die Oligodendrozyten-Myelinisierung vorgeschlagen. Damit besitzen **GPR17-Antagonisten ein großes Potential als Arzneistoffe für die MS-Therapie**. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war daher die Darstellung potenter und selektiver Antagonisten für den GPR17. Pramlukast (**15**), ein Antagonist des CysLT₁-Rezeptors, welcher phylogenetisch nahe mit dem GPR17 verwandt ist, war in der Lage diesen Rezeptor im niedrigen mikromolaren Bereich zu inhibieren. Daher diente **Pramlukast**, ein 8-Amido-2-tetrazolylchromen-4-on-Derivat, **als Leitstruktur für die Entwicklung neuartiger GPR17-Antagonisten**. Durch einen optimierten Syntheseweg konnten ausgehend vom 2'-Hydroxy-3'-nitroacetophenon sowie seiner 5'-Halogen-Analoge 76 8-Amidochromen-4-on-2-carbonsäure-Derivaten dargestellt werden (siehe Schema 4.1).

Im ersten Schritt wurden die 2'-Hydroxy-3'-nitroacetophenone in einer Claisen-Kondensation mit Diethylmalat und Kalium-*tert*-butylat zu den entsprechenden β -Dicarbonylverbindungen umgesetzt. Im sauren Milieu wurden unter Erhitzen der Ringschluss und die Elimination von Wasser eingeleitet, wodurch die Chromen-4-on-2-carbonsäureethylester gewonnen wurden. Die Reduktion der Nitrofunktion mit Zinn(II)-chlorid im sauren Milieu und unter Erhitzen führte zu den Anilin-Derivaten, die wichtige Zwischenverbindungen darstellten. Anschließend konnte eine große Anzahl von unterschiedlich substituierten Säurechloriden oder Säuren, die mit Thionylchlorid in die entsprechenden Säurechloride überführt wurden, in Anwesenheit einer Hilfsbase an die Anilin-Derivate gekuppelt werden. Arylalkyloxy- und *n*-Alkyloxybenzoesäuren wurden in der Regel über zwei Stufen selbst dargestellt, um eine große Variation der Seitenkette an 8-Position des Chrom-4-on-Ringsystems zu erhalten. Im letzten Schritt wurden die 8-Amidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester unter schwach basischen

Bedingungen zu den gewünschten Carbonsäuren in überwiegend exzellenten Ausbeuten hydrolysiert. Der Carbonsäureamid-Linker wurde durch eine Harnstoff-, Thioharnstoff- und Sulfonamid-Funktion ersetzt, um weitere Variationen zu erzielen. Damit konnten insgesamt **82 Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate**, von denen nur drei bereits in der Literatur beschrieben sind, gewonnen und vollständig charakterisiert werden. Mithilfe von HPLC-MS-Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass diese Verbindungen **über einen weiten pH-Bereich hydrolytisch stabil** sind.

Schema 4.1. Darstellung der 8-Benzamido-(6-halogen)chromen-4-on-2-carbonsäuren



Alle Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate wurden in unserem Arbeitskreis in funktionellen Calciumionen-Mobilisationsassays am humanen GPR17 getestet, wobei nur Verbindungen mit einer langen lipophilen Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-on-Ringsystems eine inhibitorische Wirksamkeit im niedrigen mikromolaren bis nanomolaren Bereich zeigten. Der **potenteste Antagonist** in dieser Serie war Verbindung **355** mit einer 4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzamido-Seitenkette in der 8-Position, die einen **IC₅₀-Wert von 583 nM** am GPR17 zeigte (siehe Abb. 4.3).

Alle **Struktur-Wirkungsbeziehungen** der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am humanen GPR17 sind in Abb. 4.3 zusammengefasst. Neben einem Halogenatom in 6-Position des Chromen-4-on-Ringsystems führte in der Regel auch das Ersetzen des

Amid-Linkers durch eine Harnstoff-Funktion zu einer Steigerung der antagonistischen Wirksamkeit. Da die Leitstruktur den Rezeptor stärker inhibierte als das entsprechende Carbonsäure-Analoge (**113**) sollten in Zukunft Chromen-4-on-Derivate mit einer Tetrazol- oder bioisosteren Funktion in Kombination mit einer Harnstoff-Funktion als Linker in 8-Position dargestellt werden. Obwohl eine lange lipophile Seitenkette in 8-Position essentiell für eine Aktivität am Rezeptor zu sein scheint, sollten weitere umfangreiche Modifikationen, insbesondere der terminalen Ringstruktur, durchgeführt werden. Eine Einführung von glykosidisch gebundenen Zuckern könnte die Wasserlöslichkeit der Verbindungen erhöhen. Mit **355** konnte ein potenter GPR17-Antagonist entwickelt werden, der als neue Leitstruktur für weitere Optimierungen dienen kann.

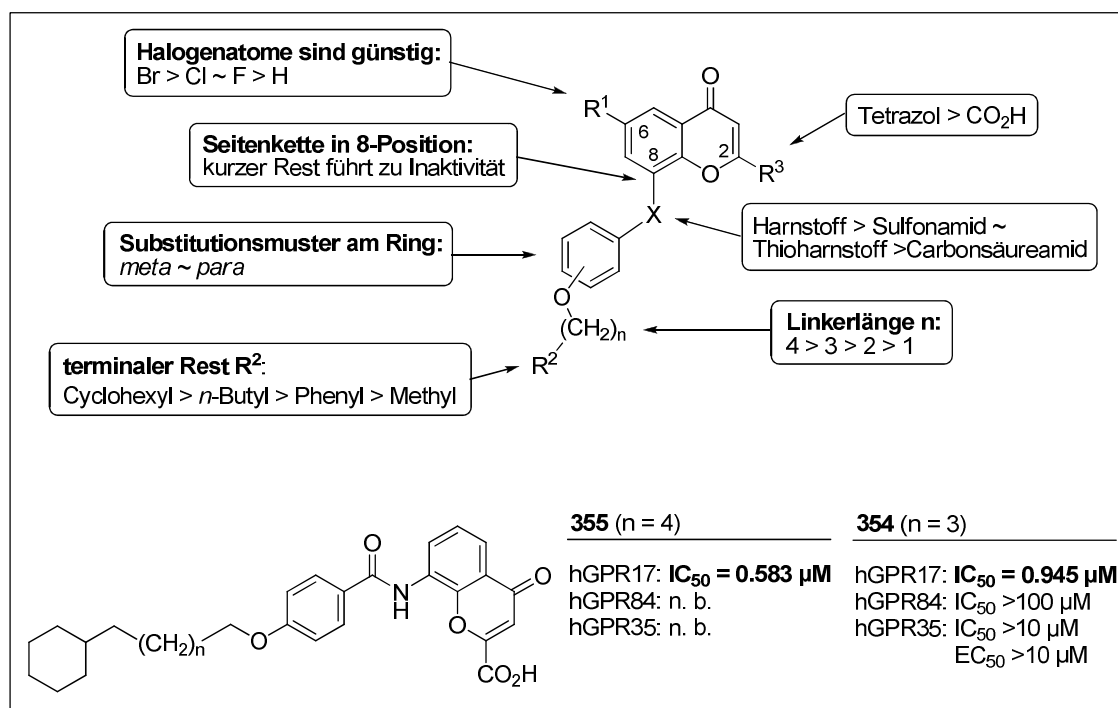


Abb. 4.3. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR17 und Strukturen ausgewählter potenter und selektiver GPR17-Antagonisten unter Angabe der EC₅₀- und IC₅₀-Werte an den untersuchten Rezeptoren.

Da der **Waisen-Rezeptor GPR84** durch Fettsäuren mittlerer Kettenlänge stimuliert wird, wurden in unserem Arbeitskreis auch einige der für den GPR17 entwickelten Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR84 getestet. Die am GPR17 inaktive Verbindung **114** mit einer 4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamid-Seitenkette in 8-Position zeigte in cAMP-Akkumulationsexperimenten am humanen GPR84 eine Inhibition im einstelligen mikromolaren Bereich. Daher wurden gezielt **Chromen-4-on-Derivate mit**

einer substituierten Benzyloxybenzamid-Seitenkette dargestellt, mit dem Ziel potente und selektive GPR84-Antagonisten zu entwickeln, die bisher in der Literatur nicht beschrieben sind. Aufgrund der (patho)physiologischen Funktionen des GPR84 stellen **Antagonisten potentielle Arzneistoffe** zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen (z. B. chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, rheumatoider Arthritis und Lungenerkrankungen), Autoimmunerkrankungen sowie Erkrankungen des Stoffwechsels dar.

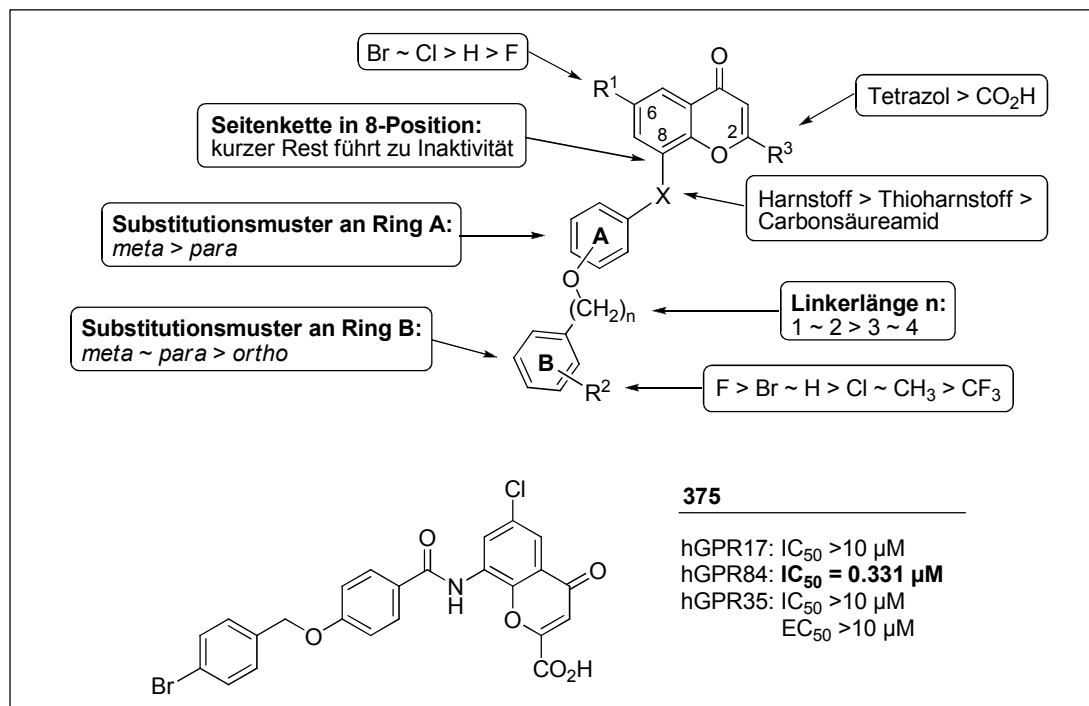


Abb. 4.4. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR84 und Struktur des potentesten und selektiven GPR84-Antagonists unter Angabe der EC₅₀- und IC₅₀-Werte an den untersuchten Rezeptoren.

Abb. 4.4 zeigt die Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am humanen GPR84, die aus Daten von cAMP-Akkumulationsexperimenten gewonnen wurden. Durch zusätzliche β -Arrestin-Rekrutierungsexperimente konnten die Tendenzen bestätigt werden. Durch Optimierung der Leitstruktur konnte einer der bisher **potentesten bekannten GPR84-Antagonist entwickelt werden**, und zwar **375** mit einem Chlorsubstituenten in 6-Position und einer 4-(4-Brombenzyloxy)benzamid-Seitenkette in 8-Position des Chromenon-Grundgerüsts. **Der IC₅₀-Wert betrug 331 nM.** In Zukunft sollten noch vielfältige und viel versprechende Variationen dieser Struktur vorgenommen werden, um einen noch potenteren GPR84-Antagonisten zu gewinnen, der zur Entwicklung eines Radioliganden geeignet wäre. Mögliche

Optimierungen schließen neben dem Ersatz des Carbonsäureamid-Linkers durch eine Harnstoff-Funktion sowie der Carbonsäuregruppe durch einen bioisosteren Heterocyclus die Einführung eines unpolaren voluminösen Restes in die 6-Position ein. Desweiteren sollte die **Verbesserung der Wasserlöslichkeit** ein zentraler Punkt in der Optimierung sein.

Im letzten Teilprojekt dieser Arbeit stand der **Waisen-Rezeptor GPR35** im Mittelpunkt, über dessen (patho)physiologische Funktionen bisher noch wenig bekannt ist, auch weil bisher **kaum hoch-potente und selektive GPR35-Agonisten in der Literatur beschrieben** sind. Neben der Bedeutung als pharmakologische Werkzeuge besitzen GPR35-Agonisten **Potential als Arzneistoffe** zur Behandlung u. a. von Entzündungen, Hypertonie, Erkrankungen des Immunsystems und Asthma. Ein in der Literatur beschriebener GPR35-Agonist, die Cromoglicinsäure, weist den gleichen Grundkörper wie Pranlukast auf. Daher wurden die synthetisierten **Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate** als GPR35-Agonisten untersucht. Es zeigte sich, dass im Gegensatz zu den Struktur-Wirkungsbeziehungen am GPR17 und GPR84 eine **kurze Seitenkette, z. B. ein Benzamid-Rest, in 8-Position** des Chromen-4-on-Ringsystems für eine Aktivierung des GPR35 notwendig war. Daher wurden gezielt für den GPR35 substituierte 8-Benzamid-Derivate dargestellt, die anschließend von D. Thimm am humanen, Ratten- und Maus-GPR35 getestet wurden. In Abb. 4.5 sind die erhaltenen **Struktur-Wirkungsbeziehungen** der Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate am humanen GPR35 zusammengefasst.

In der 6-Position wirkte sich ein Halogenatom, insbesondere ein Bromatom, günstig auf die Aktivität am Rezeptor aus. In die Benzamid-Seitenkette in 8-Position konnte eine große Anzahl von unterschiedlichen Substituenten eingeführt werden, wobei eine Methoxygruppe in *para*-Position zu einer deutlichen Steigerung der Wirksamkeit am humanen GPR35 führte. So zeigte die Verbindung PSB-13253 (**338**) mit einem Bromatom in 6-Position und einer 4-Methoxybenzamid-Seitenkette in 8-Position des Chromen-4-on-Ringsystems die höchste Wirksamkeit am Rezeptor (siehe Abb. 4.5). Mit einem **EC₅₀-Wert von 12.1 nM** war diese Verbindung, zum Zeitpunkt der Veröffentlichung, der **potenteste GPR35-Agonist, der in der Literatur beschrieben worden war**. Diese Verbindung war potent genug, um daraus einen Radioliganden zu entwickeln. Da klassische Synthesewege nicht möglich waren bzw. nicht funktionierten, wurde eine alternative Darstellungsvariante zur Einführung einer tritiierten

Methoxygruppe entwickelt. Dazu wurde das Precursor-Molekül **284** mit einer *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe an der Phenol-Funktion dargestellt. Nach erfolgreicher Umsetzung mit Methyljodid in Anwesenheit von Kaliumfluorid als Base und anschließender Hydrolyse zum Kaltliganden PSB-13253 in unserem Labor wurde die Tritiierung durch eine Firma, ausgehend von **284**, durchgeführt (siehe Schema 4.2).

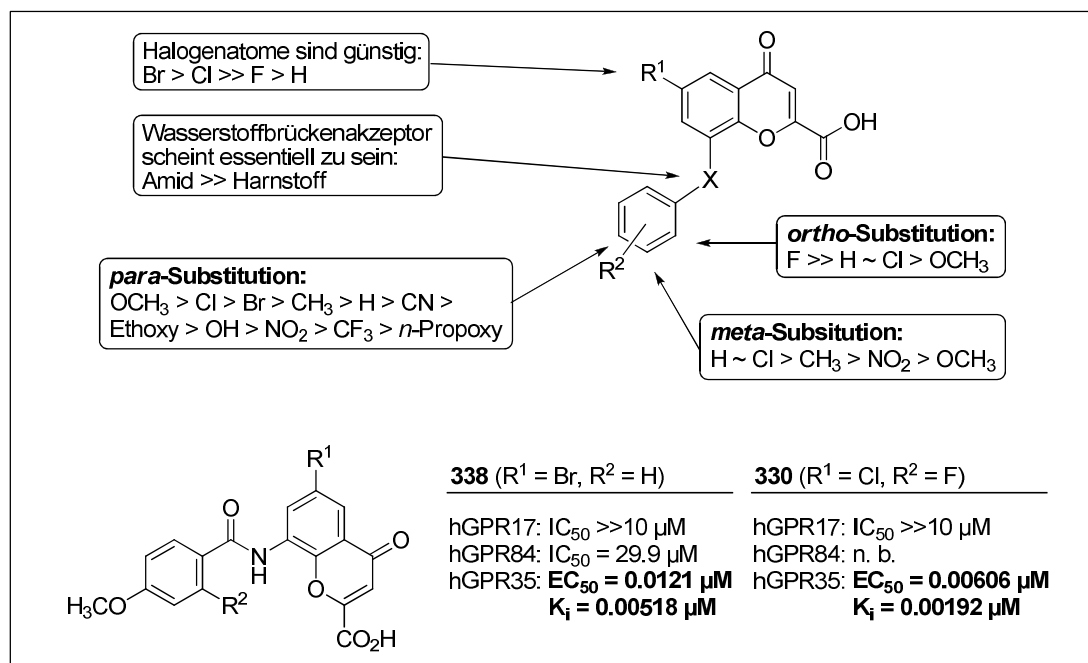
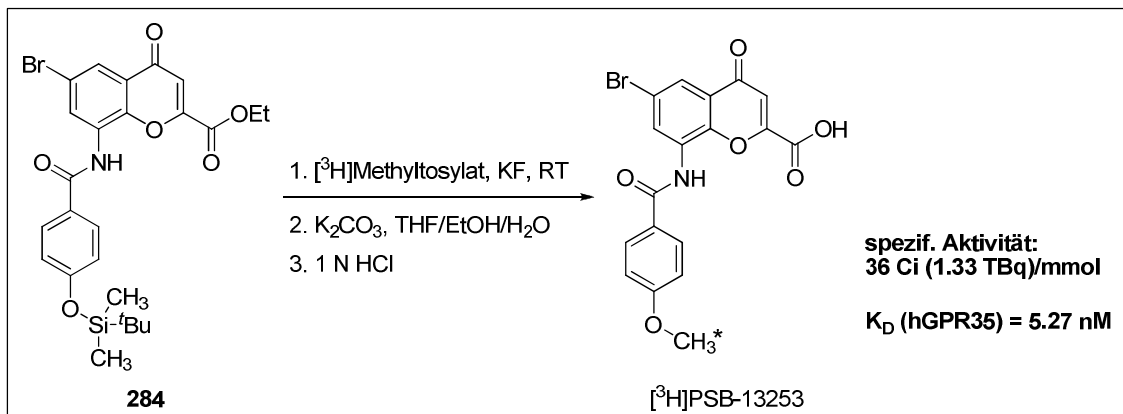


Abb. 4.5. Struktur-Wirkungsbeziehungen der Chromen-4-on-2-carbonsäuren am humanen GPR35 und Strukturen ausgewählter potenter und selektiver GPR35-Agonisten unter Angabe der EC₅₀-, IC₅₀- und K_i-Werte an den untersuchten Rezeptoren.

Auf diesem Weg konnte der **erste in der Literatur beschriebene Radioligand für den GPR35 entwickelt werden**. Damit wurden **zum ersten Mal Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien** (durch Dominik Thimm) **am GPR35 ermöglicht**. Die Struktur-Wirkungsbeziehungen, die anhand der Daten aus funktionellen Assays aufgestellt wurden, konnten mit den Daten aus Radioligand-Rezeptor-Bindungsstudien bestätigt werden. Des Weiteren konnten neue Derivate als GPR35-Agonisten mit verbesserter Bindung vorgeschlagen, synthetisiert und getestet werden, wie zum Beispiel **330** (siehe Abb. 4.5). Diese Verbindung weist einen **EC₅₀-Wert von 6.06 nM** und einen **K_i-Wert von 1.92 nM** auf und gehört damit zu den **potentesten und affinsten in der Literatur beschriebenen GPR35-Liganden**. Die entwickelten GPR35-Agonisten sind selektiv gegenüber dem sehr nah verwandten humanen GPR55 und den humanen Rezeptoren GPR17 und GPR84.

Schema 4.2. Darstellung des Radioliganden [³H]PSB-13253. Angabe der spezifischen Aktivität und des K_D-Wertes, der aus drei unabhängigen Sättigungsexperimenten am hGPR35 bestimmt wurde.



Neben dem **Potential der GPR35-Agonisten als zukünftige Arzneistoffe** eignet sich der **Radioligand** sehr gut **als pharmakologisches Werkzeug** für die Charakterisierung von GPR35-Liganden sowie für die selektive Markierung des GPR35 in humanen Geweben. Um die Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivate zukünftig auch in Tiermodellen untersuchen zu können, muss ihre Wirksamkeit am Ratten- bzw. Maus-GPR35 noch erhöht werden. Chromen-4-on-Derivate mit einem über einen Harnstoff-Linker in 8-Position verknüpften mehrfach hydroxylierten Benzen-Substituenten und ohne Substituent in 6-Position besitzen dafür ein großes Potential.

Abschließend lässt sich festhalten, dass für die untersuchten Rezeptoren potente und selektive Liganden erfolgreich entwickelt sowie weitere Strukturoptimierungen vorgeschlagen werden konnten, die ein vielversprechendes Potential für die Arzneimittelforschung besitzen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine Angaben

5.1.1 Chemikalien

Alle verwendeten Ausgangsverbindungen und Lösungsmittel wurden von den Firmen Sigma-Aldrich (Steinheim), Alfa Aesar (Karlsruhe), Acros Organics (über VWR, Siegburg), Merck (Darmstadt) oder Fluorochem (Hadfield, England) bezogen und ohne vorherige Reinigung eingesetzt, außer DCM, welches zur Säulenchromatografie und Synthese über Calciumhydrid destilliert wurde.

5.1.2 Geräte und Verfahren

Hydrierapparat

Katalytische Hydrierungen wurden mit dem Wasserstoffgenerator Hogen[®] GC Hydrogen Generator der Firma Proton Energy Systems (Wallingford, USA) durchgeführt.

Mikrowelle

Für Mikrowellenreaktionen wurde ein Mikrowellenofen der Firma CEM GmbH (Kamp-Lintfort) des Typs Discover verwendet.

Dünnschichtchromatografie

Die Reaktionskontrollen wurden mit Kieselgel-beschichteten Aluminiumplatten 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt) bzw. mit RP-Kieselgel-beschichteten Aluminiumplatten RP-18 F_{254s} (Merck, Darmstadt) durchgeführt. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 366 nm.

Säulenchromatografie

Säulenchromatografische Aufreinigungen wurden in der Regel über Kieselgel 60 mit einer Korngröße von 0.063 mm bis 0.200 mm und einem Porendurchmesser von ca. 6 nm (Macherey-Nagel, Düren) durchgeführt. In wenigen Fällen erfolgte die Aufreinigung über Kieselgel RP-18 mit einer Korngröße von 0.040 bis 0.063 mm (Merck, Darmstadt) an einem System der Firma Büchi (Flawil, Schweiz): Fraktionssammler C-660 mit Kontrolleinheit C-620, zwei Pumpmodule C-601 und UV-Detektor C-630. Zum Einsatz kam eine Säule des Typs Sepacore[®] Glass column C-690 (ID 26 x 500 mm).

Präparative HPLC

Die Aufreinigung von wasserlöslichen bzw. in einem Methanol-Wasser-Gemisch löslichen Endprodukten erfolgte mit Hilfe der HPLC. Dazu wurden folgende Geräte verwendet: Pumpe Wellchrome K-1800 (Knauer GmbH, Berlin), Probenauftragschleife mit 7 ml Fassungsvermögen (Knauer GmbH, Berlin), Spektrophotometer Wellchrome K-2600 (Knauer GmbH, Berlin), Fraktionssammelventil (Knauer GmbH, Berlin), Eurospher 100-Vorsäule (Abmessungen 30 x 20 mm innerer Durchmesser, gefüllt mit RP Kieselgel C-18, Korngröße 10 µm (Knauer GmbH, Berlin)) und Eurospher 100 Trennsäule (Abmessungen 250 x 20 mm innerer Durchmesser, gefüllt mit RP Kieselgel C-18, Korngröße 10 µm (Knauer GmbH, Berlin)). Als mobile Phase wurde ein Gradient aus Methanol (HPLC-Grade, Merck, Darmstadt) und entionisiertem Wasser verwendet. Dabei wurde zunächst 20 min mit 10 % MeOH in Wasser chromatografiert und anschließend der Anteil an MeOH systematisch erhöht. In der Regel wurde bereits nach einer Zeit von 30 min abgebrochen. Die Flussrate betrug 15 bzw. 20 ml/min. Die Detektion erfolgte mittels eines DAD-Detektors bei einer Wellenlänge von 254 nm.

Trocknung der Verbindungen

Alle synthetisierten Verbindungen wurden im Vakuum bei 0.08 – 0.12 mbar unter Verwendung einer Drehschieber-Vakuumpumpe (Vacuubrand GmbH, Mönchengladbach) getrocknet.

Gefriertrocknung

Die schonende Isolierung von Produkten aus wässrigen Lösungsmitteln wurde mit der Gefriertrocknungsanlage Alpha 1-4 LSC (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen, GmbH, Osterode) durchgeführt.

NMR-Spektroskopie

Die ^1H - und ^{13}C -NMR- sowie die H,H -COSY-, HSQC- und HMBC-Spektren wurden an einem Avance 500 MHz NMR-Spektrometer (^1H : 500 MHz, ^{13}C : 126 MHz) der Firma Bruker aufgenommen. In Einzelfällen wurde auch an einem Ascend 600 MHz NMR-Spektrometer (^1H : 600 MHz, ^{13}C : 151 MHz) gemessen und ist entsprechend angegeben. Als Lösungsmittel wurde DMSO- d_6 bei 303 K verwendet bzw., wenn angegeben, bei 343 K. In Einzelfällen wurde CDCl_3 als Lösungsmittel bei 298 K eingesetzt und entsprechend vermerkt. Chemische Verschiebungen wurden in parts per million [ppm] bezogen auf das verwendete deuterierte Lösungsmittel angegeben: DMSO- d_6 , δ ^1H : 2.49 ppm, ^{13}C : 39.7 ppm und CDCl_3 , δ ^1H : 7.26 ppm, ^{13}C : 77.0 ppm. Kopplungskonstanten J wurden in Hertz [Hz] angegeben. Es wurden die folgenden Abkürzungen für Signalmultiplizitäten verwendet: s – Singulett, d – Dublett, t – Triplett, q – Quartett, m – Multiplett und br – breit.

LC-MS

Reinheit und Identität aller Endprodukte und Zwischenstufen wurden mit einem an ein API 2000 Massenspektrometer (Elektronensprayionisation, Applied Biosystems, Darmstadt) gekoppeltes HPLC-System (Agilent 1100) bestimmt. Die zu prüfende Substanz wurde bei einer Konzentration von 0.5 mg/mL in MeOH oder einem MeOH-

Wasser-Gemisch gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat enthält. Davon wurden 10 µl in das HPLC-System injiziert und über eine Säule (Macherey-Nagel Nucleodur® 3 µ C18, 50 x 2.00 mm) mit einem Gradienten aus Wasser/Methanol von 90:10 bis 0:100 über 20 min unter Zusatz von 2 mM Ammoniumacetat chromatografiert. Der Gradient wurde nach 10 min gestartet. Die Flussrate betrug 300 µl/min. Die UV-Absorption wurde mit einem Dioden-Array-Detektor über einen Wellenlängenbereich von 200 nm bis 950 nm aufgenommen. Die Reinheit der Verbindungen wurde in der Regel bei einer Wellenlänge von 254 nm oder über einen Wellenlängenbereich von ca. 220 nm bis 450 nm bestimmt. Bei Verbindungen, die ein Chromen-4-onringssystem enthielten, wurde MeOH durch Acetonitril zum Lösen und Eluieren ersetzt.

Schmelzpunktbestimmung

Schmelzpunkte wurden mit einem Büchi B-545 Schmelzpunktmessgerät aufgenommen und sind unkorrigiert angegeben.

IR-Spektroskopie

IR-Spektren wurden an einem ALPHA FT-IR-Spektrometer mit Platinium-ATR-Messkopf der Firma Bruker aufgenommen.

5.2 Synthesevorschriften

5.2.1 Darstellung von Benzamidobenzensulfonaten

Zu einer Lösung von Sulfanilsäure oder Metanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) in wässriger K₂CO₃-Lösung (25 %, 3.9 mL) wurde das entsprechende Benzoessäurechlorid (4.9 mmol) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT kräftig gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit kleinen Portionen eiskaltem Wasser gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. In einigen Fällen wurde der Feststoff in einem Wasser-Ethanol-Gemisch (1:1) umkristallisiert.

5.2.2 Darstellung von Benzamidobenzensulfonsäuren

Zu einer Lösung von Metanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) in wässriger K₂CO₃-Lösung (25 %, 3.9 mL) wurde das entsprechende Benzoessäurechlorid (4.9 mmol) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT kräftig gerührt und anschließend mit verd. wässriger HCl-Lösung (5 N) angesäuert bis sich ein pH-Wert < 5 einstellte. Die Lösung wurde lyophilisiert und der Rückstand über eine RP18-Flash-Kieselgelsäule chromatografiert (Wasser/MeOH: Gradient in % von 100:1 zu 60:40).

5.2.3 Darstellung der 3- und 4-Benzamidobenzensulfonsäurephenylester

5.2.3.1 Methode 1

Das entsprechende Kaliumbenzamidobenzensulfonat (2 mmol) oder die entsprechende Benzamidobenzensulfonsäure (2 mmol) und PCl_5 (416 mg, 2 mmol) wurden in POCl_3 (6 mL) suspendiert und bei 105 – 110 °C für 4 h gerührt. Anschließend wurde der Überschuss POCl_3 unter Verwendung einer Wasserstrahlpumpe abdestilliert und der Rückstand vorsichtig auf ein Eis-Wasser-Gemisch (10 – 15 mL) gegeben um den letzten Rest POCl_3 zu hydrolysieren. Das Gemisch wurde bei 0 – 5 °C für 20 min stark gerührt. Durch Behandlung mit Ultraschall kristallisierte ein Feststoff aus, der abfiltriert, mit kaltem Wasser (5 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet wurde. Wenn kein Feststoff auskristallisierte, wurde die Suspension dreimal mit je 15 mL auf 4 °C gekühltes EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt.

Das dargestellte Benzamidobenzensulfonsäurechlorid wurde in einer Argon-Atmosphäre in frisch destilliertem DCM (10 mL) gelöst und für 5 min bei RT gerührt. In der Zwischenzeit wurden 3- oder 4-Nitrophenol (556 mg, 4.0 mmol) und DIPEA (0.68 mL, 4.4 mmol) in frisch destilliertem DCM (6 mL) gelöst und anschließend zur Lösung des Säurechlorids gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert.

5.2.3.2 Methode 2

Die Durchführung erfolgte wie in Methode 1 beschrieben, jedoch wurde der Überschuss POCl_3 nicht abdestilliert. Das Reaktionsgemisch wurde direkt auf ein Eis-Wasser-Gemisch gegeben. Außerdem wurde TEA (2 mL, 14.4 mmol) anstelle von DIPEA als Base eingesetzt.

5.2.3.3 Methode 3

Die Darstellung des Säurechlorids erfolgte, wie in Methode 2 beschrieben, aus dem entsprechenden Kaliumbenzamidobenzensulfonat (0.33 mmol) und PCl_5 (100 mg, 0.48 mmol) in POCl_3 (3 mL).

Das Säurechlorid wurde in Aceton (3.5 mL) und DCM (1.5 mL) gelöst und in einer Argon-Atmosphäre für 30 min gerührt. In der Zwischenzeit wurden 3-Nitrophenol (92 mg, 0.66 mmol) und TEA (0.4 mL, 2.9 mmol) in Aceton (1 mL) gelöst und anschließend zur Lösung des Säurechlorids gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde in 3 mL Aceton suspendiert und der Feststoff abfiltriert und mit Aceton (1 mL) und Wasser (2 mL) gewaschen. Das Rohprodukt wurde in CHCl_3 (2 mL) bei 40 °C für 1 h gerührt um Verunreinigungen zu lösen. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit CHCl_3 (1 mL) gewaschen und im Vakuum bei 45 °C getrocknet.

5.2.3.4 Methode 4

Die Darstellung des Säurechlorids erfolgte, wie in Methode 2 beschrieben, aus dem entsprechenden Kaliumbenzamidobenzensulfonat (1 mmol) und PCl_5 (208 mg, 1 mmol) in POCl_3 (6 mL).

Das Säurechlorid wurde in Aceton (4 mL) gelöst und in einer Argon-Atmosphäre für 30 min gerührt. In der Zwischenzeit wurden 3-Nitrophenol (278 mg, 2.0 mmol) und TEA (1.5 mL, 10.8 mmol) in Aceton (4 mL) gelöst und anschließend zur Lösung des Säurechlorids gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt. Das ausgefallene Salz wurde abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingeengt. Der Rückstand wurde zweimal säulenchromatografisch aufgereinigt (Ethylacetat/Cyclohexan 1:1 und DCM/MeOH 125:1) und das Produkt im Vakuum bei 45 °C getrocknet.

5.2.3.5 Methode 5

Zu einer Lösung des entsprechenden Benzamidobenzensulfonsäurechlorids (2.0 mmol) in frisch destilliertem DCM (8 mL) wurde in einer Argon-Atmosphäre eine Lösung des entsprechenden Phenols (4.0 mmol) mit DIPEA (0.66 mL, 4.0 mmol) in frisch destilliertem DCM (8 mL) vorsichtig zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert. Weitere Aufarbeitung war ggf. notwendig.

5.2.3.6 Methode 6

Zu einer Suspension des entsprechenden Kaliumbenzamidobenzensulfonat (1 mmol) in DCM (9 mL) wurden bei 10 °C (Eis-Wasser-Gemisch) drei Tropfen trockenes DMF als Katalysator und Oxalylchlorid (0.21 mL, 2.5 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt, bei dieser Temperatur für 30 min und weitere 3 h bei 40 °C gerührt. Anschließend wurden das DCM und der Überschuss des Oxalylchlorids abdestilliert. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet.

Das dargestellte Benzamidobenzensulfonsäurechlorid wurde in einer Argon-Atmosphäre in frisch destilliertem DCM (5 mL) gelöst und für 5 min bei RT gerührt. In der Zwischenzeit wurden 3-Nitrophenol (278 mg, 2.0 mmol) und DIPEA (0.34 mL, 2.0 mmol) in frisch destilliertem DCM (4 mL) gelöst und anschließend zur Lösung des Säurechlorids gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert und ggf. weiter aufgearbeitet.

5.2.4 Darstellung der 4-Benzamidobenzensulfonamide

5.2.4.1 Methode 1

Das entsprechende Kaliumbenzamidobenzensulfonat (1 mmol) und PCl_5 (208 mg, 1 mmol) wurden in POCl_3 (4 mL) suspendiert und bei 110 – 115 °C für 3 h gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch vorsichtig auf ein Eis-Wasser-Gemisch (10 – 15 mL) gegeben um den Überschuss POCl_3 und PCl_5 zu hydrolysieren. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser (5 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Das dargestellte Benzamidobenzensulfonsäurechlorid wurde unter Zusatz von Pyridin (0.20 mL, 2.5 mmol) in einer Argon-Atmosphäre in DCM (5 mL) gelöst. Anschließend wurde eine Lösung von 3-Nitrophenol (276 mg, 2.0 mmol) und Pyridin (0.20 mL, 2.5 mmol) in DCM (6 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt und aufgearbeitet (siehe entsprechende Verbindung).

5.2.4.2 Methode 2

Zu einer Lösung des entsprechenden Benzamidobenzensulfonsäurechlorids (0.6 mmol) in trockenem THF (7 mL) wurden in einer Argon-Atmosphäre Pyridin (0.10 mL, 1.2 mmol) und 3-Chlorbenzylamin (170 mg, 1.2 mmol) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde in verd. HCl-Lösung (1 N, 30 mL) suspendiert und mit EtOAc extrahiert (3 x 25 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde über eine Säule aus Kieselgel (EtOAc/Cyclohexan 2:1) chromatografiert. Das Rohprodukt wurde in Toluol umkristallisiert und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.5 Darstellung der 3-Methyl-N-(nitrophenyl)benzamide und Nitro-N-3-tolylbenzamide

5.2.5.1 Methode 1

Zu einer eisgekühlten Lösung des entsprechenden Säurechlorids (12.0 mmol) in DCM (10 mL) wurde in einer Argon-Atmosphäre langsam eine Lösung des entsprechenden Anilins (12.0 mmol) mit DIPEA (2.04 mL, 12.0 mmol) in DCM (15 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt und anschließend unter vermindertem eingengt. Der Rückstand wurde in 50 mL verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 50 mL) suspendiert und mit EtOAc extrahiert (2 x 75 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurde über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der isolierte Feststoff wurde in einem geeigneten Lösungsmittelgemisch umkristallisiert und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.5.2 Methode 2

Die Durchführung erfolgte wie in Methode 1 beschrieben, außer dass das entsprechende Anilin und DIPEA in DCM (10 mL) und Aceton (10 mL) gelöst wurden.

5.2.6 Reduktion der 3-Methyl-*N*-(nitrophenyl)benzamide und Nitro-*N*-3-tolylbenzamide

5.2.6.1 Methode 1

Das entsprechende 3-Methyl-*N*-(nitrophenyl)benzamid (10 mmol) oder Nitro-*N*-3-tolylbenzamid (10 mmol) wurde in einem Gemisch aus verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 20 mL) und EtOH (20 mL) suspendiert. Anschließend wurde Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (10 g, 40 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch auf 90 °C erhitzt bis sich der Feststoff vollständig auflöste. Nach 10-minütigem Rühren bei dieser Temperatur wurde das EtOH unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in EtOAc (200 mL), welches 15 g Natriumcarbonat enthielt, gegeben um den Zinnkomplex auszufällen. Dieser wurde abfiltriert und mit Überschuss EtOAc gewaschen. Das Filtrat wurde über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der zurückbleibende Feststoff wurde in EtOAc/Cyclohexan (3:2) umkristallisiert und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.6.2 Methode 2

Die entsprechende Nitroverbindung (5 mmol) und der Katalysator 5 % Pd/Aktivkohle (410 mg) wurden in MeOH (15 mL) suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (H₂-Generator) bei RT und einem Druck von 45 psi für 1 h gerührt. Anschließend wurde der Katalysator über Celite[®] abfiltriert und mit Überschuss MeOH gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck zur Trockne eingeeengt und das Produkt im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.7 Darstellung der Methyl-*N*-(nitrobenzamidophenyl)benzamide

Zu einer Lösung des 3- oder 4-Nitrobenzoylchlorids (1.0 mmol) in DCM (5 mL) wurde eine Lösung des entsprechenden Methylbenzamidoanilins (1.1 mmol) mit DIPEA (0.18 mL, 1.1 mmol) in DCM (5 mL) gegeben und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand in verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 25 mL) suspendiert. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit verd. Wässriger HCl-Lösung (2 N, 15 mL) gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.8 Darstellung der 3- und 4-(Nitrobenzamido)-*N*-tolylbenzamide

Zu einer Lösung des 3- oder 4-Nitrobenzoylchlorids (1.0 mmol) in DCM (5 mL) wurde eine Lösung des entsprechenden Amino-*N*-Tolylbenzamids (1.1 mmol) mit DIPEA (0.18 mL, 1.1 mmol) in DCM (5 mL) gegeben und über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand in verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 25 mL) suspendiert. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit verd. Wässriger HCl-Lösung (2 N, 15 mL) gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.9 Darstellung substituierter 3-(3-Phenylureido)benzoesäuremethylester

5.2.9.1 Methode 1

Zu einer Lösung des entsprechenden Anilins (1.5 mmol) mit DIPEA (0.25 mL, 1.5 mmol) in Aceton (6 mL) wurde in einer Argon-Atmosphäre eine Lösung des 3-Isocyanatobenzoessäuremethylesters (266 mg, 1.5 mmol) in Aceton (12 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre bei RT über Nacht gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wird mit verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 25 mL) versetzt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 10 mL) gewaschen. Abschließend wurde der Feststoff in MeOH umkristallisiert und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.9.2 Methode 2

Die Durchführung erfolgte wie in Methode 1 beschrieben, außer dass das entsprechende Anilin (1.5 mmol) mit DIPEA (0.25 mL, 1.5 mmol) in Aceton/DCM (1:1, 6 mL) und der 3-Isocyanatobenzoessäuremethylester (266 mg, 1.5 mmol) in Aceton/DCM (4:3, 14 mL) gelöst wurden.

5.2.10 Darstellung substituierter 3-(3-Phenylureido)benzoesäuren

Zu einer Suspension des entsprechenden 3-(3-Phenylureido)benzoesäuremethylesters (0.5 mmol) in MeOH (12 mL) wurde eine Lösung von KOH (84 mg, 1.5 mmol) in H₂O (6 mL) gegeben und für 4 h bei 100 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingeeengt. Durch Zugabe von verd. wässriger HCl-Lösung (2 N, 6 mL) wurde das Produkt als Feststoff ausgefällt, welcher abfiltriert und mit Wasser (10 mL) gewaschen wurde.

5.2.11 Darstellung der (6-Halogen)-8-nitrochromen-4-on-2-carbonsäure-ethylester

Das entsprechende (5'-Halogen-)2'-hydroxy-3'-nitroacetophenon (12.0 mmol) und Diethyloxalat (4.0 mL, 29.5 mmol) wurden in 50 – 70 mL wasserfreiem DMF in einer Argon-Atmosphäre gelöst und auf 0 – 5 °C gekühlt. Kalium-*tert*-butylat (5.37 g, 47.9 mmol) wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 – 3 h bei 0 – 5 °C in einer Argon-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde eine eisgekühlte Lösung aus konz. HCl-Lösung (12 M, 7.76 mL, 93.1 mmol) in 80 mL Wasser zugegeben und das Gemisch dreimal mit je 60 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde in 60 mL EtOH gelöst und konz. HCl-Lösung (12 M, 3.85 mL, 46.2 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend in einer Argon-Atmosphäre über Nacht refluxiert. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck eingengt bis das Produkt auskristallisierte und anschließend auf 0 – 5 °C gekühlt zur Vervollständigung der Kristallisation. Das Produkt wurde abfiltriert, mit eiskaltem EtOH in kleinen Portionen gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.12 Reduktion der (6-Halogen)-8-nitrochromen-4-on-2-carbonsäure-ethylester

5.2.12.1 Methode 1

Die entsprechende Nitroverbindung (8.4 mmol) wurde in einem Gemisch aus EtOH (25 mL) und verdünnter, wässriger HCl-Lösung (2 N, 25 mL) suspendiert. Nach Zugabe von Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (7.58 g, 33.6 mmol) wurde das Reaktionsgemisch auf 65 °C erhitzt bis eine klare Lösung entstand. Das Gemisch wurde anschließend für weitere 20 min bei dieser Temperatur gerührt. Das EtOH wurde unter vermindertem Druck entfernt und die resultierende Suspension in 200 mL EtOAc gegeben, welches 25 g Natriumcarbonat enthält. Der ausgefallene Zinn-Komplex wurde abfiltriert und mit 100 mL EtOAc gewaschen. Das Filtrat wurde mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der resultierende Feststoff wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.12.2 Methode 2

Die entsprechende Nitroverbindung (6.9 mmol) wurde in einem Gemisch aus EtOH (40 mL) und verdünnter, wässriger HCl-Lösung (2 N, 30 mL) suspendiert. Nach Zugabe von Zinn(II)-chlorid-Dihydrat (6.23 g, 27.6 mmol) wurde das Reaktionsgemisch auf 65 °C erhitzt bis eine klare Lösung entstand. Das Gemisch wurde anschließend für weitere 40 min bei dieser Temperatur gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie in Methode 1 beschrieben.

5.2.13 Darstellung der 3- und 4-Alkyloxybenzoesäuremethylester

Das entsprechende Alkylbromid oder -chlorid (7.0 mmol)*, 3- oder 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) und K_2CO_3 (1.10 g, 8.0 mmol) wurden in 15 mL wasserfreiem DMF suspendiert. In Einzelfällen wurde zusätzlich eine Spatelspitze Kaliumiodid als Katalysator zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht in einer Argon-Atmosphäre bei 110 – 115 °C erhitzt. *Niedrig siedende Alkylhalogenide wurden im Überschuss eingesetzt.

Aufarbeitung A:

Das Reaktionsgemisch wurde mit 80 mL Wasser verdünnt und mit EtOAc oder DCM (3 x 20 – 30 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet. Anschließend wurden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Wenn noch nicht umgesetzter Ausgangsstoff vorlag, wurde säulenchromatografisch aufgetrennt. Das Produkt wurde bei 50 °C im Vakuum getrocknet.

Aufarbeitung B:

Das DMF wurde unter vermindertem Druck an einem Hochvakuum-Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 60 mL Wasser aufgenommen. Die Suspension wurde mit je 25 mL EtOAc extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet. Anschließend wurde das EtOAc unter vermindertem Druck entfernt. Wenn noch nicht umgesetzter Ausgangsstoff vorlag, wurde säulenchromatografisch aufgetrennt. Das Produkt wurde bei 50 °C im Vakuum getrocknet.

5.2.14 Darstellung der 3- und 4-Alkyloxybenzoesäuren

In einem 10 mL-Mikrowellengefäß, ausgestattet mit einem Magnetrührstäbchen, wurde der entsprechende Ester (2 mmol) in einem Gemisch aus THF (1 mL), MeOH (1 mL) und wässriger KOH-Lösung (1 N, 3 mL) suspendiert. Das Reaktionsgefäß wurde mit einem Septum abgedichtet und das Reaktionsgemisch in einem Mikrowellenofen bei 100 °C für 45 – 60 min erhitzt (3 – 10 bar, 40 – 65 W).

Aufarbeitung A:

Das auf RT abgekühlte Gemisch wurde mit 30 mL Wasser verdünnt und tropfenweise mit verd. HCl-Lösung (1 N) angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde, wobei das Produkt ausfiel. Anschließend wurde die saure wässrige Suspension dreimal mit je 30 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

Aufarbeitung B:

Das auf RT abgekühlte Gemisch wurde mit 30 mL Wasser verdünnt und tropfenweise mit verd. HCl-Lösung (2 N) angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde, wobei das Produkt ausfiel. Anschließend wurde die saure wässrige Suspension dreimal mit je 50 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde bei vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

Aufarbeitung C:

Das auf RT abgekühlte Gemisch wurde mit 30 mL Wasser verdünnt. Das Produkt wurde durch tropfenweise Zugabe von verd. HCl-Lösung (2 N) ausgefällt bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser (15 mL) gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.15 Darstellung der 8-Amido-(6-halogen)-chromen-4-oncarbonsäure-ethylester

5.2.15.1 Methode 1

Das Amin **121** (163 mg, 0.7 mmol) und DIPEA (0.23 mL, 1.4 mmol) wurden in DCM (5 mL) gelöst. Anschließend wurde eine Lösung des Acetanhydrids (102 mg, 1.4 mmol) in DCM (1 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 2 d in einer Argon-Atmosphäre gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt wurde im Vakuum bei 45 °C getrocknet.

5.2.15.2 Methode 2

Das Amin **121** (163 mg, 0.7 mmol) und DIPEA (0.23 mL, 1.4 mmol) wurden in DCM (5 mL) gelöst. Anschließend wurde eine Lösung des entsprechenden Säurechlorids (1.4 mmol) in DCM (1 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für 24 h in einer Argon-Atmosphäre gerührt. Dabei fiel das Amid teilweise aus. Produkte, die sich in DCM unter Zusatz einiger Tropfen DMF bei 40 °C lösten, wurden über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (Fließmittel: siehe individuelle Verbindung) um das reine Amid zu gewinnen (Aufarbeitung A). Schwer lösliche Amide wurden abfiltriert und zweimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Teilweise wurde das Filtrat eingeeengt und säulenchromatografisch über eine Säule aus Kieselgel (DCM/EtOAc 9:1) aufgetrennt (Aufarbeitung B). Alle Verbindungen wurden im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.15.3 Methode 3

Das entsprechende Amin (0.9 mmol) und DIPEA (0.20 mL, 1.2 mmol) wurden in DCM (4.5 mL) und wasserfreiem THF (1.5 mL) gelöst. Im Fall von Amin **121** wurden zum Lösen 6 mL DCM anstelle eines DCM/THF-Gemisches verwendet. Anschließend wurde eine Lösung des entsprechenden Säurechlorids (1.2 mmol) in DCM (3 mL) zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT für ein bis vier Tage in einer Argon-Atmosphäre gerührt.

Aufarbeitung A: Wenn das Produkt als Feststoff ausfiel, wurde es abfiltriert, zwei- bis dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Teilweise wurde das Filtrat eingengt und säulenchromatografisch über eine Säule aus Kieselgel aufgetrennt (Fließmittel: siehe individuelle Verbindung).

Aufarbeitung B: Bei keinem oder nur geringem Ausfallen des Amids wurde das Reaktionsgemisch unter vermindertem Druck eingengt und über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (Fließmittel: siehe individuelle Verbindung).

5.2.15.4 Methode 4

Zu einer Suspension der entsprechenden Säure mit 3 Tropfen wasserfreiem DMF in 5 mL DCM wurde 1 mL frisch destilliertes Thionylchlorid gegeben und das Reaktionsgemisch in einer Argon-Atmosphäre für 30 min bei RT gerührt. Das DCM und der Überschuss Thionylchlorid wurden mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe unter vermindertem Druck abdestilliert. Kühlung (Eisbad) bewirkte das Auskristallisieren des entsprechenden Säurechlorids. In der Zwischenzeit wurden das Amin (0.9 mmol) und DIPEA (0.20 mL, 1.2 mmol) in 4.5 mL trockenem DCM und 1.5 mL trockenem THF gelöst. Im Fall des Amins **121** wurden zum Lösen 6 mL DCM anstelle eines DCM/THF-Gemisches verwendet. Die Lösung wurde anschließend zum gebildeten Säurechlorid, welches zuvor in 4 mL DCM gelöst wurde, zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für ein bis zwei Tage in einer Argon-Atmosphäre gerührt. Die Aufarbeitung wurde bei jeder Verbindung ausführlich beschrieben.

5.2.16 Darstellung von 1-Alkyloxy-4-nitrobenzen

Das entsprechende Alkylbromid oder -chlorid (7.0 mmol), 4-Hydroxyanilin (974 mg, 7.0 mmol) und K_2CO_3 (1.10 g, 8.0 mmol) wurden in 15 mL wasserfreiem DMF suspendiert. In Einzelfällen wurde zusätzlich eine Spatelspitze Kaliumiodid als Katalysator zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 – 17 h in einer Argon-Atmosphäre bei 110 – 115 °C gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde mit Wasser (50 mL) verdünnt und mit DCM oder EtOAc (3 x 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Produkt wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

5.2.17 Reduktion von 1-Alkyloxy-4-nitrobenzen

Die entsprechende Nitroverbindung (5 mmol) und der Katalysator 5 % Pd/Aktivkohle (169 mg) wurden in MeOH (9 mL) suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde unter einer Wasserstoff-Atmosphäre (H_2 -Generator) bei RT und einem Druck von 45 psi für 1 h gerührt. Anschließend wurde der Katalysator über Celite[®] abfiltriert und mit Überschuss MeOH gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt. Das Produkt wurde im Vakuum bei 40 °C getrocknet und in einer Argon-Atmosphäre bei 4 °C aufbewahrt, da schnelle Oxidation an der Luft einsetzte.

5.2.18 Darstellung der 8-Ureidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester

Triphosgen (89 mg, 0.30 mmol) wurde in einer Argon-Atmosphäre in trockenem DCM (4 ml) gelöst und auf 0 – 5 °C gekühlt (Eisbad). Anschließend wurde sehr langsam eine Lösung des entsprechenden 8-Aminochromen-4-on-2-carbonsäureethylesters (0.80 mmol) mit DIPEA (0.30 ml, 1.76 mmol) in trockenem DCM (7 ml) über einen Zeitraum von 70 – 90 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für weitere 5 min bei 0 – 5 °C in einer Argon-Atmosphäre gerührt und anschließend auf RT erwärmt. Nach Zutropfen der Lösung des zweitenamins (1.00 mmol) mit DIPEA (0.17 ml, 1.00 mmol) in trockenem DCM (4 ml) wurde das Gemisch in einer Argon-Atmosphäre über Nacht bei RT gerührt. Die Aufarbeitung wurde bei jeder einzelnen Verbindung ausführlich beschrieben.

5.2.19 Darstellung von 8-Thioureidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester

Thiophosgen (0.08 mL, 1.0 mmol) wurde in EtOAc (4 mL) gelöst und auf – 78 °C (Trockeneis-Aceton-Gemisch) in einer Argon-Atmosphäre gekühlt. Triethylamin (0.28 mL, 2.0 mmol) wurde in EtOAc (3 mL) gelöst und über einen Zeitraum von 30 min zugetropft. Die entstandene Suspension wurde für 15 min gerührt und eine Lösung des entsprechenden 8-Aminochromen-4-on-2-carbonsäureethylesters (0.9 mmol) in trockenem THF (5 mL) wurde über einen Zeitraum von 30 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und bei dieser Temperatur in einer Argon-Atmosphäre über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde mit EtOAc (20 mL) verdünnt und zweimal mit je 20 mL Wasser und zweimal mit je 20 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Thioisocyanat wurde als gelbbraunes Öl gewonnen, welches langsam als Feststoff auskristallisierte.

Das zweite Amin (1.35 mmol) wurde in trockenem THF (3 mL) gelöst und zu einer Lösung des gebildeten Thioisocyanats in trockenem THF (3 mL) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT in einer Argon-Atmosphäre über Nacht gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde über eine Säule aus Kieselgel (EtOAc/DCM 9:1) chromatografiert und das Produkt in Diethylether umkristallisiert.

5.2.20 Darstellung von 4-Alkyloxybenzensulfonat

Das entsprechende Alkylchlorid (7.0 mmol), Natrium-4-hydroxybenzensulfonat-Dihydrat (2.44 g, 10.5 mmol), Na₂CO₃ (1.27 g, 12.0 mmol) und eine Spatelspitze KI als Katalysator wurden in wasserfreiem DMF (15 mL) suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde für 15 h in einer Argon-Atmosphäre bei 115 °C gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde anschließend über eine RP-Säule mit einem Gradienten von 50 % MeOH nach 100 % MeOH in Wasser chromatografiert und die entsprechenden Fraktionen wurden durch Lyophilisierung getrocknet.

5.2.21 Darstellung von 8-Sulfonamidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester

Das entsprechende Sulfonat (0.9 mmol) wurde mit PCl_5 (187 mg, 0.9 mmol) in POCl_3 (4 mL) über Nacht bei 90 °C gerührt. Anschließend wurde das überschüssige POCl_3 unter vermindertem Druck abdestilliert (Wasserstrahlpumpe). Der Rückstand wurde auf 0 – 5 °C gekühlt und für 10 min in einem Eis-Wasser-Gemisch (25 mL) stark gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 25 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das gebildete Säurechlorid wurde anschließend im Vakuum bei 25 °C getrocknet.

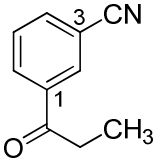
In der Zwischenzeit wurde der entsprechende 8-Aminochromen-4-on-2-carbonsäureethylester (1.2 mmol) mit Pyridin (0.1 mL, 1.2 mmol) in trockenem DCM (10 mL) in einer Argon-Atmosphäre gelöst. Eine Lösung des Säurechlorids in DCM (7 mL) wurde langsam zutropft und das Reaktionsgemisch anschließend bei RT über Nacht gerührt. Das Gemisch wurde unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand zweimal über eine Kieselgelsäule (DCM/EtOAc 9:1) chromatografiert. Das Produkt wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet.

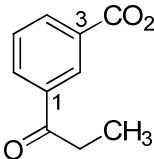
5.2.22 Hydrolyse der (6-Halogen)-chromen-4-on-2-carbonsäureethylester

Eine Lösung von Kaliumcarbonat (79 mg, 0.57 mmol) in Wasser (4.5 mL) wurde langsam zu einer Suspension des entsprechenden 4-Oxo-4*H*-chromen-2-carbonsäureethylesters (0.44 mmol) in THF (12 mL) und EtOH (3 mL) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für 16 – 24 h gerührt bis eine klare Lösung erhalten wurde. Nach der Zugabe von Wasser (4 mL) wurde das Gemisch mit verdünnter, wässriger HCl-Lösung (2 N) angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde. Die Lösungsmittel THF und EtOH wurden unter vermindertem Druck entfernt. Der erhaltene Niederschlag wurde abfiltriert, mit 15 mL Wasser gewaschen und im Vakuum bei 45 °C getrocknet. In einigen Fällen war eine weitere Aufreinigung notwendig.

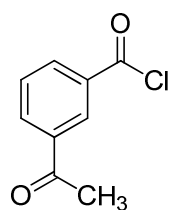
5.3 Charakterisierung der dargestellten Verbindungen

5.3.1 3-Propionylbenzoesäure und deren Vorstufe

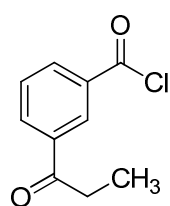

3-Cyanopropiophenon (61, MF04L).²⁷³ Unter einer Argon-Atmosphäre wurden 3-Brompropiofenon (1.81 g, 8.5 mmol), Kupfer(I)-cyanid (1.16 g, 13.0 mmol) und trockenes DMF (40 mL) in ein 100 mL Druckgefäß gegeben und mit einem Septum verschlossen. Das Reaktionsgemisch wurde in einem Mikrowellenofen (150 W) bei 160 °C und 1 bar unter Rühren und in einer Argon-Atmosphäre für 1.5 h erhitzt. Anschließend wurde die noch heiße Lösung in ein Gemisch von Eisen(III)-chlorid (1.0 g), konz. Salzsäure (1.0 ml) und Wasser (10 ml) gegeben und auf 70 °C für 20 min erhitzt. Das Gemisch wurde mit Toluol extrahiert (3 x 25 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule (EtOAc/*n*-Hexan 1:2) aufgetrennt. Das Produkt konnte als ein niedrig schmelzender weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.22 g (90 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.22 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 2.99 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂), 7.58 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5-H), 7.81 (ddd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 4-H), 8.16 (ddd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 6-H), 8.21 (dd, *J* = 1.5 Hz, 1H, 2-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 7.90 (CH₃), 31.9 (CH₂), 113.1 (C-3), 118.0 (CN), 130.0 (C-5), 131.7 (C-2), 131.9 (C-6), 135.8 (C-4), 137.6 (C-1), 198.5 (C=O). LC-MS (*m/z*): 158 [M-H]⁻, 160 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 94.5 %.


3-Propionylbenzoesäure (62, MF04M).²⁷³ Eine Lösung von 3-Cyanopropiophenon (**61**, 1.11 g, 7.0 mmol) in EtOH (5 mL) wurde zu einer eisgekühlten Lösung von KOH (1.18 g, 21.0 mmol) in Wasser (2 mL) und EtOH (8 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 80 – 90 °C für 4 h erhitzt. Das EtOH wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst (20 mL) und mit Diethylether (3 x 20 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert um das Produkt als Feststoff auszufällen. Dieser wurde abfiltriert, mit Wasser (10 mL) gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.06 g (78 %). ¹H-NMR: δ 1.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 3.08 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 7.65 (dd, *J* = 7.7 Hz, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5-H), 8.15 (ddd, *J* = 7.7 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 6-H), 8.18 (ddd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 4-H), 8.45 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H, 2-H). ¹³C-NMR: δ 8.1 (CH₃), 31.5 (CH₂), 128.5 (C-5), 129.3 (C-2), 131.4 (C-3), 133.5 (C-4), 137.0 (C-6), 137.0 (C-1), 166.8 (CO₂H), 200.0 (CO-CH₂). LC-MS (*m/z*): 133 [M-CO₂H-H]⁻, 177 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 91.4 %.

5.3.2 3-Alkanoylbenzoylchloride

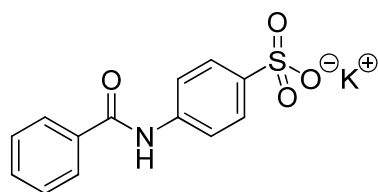


3-Acetylbenzoylchlorid (MF05).³⁶⁶ Zu einer Lösung von 3-Acetylbenzoesäure (500 mg, 3.0 mmol) in DCM (10 mL) und Aceton (1 mL) wurde bei 0 °C Thionylchlorid (0.7 mL, 9.0 mmol) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei 60 °C für 1 h gerührt. Anschließend wurden der Überschuss Thionylchlorid und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Produkt konnte als braune Flüssigkeit gewonnen werden und wurde ohne weitere Charakterisierung und Aufreinigung weiter umgesetzt. Ausbeute: 540 mg (99 %).

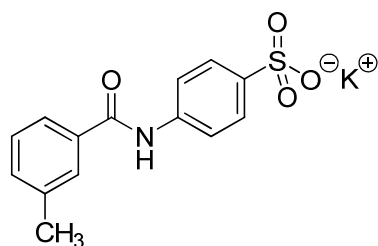


3-Propionylbenzoylchlorid (63, MF04N).²⁷³ Zu einer rührenden Suspension von 3-Propionylbenzoesäure (**62**, 890 mg, 5.0 mmol) in Toluol (10 mL) wurde bei 0 °C frisch destilliertes Thionylchlorid (1.1 mL, 15.0 mmol) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 1 h bei 80 °C erhitzt. Anschließend wurden der Überschuss Thionylchlorid und Toluol unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Produkt konnte als brauner Feststoff gewonnen werden und wurde ohne weitere Charakterisierung und Aufreinigung weiter umgesetzt. Ausbeute: 902 mg (92 %).

5.3.3 Kaliumbenzamidobenzensulfonate

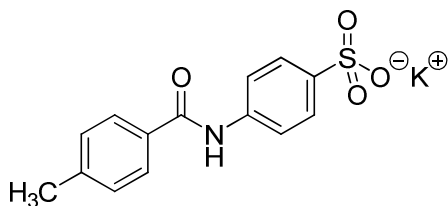


Kalium-4-benzamidobenzensulfonat (44, MF35). Die Synthese erfolgte aus Benzoylchlorid (0.57 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Das Produkt konnte als ein grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.10 g (100 %). ¹H-NMR: δ 7.50-7.53 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.57-7.59 (m, 3H, 2-H, 6-H, 4'-H), 7.71-7.74 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.95-7.97 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 10.29 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 119.4 (C-3, C-5), 126.1 (C-2, C-6), 127.8 (C-2', C-6'), 128.5 (C-3', C-5'), 131.7 (C-4'), 135.0 (C-1'), 139.3 (C-4), 143.9 (C-1), 165.7 (C=O). LC-MS (*m/z*): 196 [M-SO₃K], 276 [M-K]. Reinheit mit HPLC-UV (242-301 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: > 300 °C (langs. Zers.).

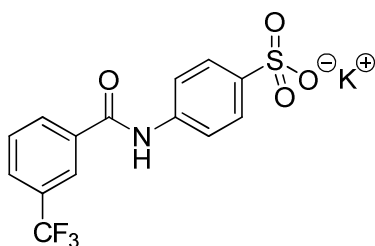


Kalium-4-(3-methylbenzamido)benzensulfonat (45, MF01).⁹⁸ Die Synthese erfolgte aus *m*-Toluoylchlorid (4.7 mL, 40.0 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Nach Umkristallisation in EtOH/Wasser (1:1) konnte das Produkt als ein grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 7.48 g (79 %). ¹H-NMR: δ 2.39 (s, 3H, CH₃), 7.39-7.41 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.56-7.59 (m, 2H, 2-H, 6-H), 7.70-7.72 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.73-7.75 (m, 1H, 6'-H), 7.77 (s, 1H, 2'-H), 10.22 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 21.0 (CH₃), 119.3 (C-3, C-5), 124.9 (C-6'), 126.1 (C-2, C-6), 128.2, 128.4 (C-2', C-5'), 132.2 (C-4'), 135.0 (C-1'), 137.8 (C-3'), 139.3 (C-4),

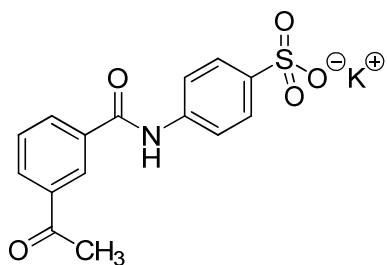
143.8 (C-1), 165.7 (C=O). LC-MS (m/z): 210 [M-SO₃K]⁻, 290 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (220-399 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: > 320 °C (langs. Zers.) (Lit.⁹⁸ langs. Zers. ab 320 °C).



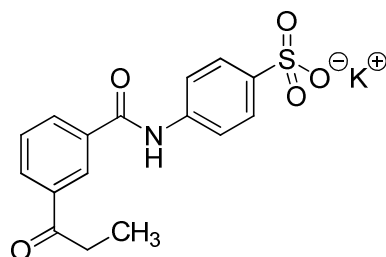
Kalium-4-(4-methylbenzamido)benzenesulfonat (46, MF37).⁹⁸ Die Synthese erfolgte aus *p*-Toluoylchlorid (0.65 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Das Produkt konnte als ein grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.15 g (100 %). ¹H-NMR: δ 2.38 (s, 3H, CH₃), 7.32 (d, J = 7.9 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.57 (d, J = 8.5 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.72 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.88 (d, J = 8.2 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 10.20 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 21.1 (CH₃), 119.4 (C-3, C-5), 126.1 (C-2, C-6), 127.9 (C-2', C-6'), 129.1 (C-3', C-5'), 132.1 (C-1'), 139.4 (C-4), 141.7 (C-4'), 143.8 (C-1), 165.5 (C=O). LC-MS (m/z): 210 [M-SO₃K]⁻, 290 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (221-320 nm)-ESI-MS: 97.9 %. Smp.: > 300 °C.



Kalium-4-(3-(trifluormethyl)benzamido)benzenesulfonat (47, MF82). Die Synthese erfolgte aus 3-(Trifluormethyl)benzoylchlorid (0.74 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Das Produkt konnte als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.09 g (82 %). ¹H-NMR: δ 7.59 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.71 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.77 (dd, J = 7.9 Hz, 1H, 5'-H), 7.95 (d, J = 7.9 Hz, 1H, 4'-H), 8.26 (d, J = 7.9 Hz, 1H, 6'-H), 8.29 (s, 1H, 2'-H), 10.49 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 119.6 (C-3, C-5), 124.1 (q, J = 273.0 Hz, CF₃), 124.4 (q, J = 3.7 Hz, C-2'), 126.2 (C-2, C-6), 128.2 (q, J = 3.7 Hz, C-4'), 129.3 (q, J = 32.5 Hz, C-3'), 129.8 (C-5'), 132.0 (C-6'), 135.9 (C-1'), 138.9 (C-4), 144.4 (C-1), 164.1 (C=O). LC-MS (m/z): 264 [M-SO₃K]⁻, 344 [M-K]⁻, 346 [M-K+2H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: > 320 °C.

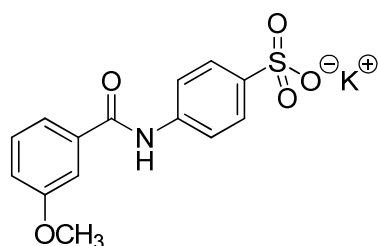


Kalium-4-(3-acetylbenzamido)benzenesulfonat (48, MF07). Die Synthese erfolgte aus MF05 (540 mg, 3.0 mmol), Sulfanilsäure (381 mg, 2.2 mmol) und wässriger Kaliumcarbonatlösung (15 %, 3.5 mL) nach Vorschrift 5.2.1. Das Produkt konnte als ein brauner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 786 mg (32 %). ¹H-NMR: δ 2.66 (s, 3H, CH₃), 7.59 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.68 (dd, J = 7.7 Hz, 1H, 5'-H), 7.72 (d, J = 8.6 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.15 (d, J = 8.0 Hz, 1H, 4'-H), 8.20 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 6'-H), 8.50 (s, 1H, 2'-H), 10.45 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 27.1 (CH₃), 119.6 (C-3, C-5), 126.2 (C-2, C-6), 127.5 (C-2'), 129.1 (C-5'), 131.2 (C-6'), 132.4 (C-4'), 135.4 (C-1'), 137.0 (C-3'), 139.1 (C-4), 144.1 (C-1), 164.9 (CO-NH), 197.7 (CO-CH₃). LC-MS (m/z): 238 [M-SO₃K]⁻, 318 [M-K]⁻, 320 [M-K+2H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 95.8 %. Smp.: > 300 °C.

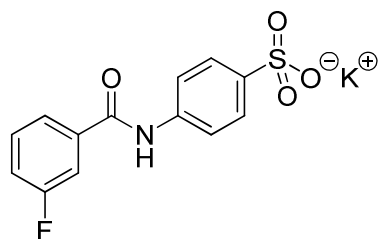


Kalium-4-(3-propionylbenzamido)benzensulfonat (49, MF10). Eine Lösung von Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) in wässriger Kaliumcarbonatlösung (20 %, 3.5 mL) wurde zu einer Lösung von **62** (902 mg, 4.6 mmol) in THF (1.5 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend unter vermindertem Druck eingengt.

Rückstand wurde in Wasser (15 mL) gelöst und einmal mit CHCl_3 (15 mL) gewaschen. Die wässrige Phase wurde lyophilisiert und durch HPLC über eine RP18-Kieselgelsäule (Wasser/MeOH: Gradient in % von 90:10 zu 0:100) aufgetrennt. Das Produkt konnte als ein weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 598 mg (46 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.12 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH_3), 3.13 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.57-7.60 (m, 2H, 2-H, 6-H); 7.67 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5'-H); 7.71 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3-H, 5-H); 8.14 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4'-H); 8.19 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 6'-H); 8.50 (dd, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2'-H); 10.44 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 8.13 (CH_3), 31.6 (CH_2), 119.6 (C-3, C-5), 126.2 (C-2, C-6), 127.1 (C-2'), 129.0 (C-5'), 130.8 (C-6'), 132.2 (C-4'), 135.4 (C-1'), 136.8 (C-3'), 139.0 (C-4), 144.2 (C-1), 164.9 (CO-NH), 200.2 (C=O-CH_2). LC-MS (m/z): 252 [$\text{M-SO}_3\text{K}$], 332 [M-K], 334 [$\text{M-K}+2\text{H}$]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 94.6 %. Smp.: > 300 °C.

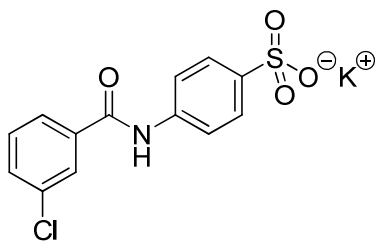


Kalium-4-(3-methoxybenzamido)benzensulfonat (50, MF34). Die Synthese erfolgte aus 3-Anisoylchlorid (1.91 g, 11.2 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Nach Umkristallisation in EtOH/Wasser (1:1) konnte das Produkt als ein weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 2.35 g (85 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.83 (s, 1H, CH_3), 7.13-7.15 (m, 1H, 4'-H), 7.43 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.49-7.50 (m, 1H, 2'H), 7.53-7.55 (m, 1H, 6'-H), 7.57-7.59 (m, 2H, 2-H, 6-H), 7.70-7.72 (m, 2H, 3-H, 5-H), 10.25 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.5 (CH_3), 113.0 (C-2'), 117.5 (C-4'), 119.5 (C-3, C-5), 120.0 (C-6'), 126.1 (C-2, C-6), 129.7 (C-5'), 136.4 (C-1'), 139.2 (C-4), 143.9 (C-1), 159.3 (C-3'), 165.4 (C=O). LC-MS (m/z): 306 [M-K]. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 97.3 %. Smp.: > 300 °C (Zers.).



Kalium-4-(3-Fluorbenzamido)benzensulfonat (51, MF41). Die Synthese erfolgte aus 3-Fluorbenzoylchlorid (0.60 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Das Produkt konnte als ein grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.14 g (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.43 (td, $J = 8.3$ Hz, $J = 2.3$ Hz, 1H, 5'-H), 7.55-7.57 (m, 1H, 4'-H), 7.59 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.72 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.76-7.79 (m, 1H, 2'-H), 7.82 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 6'-H), 10.37 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 114.6 (d, $J = 22.9$ Hz, C-2'), 118.6 (d, $J = 21.1$ Hz, C-4'), 119.5 (C-3, C-5), 124.0 (d, $J = 2.7$ Hz, C-6'), 126.2 (C-2, C-6),

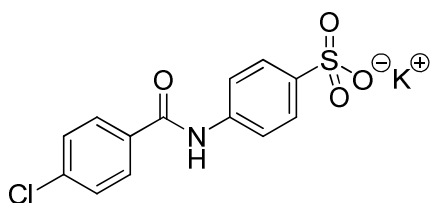
130.7 (d, $J = 8.2$ Hz, C-5'), 137.3 (d, $J = 6.4$ Hz, C-1'), 139.0 (C-4), 144.1 (C-1), 162.1 (d, $J = 243.2$ Hz, C-3'), 164.2 (C=O). LC-MS (m/z): 214 [M-SO₃K]⁻, 294 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (243-301 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: > 300 °C.



Kalium-4-(3-chlorobenzamido)benzenesulfonat (52, MF40).⁹⁸

Die Synthese erfolgte aus *m*-Chlorbenzoylchlorid (0.63 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Das Produkt konnte als ein grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.27 g (100 %).

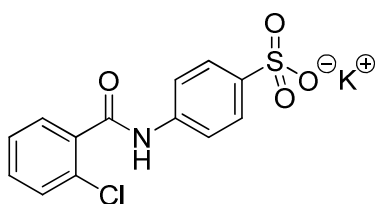
¹H-NMR: δ 7.55 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.58 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.62-7.66 (m, 1H, 4'-H), 7.71 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.91-7.93 (m, 1H, 6'-H), 8.01 (dd, $J = 1.8$ Hz, 1H, 2'-H), 10.38 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 119.5 (C-3, C-5), 126.1 (C-2, C-6), 126.6 (C-6'), 127.6 (C-2'), 130.5 (C-5'), 131.5 (C-4'), 133.3 (C-1'), 137.0 (C-3'), 139.0 (C-4), 144.2 (C-1), 164.1 (C=O). LC-MS (m/z): 230 [M-SO₃K]⁻, 310 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (244-301 nm)-ESI-MS: 97.6 %. Smp.: > 300 °C (langs. Zers.).



Kalium-4-(4-chlorobenzamido)benzenesulfonat (53, MF39).⁹⁸

Die Synthese erfolgte aus *p*-Chlorbenzoylchlorid (0.63 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Nach Umkristallisation in EtOH/Wasser (1:1)

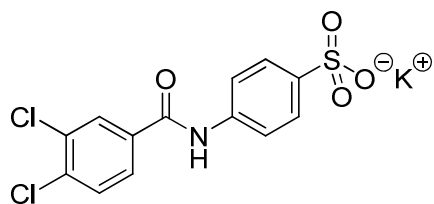
konnte das Produkt als grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.09 g (89 %). ¹H-NMR: δ 7.57-7.60 (m, 4H, 2-H, 6-H, 4'-H, 6'-H), 7.70 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3'-H, 7'-H), 10.34 (br, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 119.5 (C-3, C-5), 126.1 (C-2, C-6), 128.5 (C-3', C-5'), 129.8 (C-2', C-6'), 133.7 (C-1'), 136.5 (C-4'), 139.1 (C-4), 144.1 (C-1), 164.5 (C=O). LC-MS (m/z): 230 [M-SO₃K]⁻, 310 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (220-321 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: > 300 °C.



Kalium-4-(2-chlorobenzamido)benzenesulfonat (54, MF55).⁹⁸

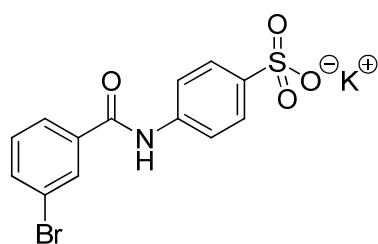
Die Synthese erfolgte aus *o*-Chlorbenzoylchlorid (0.62 mL, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1.

Nach Umkristallisation in EtOH/Wasser (1:1) konnte das Produkt als weiß-grauer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 808 mg (66 %). ¹H-NMR: δ 7.44 (ddd, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 4'-H od. 5'-H), 7.49 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H, 4'-H od. 5'-H), 7.54-7.59 (m, 4H, 2-H, 6-H, 3'-H, 6'-H), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 10.52 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 118.6 (C-3, C-5), 126.3 (C-2, C-6), 127.4, 129.1, 129.8, 131.2 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 130.1 (C-1'), 137.1 (C-2'), 139.0 (C-4), 144.2 (C-1), 165.0 (C=O). LC-MS (m/z): 230 [M-SO₃K]⁻, 310 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: > 300 °C.



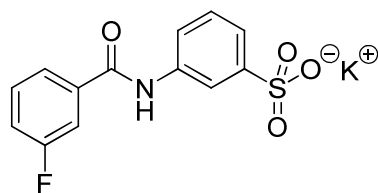
Kalium-4-(3,4-dichlorobenzamido)benzenesulfonat (55, MF81). Die Synthese erfolgte aus 3,4-Dichlorbenzoylchlorid (1.03 g, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Nach Umkristallisation in EtOH/Wasser (2:1)

konnte das Produkt als grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 516 mg (39 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.58 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.80 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 7.94 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 6'-H), 8.21 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2'-H), 10.40 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 119.5 (C-3, C-5), 126.2 (C-2, C-6), 128.2 (C-6'), 129.8 (C-2'), 130.9 (C-5'), 131.4 (C-3'), 134.5 (C-1'), 138.8 (C-4'), 138.8 (C-4), 144.4 (C-1), 163.2 (C=O). LC-MS (m/z): 264 [$\text{M-SO}_3\text{K}$], 344 [M-K]. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.8 %. Smp.: > 320 °C.



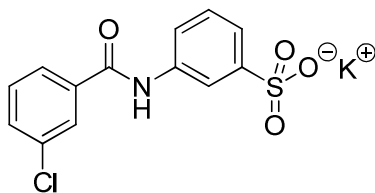
Kalium-4-(3-Brombenzamido)benzenesulfonat (56, MF38). Die Synthese erfolgte aus 3-Brombenzoylchlorid (1.08 g, 4.9 mmol) und Sulfanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1. Nach Umkristallisation in EtOH/Wasser (1:1) konnte das Produkt als grau-weißer Feststoff gewonnen werden.

Ausbeute: 958 mg (69 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.49 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.58 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.70 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.78 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 4'-H), 7.96 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6'-H), 8.13-8.15 (m, 1H, 2'-H), 10.36 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 119.5 (C-3, C-5), 121.8 (C-3'), 126.2 (C-2, C-6), 127.0 (C-6'), 130.4, 130.8 (C-2', C-5'), 134.4 (C-5'), 137.2 (C-1'), 138.9 (C-4), 144.3 (C-1), 164.1 (C=O). LC-MS (m/z): 274 [$\text{M-SO}_3\text{K}$], 354 [M-K]. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 95.3 %. Smp.: > 300 °C.



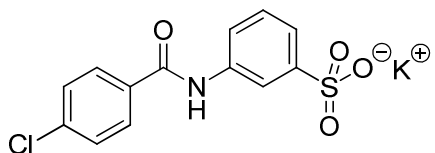
Kalium-3-(3-Fluorbenzamido)benzenesulfonat (57, MF83). Die Synthese erfolgte aus 3-Fluorbenzoylchlorid (0.60 mL, 4.9 mmol) und Metanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1.

Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand über eine RP18-Flash-Kieselgelsäule chromatografiert (Wasser/MeOH: Gradient in % von 100:0 zu 60:40). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.10 g (94 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.29 (dd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 5-H), 7.36 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4-H od. 6-H), 7.41-7.45 (m, 1H, 5'-H), 7.55-7.59 (m, 1H, 4'-H), 7.78-7.85 (m, 3H, 4-H od. 6-H u. 2'-H, 6'-H), 8.01 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 10.33 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 114.6 (d, $J = 22.9$ Hz, C-2'), 118.1 (C-2), 118.6 (d, $J = 21.1$ Hz, C-4'), 120.5, 121.3 (C-4, C-6), 124.0 (d, $J = 2.8$ Hz, C-6'), 128.0 (C-5), 130.7 (d, $J = 8.3$ Hz, C-5'), 137.3 (d, $J = 7.3$ Hz, C-1'), 138.4 (C-3), 149.1 (C-1), 161.1-163.1 (d, $J = 244.8$ Hz, C-3'), 164.1 (C=O). LC-MS (m/z): 294 [M-K]. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.1 %. Smp.: 188–190 °C.



Kalium-3-(3-chlorobenzamido)benzensulfonat (58, MF67). Die Synthese erfolgte aus 3-Chlorbenzoylchlorid (0.63 mL, 4.9 mmol) und Metanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.1.

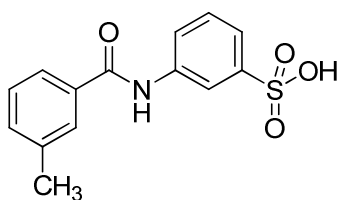
Nach Umkristallisation in Wasser konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.16 g (95 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.28 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5-H), 7.34 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 4-H od. 6-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.62-7.64 (m, 1H, 4'-H), 7.78-7.81 (m, 1H, 4-H od. 6-H), 7.95 (ddd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H, 6'-H), 8.00 (dd, $J = 1.8$ Hz, 1H, 2'-H), 8.04 (dd, $J = 1.8$ Hz, 1H, 2-H), 10.39 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 118.1 (C-2), 120.5, 121.1 (C-4, C-6), 126.6 (C-6'), 127.5 (C-2'), 127.9 (C-5), 130.4 (C-5'), 131.3 (C-4'), 133.2 (C-1'), 137.1 (C-3), 144.2 (C-3'), 148.9 (C-1), 164.0 (C=O). LC-MS (m/z): 310 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.0 %. Smp.: 195–197 °C.



Kalium-3-(4-chlorobenzamido)benzensulfonat (59, MF68). Die Synthese erfolgte aus 4-Chlorbenzoylchlorid (0.63 mL, 4.9 mmol) und Metanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift

5.2.1. Nach Umkristallisation in Wasser/EtOH (2:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.06 g (86 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.29 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.35 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4-H od. 6-H), 7.57-7.60 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.80 (ddd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 4-H od. 6-H), 7.99-8.02 (m, 3H, 2-H, 2'-H, 6'-H), 10.34 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 118.1 (C-2), 120.5, 121.2 (C-4, C-6), 128.0 (C-5), 128.6 (C-3', C-5'), 129.8 (C-2', C-6'), 133.7 (C-1'), 136.5 (C-4'), 138.5 (C-3), 149.1 (C-1), 164.5 (C=O). LC-MS (m/z): 310 [M-K]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 208–210 °C.

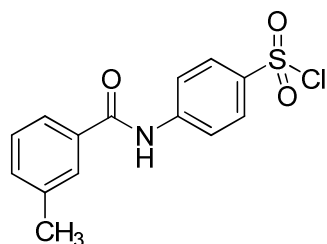
5.3.4 Benzamidobenzensulfonsäuren



3-(3-Methylbenzamido)benzenesulfonsäure (64, MF42).

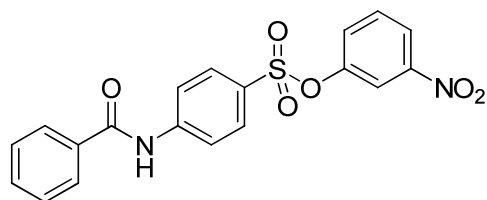
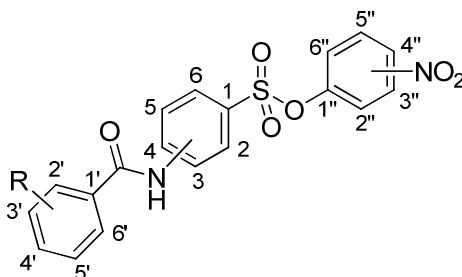
Die Synthese erfolgte aus *m*-Toluoylchlorid (0.65 mL, 4.9 mmol) und Metanilsäure (606 mg, 3.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.2. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 990 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.39 (s, 3H, CH₃), 7.28 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.34 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 6-H), 7.37-7.41 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.76-7.78 (m, 1H, 5'-H), 7.80-7.82 (m, 2H, 4-H, 2'-H), 8.03 (dd, $J = 1.6$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 10.21 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH₃), 118.0 (C-2), 120.4, 121.0 (C-4, C-6), 125.0 (C-5'), 127.9 (C-5), 128.3, 128.4 (C-2', C-6'), 132.2 (C-4'), 134.9 (C-1'), 137.8 (C-3'), 138.7 (C-3), 149.0 (C-1), 165.6 (C=O). LC-MS (m/z): 290 [M-H]⁻, 292 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.9 %. Smp.: 189–190 °C.

5.3.5 Benzamidobenzensulfonsäurechloride



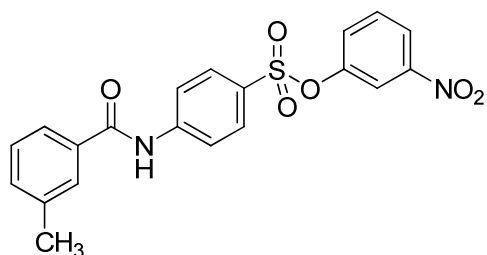
4-(3-Methylbenzamido)benzenesulfonsäurechlorid (MF30). Das Kaliumbenzamidobenzensulfonat **45** (1.34 g, 4.0 mmol) und PCl_5 (680 mg, 3.3 mmol) wurden in POCl_3 (12 mL) suspendiert und bei 105 – 110 °C für 3 h gerührt. Anschließend wurde der Überschuss POCl_3 unter Verwendung einer Wasserstrahlpumpe abdestilliert und der Rückstand vorsichtig auf ein Eis-Wasser-Gemisch (25 mL) gegeben um den letzten Rest POCl_3 zu hydrolysieren. Das Gemisch wurde bei 0 – 5 °C für 15 min stark gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit kaltem Wasser (10 mL) gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Produkt konnte als grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.24 g (98 %). Das Säurechlorid wurde ohne weitere Charakterisierung und Aufreinigung weiter umgesetzt.

5.3.6 3- und 4-Benzamidobenzensulfonsäurephenylester



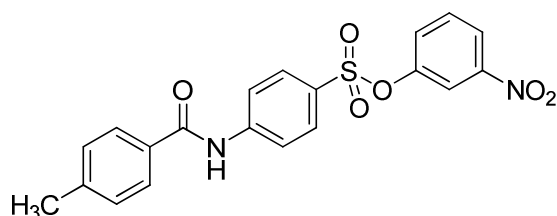
4-Benzamidobenzensulfonsäure-3-nitrophenylester (65, MF49). Die Synthese erfolgte aus **44** (315 mg, 1 mmol) und 3-Nitrophenol (278 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/

MeOH 99:1) lieferte das Produkt als einen weißen Feststoff. Ausbeute: 230 mg (58 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.52-7.56 (m, 3H, 3'-H, 5'-H, 6''-H), 7.62 (tt, $J = 7.4$ Hz, 1H, 4'-H), 7.70 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.88-7.91 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 7.95-7.98 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.07-8.10 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.75 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 117.5 (C-2''), 120.2 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 127.3 (C-4), 128.0, 128.6 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 129.1 (C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 131.6 (C-5''), 132.3 (C-4'), 134.3 (C-1'), 145.5 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 166.5 (C=O). IR (ATR): 3333, 3107, 1659, 1593, 1513, 1403, 1349, 1314, 1261, 1201, 1174, 1098, 931, 907, 828, 744, 711, 685, 658, 613, 562, 495, 405 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 397 $[\text{M-H}]^-$, 399 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (248-302 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 171 °C.



4-(3-Methylbenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (4, MF02).⁹⁸ Die Synthese erfolgte aus **45** (659 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.2. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM) lieferte das Produkt als gelbes Öl, welches durch Eiskühlung als weiß-gelber

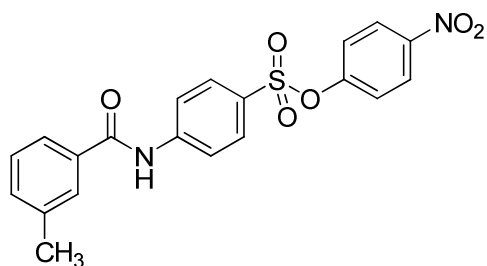
Feststoff auskristallisierte. Ausbeute: 591 mg (72 %). ¹H-NMR: δ 2.40 (s, 3H, CH₃), 7.43-7.44 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.53 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 2H, 6''-H), 7.70 (dd, $J = 8.4$ Hz, 2H, 5''-H), 7.73-7.76 (m, 1H, 5'-H), 7.77 (s, 1H, 2'-H), 7.88-7.90 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 8.07-8.09 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 2H, 4''-H), 10.70 ppm (s, 1H, NH). IR (ATR): 3403, 3103, 1685, 1585, 1521, 1401, 1378, 1353, 1322, 1271, 1250, 1203, 1162, 1093, 931, 910, 829, 759, 736, 699, 681, 666, 599, 561, 458 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 411 [M-H]⁻, 413 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 99.0 %. Smp.: 129 °C (Lit.⁹⁸ 127 °C).



4-(4-Methylbenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (66, MF48).

Die Synthese erfolgte aus **46** (329 mg, 1 mmol) und 3-Nitrophenol (278 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung

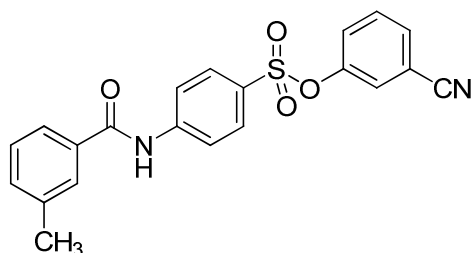
(DCM) lieferte das Produkt als einen weißen Feststoff. Ausbeute: 228 mg (55 %). ¹H-NMR: δ 3.29 (s, 3H, CH₃), 7.35 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.53 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 6''-H), 7.70 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.87-7.90 (m, 5H, 2-H, 6-H, 2'-H, 6'-H, 2''-H), 8.07-8.10 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.19 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.65 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 21.2 (CH₃), 117.5 (C-2''), 120.2 (C-3, C-5), 122.5 (C-4''), 127.1 (C-4), 128.1, 129.1 (C-2', C-3', C-5', C-6', C-6''), 129.8 (C-2, C-6), 131.4 (C-1'), 131.6 (C-5''), 142.5 (C-4'), 145.6 (C-1), 148.4, 149.1 (C-1'', C-3''), 166.2 (C=O). IR (ATR): 3348, 3104, 1654, 1591, 1522, 1401, 1346, 1314, 1263, 1202, 1173, 1097, 926, 910, 829, 756, 741, 666, 630, 559 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 411 [M-H]⁻, 413 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (229-308 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 183 °C.



4-(3-Methylbenzamido)benzenesulfonsäure-4-nitrophenylester (67, MF32). Die Synthese erfolgte aus **MF30** (620 mg, 2 mmol) und 4-Nitrophenol (556 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.5. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte das Rohprodukt, welches in DCM/MeOH (5:1) umkristallisiert

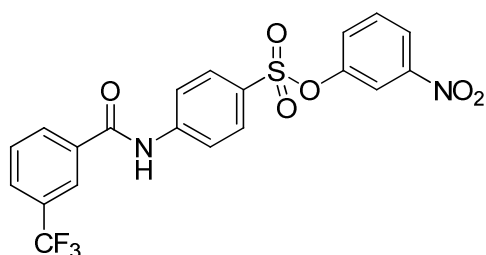
wurde. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 483 mg (59 %). ¹H-NMR: δ 2.40 (s, 3H, CH₃), 7.34-7.36 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.42-7.44 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.74-7.76 (m, 1H, 5'-H), 7.77 (s, 1H, 2'-H), 7.88-7.90 (m, 2H, 2-H, 6-

H), 8.07-8.09 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.25-8.28 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 10.70 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 21.1 (CH₃), 120.2 (C-3, C-5), 123.5 (C-2'', C-6''), 125.2 (C-5'), 125.9 (C-3'', C-5''), 127.3 (C-4), 128.4, 128.5 (C-2', C-6'), 129.8 (C-2, C-6), 132.9 (C-4'), 134.4 (C-1'), 138.0 (C-3'), 145.6, 146.2 (C-1, C-1''), 153.4 (C-4''), 166.6 (C=O). IR (ATR): 3372, 1677, 1584, 1530, 1372, 1351, 1315, 1248, 1197, 1174, 1148, 1086, 862, 837, 760, 729, 689, 661, 616, 581, 561, 464 cm⁻¹. LC-MS (*m/z*): 411 [M-H]⁻, 413 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (229-308 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 152–153 °C.



4-(3-Methylbenzamido)benzenesulfon-säure-3-cyanophenylester (68, MF36). Die Synthese erfolgte aus **MF30** (140 mg, 0.45 mmol), 3-Cyanophenol (81 mg, 0.68 mmol) und DIPEA (0.12 mL, 0.68 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.5. Zweifache säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1 und EtOAc/Cyclohexan

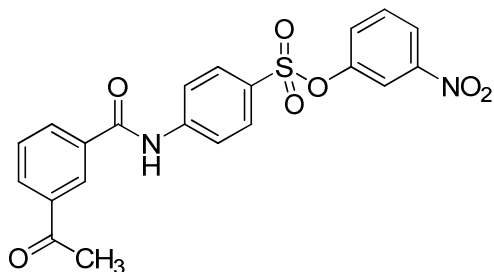
2:1) lieferte das Rohprodukt, welches in DCM (2 mL) gelöst wurde. Nach tropfenweiser Zugabe von Cyclohexan (2 mL) unter Eiskühlung wurde die Lösung über Nacht bei 4 °C stehen gelassen. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, mit kleinen Mengen Cyclohexan gewaschen und im Vakuum bei 45 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 99 mg (56 %). ¹H-NMR: δ 2.40 (s, 3H, CH₃), 7.39 (ddd, *J* = 8.5 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1H, 6''-H), 7.43-7.44 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.61 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 8.2 Hz, 1H, 5''-H), 7.65-7.66 (m, 1H, 2''-H), 7.74-7.76 (m, 1H, 5'-H), 7.77 (s, 1H, 2'-H), 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 8.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 10.70 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 21.1 (CH₃), 112.9 (C-3''), 117.6 (CN), 120.2 (C-3, C-5, C-2''), 125.2 (C-5'), 126.2 (C-4'' od. C-6''), 127.3 (C-4), 127.6 (C-4'' od. C-6''), 128.4, 128.5 (C-2', C-6'), 129.8 (C-2, C-6), 131.7 (C-5''), 132.9 (C-5'), 134.4 (C-1'), 138.0 (C-3'), 145.5 (C-1), 149.1 (C-1''), 166.6 (C=O). LC-MS (*m/z*): 391 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (221-401 nm)-ESI-MS: 90.6 %. Smp.: 125–126 °C.



4-(3-(Trifluormethyl)benzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (69, MF70).

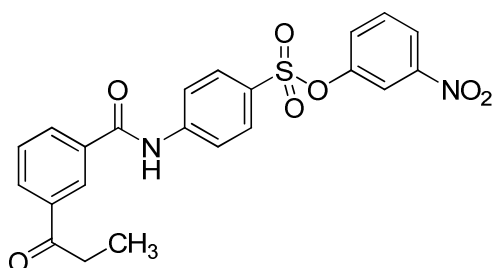
Die Synthese erfolgte aus **47** (767 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 637 mg (68 %). ¹H-NMR: δ 7.54 (ddd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 2.2 Hz, 1H, 6''-H), 7.70 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1H, 5''-H), 7.80 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5'-H), 7.89 (dd, *J* = 2.2 Hz, 1H, 2''-H), 7.92 (dd, *J* = 9.1 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.98-8.01 (m, 1H, 4'-H), 8.08 (dd, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 2.2 Hz, 1H, 4''-H), 8.26 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6'-H), 8.29 (s, 1H, 2'-H), 10.92 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 117.5 (C-2''), 120.5 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 124.0 (q, *J* = 274.9 Hz, CF₃), 124.6 (q, *J* = 3.7 Hz, C-2'), 127.6 (C-4), 128.8 (C-4'), 129.1 (C-6''), 129.4 (q, *J* = 32.1 Hz, C-3'), 129.9 (C-2, C-6), 130.0 (C-5'), 131.7 (C-5''), 132.2 (C-6'), 135.3 (C-1'), 145.2 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 165.0

(C=O). IR (ATR): 3386, 3081, 1686, 1590, 1524, 1376, 1319, 1251, 1204, 1165, 1095, 1071, 933, 896, 824, 803, 752, 735, 703, 681, 623, 571, 554 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 465 $[\text{M-H}]^-$, 467 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 165–166 $^{\circ}\text{C}$.



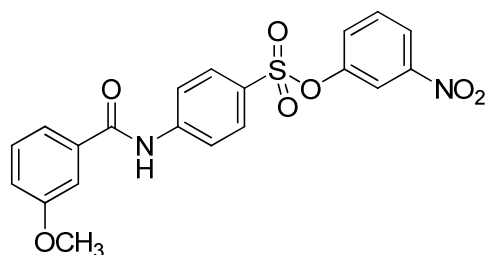
4-(3-Acetylbenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (70, MF08). Die Synthese erfolgte aus **48** (120 mg, 0.33 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.3. Das Produkt konnte als grau-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 58 mg (40 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.65 (s, 3H, CH_3), 7.53 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, 6''-H), 7.69–

7.72 (m, 2H, 5'-H, 5''-H), 7.88–7.92 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 8.08 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.17–8.24 (m, 3H, 4'-H, 6'-H, 4''-H), 8.48 (s, 1H, 2'-H), 10.92 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.0 (CH_3), 117.5 (C-2''), 120.3 (C-2'), 120.4 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 127.5 (C-4), 127.5 (C-5'), 129.1, 129.2 (C-4', C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 131.6, 131.8 (C-6', C-5''), 132.5 (C-4'), 134.8 (C-1'), 137.1 (C-3'), 145.3 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 165.8 (CO-NH), 197.6 (CO- CH_3). IR (ATR): 3373, 3078, 1674, 1588, 1525, 1376, 1354, 1324, 1229, 1173, 929, 855, 823, 774, 756, 740, 684, 668, 652, 554 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 439 $[\text{M-H}]^-$, 441 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (235–301 nm)-ESI-MS: 98.1 %. Smp.: 170–172 $^{\circ}\text{C}$.



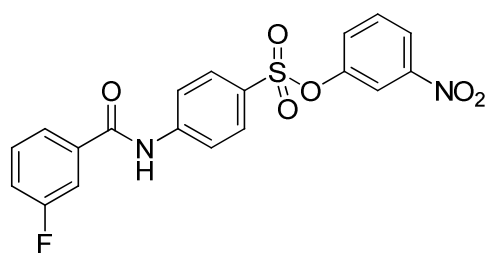
4-(3-Propionylbenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (71, MF11). Die Synthese erfolgte aus **49** (371 mg, 1 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.4. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 210 mg (46 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 3.13 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.54

(ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H, 6''-H), 7.69–7.72 (m, 2H, 5'-H, 5''-H), 7.89 (dd, $J = 2.4$ Hz, 1H, 2''-H), 7.90–7.93 (m, 2H, 2-H, 6-H), 8.07–8.10 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.18–8.21 (m, 3H, 4'-H, 6'-H, 4''-H), 8.49 (dd, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2'-H), 10.90 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 8.11 (CH_3), 31.6 (CH_2), 117.5 (C-2''), 120.4 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 127.2 (C-2'), 127.5 (C-4), 129.1, 129.2 (C-5', C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 131.4 (C-6'), 131.7 (C-5''), 132.3 (C-4'), 134.8 (C-1'), 136.9 (C-3'), 145.3 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 165.8 (CO-NH), 200.1 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$). IR (ATR): 3368, 3076, 1682, 1588, 1523, 1377, 1352, 1322, 1247, 1205, 1189, 1171, 929, 909, 856, 823, 805, 758, 731, 671, 651, 574, 552 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 453 $[\text{M-H}]^-$, 455 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (220–400 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 198 $^{\circ}\text{C}$.



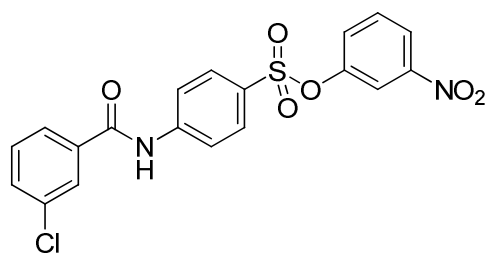
4-(3-Methoxybenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (72, MF50). Die Synthese erfolgte aus **50** (345 mg, 1 mmol) und 3-Nitrophenol (278 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte ein farbloses Öl, welches durch Stehen lassen bei 4 °C über

Nacht als farbloser, kristalliner Feststoff auskristallisierte. Ausbeute: 290 mg (68 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7.19 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H, 4'-H), 7.46 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.48-7.49 (m, 1H, 2'-H), 7.52-7.55 (m, 2H, 6'-H, 6''-H), 7.70 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.88-7.91 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 8.06-8.09 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.70 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.5 (OCH₃), 113.3 (C-2'), 117.5 (C-2''), 118.0 (C-4'), 120.3 (C-3, C-5, C-6'), 122.5 (C-4''), 127.3 (C-4), 129.1 (C-6''), 129.8 (C-2, C-6, C-5'), 131.6 (C-5''), 135.7 (C-1'), 145.4 (C-1), 148.4, 149.1 (C-1'', C-3''), 159.3 (C-3'), 166.2 (C=O). IR (ATR): 3405, 3093, 3078, 1680, 1585, 1518, 1491, 1372, 1316, 1276, 1204, 1166, 1091, 1031, 934, 904, 863, 827, 757, 738, 694, 667, 578, 558 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 427 [M-H]⁻, 429 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (248-302 nm)-ESI-MS: 99.9 %. Smp.: 130 °C.



4-(3-Fluorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (73, MF54). Die Synthese erfolgte aus **51** (333 mg, 1 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.6. Zweifache säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 98:2 und 99:1) lieferte das Produkt als weiß-gelben

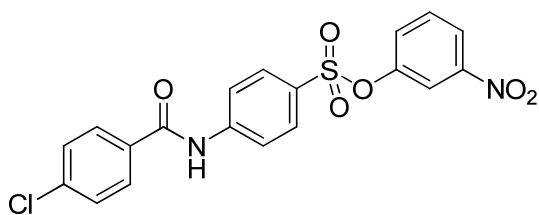
Feststoff. Ausbeute: 141 mg (34 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.46-7.50 (m, 1H, 5'-H), 7.53 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 6''-H), 7.59-7.63 (m, 1H, 4'-H), 7.70 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.78 (m, 1H, 2'-H), 7.80-7.83 (m, 1H, 6'-H), 7.88-7.92 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 8.06-8.09 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.79 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 114.9 (d, $J = 22.9$ Hz, C-2'), 117.5 (C-2''), 119.2 (d, $J = 22.0$ Hz, C-4'), 120.4 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 124.3 (d, $J = 3.7$ Hz, C-6'), 127.5 (C-4), 129.1 (C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 130.8 (d, $J = 8.2$ Hz, C-5'), 131.7 (C-5''), 136.6 (d, $J = 6.4$ Hz, C-1'), 145.2 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 161.1-163.0 (d, $J = 243.2$ Hz, C-3'), 165.1 (C=O). IR (ATR): 3333, 3107, 1663, 1590, 1517, 1404, 1349, 1315, 1199, 1173, 1097, 930, 908, 886, 829, 741, 679, 658, 555 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 415 [M-H]⁻, 417 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 154 °C.



4-(3-Chlorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (74, MF51). Die Synthese erfolgte aus **52** (700 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte das Produkt als

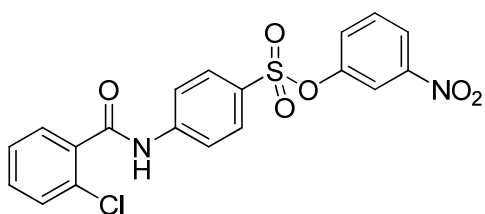
einen weiß-gelben Feststoff. Ausbeute: 575 mg (66 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.52 (ddd, $J = 8.2$

Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 6''-H), 7.58 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6'-H), 7.67-7.71 (m, 2H, 5'-H, 5''-H), 7.88-7.93 (m, 4H, 2-H, 6-H, 7'-H, 2''-H), 8.01 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 3'-H), 8.05-8.08 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.08 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.19 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.82 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 117.5 (C-2''), 120.4 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 126.9 (C-6'), 127.6 (C-4), 127.8 (C-2'), 129.1 (C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 130.7 (C-5'), 131.7 (C-5''), 132.1 (C-4'), 133.4 (C-3'), 136.3 (C-1'), 145.2 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 165.0 (C=O). IR (ATR): 3419, 3107, 1682, 1591, 1522, 1400, 1353, 1323, 1246, 1203, 1172, 1093, 931, 889, 845, 822, 801, 766, 752, 692, 665, 577, 545 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 431 $[\text{M-H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.8 %. Smp.: 160 °C.



4-(4-Chlorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (75, MF53). Die Synthese erfolgte aus **53** (280 mg, 0.8 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.6. Zweifache säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 98:2 und 99:1)

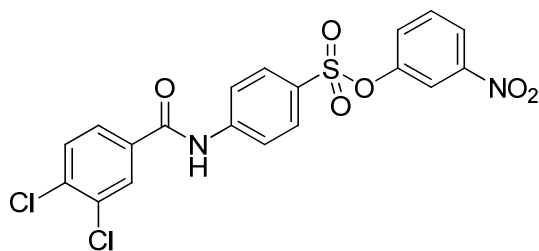
lieferte das Produkt als weiß-gelben Feststoff. Ausbeute: 85 mg (25 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.53 (ddd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H, 6''-H), 7.61-7.64 (m, 2 H, 3'-H, 5'-H), 7.70 (dd, $J = 8.4$ Hz, 1H, 5''-H), 7.88-7.92 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 7.98-8.01 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.79 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 117.5 (C-2''), 120.3 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 127.4 (C-4), 128.7 (C-3', C-5'), 129.1 (C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 130.0 (C-2', C-6'), 131.7 (C-5''), 133.0 (C-2'), 137.2 (C-5'), 145.3 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 165.4 (C=O). IR (ATR): 3422, 3105, 1692, 1588, 1523, 1491, 1377, 1350, 1326, 1162, 1100, 933, 823, 759, 678, 573, 558 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 431 $[\text{M-H}]^-$, 433 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 151 °C.



4-(2-Chlorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (76, MF72). Die Synthese erfolgte aus **54** (700 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Zweifache säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1 und

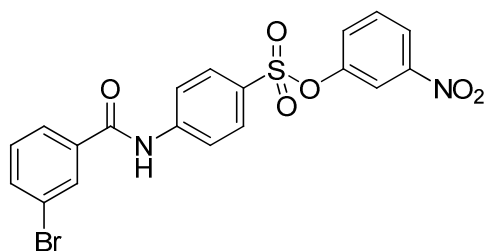
DCM/MeOH 124:1) und anschließende Umkristallisation in DCM (7 mL) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 537 mg (62 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.47 (ddd, $J = 7.5$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 5'-H), 7.52-7.55 (m, 2 H, 4'-H, 6'-H), 7.58 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 6''-H), 7.63 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 3'-H), 7.71 (dd, $J = 8.3$ Hz, 1H, 5''-H), 7.89-7.92 (m, 3H, 2-H, 6-H, 2''-H), 7.98 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 11.06 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 117.5 (C-2''), 119.7 (C-3, C-5), 122.6 (C-4''), 127.5 (C-5'), 127.6 (C-4), 129.1 (C-6', C-6''), 129.9 (C-3'), 130.0 (C-1'), 130.1 (C-2, C-6), 131.6, 131.7 (C-4', C-5''), 136.2 (C-2'), 145.0 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 165.8 (C=O). IR (ATR): 3390, 3108, 1693, 1589, 1525, 1405, 1370, 1345, 1322, 1255, 1201, 1168, 1094, 928, 893, 826, 810, 758, 679, 661, 644, 606,

583, 554, 462 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 431 $[\text{M-H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 155–157 $^{\circ}\text{C}$.



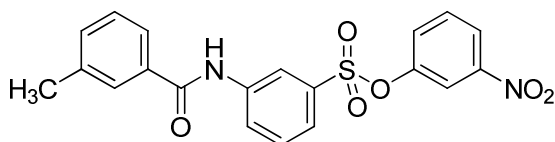
4-(3,4-Dichlorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (77, MF88). Die Synthese erfolgte aus **55** (384 mg, 1 mmol) und 3-Nitrophenol (278 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte

das Produkt als weiß-gelben Feststoff. Ausbeute: 348 mg (75 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.53 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H, 6''-H), 7.70 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 7.89 (dd, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2''-H), 7.90-7.92 (m, 2H, 2-H, 6-H), 7.94 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 6'-H), 8.04-8.07 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 8.22 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2'-H), 11.06 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 117.5 (C-2''), 120.4 (C-3, C-5), 122.5 (C-4''), 127.6 (C-4), 128.4 (C-6'), 129.1 (C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 129.9 (C-2'), 131.0 (C-5'), 131.5 (C-1'), 131.6 (C-5''), 134.6 (C-3'), 135.1 (C-4'), 145.0 (C-1), 148.4, 149.1 (C-1'', C-3''), 164.0 (C=O). IR (ATR): 3406, 3093, 1681, 1590, 1520, 1468, 1403, 1348, 1235, 1199, 1161, 1095, 1028, 922, 823, 740, 704, 674, 660, 620, 589, 553, 499 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 465 $[\text{M-H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.3 %. Smp.: 204–205 $^{\circ}\text{C}$.



4-(3-Bromobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (78, MF71). Die Synthese erfolgte aus **56** (700 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte ein gelbes Öl,

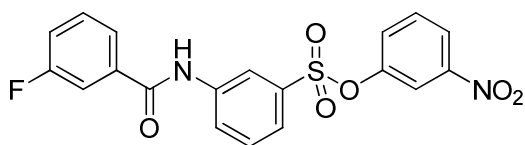
welches in DCM gelöst wurde. Durch langsames Zutropfen von Cyclohexan konnte das Produkt als weiß-gelber Feststoff gefällt werden, welcher abfiltriert, mit Cyclohexan gewaschen und im Vakuum bei 40 $^{\circ}\text{C}$ getrocknet wurde. Ausbeute: 418 mg (44 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 7.50-7.54 (m, 2H, 5'-H, 6''-H), 7.70 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.82 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 4'-H), 7.89 (dd, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2''-H), 7.91 (m, 2H, 2-H, 6-H), 7.95 (m, 1H, 6'-H), 8.06 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.14 (dd, $J = 1.7$ Hz, 1H, 2'-H), 8.20 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4''-H), 10.81 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 117.5 (C-2''), 120.4 (C-3, C-5), 121.9 (C-3'), 122.6 (C-4''), 127.3 (C-6'), 127.6 (C-4), 129.2 (C-6''), 129.9 (C-2, C-6), 130.6, 130.9 (C-2', C-5'), 131.7 (C-5''), 135.0 (C-4'), 136.5 (C-1'), 145.2 (C-1), 148.5, 149.1 (C-1'', C-3''), 164.9 (C=O). IR (ATR): 3418, 3108, 1682, 1591, 1521, 1399, 1354, 1323, 1246, 1203, 1170, 1082, 931, 887, 842, 822, 759, 740, 664, 577, 545 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 477 $[\text{M-H}]^-$, 479 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 131 $^{\circ}\text{C}$.



**3-(3-Methylbenzamido)benzenesulfon-
säure-3-nitrophenylester (79, MF65).**

Die Synthese erfolgte aus **64** (291 mg, 1 mmol) und 3-Nitrophenol (278 mg,

2 mmol) nach Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte ein farbloses Öl, welches in DCM (2 mL) gelöst wurde. Anschließend wurde Cyclohexan (4 mL) zugegeben, wobei das Produkt wieder als farbloses Öl ausfiel. Das Gemisch wurde bei 4 °C über Nacht stehen gelassen. Der auskristallisierte Feststoff wurde abfiltriert, mit Cyclohexan (5 mL) gewaschen und im Vakuum bei 40 °C getrocknet. Das Produkt konnte als farbloser, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 236 mg (57 %). ¹H-NMR: δ 2.40 (s, 3H, CH₃), 7.41-7.43 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.57 (ddd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 2.2 Hz, 2H, 6''-H), 7.60 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.9 Hz, 1H, 6-H), 7.67 (dd, *J* = 8.1 Hz, 1H, 5-H), 7.72 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, 1H, 5''-H), 7.73-7.76 (m, 1H, 5'-H), 7.77 (br, 1H, 2'-H), 7.87 (dd, *J* = 2.2 Hz, 1H, 2''-H), 8.20-8.22 (m, 2H, 4-H, 4''-H), 8.45 (dd, *J* = 2.1 Hz, 1H, 2-H), 10.58 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 10.0 (CH₃), 117.5 (C-2''), 119.2 (C-2), 122.7 (C-4''), 123.0 (C-6), 125.0 (C-5'), 126.3 (C-4), 128.3, 128.5 (C-2', C-6'), 129.1 (C-6''), 130.6 (C-5), 131.7 (C-5''), 132.7 (C-4'), 134.1, 134.3 (C-3, C-1'), 138.0 (C-3'), 140.6 (C-1), 148.4, 149.0 (C-1'', C-3''), 166.2 (C=O). IR (ATR): 3408, 3113, 1678, 1589, 1526, 1473, 1412, 1371, 1331, 1284, 1166, 1077, 930, 897, 823, 802, 759, 728, 679, 664, 596, 574, 524, 484 cm⁻¹. LC-MS (*m/z*): 411 [M-H]⁻, 413 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.7 %. Smp.: 82–84 °C.

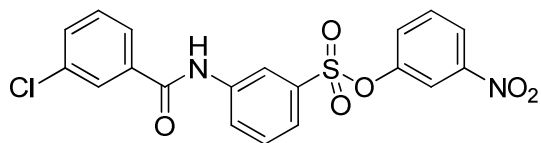


**3-(3-Fluorbenzamido)benzenesulfonsäure-
3-nitrophenylester (80, MF89).**

Die Synthese erfolgte aus **57** (668 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach

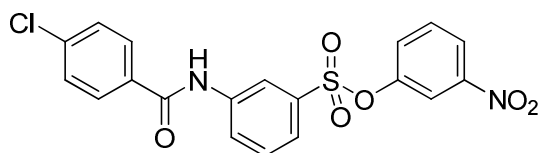
Vorschrift 5.2.3.1. Zweifache säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1 und 124:1) lieferte ein farbloses Öl, welches in DCM (2 mL) gelöst wurde. Anschließend wurde so viel Petrolether zugetropft bis gerade noch kein Feststoff ausfiel. Die Lösung wurde bei RT stehen gelassen. Nach 15 min kristallisierte das Produkt langsam aus. Zur Vervollständigung wurde das Gemisch bei 4 °C über Nacht gelagert. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit einem kaltem DCM-Petrolether-Gemisch (1:1, 4 mL) gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 419 mg (50 %). ¹H-NMR: δ 7.45-7.49 (m, 1H, 5'-H), 7.56-7.64 (m, 3H, 6-H, 4'-H, 6''-H), 7.68-7.73 (m, 2H, 5-H, 5''-H), 7.76-7.79 (m, 1H, 2'-H), 7.80-7.83 (m, 1H, 6'-H), 7.87 (dd, *J* = 2.2 Hz, 1H, 2''-H), 8.19-8.22 (m, 2H, 4-H, 4''-H), 8.43 (dd, *J* = 1.9 Hz, 1H, 2-H), 10.68 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 114.7 (d, *J* = 23.8 Hz, C-2''), 117.5 (C-2''), 119.1 (d, *J* = 21.1 Hz, C-4'), 119.3 (C-2), 122.7 (C-4''), 123.4 (C-6), 124.1 (d, *J* = 2.8 Hz, C-6'), 126.4 (C-4), 129.2 (C-6''), 130.7 (C-5), 130.8 (d, *J* = 8.2 Hz, C-5'), 131.7 (C-5''), 134.1 (C-3), 136.6 (d, *J* = 7.3 Hz, C-1'), 140.3 (C-1), 148.5, 149.0 (C-1'', C-3''), 161.1-163.0 (d, *J* = 243.8 Hz, C-3'), 164.7 (C=O). IR (ATR): 3391, 3069, 1672, 1587, 1523, 1479, 1364, 1307, 1267, 1197, 1164, 1080, 933, 888, 829, 793, 761, 705, 681, 665, 581, 515, 407 cm⁻¹. LC-MS

(m/z): 415 [M-H]⁻, 417 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 105–106 °C.



3-(3-Chlorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (81, MF69). Die Synthese erfolgte aus **58** (700 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach

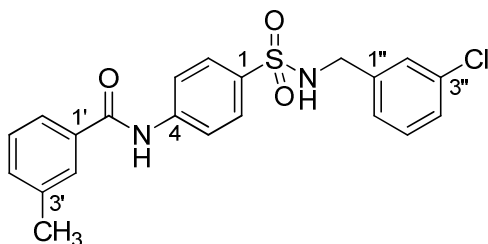
Vorschrift 5.2.3.1. Säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) lieferte ein gelbes Öl, welches in DCM (2 mL) gelöst wurde. Anschließend wurde Cyclohexan (4 mL) zugegeben, wobei das Produkt wieder als gelbes Öl ausfiel. Das Gemisch wurde bei 4 °C über Nacht stehen gelassen. Der auskristallisierte Feststoff wurde abfiltriert, mit Cyclohexan (5 mL) gewaschen und im Vakuum bei 40 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 224 mg (26 %). ¹H-NMR: δ 7.56-7.60 (m, 2H, 5'-H, 6''-H), 7.62-7.64 (m, 1H, 6-H), 7.67-7.73 (m, 3H, 5-H, 4'-H, 5''-H), 7.86 (dd, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2''-H), 7.90-7.92 (m, 1H, 6'-H), 8.01 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2'-H), 8.19-8.22 (m, 2H, 4-H, 4''-H), 8.42 (dd, $J = 2.1$ Hz, 1H, 2-H), 10.71 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 117.5 (C-2''), 119.4 (C-2), 122.7 (C-4''), 123.4 (C-6), 126.4 (C-4), 126.7 (C-6'), 127.6 (C-2'), 129.2 (C-6''), 130.7 (C-5, C-5'), 131.7 (C-5''), 132.0 (C-4'), 133.4 (C-3'), 134.1 (C-3), 136.2 (C-1'), 140.3 (C-1), 148.5, 149.0 (C-1'', C-3''), 164.7 (C=O). IR (ATR): 3391, 3087, 1681, 1591, 1525, 1486, 1350, 1310, 1248, 1193, 1162, 1100, 1078, 919, 899, 820, 794, 757, 737, 675, 627, 540, 499 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 431 [M-H]⁻, 433 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.2 %. Smp.: 131 °C.



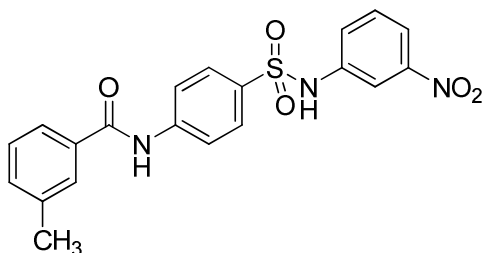
3-(4-Chlorobenzamido)benzenesulfonsäure-3-nitrophenylester (82, MF86). Die Synthese erfolgte aus **59** (700 mg, 2 mmol) und 3-Nitrophenol (556 mg, 4 mmol) nach

Vorschrift 5.2.3.1. Zweifache säulenchromatografische Aufreinigung (DCM/MeOH 99:1) und anschließende Umkristallisation in MeOH (5 mL) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 493 mg (57 %). ¹H-NMR: δ 7.57 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 6''-H), 7.60-7.64 (m, 3H, 6-H, 3'-H, 5'-H), 7.68 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.72 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5''-H), 7.86 (dd, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2''-H), 7.99 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.18-8.22 (m, 2H, 4-H, 4''-H), 8.43 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 10.68 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 117.5 (C-2''), 119.3 (C-2), 122.7 (C-4''), 123.3 (C-6), 126.4 (C-4), 128.7 (C-3', C-5'), 129.1 (C-6''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.6 (C-5), 131.7 (C-5''), 133.0 (C-2'), 134.1 (C-3), 137.1 (C-5'), 140.4 (C-1), 148.5, 149.0 (C-1'', C-3''), 165.0 (C=O). IR (ATR): 3388, 3099, 3075, 1686, 1593, 1525, 1485, 1343, 1306, 1239, 1200, 1169, 1081, 1013, 925, 899, 822, 793, 747, 730, 676, 662, 622, 534, 512, 424 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 431 [M-H]⁻, 433 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 157–158 °C.

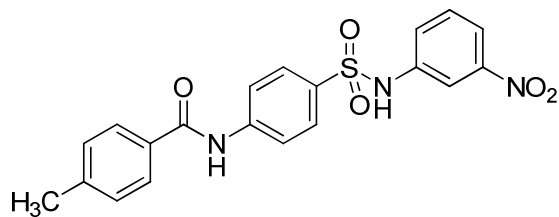
5.3.7 4-Benzamidobenzensulfonamide



***N*-(4-(*N*-(3-Chlorbenzyl)sulfonyl)phenyl)-3-methylbenzamid (88, MF43).** Die Synthese erfolgte aus **MF30** (186 mg, 0.6 mmol) nach Vorschrift 5.2.4.2. Das Produkt konnte als ein orange-farbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 166 mg (67 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3H, CH_3), 4.01 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H, CH_2), 7.20-7.22 (m, 2H, 4''-H od. 6''-H), 7.21-7.32 (m, 3H, 2''-H, NH-SO_2 u. 4''-H od. 6''-H), 7.42-7.43 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.75-7.78 (m, 4H, 2-H, 6-H, 2'-H, 5'-H), 7.96-7.98 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.10 (dd, $J = 6.5$ Hz, 1H, 5''-H), 10.52 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.0 (CH_3), 45.5 (CH_2), 119.9 (C-3, C-5), 125.1 (C-5'), 126.3, 127.1, 127.4 (C-4'', C-5'', C-6''), 127.5 (C-2, C-6), 128.3, 128.4 (C-2', C-6'), 130.1 (C-2''), 132.6 (C-4'), 133.0 (C-4), 134.6 (C-1'), 134.9 (C-3''), 137.9 (C-3'), 140.6 (C-1), 142.9 (C-1''), 166.2 (C=O). IR (ATR): 3368, 3236, 1671, 1593, 1531, 1397, 1316, 1269, 1195, 1148, 1093, 999, 870, 828, 731, 687, 657, 562, 501 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 413 $[\text{M-H}]^-$, 415 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (251-301 nm)-ESI-MS: 95.4 %. Smp.: 213 °C (Zers.).



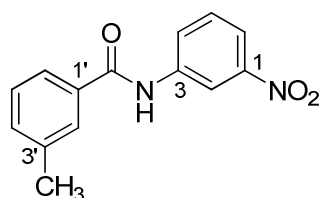
3-Methyl-*N*-(4-(*N*-(3-nitrophenyl)sulfonyl)phenyl)benzamid (89, MF47). Die Synthese erfolgte aus **45** (329 mg, 1 mmol) nach Vorschrift 5.2.4.1. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand in verd. HCl-Lösung (1 N, 25 mL) suspendiert und mit EtOAc extrahiert (3 x 25 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt bis gerade das Produkt als Feststoff ausfiel. Zur Vervollständigung der Ausfällung wurde die Suspension in einem Eis-Wasserbad gekühlt. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit EtOAc (2 x 2 mL) gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als lachsfarbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 243 mg (59 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.38 (s, 3H, CH_3), 7.39-7.41 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.51-7.55 (m, 2H, 4''-H, 6''-H), 7.69-7.72 (m, 1H, 5'-H), 7.73 (br, 1H, 2'-H), 7.78-7.81 (m, 2H, 2-H, 6-H), 7.85-7.87 (m, 1H, 5''-H), 7.93-7.95 (m, 3H, 3-H, 5-H, 2''-H), 10.52 (s, 1H, NH-CO), 10.82 (s, 1H, NH-SO_2). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH_3), 113.5 (C-2''), 118.4 (C-5''), 120.2 (C-3, C-5), 125.1 (C-5'), 125.4 (C-6''), 128.0 (C-2, C-6), 128.3, 128.5 (C-2', C-6'), 130.9 (C-4''), 132.7 (C-4'), 133.0 (C-4), 134.5 (C-1'), 137.9 (C-3'), 139.4 (C-1''), 143.7 (C-1), 148.3 (C-3''), 166.2 (C=O). IR (ATR): 3380, 3146, 1656, 1588, 1529, 1403, 1341, 1160, 1092, 960, 885, 865, 839, 734, 647, 583, 557, 456 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 410 $[\text{M-H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (200-950 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 234 °C (Zers.).



4-Methyl-N-(4-(N-(3-nitrophenyl)sulfonyl)phenyl)benzamid (90, MF45). Die Synthese erfolgte aus **46** (329 mg, 1 mmol) nach Vorschrift 5.2.4.1. Das Reaktionsgemisch wurde mit verd. HCl-Lösung (1 N, 25 mL) verdünnt und mit

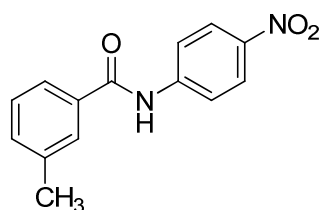
CH_2Cl_2 extrahiert (2 x 40 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde in EtOAc umkristallisiert. Das Produkt konnte als rosafarbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 244 mg (59 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.37 (s, 3H, CH_3), 7.32 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.52-7.54 (m, 2H, 4''-H, 6''-H), 7.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 7.83-7.87 (m, 3H, 2'-H, 6'-H, 5''-H), 7.94-7.96 (m, 3H, 3-H, 7-H, 2''-H), 10.47 (s, 1H, NH-CO), 10.81 (s, 1H, NH-SO₂). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.2 (CH_3), 113.5 (C-2''), 118.4 (C-5''), 120.2 (C-3, C-5), 125.4 (C-6''), 128.0, 129.1 (C-2, C-6, C-2', C-3', C-5', C-6'), 130.9 (C-4''), 131.6 (C-1'), 133.0 (C-4), 139.4 (C-1''), 142.3 (C-4'), 143.8 (C-1), 148.4 (C-3''), 166.0 (C=O). IR (ATR): 3368, 3066, 2894, 1653, 1590, 1529, 1508, 1404, 1323, 1272, 1159, 1093, 960, 902, 826, 794, 750, 730, 708, 604, 571, 549, 432 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 410 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (221-303 nm)-ESI-MS: 98.3 %. Smp.: 261 °C (Zers.).

5.3.8 3-Methyl-N-(nitrophenyl)benzamide und Nitro-N-3-tolylbenzamide



3-Methyl-N-(3-nitrophenyl)benzamid (91, MF97).²⁷⁷ Die Synthese erfolgte aus *m*-Toluoylchlorid (1.59 ml, 12.0 mmol) und 3-Nitroanilin (1.66 g, 12.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.5.1. Nach Umkristallisation in EtOAc/Cyclohexan (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden.

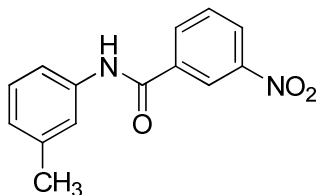
Ausbeute: 2.84 g (92 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.41 (s, 3H, CH_3), 7.43-7.44 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.64 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.77-7.79 (m, 1H, 5'-H), 7.80 (s, 1H, 2'-H), 7.94 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1H, 4-H od. 6-H), 8.19 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 1H, 4-H od. 6-H), 8.79 (dd, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2-H), 10.62 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH_3), 114.5 (C-2), 118.2 (C-6), 125.1 (C-5'), 126.3 (C-4), 128.3, 128.5 (C-2', C-6'), 130.2 (C-5), 132.7 (C-4'), 134.4 (C-1'), 138.0 (C-3'), 140.6 (C-3), 148.1 (C-1), 166.3 (C=O). LC-MS (m/z): 255 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.0 %. Smp.: 137–138 °C.



3-Methyl-N-(4-nitrophenyl)benzamid (92, MF105).²⁷⁹ Die Synthese erfolgte aus *m*-Toluoylchlorid (3.18 ml, 24.0 mmol) und 4-Nitroanilin (3.32 g, 24.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.5.2. Nach Umkristallisation in EtOAc/Cyclohexan (1:2) konnte das Produkt als fein-kristalliner, zitronengelber

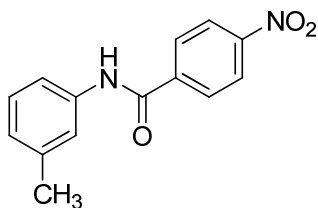
Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 5.69 g (93 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3H, CH_3), 7.43-7.44 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.75-7.77 (m, 1H, 5'-H), 7.78 (s, 1H, 2'-H), 8.04-8.06

(m, 2H, 3-H, 5-H), 8.24-8.26 (m, 2H, 2-H, 6-H), 10.73 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.0 (CH₃), 119.9 (C-2, C-6), 124.9 (C-3, C-5), 125.2 (C-5'), 128.4, 128.5 (C-2', C-6'), 132.9 (C-4'), 134.4 (C-4), 138.0 (C-1'), 142.6 (C-3'), 145.7 (C-1), 166.5 (C=O). LC-MS (m/z): 255 [M-H]⁻, 257 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.7 %. Smp.: 145–147 °C (Lit.²⁷⁹ 142–144 °C).



3-Nitro-*N*-3-tolylbenzamid (93, MF93).²⁸¹ Die Synthese erfolgte aus *m*-Nitrobenzoylchlorid (1.48 g, 8.0 mmol) und 3-Methylanilin (0.87 mL, 8.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.5.1. Nach Umkristallisation in Toluol und säulenchromatografischer Auftrennung (Kieselgel, DCM/MeOH 98:2)

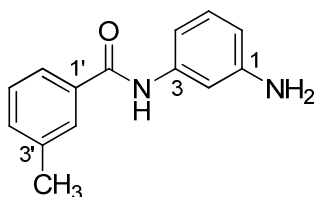
konnte das Produkt als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.97 g (96 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.32 (s, 3H, CH₃), 6.94-6.96 (m, 1H, 4'-H), 7.25 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5'-H), 7.56-7.58 (m, 1H, 6'-H), 7.61 (s, 1H, 2'-H), 7.83 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 8.38-8.43 (m, 2H, 4-H, 6-H), 8.79 (dd, $J = 2.0$ Hz, 1H, 2-H), 10.47 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.3 (CH₃), 117.9 (C-6'), 121.3 (C-2'), 122.5 (C-2), 125.0 (C-4'), 126.2 (C-4), 128.6 (C-5'), 130.3 (C-5), 134.3 (C-6), 136.5 (C-3), 138.0 (C-1'), 138.7 (C-3'), 147.9 (C-1), 163.4 (C=O). LC-MS (m/z): 255 [M-H]⁻, 257 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 112–114 °C (Lit.²⁸¹ 115–118 °C).



4-Nitro-*N*-3-tolylbenzamid (94, MF106).²⁸² Die Synthese erfolgte aus *p*-Nitrobenzoylchlorid (4.46 g, 24.0 mmol) und 3-Methylanilin (2.62 mL, 24.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.5.1. Nach Umkristallisation in EtOAc/Cyclohexan (1:2)

konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 5.72 g (93 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.31 (s, 3H, CH₃), 6.95 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 6'-H), 7.25 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.56 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 6'-H), 7.61 (s, 1H, 2'-H), 8.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.35 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 10.44 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.3 (CH₃), 117.8 (C-6'), 121.1 (C-2'), 123.6 (C-2, C-6), 125.0 (C-4'), 128.6 (C-5'), 129.3 (C-3, C-5), 138.0 (C-1'), 138.7 (C-4), 140.8 (C-3'), 149.2 (C-1), 163.9 (C=O). LC-MS (m/z): 255 [M-H]⁻, 257 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.8 %. Smp.: 150–151 °C (Lit.²⁸³ 151–155 °C).

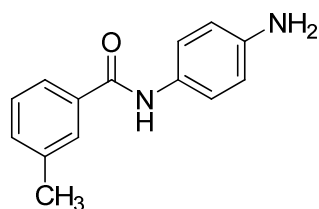
5.3.9 *N*-(Aminophenyl)-3-methylbenzamide und Amino-*N*-3-tolylbenzamide



***N*-(3-Aminophenyl)-3-methylbenzamid (95, MF98).**²⁷⁸ Die Synthese erfolgte aus **91** (2.56 g, 10 mmol) nach Vorschrift 5.2.6.1. Das Produkt konnte als braun-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 2.15 g (95 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.38 (s, 3H, CH₃), 5.03 (s, 2H, NH₂), 6.30 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J =$

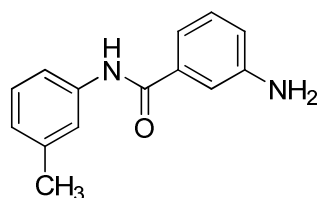
2.2 Hz, 1H, 6-H), 6.85 (ddd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 4'-H), 6.94 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 7.10 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2-H), 7.35-7.39 (m, 2H, 4-H, 5-H), 7.69-7.71 (m, 1H, 6'-H), 7.72 (s, 1H, 2'-H), 9.85 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1

(CH₃), 106.3 (C-2), 108.6, 109.9 (C-4, C-6), 124.9 (C-5'), 128.2, 128.3 (C-2', C-6'), 128.9 (C-5), 132.0 (C-4'), 135.5 (C-1'), 137.7 (C-3'), 139.9 (C-3), 149.0 (C-1), 165.5 (C=O). LC-MS (*m/z*): 225 [M-H]⁻, 227 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96.7 %.



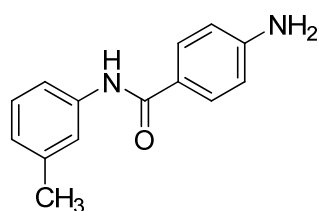
N-(4-Aminophenyl)-3-methylbenzamid (96, MF108).²⁸⁰

Die Synthese erfolgte aus **92** (1.00 g, 3.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.6.2. Nach Umkristallisation in EtOAc/Cyclohexan (1:2) konnte das Produkt als rosafarbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 658 mg (75 %). ¹H-NMR: δ 2.37 (s, 3H, CH₃), 4.88 (s, 2H, NH₂), 6.52-6.54 (m, 2H, 2-H, 6-H), 7.33-7.38 (m, 4H, 3-H, 5-H, 4'-H, 5'-H), 7.68-7.70 (m, 1H, 6'-H), 7.72 (s, 1H, 2'-H), 9.78 (s, 1H, NH-CO). ¹³C-NMR: δ 21.1 (CH₃), 113.8 (C-2, C-6), 122.3 (C-3, C-5), 124.7 (C-5'), 128.1, 128.3 (C-2', C-6'), 128.3 (C-4), 131.7 (C-4'), 135.5 (C-1'), 137.6 (C-3'), 145.3 (C-1), 164.9 (C=O). LC-MS (*m/z*): 225 [M-H]⁻, 227 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 104–106 °C.



3-Amino-N-3-tolylbenzamid (97, MF95).²⁸¹

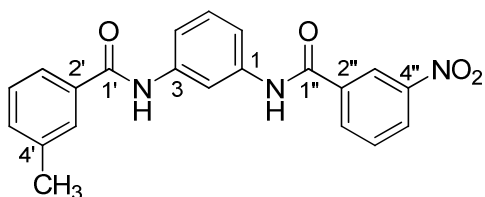
Die Synthese erfolgte aus **93** (2.82 g, 11 mmol) nach Vorschrift 5.2.6.1. Das Produkt konnte als grauer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 2.14 g (86 %). ¹H-NMR: δ 2.29 (s, 3H, CH₃), 5.26 (s, 2H, NH₂), 6.73 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 2.2 Hz, 1H, 6-H), 6.88-6.89 (m, 1H, 4'-H), 7.05 (ddd, *J* = 7.6 Hz, 1H, 4-H), 7.08 (dd, *J* = 1.9 Hz, 1H, 2-H), 7.13 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 7.6 Hz, 1H, 5'-H), 7.19 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 7.6 Hz, 1H, 5-H), 7.52-7.54 (m, 1H, 6'-H), 7.60 (s, 1H, 2'-H), 9.93 (s, 1H, NH-CO). ¹³C-NMR: δ 21.3 (CH₃), 113.1 (C-2), 114.8, 116.8 (C-4, C-6), 117.5 (C-6'), 120.9 (C-2'), 124.2 (C-4'), 128.5, 128.8 (C-5, C-5'), 136.1, 137.7 (C-3, C-1'), 139.4 (C-3'), 148.8 (C-1), 166.4 (C=O). LC-MS (*m/z*): 225 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.2 %.



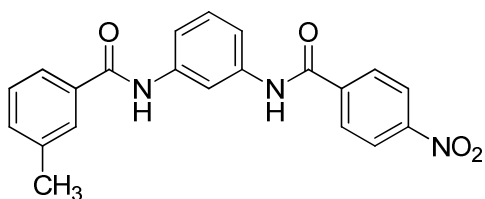
4-Amino-N-3-tolylbenzamid (98, MF107).²⁸³

Die Synthese erfolgte aus **94** (1.33 g, 5.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.6.2. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.06 g (94 %). ¹H-NMR: δ 2.28 (s, 3H, CH₃), 5.69 (s, 2H, NH₂), 6.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 6.84 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, 4'-H), 7.17 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5'-H), 7.52 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 7.58 (s, 1H, 2'-H), 7.70 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 9.63 (s, 1H, NH-CO). ¹³C-NMR: δ 21.4 (CH₃), 112.7 (C-2, C-6), 117.4 (C-6'), 120.8 (C-2'), 121.4 (C-4), 123.7 (C-4'), 128.4 (C-5'), 129.4 (C-3, C-5), 137.6 (C-1'), 139.8 (C-3'), 152.2 (C-1), 165.3 (C=O). LC-MS (*m/z*): 225 [M-H]⁻, 227 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.1 %.

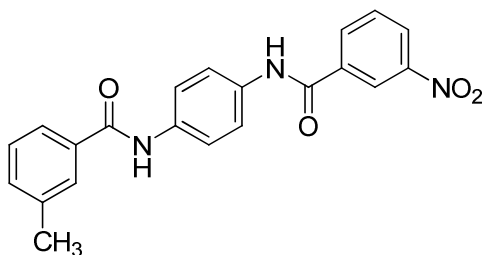
5.3.10 Methyl-*N*-(nitrobenzamido)phenyl)benzamide



3-Methyl-*N*-(3-(3-nitrobenzamido)phenyl)benzamid (99, MF102). Die Synthese erfolgte aus **95** (249 mg, 1.1 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.7. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 341 mg (91 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3H, CH_3), 7.34 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.38-7.43 (m, 2H, 5'-H, 6'-H), 7.50-7.54 (m, 2H, 4-H, 6-H), 7.75-7.77 (m, 1H, 7'-H), 7.78 (s, 1H, 3'-H), 7.84 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6''-H), 8.34 (dd, $J = 1.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 3''-H), 8.40-8.44 (m, 2H, 5''-H, 7''-H), 8.80 (dd, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2-H), 10.25 (s, 1H, NH), 10.62 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH_3), 113.1 (C-2), 116.3, 116.6 (C-4, C-6), 122.6 (C-3''), 125.0 (C-6'), 126.3 (C-5''), 128.3, 128.4 (C-3', C-7'), 128.8 (C-5), 130.3 (C-6''), 132.2 (C-5'), 134.3 (C-7''), 135.1 (C-2'), 136.5 (C-2''), 137.8 (C-4'), 139.0, 139.6 (C-1, C-3), 147.9 (C-5''), 163.5, 165.8 (C-1', C-1''). IR (ATR): 3308, 3084, 1644, 1605, 1528, 1488, 1441, 1351, 849, 779, 680, 455 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 374 $[\text{M-H}]^-$, 376 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.9 %. Smp.: 247–248 °C (Zers.).

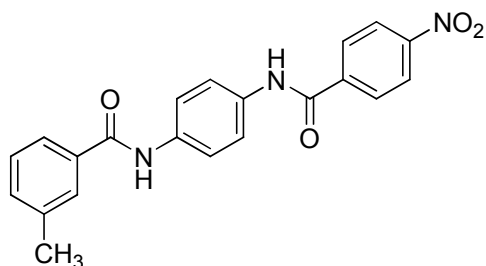


3-Methyl-*N*-(3-(4-nitrobenzamido)phenyl)benzamid (100, MF104). Die Synthese erfolgte aus **95** (249 mg, 1.1 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.7. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 369 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3H, CH_3), 7.33 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.38-7.40 (m, 2H, 5'-H, 6'-H), 7.50-7.52 (m, 2H, 4-H, 6-H), 7.74-7.76 (m, 1H, 7'-H), 7.77 (s, 1H, 3'-H), 8.20 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 3''-H, 7''-H), 8.34 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 8.36 (dd, $J = 8.8$ Hz, 2H, 4''-H, 6''-H), 10.25 (s, 1H, NH), 10.59 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH_3), 113.0 (C-2), 116.2, 116.6 (C-4, C-6), 123.6 (C-4'', C-6''), 125.0 (C-6'), 128.2, 128.3 (C-3', C-7'), 128.8 (C-5), 129.3 (C-3'', C-7''), 132.2 (C-5'), 135.1 (C-2'), 137.7 (C-4'), 139.0, 139.6 (C-1, C-3), 140.7 (C-2''), 149.3 (C-5''), 164.0, 165.8 (C-1', C-1''). IR (ATR): 3305, 3078, 1642, 1603, 1523, 1492, 1344, 1316, 1208, 865, 853, 835, 805, 776, 743, 683, 659, 455, 405 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 374 $[\text{M-H}]^-$, 376 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.1 %. Smp.: 256–257 °C (Zers.).



3-Methyl-*N*-(4-(3-nitrobenzamido)phenyl)benzamid (103, MF123). Die Synthese erfolgte aus **96** (249 mg, 1.1 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.7. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 275 mg (73 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3H, CH_3); 7.38-7.42 (m, 2H, 5'-H, 6'-H); 7.74-7.79 (m, 6H, 2-H, 3-H, 5-H, 6-H, 3'-H, 7'-H); 7.84 (dd, $J =$

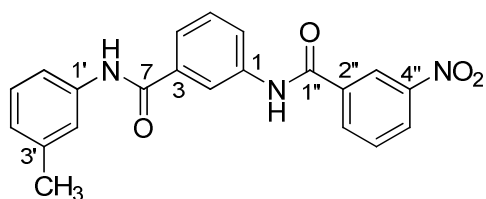
8.1 Hz, 1H, 6''-H); 8.40-8.44 (m, 2H, 5''-H, 7''-H); 8.79 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 3''-H); 10.20 (s, 1H, NH), 10.55 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH₃); 120.8, 121.0 (C-2, C-3, C-5, C-6); 122.5 (C-3''); 124.9 (C-6'); 126.2 (C-5''); 128.2, 128.4 (C-3', C-7'); 130.3 (C-6''); 132.2 (C-5'); 134.2 (C-7''); 134.5 (C-1 od. C-4); 135.1 (C-2'); 135.6 (C-1 od. C-4); 136.5 (C-2''); 137.8 (C-4'); 147.9 (C-4''); 163.2, 165.6 (C-1', C-1''). IR (ATR): 3287, 3049, 2926, 1640, 1528, 1400, 1350, 1321, 929, 816, 687, 526, 417 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 374 [M-H]⁻, 376 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.7 %. Smp.: 282–284 °C (Zers.).



3-Methyl-*N*-(4-(4-nitrobenzamido)phenyl)benzamid (104, MF122). Die Synthese erfolgte aus **96** (249 mg, 1.1 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.7. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 340 mg (91 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3 H, CH₃), 7.38-

7.42 (m, 2H, 5'-H, 6'-H), 7.73-7.78 (m, 6H, 2-H, 3-H, 5-H, 6-H, 3'-H, 7'-H), 8.19 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3''-H, 7''-H), 8.36 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 4''-H, 6''-H), 10.19 (s, 1H, NH), 10.53 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (CH₃), 120.7, 120.9 (C-2, C-3, C-5, C-6), 123.6 (C-4'', C-6''), 124.9 (C-6'), 128.2, 128.4 (C-3', C-7'), 129.3 (C-3'', C-7''), 132.2 (C-5'), 134.5 (C-1 od. C-4), 135.1 (C-2'), 135.6 (C-1 od. C-4), 137.8 (C-4'), 140.8 (2''), 149.2 (C-5''), 163.7, 165.6 (C-1', C-1''). IR (ATR): 3311, 3055, 1637, 1604, 1543, 1517, 1397, 1314, 1107, 854, 814, 774, 744, 707, 681, 524 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 374 [M-H]⁻, 376 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 315–317 °C (Zers.).

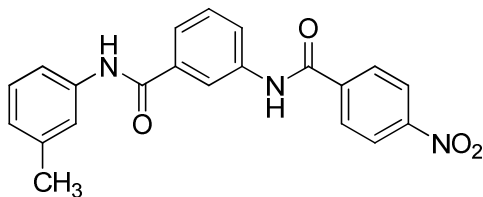
5.3.11 3- und 4-(Nitrobenzamido)-*N*-tolylbenzamide



3-(3-Nitrobenzamido)-*N*-3-tolylbenzamid (101, MF96). Die Synthese erfolgte aus **97** (249 mg, 1.1 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.8. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen

werden. Ausbeute: 324 mg (86 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.31 (s, 3H, CH₃), 6.92 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 4'-H), 7.23 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.57 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6'-H), 7.61 (s, 1H, 2'-H), 7.72-7.74 (m, 1H, 4-H), 7.85 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 8.2$ Hz, 1H, 6''-H), 8.03-8.05 (m, 1H, 6-H), 8.29 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 8.43-8.46 (m, 2H, 5''-H, 7''-H), 8.84 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, 1H, 3''-H), 10.18 (s, 1H, NH), 10.76 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.3 (CH₃), 117.7 (C-6'), 120.3 (C-2), 121.0 (C-2'), 122.5 (C-3''), 123.1, 123.5 (C-4, C-6), 124.5 (C-4'), 126.4 (C-5''), 128.5 (C-5'), 128.8 (C-5), 130.3 (C-6''), 134.3 (C-7''), 135.9 (C-1'), 136.1 (C-2''), 137.8 (C-3'), 139.0, 139.1 (C-1, C-3), 147.9 (C-4''), 165.4, 163.6 (C-7, C-1''). IR (ATR): 3315, 3272, 3084, 1645, 1609, 1532, 1487, 1350, 1321, 1261, 897, 874, 843, 782, 721, 683, 536, 446 cm⁻¹. LC-

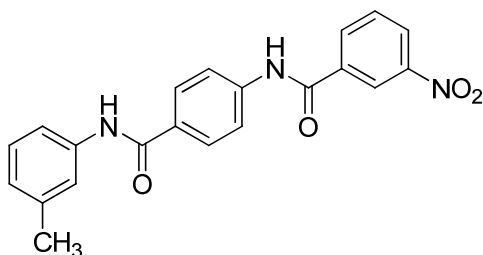
MS (m/z): 374 $[M-H]^-$, 376 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.5 %. Smp.: 208–209 °C (Zers.).



3-(4-Nitrobenzamido)-*N*-3-tolylbenzamid

(**102**, MF103). Die Synthese erfolgte aus **97** (249 mg, 1.1 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.8. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen

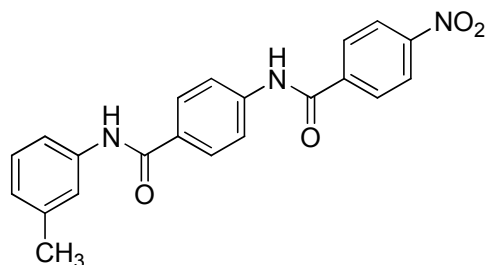
werden. Ausbeute: 371 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.31 (s, 3H, CH_3), 6.92 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, 5'-H), 7.23 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6'-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.56 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 7'-H), 7.61 (s, 1H, 3'-H), 7.71-7.73 (m, 1H, 4-H), 8.00-8.02 (m, 1H, 6-H), 8.22 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3''-H, 7''-H), 8.30 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 8.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 4''-H, 6''-H), 10.18 (s, 1H, NH), 10.73 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.3 (CH_3), 117.7 (C-6'), 120.3 (C-2), 121.1 (C-2'), 123.2, 123.5 (C-4, C-6), 123.7 (C-4'', C-6''), 124.5 (C-4'), 128.6 (C-6'), 128.9 (C-5), 129.4 (C-3'', C-7''), 135.9 (C-3), 137.9 (C-1'), 139.0, 139.2 (C-1, C-2''), 140.4 (C-3'), 149.4 (C-5''), 164.2, 165.5 (C-7, C-1''). IR (ATR): 3321, 3268, 3072, 1642, 1584, 1519, 1488, 1436, 1345, 1317, 854, 841, 805, 780, 713, 688, 602, 540, 448 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 374 $[M-H]^-$, 376 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 247–248 °C (Zers.).



4-(3-Nitrobenzamido)-*N*-3-tolylbenzamid

(**105**, MF121). Die Synthese erfolgte aus **98** (249 mg, 1.1 mmol) und 3-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.8. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen

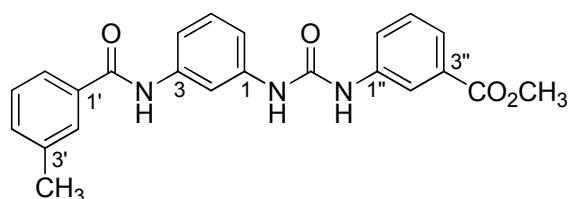
werden. Ausbeute: 256 mg (68 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.31 (s, 3H, CH_3), 6.91 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 4'-H), 7.22 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.57 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 6'-H), 7.62 (s, 1H, 2'-H), 7.85 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6''-H), 7.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 8.41-8.46 (m, 2H, 5''-H, 7''-H), 8.81 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 3''-H), 10.06 (s, 1H, NH), 10.79 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.3 (CH_3), 117.7 (C-6'), 119.8 (C-2, C-6), 121.0 (C-2'), 122.6 (C-3''), 124.3 (C-4'), 126.5 (C-5''), 128.5 (C-5'), 128.6 (C-3, C-5), 130.3 (C-4), 130.4 (C-6''), 134.4 (C-7''), 136.1 (C-2''), 137.8 (C-1'), 139.3 (C-4'), 141.7 (C-6), 147.9 (C-4''), 163.8, 164.9 (C-7, C-1''). IR (ATR): 3336, 3279, 3046, 1645, 1595, 1516, 1426, 1346, 1323, 1258, 1182, 899, 870, 832, 784, 687, 613, 445 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 374 $[M-H]^-$, 376 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.3 %. Smp.: 250–251 °C (Zers.).



4-(4-Nitrobenzamido)-N-3-tolylbenzamid (106, MF120). Die Synthese erfolgte aus **98** (249 mg, 1.1 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (186 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.8. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 274 mg (73 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.31 (s, 3H, CH_3), 6.91 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 4'-H),

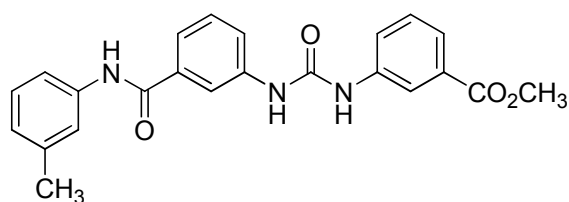
7.22 (dd, $^3J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.56 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6'-H), 7.62 (s, 1H, 2'-H), 7.93 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 8.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3''-H, 7''-H), 8.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 4''-H, 6''-H), 10.06 (s, 1H, NH), 10.78 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.4 (CH_3), 117.7 (C-6'), 119.8 (C-2, C-6), 121.1 (C-2''), 123.7 (C-4'', C-6''), 124.4 (C-4'), 128.5 (C-5'), 128.6 (C-3, C-5), 129.5 (C-3'', C-7''), 130.4 (C-4), 137.8 (C-1'), 139.3 (C-2''), 140.4 (C-3'), 141.8 (C-6), 149.5 (C-5''), 164.4, 164.9 (C-7, C-1''). IR (ATR): 3324, 3251, 3031, 1635, 1596, 1519, 1487, 1313, 1267, 1013, 857, 834, 782, 688, 512, 445 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 374 $[\text{M-H}]^-$, 376 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.4 %. Smp.: 271–273 °C (Zers.).

5.3.12 Substituierte 3-(3-Phenylureido)benzoesäuremethylester



3-(3-(3-(3-Methylbenzamido)-phenyl)ureido)benzoesäuremethylester (107, MF109). Die Synthese erfolgte aus **95** (339 mg, 1.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.9.2. Das Produkt konnte als weißer

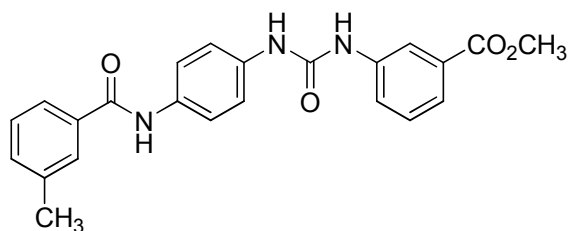
Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 378 mg (62 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.39 (s, 3H, Ar- CH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 7.20–7.26 (m, 2H, 5-H u. 4-H od. 6-H), 7.38–7.44 (m, 4H, 4-H od. 6-H u. 4'-H, 5'-H, 5''-H), 7.55–7.61 (m, 2H, 4''-H, 6''-H), 7.73–7.75 (m, 1H, 6'-H), 7.77 (s, 1H, 2'-H), 8.01 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 8.24 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2''-H), 8.75 (s, 1H, NH-CO-NH), 8.86 (s, 1H, NH-CO-NH), 10.17 (s, 1H, NH-CO). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.1 (Ar- CH_3), 52.3 (OCH_3), 110.6 (C-2), 113.9, 114.4 (C-4, C-6), 118.7 (C-2''), 122.6, 122.8 (C-4'', C-6''), 125.0 (C-5'), 128.3, 128.4 (C-2', C-6'), 129.0 (C-5), 129.3 (C-5''), 130.4 (C-3''), 132.2 (C-4'), 135.2 (C-1'), 137.8 (C-3'), 139.8, 140.3 (C-1, C-3, C-1''), 152.6 (NH-CO-NH), 165.8, 166.4 (CO-NH, $\underline{\text{CO}}\text{-OCH}_3$). IR (ATR): 3285, 3028, 2955, 2850, 1719, 1651, 1627, 1604, 1568, 1533, 1488, 1440, 1303, 1222, 1103, 1079, 977, 870, 845, 779, 742, 693, 618, 451, 401 cm^{-1} . LC-MS (m/z): 402 $[\text{M-H}]^-$, 404 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.8 %. Smp.: 232–233 °C.



3-(3-(3-(3-Tolylcarbamoyl)-phenyl)ureido)benzoesäuremethylester (108, MF111). Die Synthese erfolgte aus **97** (339 mg, 1.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.9.1. Das Produkt konnte als weißer

Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 328 mg (54 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.30 (s, 3H, Ar- CH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 6.91 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 4'-H), 7.22 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H)

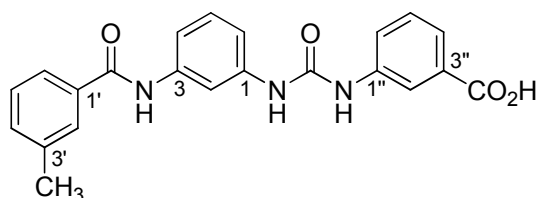
H), 7.43 (2 x dd, $J = 7.9$ Hz, 2H, 5-H, 5''-H), 7.55-7.69 (m, 6H, 4-H, 6-H, 2'-H, 6'-H, 4''-H, 6''-H), 7.97 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2''-H), 8.22 (dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2-H), 8.90 (s, 1H, NH-CO-NH), 8.98 (s, 1H, NH-CO-NH), 10.13 (s, 1H, NH-CO). ^{13}C -NMR: δ 21.3 (Ar-CH₃), 52.3 (OCH₃), 117.7, 118.0 (C-2, C-6'), 118.9 (C-2''), 121.0 (C-2'), 121.2, 121.5 (C-4, C-6), 122.7, 123.0 (C-4'', C-6''), 124.4 (C-4'), 128.5 (C-5'), 128.9 (C-5), 129.3 (C-5''), 130.3 (C-3''), 136.0 (C-3), 137.8 (C-1'), 139.2, 139.8, 140.2 (C-1, C-3', C-1''), 152.7 (NH-CO-NH), 165.7, 166.3 (CO-NH, CO-OCH₃). IR (ATR): 3285, 2961, 2917, 1723, 1652, 1625, 1568, 1533, 1437, 1302, 1214, 1102, 1079, 972, 809, 777, 740, 688, 606, 401 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 402 [M-H]⁻, 404 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.4 %. Smp.: 227–228 °C.



3-(3-(3-(3-Methylbenzamido)phenyl)ureido)benzoic acid methyl ester (109, MF125). Die Synthese erfolgte aus **96** (339 mg, 1.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.9.1. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute:

322 mg (53 %). ^1H -NMR: δ 2.39 (s, 3H, Ar-CH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 7.38-7.44 (m, 5H, 4'-H, 5'-H, 5''-H, 2-H/6-H od. 3-H/5-H), 7.55-7.56 (m, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.61-7.62 (m, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.67-7.69 (m, 2H, 2-H/6-H od. 3-H/5-H), 7.73-7.74 (m, 1H, 6'-H), 7.76 (s, 1H, 2'-H), 8.19-8.20 (m, 1H, 2''-H), 8.64 (s, 1H, NH-CO-NH), 8.89 (s, 1H, NH-CO-NH), 10.09 (s, 1H, NH-CO). ^{13}C -NMR: δ 21.1 (Ar-CH₃), 52.3 (OCH₃), 118.7 (C-2''), 118.8, 121.2 (C-2, C-3, C-5, C-6), 122.5, 122.8 (C-5'', C-6''), 124.9 (C-5'), 128.2, 128.4 (C-2', C-6'), 129.3 (C-5''), 130.3 (C-3''), 132.1 (C-4'), 133.9 (C-4), 135.2, 135.4 (C-1, C-1'), 137.8 (C-3'), 140.4 (C-1''), 152.7 (NH-CO-NH), 165.4, 166.4 (CO-NH, CO-OCH₃). IR (ATR): 3274, 3014, 2955, 1719, 1636, 1603, 1509, 1420, 1293, 1218, 1105, 1080, 978, 844, 787, 747, 708, 660, 624, 532, 455, 406 cm⁻¹. LC-MS (m/z): 402 [M-H]⁻, 404 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.4 %. Smp.: 222–223 °C (Zers.).

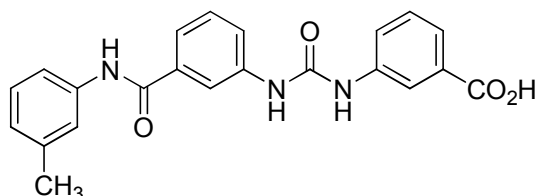
5.3.13 Substituierte 3-(3-Phenylureido)benzoensäuren



3-(3-(3-(3-Methylbenzamido)phenyl)ureido)benzoic acid (110, MF114). Die Synthese erfolgte aus **107** (202 mg, 0.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.10. Das Produkt konnte als weißer Feststoff

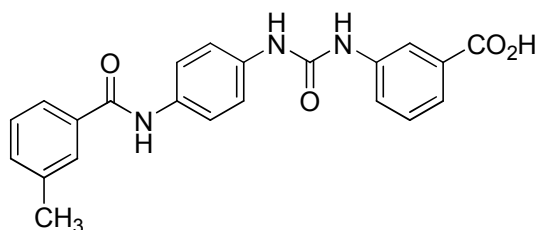
gewonnen werden. Ausbeute: 142 mg (73 %). ^1H -NMR: δ 2.39 (s, 3H, CH₃), 7.23-7.26 (m, 2H, 5-H u. 4-H od. 6-H), 7.38-7.41 (m, 4H, 4-H od. 6-H u. 4'-H, 5'-H, 5''-H), 7.54-7.55 (m, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.61-7.62 (m, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.74-7.75 (m, 1H, 6'-H), 7.77 (s, 1H, 2'-H), 7.99 (s, 1H, 2-H), 8.16 (s, 1H, 2''-H), 8.75 (s, 1H, NH-CO-NH), 8.84 (s, 1H, NH-CO-NH), 10.16 (s, 1 H, NH-CO), 12.86 (s, 1H, CO₂H). ^{13}C -NMR: δ 21.3 (CH₃), 110.6 (C-2), 113.8, 114.3 (C-4, C-6), 119.0 (C-2''), 122.4, 122.8 (C-4'', C-6''), 125.0 (C-5'), 128.3, 128.3 (C-2', C-6'), 128.9 (C-5), 129.1 (C-5''), 131.5 (C-3''),

132.2 (C-4'), 135.2 (C-1'), 137.8 (C-3'), 139.8, 139.9, 140.1 (C-1, C-3, C-1''), 152.6 (NH-CO-NH), 165.8, 167.4 (CO-NH, CO₂H). IR (ATR): 3284, 3014, 2914, 2671, 1681, 1650, 1628, 1606, 1569, 1537, 1490, 1448, 1287, 1232, 914, 870, 845, 780, 743, 693, 620, 451, 420 cm⁻¹. LC-MS (*m/z*): 388 [M-H]⁻, 390 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 259–261 °C (Zers.).



3-(3-(3-(3-Tolylcarbonyl)phenyl)ureido)benzoic acid (111, MF115). Die Synthese erfolgte aus **108** (202 mg, 0.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.10. Das Produkt konnte als weißer Feststoff

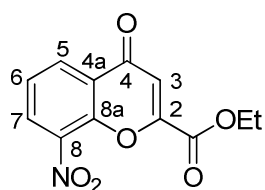
gewonnen werden. Ausbeute: 181 mg (93 %). ¹H-NMR: δ 2.30 (s, 3H, CH₃), 6.91 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, 4'-H), 7.22 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5'-H), 7.40 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5-H od. 5''-H), 7.43 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5-H od. 5''-H), 7.54-7.62 (m, 3H, 4-H od. 6-H, 4''-H od. 6''-H, 6'-H), 7.61 (s, 1H, 2'-H), 7.65-7.66 (m, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.68-7.69 (m, 1H, 4-H od. 6-H), 7.96 (dd, *J* = 1.7 Hz, 1H, 2''-H), 8.14 (dd, *J* = 1.7 Hz, 1H, 2-H), 8.94 (s, 1H, NH-CO-NH), 8.97 (s, 1H, NH-CO-NH), 10.13 (s, 1H, NH-CO), 12.9 (s, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 21.3 (CH₃), 117.7, 117.9 (C-2, C-6'), 119.2 (C-2''), 121.0 (C-2'), 121.1, 121.4 (C-4, C-6), 122.6, 123.0 (C-4'', C-6''), 124.4 (C-4'), 128.5 (C-5'), 128.9 (C-5), 129.1 (C-5''), 131.6 (C-3''), 136.0 (C-3), 137.8 (C-1'), 139.2, 139.9, 140.0 (C-1, C-3', C-1''), 152.7 (NH-CO-NH), 165.7, 167.4 (CO-NH, CO₂H). IR (ATR): 3282, 3011, 2911, 2668, 1681, 1650, 1629, 1568, 1485, 1448, 1405, 1291, 906, 859, 779, 742, 692, 627, 447, 421 cm⁻¹. LC-MS (*m/z*): 388 [M-H]⁻, 390 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 260–262 °C (Zers.).



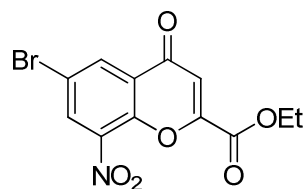
3-(3-(3-(3-Methylbenzamido)phenyl)ureido)benzoic acid (112, MF130). Die Synthese erfolgte aus **109** (202 mg, 0.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.10. Das Produkt konnte als weißer Feststoff

gewonnen werden. Ausbeute: 142 mg (73 %). ¹H-NMR: δ 2.39 (s, 3H, CH₃), 7.37-7.41 (m, 3H, 4'-H, 5'-H, 5''-H), 7.42-7.44 (m, 2H, 2-H/6-H od. 3-H/5-H), 7.54 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.63 (ddd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 2.2 Hz, 1H, 4''-H od. 6''-H), 7.67-7.69 (m, 2H, 2-H/6-H od. 3-H/5-H), 7.73-7.74 (m, 1H, 6'-H), 7.76 (s, 1H, 2'-H), 8.13 (dd, *J* = 1.9 Hz, 1H, 2''-H), 8.70 (s, 1H, NH-CO-NH), 8.91 (s, 1H, NH-CO-NH), 10.09 (s, 1H, NH-CO), 12.82 (s, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 21.1 (CH₃), 118.8 (C-2/C-6 od. C-3/C-5), 119.0 (C-2''), 121.2 (C-2/C-6 od. C-3/C-5), 122.4, 122.7 (C-4'', C-6''), 124.9 (C-5'), 128.2, 128.4 (C-2', C-6'), 129.1 (C-5''), 131.5 (C-3''), 132.1 (C-4'), 133.8 (C-4), 135.2, 135.5 (C-1, C-1'), 137.8 (C-3'), 140.2 (C-1''), 152.7 (NH-CO-NH), 165.4, 167.4 (CO-NH, CO₂H). IR (ATR): 3312, 3239, 2832, 2568, 1697, 1643, 1591, 1556, 1515, 1449, 1402, 1303, 1230, 942, 826, 746, 639, 518 cm⁻¹. LC-MS (*m/z*): 388 [M-H]⁻, 390 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 269–271 °C (Zers.).

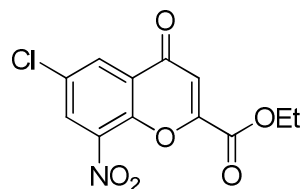
5.3.14 (6-Halogen)-8-nitrochromen-4-oncarbonsäureethylester



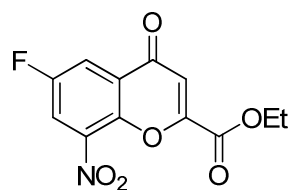
8-Nitro-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (122, MF145).²⁹³ Die Synthese erfolgte aus 2'-Hydroxy-3'-nitroacetophenon (2.17 g, 12.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.11. Das Produkt konnte als beige-farbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 2.21 g (70 %). ¹H-NMR: δ 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 7.07 (s, 1H, 3-H), 7.70 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6-H), 8.36 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 7-H), 8.55 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 5-H). ¹³C-NMR: δ 13.9 (CH₃), 63.0 (CH₂), 114.6 (C-3), 125.5 (C-4a), 125.8 (C-6), 130.8, 131.0 (C-5, C-7), 139.2 (C-8), 147.6 (C-8a), 152.3 (C-2), 159.5 (CO₂Et), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 264 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 122–123 °C.



6-Brom-8-nitro-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (123, MF28).³⁰³ Die Synthese erfolgte aus 5'-Brom-2'-hydroxy-3'-nitroacetophenon (3.12 g, 12.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.11. Das Produkt konnte als beige-farbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 3.37 g (82 %). ¹H-NMR: δ 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 7.10 (s, 1H, 3-H), 8.41 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.76 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H). ¹³C-NMR: δ 13.9 (CH₃), 63.1 (CH₂), 114.6 (C-3), 117.3 (C-6), 129.8 (C-4a), 132.6, 133.1 (C-5, C-7), 140.0 (C-8), 146.7 (C-8a), 152.4 (C-2), 159.3 (CO₂Et), 175.0 (C-4). LC-MS (m/z): 342 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96.9 %. Smp.: 139–140 °C.



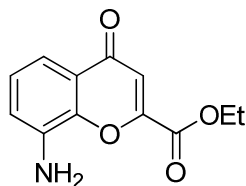
6-Chlor-8-nitro-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (124, MF236). Die Synthese erfolgte aus 5'-Chlor-2'-hydroxy-3'-nitroacetophenon (2.59 g, 12.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.11. Das Produkt konnte als beige-farbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 2.86 g (80 %). ¹H-NMR: δ 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 7.10 (s, 1H, 3-H), 8.30 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H or 7-H), 8.69 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H or 7-H). ¹³C-NMR: δ 13.9 (CH₃), 63.0 (CH₂), 114.5 (C-3), 126.5 (C-4a), 129.6 (C-7), 129.8 (C-6), 130.6 (C-5), 140.0 (C-8), 146.4 (C-8a), 152.4 (C-2), 159.2 (CO₂Et), 175.1 (C-4). LC-MS (m/z): 298 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 126–127 °C.



6-Fluor-8-nitro-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (125, MF295). Die Synthese erfolgte aus 5'-Fluor-2'-hydroxy-3'-nitroacetophenon (1.99 g, 10.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.11. Das Produkt konnte als beige-farbener Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.99 g, 71 %. ¹H-NMR: δ 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 7.08 (s, 1H, 3-H), 8.14 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 3.3$ Hz, 1H, 5-H), 8.62 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 7-H). ¹³C-NMR: δ 13.9 (CH₃), 63.1 (CH₂), 113.7 (C-3), 116.0 (d, $J = 23.8$ Hz, C-5), 119.6 (d, $J = 30.2$ Hz,

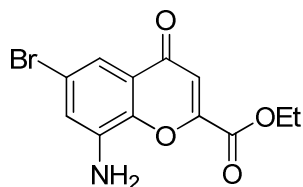
C-7), 126.7 (d, $J = 7.3$ Hz, C-4a), 140.0 (d, $J = 9.2$ Hz, C-8), 144.4 (C-8a), 152.4 (C-2), 157.4 (d, $J = 249.3$ Hz, C-6), 159.4 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 175.4 (C-4). LC-MS (m/z): 282 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 299 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94.5 %. Smp.: 115 °C.

5.3.15 8-Amino-(6-halogen)-chromen-4-oncarbonsäureethylester



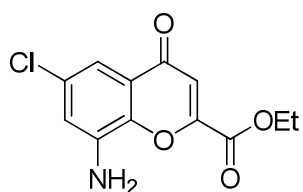
8-Amino-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (121, MF146).³⁰¹

Die Synthese erfolgte aus **122** (2.21 g, 8.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.12.1. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.74 g (89 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 5.50 (br, 2H, NH_2), 6.87 (s, 1H, 3-H), 7.11 (dd, $J = 7.5$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 7-H), 7.16-7.22 (m, 2H, 5-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.0 (CH_3), 62.7 (CH_2), 110.6 (C-7), 113.2 (C-3), 117.9 (C-5), 124.4 (C-4a), 126.3 (C-6), 138.8 (C-8), 143.8 (C-8a), 151.6 (C-2), 160.2 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 177.9 (C-4). LC-MS (m/z): 234 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 467 $[\text{2M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 154 °C.



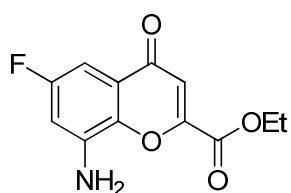
8-Amino-6-brom-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (126, MF79).³⁰³

Die Synthese erfolgte aus **123** (2.87 g, 8.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.12.1. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 2.33 g (89 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 5.86 (br, 2H, NH_2), 6.90 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 7.21 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.0 (CH_3), 62.8 (CH_2), 111.9 (C-7), 113.4 (C-3), 119.1 (C-5), 119.2 (C-6), 125.5 (C-4a), 140.9 (C-8), 143.0 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 176.7 (C-4). LC-MS (m/z): 310 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 312 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 159–160 °C.



8-Amino-6-chlor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (127, MF237).

Die Synthese erfolgte aus **124** (2.50 g, 8.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.12.1. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.39 g (80 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 5.87 (br, 2H, NH_2), 6.89 (s, 1H, 3-H), 7.05 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H or 7-H), 7.07 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H or 7-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.0 (CH_3), 62.8 (CH_2), 108.8 (C-7), 113.3 (C-3), 116.3 (C-5), 125.2 (C-4a), 131.0 (C-6), 140.8 (C-8), 142.7 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 176.8 (C-4). LC-MS (m/z): 266 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 268 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 150 °C.

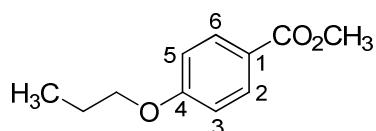


8-Amino-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (128, MF296).

Die Synthese erfolgte aus **125** (1.94 g, 6.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.12.2. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.39 g (80 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.39 (q, $J = 7.1$ Hz,

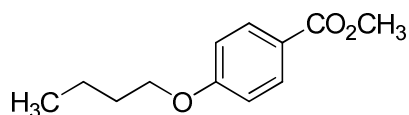
2H, CH₂), 5.90 (br, 2H, NH₂), 6.77 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 5-H), 6.86-6.89 (m, 2H, 3-H, 7-H). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₃), 62.8 (CH₂), 94.5 (d, $J = 24.7$ Hz, C-5), 104.5 (d, $J = 28.4$ Hz, C-7), 112.6 (C-3), 125.2 (d, $J = 9.2$ Hz, C-4a), 140.8 (C-8a), 141.4 (d, $J = 12.8$ Hz, C-8), 151.8 (C-2), 160.0 (C=O₂Et), 160.2 (d, $J = 241.9$ Hz, C-6), 177.2 (C-4). LC-MS (m/z): 250 [M-H]⁻, 252 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 162–163 °C.

5.3.16 3- und 4-Alkyloxybenzoesäuremethylester



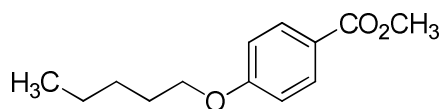
4-*n*-Propoxybenzoesäuremethylester (131, MF211).³⁰⁶

Die Synthese erfolgte aus *n*-Propylbromid (3.7 mL, 40.7 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 7 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als orange-farbene Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 1.34 g (99 %). LC-MS (m/z): 195 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.3 %.



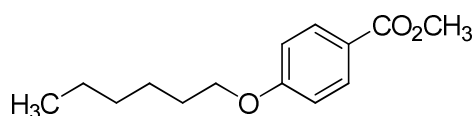
4-*n*-Butoxybenzoesäuremethylester (132, MF212).³⁰⁸

Die Synthese erfolgte aus *n*-Butylbromid (4.0 mL, 37.4 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 5 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als orange-farbene Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 1.34 g (99 %). LC-MS (m/z): 209 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.6 %.



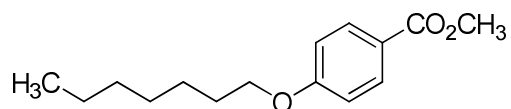
4-*n*-Pentoxybenzoesäuremethylester (133, MF_FB11).³⁰⁹

Die Synthese erfolgte aus *n*-Pentylbromid (0.94 mL, 8.4 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethyl-ester (1.07 g, 7.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als gelbe Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 1.50 g (96 %). LC-MS (m/z): 223 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.1 %.



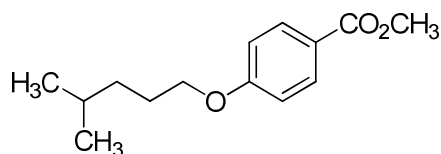
4-*n*-Hexyloxybenzoesäuremethylester (134, MF213).³¹⁰

Die Synthese erfolgte aus *n*-Hexylchlorid (1.06 mL, 7.7 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 5 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als farbloser, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.65 g (100 %). LC-MS (m/z): 237 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %.



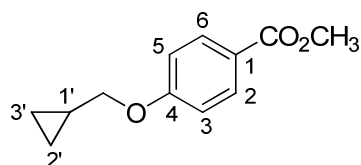
4-*n*-Heptyloxybenzoensäuremethylester (135, MF216).³¹¹ Die Synthese erfolgte aus *n*-Heptylbromid (1.21 mL, 7.7 mmol) und 4-

Hydroxybenzoensäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 6 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.75 g (100 %). LC-MS (*m/z*): 251 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %.



4-(4-Methylpentyl)oxybenzoensäuremethylester (136, MF_FB24). Die Synthese erfolgte aus 1-Brom-4-methylpentan (1.05 mL, 7.2 mmol) und 4-Hydroxybenzoensäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol)

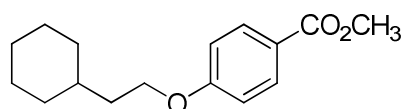
mit einer Spatelspitze KI nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als orange-farbene, ölige Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 1.61 g (97 %). ¹H-NMR: δ 0.88 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.26-1.31 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.54-1.59 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 1.68-1.74 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 3.80 (s, 3H, O-CH₃), 4.02 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂-O), 7.01 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.88 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 22.5 (CH(CH₃)₂), 26.6 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 27.3 (CH(CH₃)₂), 34.7 (CH₂-CH₂-O), 51.9 (O-CH₃), 68.3 (CH₂-O), 114.5 (C-3, C-5), 121.8 (C-1), 131.3 (C-2, C-6), 162.7 (C-4), 166.0 (C=O). LC-MS (*m/z*): 237 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



4-(Cyclopropylmethoxy)benzoensäuremethylester (137, MF_FB23).³¹³ Die Synthese erfolgte aus Cyclopropylmethylbromid (0.70 mL, 7.0 mmol) mit einer

Spatelspitze KI nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie über eine Kieselgelsäule

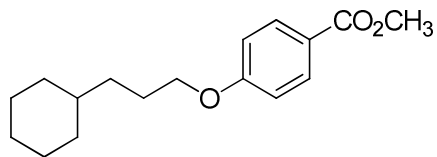
(Cyclohexan/Ethylacetat 3:1) lieferte das Produkt als farblosen, kristallinen Feststoff. Ausbeute: 1.13 g (78 %). ¹H-NMR: δ 0.31-0.34 (m, 2H, 2'-H od. 3'-H), 0.55-0.59 (m, 2H, 2'-H od. 3'-H), 1.18-1.26 (m, 1H, 1'-H), 3.80 (s, 3H, CH₃), 3.88 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂-O), 7.00 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.87 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 3.20 (C-2', C-3'), 10.1 (C-1'), 51.9 (CH₃), 72.5 (CH₂-O), 114.6 (C-3, C-5), 121.8 (C-1), 131.3 (C-2, C-6), 162.7 (C-4), 166.0 (C=O). LC-MS (*m/z*): 205 [M-H]⁻, 207 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.4 %. Smp.: 66–67 °C.



4-(2-Cyclohexylethoxy)benzoensäuremethylester (138, MF170). Die Synthese erfolgte aus 2-Cyclohexylethylbromid (1.10 mL, 7.7 mmol) und 4-

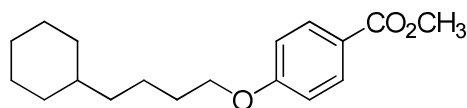
Hydroxybenzoensäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie über eine Kieselgelsäule (CH₂Cl₂) lieferte das Produkt als farbloses Öl, welches nach Abkühlung auf 4 °C als weißer, kristalliner Feststoff auskristallisierte. Ausbeute: 1.64 g (97 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.92-0.99 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.11-1.27 (m, 3H, Cyclohexyl), 1.45-1.52 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.62-1.75 (m, 7H, CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 3.86 (s, 3H, CH₃),

4.02 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.88 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.95 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 26.2 (C-3', C-5'), 26.5 (C-4'), 32.2 (C-2', C-6'), 34.5 (C-1'), 36.4 (CH₂-CH₂-O), 51.8 (CH₃), 66.2 (CH₂-O), 114.0 (C-3, C-5), 122.2 (C-1), 131.5 (C-2, C-6), 162.9 (C-4), 166.9 (C=O). LC-MS (m/z): 263 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 35 °C.



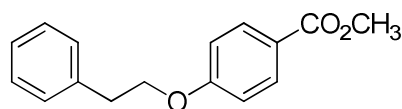
4-(3-Cyclohexylpropoxy)benzoesäuremethylester (139, MF210).³¹⁶ Die Synthese erfolgte aus 3-

Cyclohexylpropylchlorid (1.26 mL, 7.7 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 6 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.92 g (99 %). LC-MS (m/z): 277 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



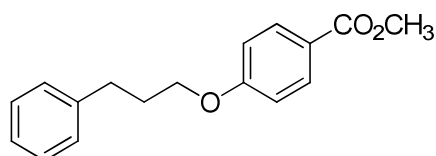
4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzoesäuremethylester (140, WA14). Phosphortribromid (0.37 mL,

3.9 mmol) wurde unter Rühren tropfenweise zu 4-Cyclohexyl-1-butanol (1.38 mL, 8.0 mmol) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 0 °C für 15 min gerührt und anschließend auf 100 °C erwärmt und bei dieser Temperatur für weitere 2 h gerührt. Die auf 0 °C abgekühlte Reaktionslösung wurde auf 8.5 g Eis gegeben, mit gesättigter NaCl-Lösung (17 mL) verdünnt und dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das gebildete 4-Cyclohexylbutylbromid wurde mit 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) und K₂CO₃ (1.10 g, 8.0 mmol) in 15 mL wasserfreiem DMF suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht in einer Argon-Atmosphäre bei 110 – 115 °C erhitzt und anschließend mit 100 mL Wasser verdünnt. Die Suspension wurde dreimal mit je 50 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 50 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule (Cyclohexan/EtOAc 3:1) chromatografiert. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.97 g (97 %). ¹H-NMR: δ 0.80-0.88 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.05-1.22 (m, 6H, CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 1.37-1.43 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.58-1.71 (m, 7H, CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 3.80 (s, 3H, CH₃), 4.02 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, CH₂-O), 7.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 22.8 (CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O), 25.9 (C-3'', C-5''), 26.3 (C-4''), 28.9 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 32.9 (C-2'', C-6''), 36.7 (CH₂-CH₂-O), 37.1 (C-1''), 51.9 (CH₃), 68.0 (CH₂-O), 114.5 (C-3, C-5), 121.8 (C-1), 131.3 (C-2, C-6), 162.7 (C-4), 166.0 (C=O). LC-MS (m/z): 291 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 44 °C.



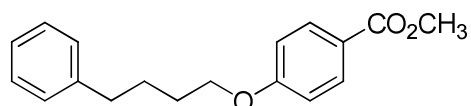
4-(2-Phenylethoxy)benzoic acid methyl ester (141, MF171).³¹⁸ Die Synthese erfolgte aus 2-Phenylethylbromid (1.04 mL, 7.7 mmol) und 4-

Hydroxybenzoic acid methyl ester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 h nach Vorschrift 5.2.13. Das Reaktionsgemisch wurde mit 50 mL Wasser verdünnt und dreimal mit je 50 mL Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule (CH_2Cl_2) chromatografiert. Das Produkt konnte als farbloses Öl gewonnen werden. Ausbeute: 562 mg (31 %). LC-MS (m/z): 257 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.5 %.



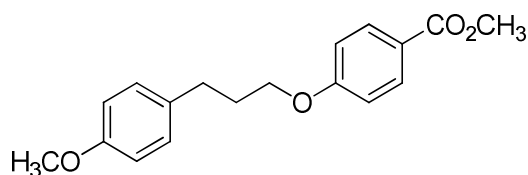
4-(3-Phenylpropoxy)benzoic acid methyl ester (142, MF169).³¹⁹ Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 4-Hydroxybenzoic acid methyl ester (1.90 g, 12.5 mmol) in THF (13 mL) wurde

portionsweise NaH (60 % in Mineralöl, 0.52 g, 13.0 mmol) zugegeben. Nach Beendigung der Gasentwicklung wurde der ausgefallene Feststoff durch Zugabe von trockenem DMF (5 mL) wieder gelöst. Anschließend wurde eine Lösung von 1-Brom-3-phenylpropan (2.99 g, 15.0 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch unter Rühren für 6 h refluxiert. Das Reaktionsgemisch wurde mit 30 mL Wasser verdünnt und dreimal mit je 30 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule (CH_2Cl_2) chromatografiert. Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 3.07 g (91 %). LC-MS (m/z): 271 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.0 %.



4-(4-Phenylbutoxy)benzoic acid methyl ester (143, MF03A).³²⁰ Die Synthese erfolgte aus 4-Phenylbutylchlorid (0.72 mL, 4.4 mmol), 4-

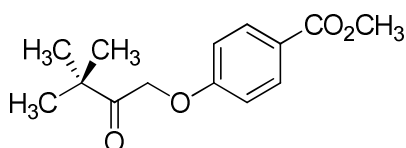
Hydroxybenzoic acid methyl ester (670 mg, 4.4 mmol) und K_2CO_3 (690 mg, 5.0 mmol) in trockenem DMF (14 mL) in einer Reaktionszeit von 3 h nach Vorschrift 5.2.13. Das Reaktionsgemisch wurde mit 20 mL Wasser verdünnt und dreimal mit je 20 mL Toluol extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das Produkt konnte als gelbe Flüssigkeit gewonnen werden und wurde ohne weitere Aufarbeitung und Charakterisierung zur Säure **160** hydrolysiert. Ausbeute: 1.08 g (87 %). LC-MS (m/z): 285 $[\text{M}+\text{H}]^+$.



4-(3-(4-Methoxyphenyl)propoxy)benzoic acid methyl ester (144, MF219). Die Synthese erfolgte aus 1-(3-Brompropyl)-4-methoxybenzen (1.83 g, 8.0 mmol), 4-

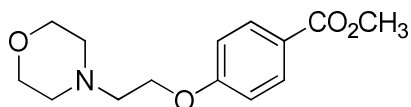
Hydroxybenzoic acid methyl ester (1.22 g, 8.0 mmol) und K_2CO_3 (1.24 g, 9.0 mmol) in trockenem DMF (17 mL) nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden.

Ausbeute: 1.82 g (76 %). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 2.05-2.09 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.74 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.77 (s, 3H, Ar-OCH_3), 3.86 (s, 3H, CO-OCH_3), 3.98 (t, 2H, $J = 6.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.82 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.88 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.10 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.96 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 30.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ od. $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 31.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$ od. $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 51.8 (Ar-OCH_3), 55.2 (CO-OCH_3), 67.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.8 (C-3', C-5'), 114.0 (C-3, C-5), 122.4 (C-1), 129.4 (C-2', C-6'), 131.5 (C-2, C-6), 133.2 (C-1'), 157.9 (C-4'), 162.8 (C-4), 166.9 (C=O). LC-MS (m/z): 301 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 93–94 °C.



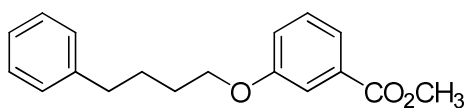
4-(3,3-Dimethyl-2-oxobutoxy)benzoic acid methyl ester (145, MF175). Die Synthese erfolgte aus 1-Brompinacolon (1.13 mL, 8.4 mmol) und 4-Hydroxybenzoic acid methyl ester (1.07 g, 7.0 mmol) in

einer Reaktionszeit von 4 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie über eine Kieselgelsäule ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99:1) lieferte das Produkt als weiß-gelben Feststoff. Ausbeute: 1.68 g (96 %). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.23 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 4.91 (s, 2H, CH_2), 6.85 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.96 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 26.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 43.2 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 51.9 (OCH_3), 68.6 (CH_2), 114.2 (C-3, C-5), 123.3 (C-1), 131.6 (C-2, C-6), 161.7 (C-4), 166.6 (CO_2CH_3), 208.7 ($\text{CH}_2\text{-C=O}$). LC-MS (m/z): 251 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.3 %. Smp.: 68–69 °C.



4-(2-Morpholinethoxy)benzoic acid methyl ester (146, MF176).³²¹ Die Synthese erfolgte aus *N*-(2-Chlorethyl)morpholin-Hydrochlorid (1.30 g, 7.0

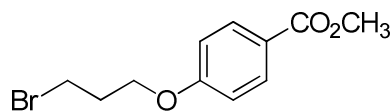
mmol) und 4-Hydroxybenzoic acid methyl ester (1.07 g, 7.0 mmol) mit Kaliumcarbonat (1.93 g, 14.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.86 g (100 %). LC-MS (m/z): 266 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96.5 %.



3-(4-Phenylbutoxy)benzoic acid methyl ester (147, MF183). Die Synthese erfolgte aus 1-Chlor-4-phenylbutan (1.15 mL, 7.0 mmol) und 3-

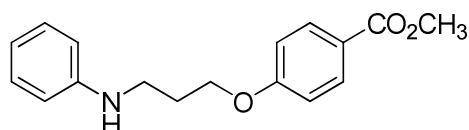
Hydroxybenzoic acid methyl ester (1.07 g, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 h nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie über eine Kieselgelsäule (CH_2Cl_2) lieferte das Produkt als farbloses Öl. Ausbeute: 1.96 g (98 %). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 1.78-1.85 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.68 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.90 (s, 3H, CH_3), 4.00 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.07 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1H, 4-H), 7.16-7.20 (m, 3H, 2'-H, 4'-H, 6'-H), 7.26-7.29 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.31 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 5-H), 7.53-7.54 (m, 1H, 2-H), 7.60-7.62 (m, 1H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 27.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-Ph}$), 28.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 35.5 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 52.1 (CH_3), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.6 (C-2), 119.9 (C-4 od. C-6), 121.8 (C-4 od. C-6), 125.8 (C-4'), 128.3, 128.4 (C-2',

C-3', C-5', C-6'), 129.3 (C-5), 131.3 (C-1), 142.1 (C-1'), 159.0 (C-3), 167.0 (C=O). LC-MS (m/z): 285 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



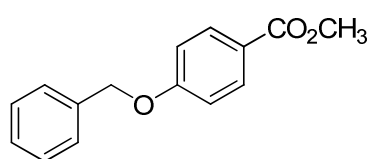
4-(3-Bromopropoxy)benzoesäuremethylester (186, MF177). Zu einer Lösung von 1,3-Dibrompropan (5.58 mL, 55 mmol) in Acetonitril (27 mL) wurden

portionsweise 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (2.13 g, 14 mmol), Kaliumcarbonat (1.93 g, 14 mmol) und Kaliumiodid (465 mg, 3 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre für 21 h unter Rückfluss erhitzt, anschließend mit Wasser (60 mL) verdünnt und dreimal mit je 60 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule (EtOAc/Cyclohexan 1:4) chromatografiert. Das Produkt konnte als farblose Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 3.45 g (90 %). 1H -NMR ($CDCl_3$): δ 2.32 (quint., $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2-CH_2-O), 3.58 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2-Br), 3.86 (s, 3H, CH_3), 4.14 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H, CH_2-O), 6.90 (m, 2H, 3-H, 5-H), 8.02 (m, 2H, 2-H, 6-H). LC-MS: Masse nicht detektierbar.



4-(3-(Phenylamino)propoxy)benzoesäuremethylester (187, MF185). Die Brom-Verbindung **186** (1.09 g, 4.0 mmol) wurde mit Kaliumcarbonat (1.11 g, 8.0 mmol) in trockenem

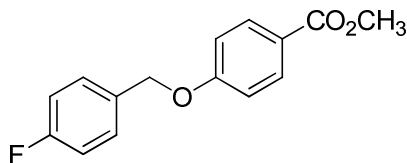
DMF (5 mL) gelöst. Anschließend wurde in einer Argon-Atmosphäre Anilin (0.73 mL, 8.0 mmol) und eine Spatelspitze Kaliumiodid als Katalysator zugegeben und das Reaktionsgemisch in einer Argon-Atmosphäre für 6 d bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser (50 mL) verdünnt und dreimal mit je 50 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem $MgSO_4$ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule (EtOAc/Cyclohexan 1:3) chromatografiert. Nach Umkristallisation in EtOAc/Cyclohexan (1:1) konnte das Produkt als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 737 g (65 %). 1H -NMR: δ 1.99 (quint., $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2-CH_2-O), 3.16 (q, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2-NH), 3.80 (s, 3H, CH_3), 4.15 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2-O), 5.59 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH), 6.50 (tt, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 4'-H), 6.55-6.57 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.03-7.06 (m, 4H, 2-H, 6-H, 3'-H, 5'-H), 7.89-7.91 (m, 2H, 3-H, 5-H). ^{13}C -NMR: δ 28.4 (CH_2-CH_2-O), 39.5 (CH_2-NH), 51.9 (CH_3), 66.0 (CH_2-O), 112.1 (C-2', C-6'), 114.6 (C-3, C-5), 115.7 (C-4'), 121.9 (C-1), 129.0 (C-3', C-5'), 131.3 (C-2, C-6), 149.0 (C-1'), 162.7 (C-4), 166.0 (C=O). LC-MS (m/z): 286 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94.9 %.



4-Benzyloxybenzoesäuremethylester (166, MF263).³²⁴

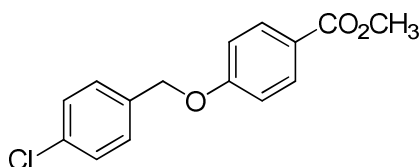
Die Synthese erfolgte aus Benzylbromid (0.83 mL, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) mit einer Spatelspitze KI nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden.

Ausbeute: 1.61 g (95 %). LC-MS (m/z): 241 [M-H]⁻, 243 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %.



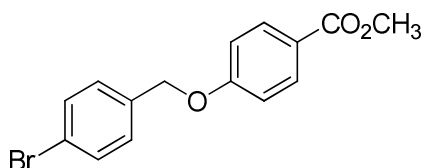
4-(4-Fluorbenzyloxy)benzoessäuremethylester (167, MF_FB21).³²⁶ Die Synthese erfolgte aus 4-Fluorbenzylbromid (0.87 mL, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoessäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol)

mit einer Spatelspitze KI nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als farbloser, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.79 g (98 %). LC-MS (m/z): 261 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 93.9 %.



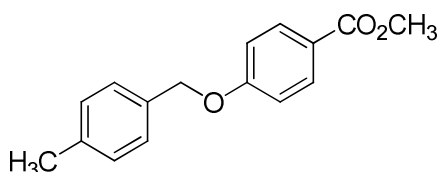
4-(4-Chlorbenzyloxy)benzoessäuremethylester (168, MF274).³²⁸ Die Synthese erfolgte aus 4-chlorbenzylbromid (1.44 g, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoessäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol)

nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie über eine Kieselsäule (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 1.67 g (86 %). LC-MS (m/z): 275 [M-H]⁻, 277 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %.



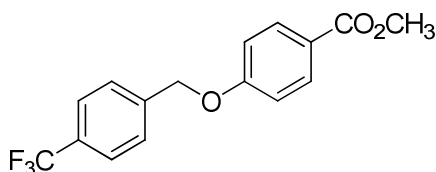
4-(4-Brombenzyloxy)benzoessäuremethylester (169, MF273).³²⁹ Die Synthese erfolgte aus 4-Brombenzylbromid (1.75 g, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoessäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol)

nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Column chromatography on a column of silica gel (3:1 cyclohexane/ethyl acetate) afforded the product as a white solid (1.90 g, 85 %). LC-MS (m/z): 319 [M-H]⁻, 323 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %.



4-(4-Methylbenzyloxy)benzoessäuremethylester (170, MF262).³²⁶ Die Synthese erfolgte aus 4-Methylbenzylbromid (1.30 g, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoessäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B).

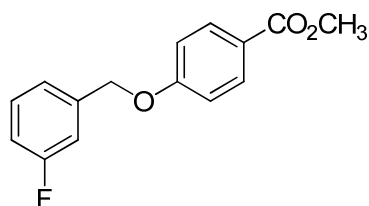
Säulenchromatografie über eine Kieselsäule (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 1.61 g (90 %). LC-MS (m/z): 255 [M-H]⁻, 257 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



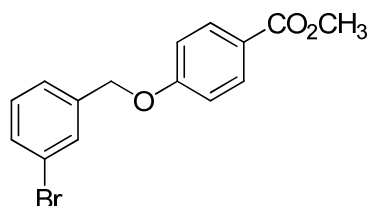
4-(4-(Trifluormethyl)benzyloxy)benzoessäuremethylester (171, MF272).³³⁰ Die Synthese erfolgte aus 4-(Trifluormethyl)benzylbromid (1.67 g, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoessäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) nach Vorschrift

5.2.13 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie über eine Kieselsäule

(Cyclohexan/Ethylacetat 3:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 1.90 g (87 %). LC-MS (m/z): 309 [M-H]⁻, 311 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %.

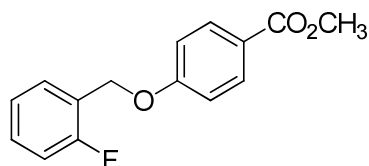


4-(3-Fluorbenzyloxy)benzoesäuremethylester (172, MF264).³³² Die Synthese erfolgte aus 3-Fluorbenzylbromid (0.85 mL, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.81 g (99 %). LC-MS (m/z): 261 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.6 %.



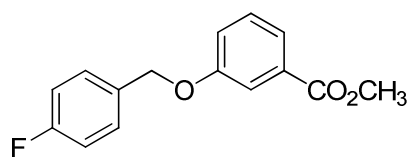
4-(3-Brombenzyloxy)benzoesäuremethylester (173, MF319).³³³ Die Synthese erfolgte aus 3-Brombenzylbromid (1.75 g, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B).

Säulenchromatografie über eine Kieselgelsäule (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 2.12 g (94 %). LC-MS (m/z): 323 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.7 %.



4-(2-Fluorbenzyloxy)benzoesäuremethylester (174, MF266).³³⁴ Die Synthese erfolgte aus 2-Fluorbenzylbromid (0.84 mL, 7.0 mmol) und 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol) nach

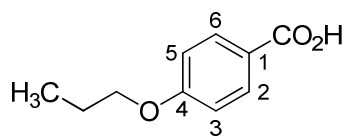
Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.77 g (97 %). LC-MS (m/z): 261 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.9 %.



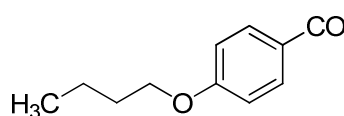
3-(4-Fluorbenzyloxy)benzoesäuremethylester (175, MF288).³²⁷ Die Synthese erfolgte aus 4-Fluorbenzylbromid (1.44 g, 7.0 mmol) und 3-Hydroxybenzoesäuremethylester (1.07 g, 7.0 mmol)

nach Vorschrift 5.2.13 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie über eine Kieselgelsäule (Cyclohexan/Ethylacetat 3:1) lieferte das Produkt als farblose Flüssigkeit, die als farbloser, kristalliner Feststoff nach Stehenlassen für 3 d bei RT auskristallisierte. Ausbeute: 1.56 g (86 %). LC-MS (m/z): 259 [M-H]⁻, 261 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.8 %.

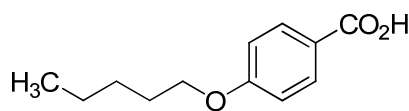
5.3.17 3- und 4-Alkyloxybenzoesäuren



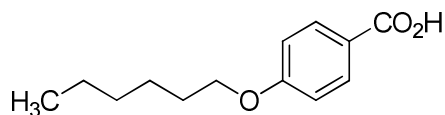
4-(*n*-Propoxy)benzoesäure (148, MF215).³⁰⁷ Die Synthese erfolgte aus **131** (388 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 342 mg (95 %). ¹H-NMR: δ 0.97 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH₃), 1.73 (sext., $J = 7.4$ Hz, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 3.98 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.98 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.53 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 10.4 (CH₃), 22.0 (CH₂-CH₃), 69.4 (CH₂-O), 114.3 (C-3, C-5), 123.0 (C-1), 131.5 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 179 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



4-(*n*-Butoxy)benzoesäure (149, MF218).³⁰⁷ Die Synthese erfolgte aus **132** (417 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 388 mg (100 %). ¹H-NMR: δ 0.92 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH₃), 1.39-1.46 (m, 2H, CH₂-CH₃), 1.67-1.72 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.02 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.53 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 13.8 (CH₃), 18.8 (CH₂-CH₃), 30.7 (CH₂-CH₂-O), 67.6 (CH₂-O), 114.3 (C-3, C-5), 123.0 (C-1), 131.5 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 193 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.

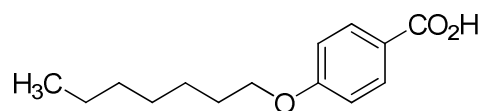


4-(*n*-Pentoxy)benzoesäure (150, MF_FB16).³⁰⁷ Die Synthese erfolgte aus **133** (445 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 364 mg (87 %). ¹H-NMR: δ 0.88 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH₃), 1.29-1.42 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₃), 1.69-1.74 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.02 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.53 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₃), 21.9 (CH₂-CH₃), 27.7 (CH₂-CH₂-CH₃), 28.3 (CH₂-CH₂-O), 67.9 (CH₂-O), 114.3 (C-3, C-5), 122.9 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 207 [M-H]⁻, 209 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



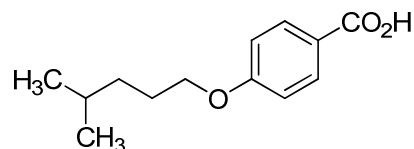
4-(*n*-Hexyloxy)benzoesäure (151, MF217).³⁰⁷ Die Synthese erfolgte aus **134** (417 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 435 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 0.85-0.87 (m, 3H, CH₃), 1.27-1.31 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₃), 1.37-1.42 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.67-1.73 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.01 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.96-6.99 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.82-7.87 (m, 2H, 2-H, 6-H), 12.53 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₃), 22.2 (CH₂-CH₃), 25.2 (CH₂-CH₂-CH₃), 28.6 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 31.1 (CH₂-CH₂-O), 67.9 (CH₂-O), 114.3 (C-3, C-5), 122.9 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-

4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 221 [M-H]⁻, 223 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %.



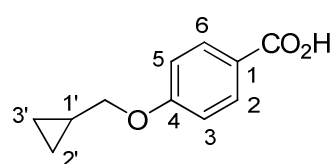
4-(*n*-Heptyloxy)benzoesäure (152, MF220).³⁰⁷

Die Synthese erfolgte aus **135** (501 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 462 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 0.85 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH₃), 1.23-1.34 (m, 6H, CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.36-1.42 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.68-1.74 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.01 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.54 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₃), 22.2 (CH₂-CH₃), 25.5 (CH₂-CH₂-CH₃), 28.5 (CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 28.7 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 31.3 (CH₂-CH₂-O), 67.9 (CH₂-O), 114.3 (C-3, C-5), 122.9 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 235 [M-H]⁻, 237 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %.



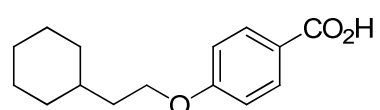
4-(4-Methylpentyloxy)benzoesäure (153, MF_FB26).³¹²

Die Synthese erfolgte aus **136** (473 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 454 mg (92 %). ¹H-NMR: δ 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H, CH₃), 1.26-1.31 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.52-1.61 (m, 1H, CH), 1.68-1.74 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.01 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.98 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 22.5 (CH₃), 26.6 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 27.4 (CH), 34.7 (CH₂-CH₂-O), 68.2 (CH₂-O), 114.3 (C-3, C-5), 123.0 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 221 [M-H]⁻, 223 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 138–139 °C.



4-(Cyclopropylmethoxy)benzoesäure (154, MF209).³¹⁴

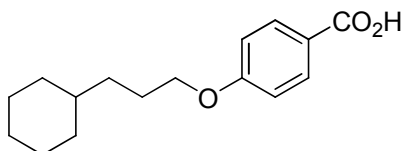
Die Synthese erfolgte aus **137** (412 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 376 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 0.31-0.34 (m, 2H, 2'-H or 3'-H), 0.55-0.58 (m, 2H, 2'-H or 3'-H), 1.18-1.26 (m, 1H, 1'-H), 3.87 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.98 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.85 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.53 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 3.22 (C-2', C-3'), 10.1 (C-1'), 72.5 (CH₂-O), 114.4 (C-3, C-5), 122.9 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 191 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96.8 %. Smp.: 178–179 °C (Lit.³¹⁴ 161–162 °C).



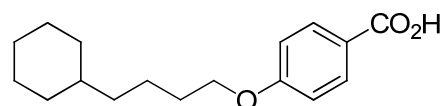
4-(2-Cyclohexylethoxy)benzoesäure (155, MF173).³¹⁵

Die Synthese erfolgte aus **138** (525 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 482 mg (97 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.93-1.00 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.11-1.29 (m, 3H, Cyclohexyl), 1.45-1.54 (m, 1H,

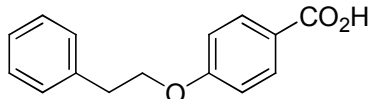
Cyclohexyl), 1.63-1.76 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 4.05 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.91 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 26.2 (C-3', C-5'), 26.5 (C-4'), 32.3 (C-2', C-6'), 34.5 (C-1'), 36.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 66.3 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.2 (C-3, C-5), 121.3 (C-1), 132.3 (C-2, C-6), 163.7 (C-4), 171.7 (C=O). LC-MS (m/z): 247 $[\text{M-H}]^-$, 249 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



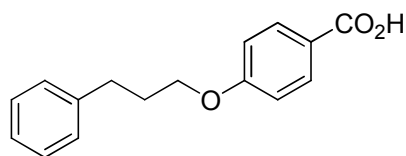
4-(3-Cyclohexylpropoxy)benzoic acid (156, MF214).³¹⁷ Die Synthese erfolgte aus **139** (553 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 491 mg (94 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.83-0.90 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.06-1.30 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 1.58-1.74 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 3.99 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.97 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 25.9 (C-3'', C-5''), 26.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 26.3 (C-4''), 32.9 (C-2'', C-6''), 33.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 36.9 (C-1''), 68.2 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.3 (C-3, C-5), 122.9 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 261 $[\text{M-H}]^-$, 263 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



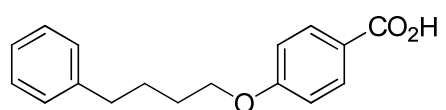
4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzoic acid (157, WA15). Die Synthese erfolgte aus **140** (580 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 520 mg (94 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.80-0.88 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.06-1.21 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 1.37-1.43 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 1.58-1.71 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 4.01 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.98 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.53 (br, 1H, CO_2H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 22.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 25.9 (C-3'', C-5''), 26.3 (C-4''), 28.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 32.9 (C-2'', C-6''), 36.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 37.1 (C-1''), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.3 (C-3, C-5), 122.9 (C-1), 131.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 275 $[\text{M-H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.2 %. Smp.: 144–145 °C.



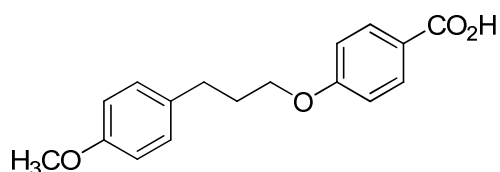
4-(2-Phenylethoxy)benzoic acid (158, MF174).²⁹⁴ Die Synthese erfolgte aus **141** (541 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer, fein-kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 464 mg (96 %). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 3.11 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.90-6.93 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.22-7.34 (m, 5H, 2'-H, 3'-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H), 8.01-8.04 (m, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 35.6 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 68.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.2 (C-3, C-5), 121.6 (C-1), 126.7 (C-4'), 128.6 (C-2', C-6'), 129.0 (C-3', C-5'), 132.3 (C-2, C-6), 137.8 (C-1'), 163.3 (C-4), 171.5 (C=O). LC-MS (m/z): 241 $[\text{M-H}]^-$, 243 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96.9 %.

**4-(3-Phenylpropoxy)benzoesäure (159, MF172).**²⁹⁴

Die Synthese erfolgte aus **142** (541 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer, fein-kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 498 mg (97 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 2.10-2.16 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.81 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.01 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂-O), 6.90-6.92 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.17-7.21 (m, 3H, 2'-H, 4'-H, 6'-H), 7.26-7.29 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 8.03-8.05 (m, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 30.6 (CH₂-CH₂-O), 32.0 (CH₂-Ph), 67.1 (CH₂-O), 114.2 (C-3, C-5), 121.5 (C-1), 126.0 (C-4'), 128.5 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 132.3 (C-2, C-6), 141.2 (C-1'), 163.5 (C-4), 171.7 (C=O). LC-MS (*m/z*): 255 [M-H]⁻, 257 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %.

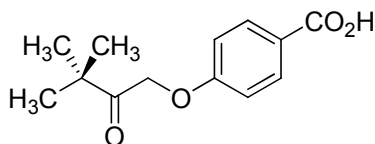
**4-(4-Phenylbutoxy)benzoesäure (160, MF03D).**²⁹⁴

In drei Ansätzen wurden jeweils **143** (284 mg, 1 mmol), 2%-ige methanolische KOH-Lösung (6 mL) und 6%-ige wässrige KOH-Lösung (0.5 mL) in ein 10mL-Mikrowellengefäß gegeben und mit einem Septum abgedichtet. Das Reaktionsgemisch wurde in einem Mikrowellenofen bei 90 °C und 10 bar unter Rühren für 60 min bestrahlt. Die vereinigten Reaktionsgemische wurden mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde. Anschließend wurde die saure wässrige Suspension dreimal mit je 30 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Das Produkt wurde im Vakuum bei 50 °C getrocknet und konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 821 mg (81 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.78-1.88 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 2.69 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.02 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H, CH₂-O), 6.89-6.91 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.16-7.20 (m, 3H, 2'-H, 4'-H, 6'-H), 7.26-7.29 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 8.03-8.04 (m, 2H, 2-H, 6-H). LC-MS (*m/z*): 269 [M-H]⁻, 271 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %.

**4-(3-(4-Methoxyphenyl)propoxy)benzoesäure (161, MF221).**

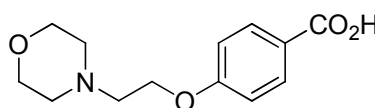
Die Synthese erfolgte aus **144** (541 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14. Das Reaktionsgemisch wurde in 40 mL wässriger 0.2 N KOH gelöst und dreimal mit je 20 mL Diethylether gewaschen um Verunreinigungen zu entfernen. Die wässrige Phase wurde mit verdünnter, wässriger HCl-Lösung (2 N) angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde. Die saure Suspension wurde anschließend dreimal mit je 40 mL EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und zur Trockne unter vermindertem Druck eingengt. Das Produkt konnte als weißer, fein-kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 503 mg (88 %). ¹H-NMR: δ 1.96-2.01 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.65-2.68 (m, 2H, CH₂-Ph), 3.70 (s, 3H, CH₃), 4.00 (t, 2H, *J* = 6.4 Hz, CH₂-O), 6.83 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.98 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.12 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2-H, 6-H), 12.55 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 30.6 (CH₂-CH₂-O), 30.6 (CH₂-Ph), 55.1 (CH₃),

67.1 (CH₂-O), 113.9 (C-3', C-5'), 114.4 (C-3, C-5), 123.0 (C-1), 129.4 (C-2', C-6'), 131.5 (C-2, C-6), 133.2 (C-1'), 157.6 (C-4'), 162.4 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (*m/z*): 285 [M-H]⁻, 287 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 155–156 °C.



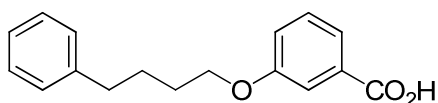
4-(3,3-Dimethyl-2-oxobutoxy)benzoesäure (162, MF182). Die Synthese erfolgte aus **145** (501 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden.

Ausbeute: 465 mg (93 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.25 (s, 9H, CH₃), 4.93 (s, 2H, CH₂), 6.88 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 8.04 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 26.3 (CH₃), 43.2 (-C(CH₃)₃), 68.6 (CH₂), 114.3 (C-3, C-5), 122.4 (C-1), 132.4 (C-2, C-6), 162.4 (C-4), 171.5 (CO₂H), 208.6 (CH₂-C=O). LC-MS (*m/z*): 235 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.4 %. Smp.: 153–154 °C.



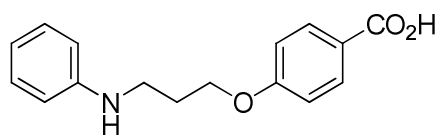
4-(2-Morpholinethoxy)benzoesäure (163, MF178).³²¹ Die Synthese erfolgte aus **146** (531 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14. Die klare Reaktionslösung wurde mit

Wasser (30 mL) verdünnt und mit 1 N HCl-Lösung angesäuert bis sich ein pH-Wert von 5 einstellte. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck eingengt und mit Hilfe eines RP18-Flash-Chromatographiesystems (MeOH/Wasser 1:5) aufgereinigt. Alle Produkt enthaltenden Fraktionen wurde vereinigt und nach Entfernung von MeOH unter vermindertem Druck lyophilisiert, wodurch das gewünschte Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden konnte. Ausbeute: 495 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 2.46 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 2'-H, 6'-H), 2.69 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O-Ar), 3.56 (t, *J* = 4.6 Hz, 4H, 3'-H, 5'-H), 4.14 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH₂-O-Ar), 6.98 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.86 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 53.7 (C-2', C-6'), 57.0 (CH₂-CH₂-O-Ar), 65.7 (CH₂-O-Ar), 66.3 (C-3', C-5'), 114.3 (C-3, C-5), 124.4 (C-1), 131.3 (C-2, C-6), 161.8 (C-4), 167.4 (C=O). LC-MS (*m/z*): 252 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



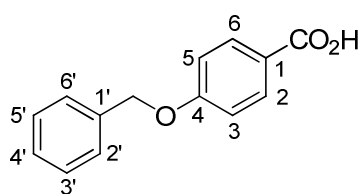
3-(4-Phenylbutoxy)benzoesäure (164, MF184).³²² Die Synthese erfolgte aus **147** (569 mg, 2 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung A). Das

Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 514 mg (92 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.78-1.87 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 2.69 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.02 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H, CH₂-O), 7.13 (ddd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 2.8 Hz, 1H, 4-H), 7.16-7.20 (m, 3H, 2'-H, 4'-H, 6'-H), 7.26-7.29 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.35 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 7.59-7.60 (m, 1H, 2-H), 7.69 (ddd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.3 Hz, 1H, 6-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 27.8 (CH₂-CH₂-Ph), 28.7 (CH₂-CH₂-O), 35.5 (CH₂-Ph), 68.0 (CH₂-O), 115.0 (C-2), 120.9, 122.5 (C-4, C-6), 125.8 (C-4'), 128.4 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 129.5 (C-5), 130.5 (C-1), 142.1 (C-1'), 159.1 (C-3), 171.9 (C=O). LC-MS (*m/z*): 235 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.4 %.



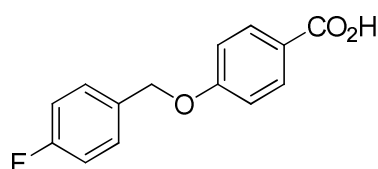
4-(3-(Phenylamino)propoxy)benzoessäure (188, MF_FB09). Die Synthese erfolgte aus **187** (571 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B).

Das Produkt konnte als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 449 mg (83 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.97-2.00 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 3.16 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 4.14 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 5.59 (br, 1H, NH), 6.50 (tt, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1H, 4'-H), 6.55-6.57 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.00-7.06 (m, 4H, 3-H, 5-H, 3'-H, 5'-H), 7.86-8.89 (m, 2H, 2-H, 6-H), 12.55 (br, 1H, CO_2H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 28.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 39.7 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 65.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 112.1 (C-2', C-6'), 114.4 (C-3, C-5), 115.7 (C-4'), 123.1 (C-1), 129.0 (C-3', C-5'), 131.5 (C-2, C-6), 149.0 (C-1'), 162.3 (C-4), 167.1 (CO_2H). LC-MS (m/z): 270 [M-H] $^-$, 272 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.1 %. Smp.: 148 °C.



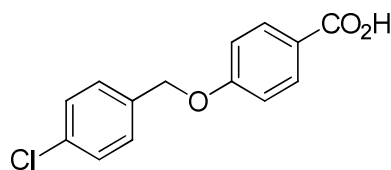
4-Benzyloxybenzoessäure (176, MF265).³²⁵ Die Synthese erfolgte aus **166** (484 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 435 mg (95 %).

$^1\text{H-NMR}$: δ 5.17 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.06-7.08 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.32 (tt, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4'-H), 7.38-7.40 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.44-7.46 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.87-7.89 (m, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 69.6 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.6 (C-3, C-5), 124.2 (C-1), 127.9 (C-2', C-6'), 128.1 (C-4'), 128.6 (C-3', C-5'), 131.4 (C-2, C-6), 136.7 (C-1'), 161.8 (C-4), 167.2 (C=O). LC-MS (m/z): 227 [M-H] $^-$, 229 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



4-(4-Fluorbenzyloxy)benzoessäure (177, MF_FB25).³²⁷

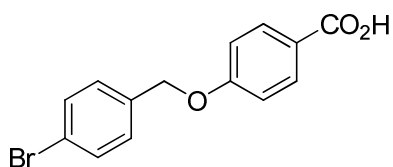
Die Synthese erfolgte aus **167** (521 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 454 mg (92 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.15 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.07-7.10 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.19-7.24 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.49-7.52 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.87-7.90 (m, 2H, 2-H, 6-H), 12.59 (br, 1H, CO_2H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.7 (C-3, C-5), 115.4 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3', C-5'), 123.4 (C-1), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2', C-6'), 131.5 (C-2, C-6), 132.9 (d, $J = 2.8$ Hz, C-1'), 161.9 (C-4), 162.0 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4'), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 245 [M-H] $^-$, 247 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



4-(4-Chlorbenzyloxy)benzoessäure (178, MF286).³²⁹

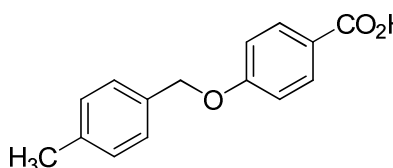
Die Synthese erfolgte aus **168** (553 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 522 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.16 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.03 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.44-7.49 (m, 4H, 2'-H, 3'-H, 5'-H, 6'-H), 7.86 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.7 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.4 (C-3, C-5), 128.6 (C-3', C-5'), 129.7 (C-2', C-6'), 131.3 (C-2, C-

6), 132.6 (C-4'), 135.9 (C-1'), 161.2 (C-4), 167.4 (C=O). LC-MS (m/z): 261 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



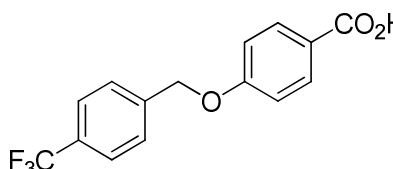
4-(4-Brombenzyloxy)benzoesäure (179, MF280).³²⁹

Die Synthese erfolgte aus **169** (642 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 476 mg (77 %). ¹H-NMR: δ 5.15 (s, 2H, CH₂-O), 7.04-7.06 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.40-7.42 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.57-7.59 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.86-7.88 (m, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 68.7 (CH₂-O), 114.5 (C-3, C-5), 121.2 (C-1), 125.2 (C-4'), 130.0 (C-2', C-6'), 131.3 (C-3', C-5'), 131.5 (C-2, C-6), 136.3 (C-1'), 161.4 (C-4), 167.3 (C=O). LC-MS (m/z): 305 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



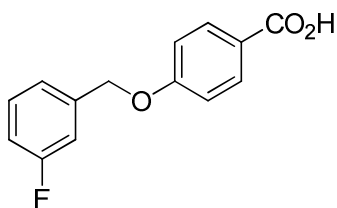
4-(4-Methylbenzyloxy)benzoesäure (180, MF270).³²⁹

Die Synthese erfolgte aus **170** (513 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 460 mg (95 %). ¹H-NMR: δ 2.30 (s, 3H, CH₃), 5.12 (s, 2H, CH₂-O), 7.06-7.08 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.18-7.20 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.32-7.34 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.86-7.88 (m, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 20.9 (CH₃), 69.5 (CH₂-O), 114.8 (C-3, C-5), 123.3 (C-1), 128.0 (C-2', C-6'), 129.1 (C-3', C-5'), 131.4 (C-2, C-6), 133.6 (C-1'), 137.4 (C-4'), 162.1 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 241 [M-H]⁻, 243 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



4-(4-(Trifluormethyl)benzyloxy)benzoesäure (181, MF279).³³¹

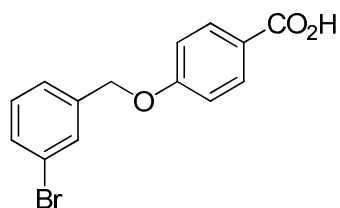
Die Synthese erfolgte aus **171** (621 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 580 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 5.30 (s, 2H, CH₂-O), 7.09-7.12 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.67 (d, J = 8.1 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.76 (d, J = 8.1 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.88-7.91 (m, 2H, 2-H, 6-H), 12.62 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 68.6 (CH₂-O), 114.7 (C-3, C-5), 123.2 (CF₃), 123.6 (C-1), 125.4-125.5 (m, C-3', C-5'), 128.2 (C-2', C-6'), 128.5 (q, J = 31.4 Hz, C-4'), 131.5 (C-2, C-6), 141.5 (C-1'), 161.7 (C-4), 167.0 (C=O). LC-MS (m/z): 295 [M-H]⁻, 297 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



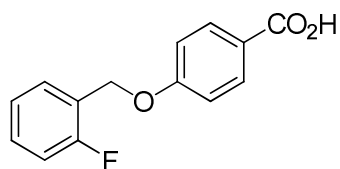
4-(3-Fluorbenzyloxy)benzoesäure (182, MF267).³¹⁷

Die Synthese erfolgte aus **172** (521 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 461 mg (94 %). ¹H-NMR: δ 5.20 (s, 2H, CH₂-O), 7.07-7.09 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.13-7.18 (m, 1H, 2'-H), 7.27-7.30 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.41-7.46 (m, 1H, 5'-H), 7.87-7.89 (m, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 68.7 (CH₂-O), 114.4 (d, J = 22.0 Hz, C-2'), 114.7 (C-3, C-5), 114.8 (d, J = 21.1 Hz, C-4'), 123.7 (d, J = 2.8 Hz, C-6'), 124.3

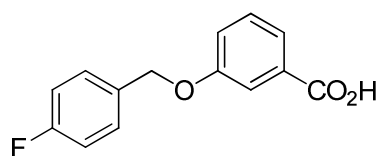
(C-1), 130.7 (d, $J = 8.2$ Hz, C-5'), 131.4 (C-2, C-6), 139.7 (C-1'), 162.3 (d, $J = 243.8$ Hz, C-3'), 161.6 (C-4), 167.2 (C=O). LC-MS (m/z): 245 [M-H]⁻, 247 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %.



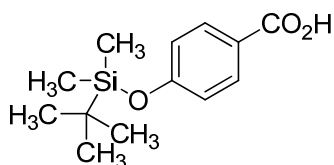
4-(3-Brombenzyloxy)benzoesäure (183, MF322).³³³ Die Synthese erfolgte aus **173** (642 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 608 mg (99 %). ¹H-NMR: δ 5.18 (s, 2H, CH₂-O), 7.07-7.09 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.35 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5'-H), 7.46 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, 6'-H), 7.53 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 4'-H), 7.66 (s, 1H, 2'-H), 7.87-7.90 (m, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR: δ 68.6 (CH₂-O), 114.7 (C-3, C-5), 121.8 (C-1), 124.2 (C-3'), 126.8 (C-6'), 130.4 (C-5'), 130.8 (C-4'), 130.9 (C-2'), 131.4 (C-2, C-6), 139.6 (C-1'), 161.6 (C-4), 167.2 (C=O). LC-MS (m/z): 305 [M-H]⁻, 307 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.6 %.



4-(2-Fluorbenzyloxy)benzoesäure (184, MF271).³³⁴ Die Synthese erfolgte aus **174** (521 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 474 mg (96 %). ¹H-NMR: δ 5.21 (s, 2H, CH₂-O), 7.10-7.12 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.22-7.27 (m, 2H, 5'-H, 6'-H), 7.40-7.45 (m, 1H, 3'-H), 7.54-7.58 (m, 1H, 4'-H), 7.89-7.90 (m, 2H, 2-H, 6-H), 12.61 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 63.9 (d, $J = 3.7$ Hz, CH₂-O), 114.7 (C-3, C-5), 115.6 (d, $J = 20.2$ Hz, C-3'), 123.5 (d, $J = 14.7$ Hz, C-1'), 123.6 (C-1), 124.7 (d, $J = 3.7$ Hz, C-5'), 130.7 (d, $J = 8.2$ Hz, C-4'), 130.9 (d, $J = 3.7$ Hz, C-6'), 131.5 (C-2, C-6), 160.6 (d, $J = 246.5$ Hz, C-2'), 161.9 (C-4), 167.1 (C=O). LC-MS (m/z): 245 [M-H]⁻, 247 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



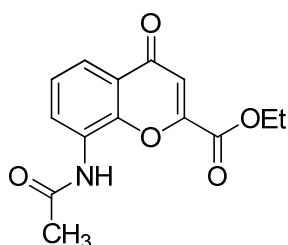
3-(4-Fluorbenzyloxy)benzoesäure (185, MF309).³²⁷ Die Synthese erfolgte aus **175** (521 mg, 2.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.14 (Aufarbeitung C). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 459 mg (93 %). ¹H-NMR: δ 5.13 (s, 2H, CH₂-O), 7.19-7.23 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.25 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.7$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1H, 4-H), 7.41 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.49-7.52 (m, 3H, 2-H, 2'-H, 6'-H), 7.54 (ddd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.2$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1H, 6-H), 12.95 (br, 1H, CO₂H). ¹³C-NMR: δ 68.8 (CH₂-O), 115.1 (C-2), 115.1 (d, $J = 21.5$ Hz, C-3', C-5'), 119.9 (C-4), 122.0 (C-6), 129.9 (C-5), 130.0 (d, $J = 8.3$ Hz, C-2', C-6'), 132.4 (C-1), 133.2 (d, $J = 2.9$ Hz, C-1'), 158.4 (C-4), 161.9 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4'), 167.2 (C=O). LC-MS (m/z): 245 [M-H]⁻, 264 [M+NH₄]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.



4-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)benzoesäure (282, MF343).³⁴⁰ *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (10.2 g, 67.6 mmol) und DIPEA (14.1 mL, 82.8 mmol) wurden in eine Lösung der 4-Hydroxybenzoesäure (3.81 g, 27.6 mmol) in DMF (20 mL) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT über Nacht gerührt und mit Cyclohexan (40 mL) verdünnt. Das Gemisch wurde mit 1 M H₃PO₄ angesäuert bis sich ein pH-Wert von 4 einstellte. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 30 mL Cyclohexan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 50 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Säulenchromatografische Auftrennung über Kieselgel (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) lieferte neben dem Produkt als einen farblosen, kristallinen Feststoff (632 mg) den unerwünschten 4-(*tert*-Butyldimethylsilyloxy)benzoesäure-*tert*-butyldimethylsilylester (7.81 g).

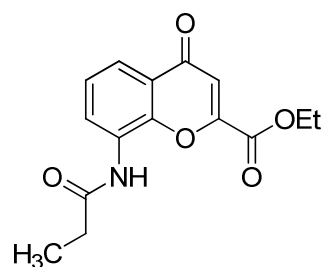
Zu einer Lösung des Silylesters in THF (120 mL) wurde eine 5%-ige NaOH-Lösung (15 mL) über einen Zeitraum von 7 min zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 min bei RT gerührt und mit Cyclohexan (100 mL) und Wasser (75 mL) verdünnt. Das Gemisch wurde mit 1 M H₃PO₄ angesäuert bis sich ein pH-Wert von 3 – 4 einstellte. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase mit Cyclohexan (75 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 110 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Säulenchromatografische Auftrennung über eine Säule aus Kieselgel (Cyclohexan/Ethylacetat 2:1) lieferte weiteres Produkt als einen farblosen, kristallinen Feststoff. Gesamtausbeute: 4.90 g (70 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 0.22 (s, 6H, Si-CH₃), 0.98 (s, 9H, C(CH₃)₃), 6.87 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2-H, 6-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ -4.37 (Si-CH₃), 18.2 (C(CH₃)₃), 25.6 (C(CH₃)₃), 119.9 (C-3, C-5), 122.2 (C-1), 132.3 (C-2, C-6), 160.9 (C-4), 171.7 (CO₂H). LC-MS (*m/z*): 251 [M-H]⁻, 253 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.0 %. Smp.: 110–111 °C (Lit.³⁶⁷ 99–100 °C).

5.3.18 8-Amido-(6-halogen)-chromen-4-oncarbonsäureethylester

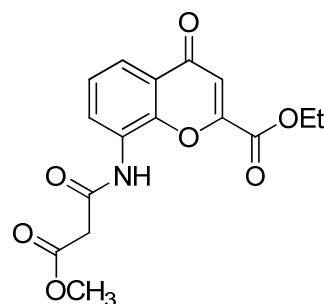


8-Acetamido-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (210, MF_AM12).²⁹⁷ Die Synthese erfolgte nach Vorschrift 5.2.15.1. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 159 mg (82 %). ¹H-NMR: δ 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 2.14 (s, 3H, CO-CH₃), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.49 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.83 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 7-H), 9.81 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.9 (CH₂-CH₃), 23.4 (CO-CH₃), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.8 (C-3), 121.0 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 128.3 (C-8), 130.1 (C-6), 148.6 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 168.8 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (*m/z*): 274 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 224–225 °C (Lit.²⁹⁷ 216–217 °C).

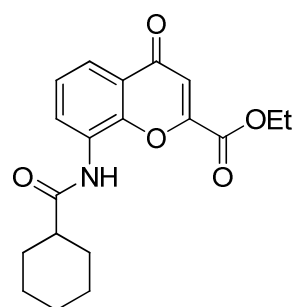
8-Acetamido-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (210, MF_AM12).²⁹⁷ Die Synthese erfolgte nach Vorschrift 5.2.15.1. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 159 mg (82 %). ¹H-NMR: δ 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 2.14 (s, 3H, CO-CH₃), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.49 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.83 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 7-H), 9.81 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.9 (CH₂-CH₃), 23.4 (CO-CH₃), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.8 (C-3), 121.0 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 128.3 (C-8), 130.1 (C-6), 148.6 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 168.8 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (*m/z*): 274 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 224–225 °C (Lit.²⁹⁷ 216–217 °C).



4-Oxo-8-propionamido-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (211, MF_AM21). Die Synthese erfolgte aus Propionylchlorid (0.12 mL, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 9:1) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 160 mg (80 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.16 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H, CO-CH₂-CH₃), 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.42 (q, $J = 7.6$ Hz, 2H, CO-CH₂-CH₃), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.49 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.83 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 7-H), 9.69 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 9.83 (CO-CH₂-CH₃), 13.9 (O-CH₂-CH₃), 29.2 (CO-CH₂-CH₃), 62.9 (O-CH₂-CH₃), 113.8 (C-3), 121.0 (C-5), 124.4 (C-8), 125.8 (C-7), 128.4 (C-4a), 130.2 (C-6), 148.8 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 172.5 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 288 [M-H]⁻, 290 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 207–208 °C.

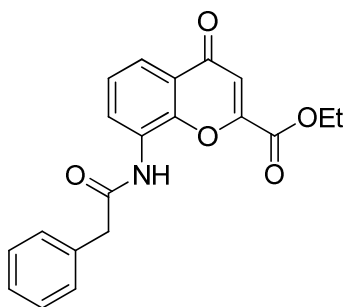


8-(3-Methoxy-3-oxopropanamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (212, MF_AM27). Die Synthese erfolgte aus 3-Chlor-3-oxopropionsäuremethylester (0.15 mL, 1.4 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 d nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 5:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 197 mg (85 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.64 (s, 2H, CO-CH₂), 3.69 (s, 3H, O-CH₃), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.51 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6-H), 7.84 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.16 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 7-H), 10.18 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.9 (CH₂-CH₃), 42.6 (CO-CH₂), 52.2 (O-CH₃), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.9 (C-3), 121.0 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.9 (C-7), 127.8 (C-8), 129.1 (C-6), 148.0 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.9 (CO₂Et), 164.7 (CO-NH), 168.3 (CO₂CH₃), 177.2 (C-4). LC-MS (m/z): 260 [M-CO₂H]⁻, 304 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 170 °C.

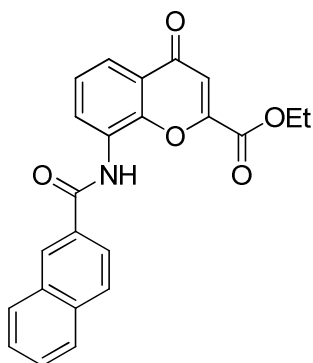


8-(Cyclohexancarboxamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (213, MF_AM6). Die Synthese erfolgte aus Cyclohexancarboxylchlorid (0.15 mL, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 9:1) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 223 mg (93 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.21 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.27-1.32 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 1.42-1.50 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.65-1.68 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.75-1.79 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.82-1.95 (m, 2H, Cyclohexyl), 2.44 (m, 1H, 1'-H), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.49 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.83 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.96 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.59 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.9 (CH₂-CH₃), 25.3 (C3', C5'), 25.6 (C-4'), 29.2 (C2', C6'), 44.4 (C-1'), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.8 (C-3), 121.0 (C-

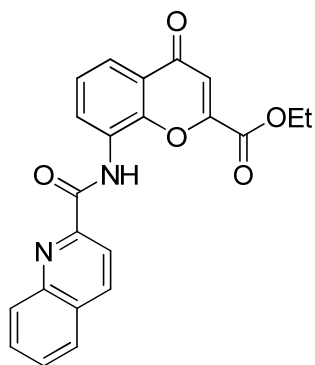
5), 124.4 (C-8), 125.8 (C-7), 128.4 (C-4a), 130.4 (C-6), 148.9 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 174.5 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (*m/z*): 342 [M-H]⁻, 344 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.1 %. Smp.: 176 °C.



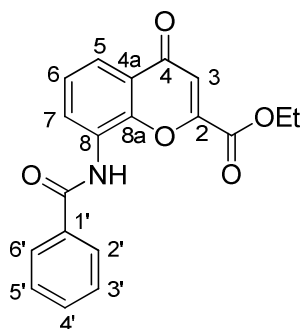
4-Oxo-8-(2-phenylacetamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (214, MF_AM25). Die Synthese erfolgte aus Phenacetylchlorid (0.19 mL, 1.4 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 d nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 9:1) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 209 mg (85 %). ¹H-NMR: δ 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.78 (s, 2H, CH₂-Ph), 4.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.25 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, 4'-H), 7.33 (dd, *J* = 7.6 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.42 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.49 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.83 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.05 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 7-H), 10.01 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₂-CH₃), 42.8 (CH₂-Ph), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.9 (C-3), 121.0 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.8 (C-4'), 128.1 (C-8), 128.5 (C-3', C-5'), 129.4 (C-2', C-6'), 130.0 (C-6), 135.7 (C-1'), 148.4 (C-8a), 152.0 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 169.7 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (*m/z*): 350 [M-H]⁻, 352 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 188–189 °C.



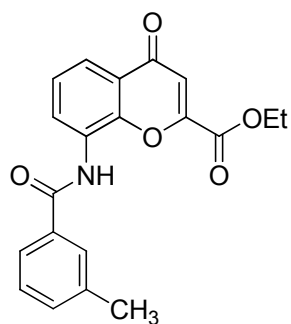
8-(2-Naphthamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (215, MF_AM7). Die Synthese erfolgte aus 2-Naphthoylchlorid (267 mg, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 231 mg (85 %). ¹H-NMR: δ 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.59 (dd, *J* = 7.8 Hz, 1H, 6-H), 7.64-7.67 (m, 2H, 7'-H, 8'-H), 7.94 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 5-H), 8.04 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 7-H), 8.06-8.12 (m, 4H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 9'-H), 8.67 (s, 1H, 2'-H), 10.45 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.7 (CH₃), 62.8 (CH₂), 113.7 (C-3), 121.8 (C-5), 124.3 (C-3'), 124.5 (C-4a), 125.9 (C-7), 127.1 (C-7'), 127.9 (C-5'), 128.2 (C-4'), 128.3 (C-6'), 128.4 (C-2'), 128.4 (C-1'), 129.0 (C-8'), 131.2 (C-6), 131.3 (C-8), 132.2 (Cq, C4a'), 134.6 (C-8a'), 149.5 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 165.6 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 386 [M-H]⁻, 388 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.0 %. Smp.: 202–203 °C.



4-Oxo-8-(chinolin-2-carboxamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (216, MF_AM26). Die Synthese erfolgte aus Chinaldoylchlorid (268 mg, 1.4 mmol), das in DMF (1.2 mL) gelöst wurde, nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 9:1) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 217 mg (80 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.38 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.51 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.56 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6-H), 7.76-7.79 (m, 2H, 5-H, 6'-H), 7.93-7.96 (m, 1H, 7'-H), 8.12 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 7-H), 8.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 8'-H), 8.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 5'-H), 8.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 3'-H), 8.79 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 4'-H), 11.09 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.7 (CH_3), 62.6 (CH_2), 113.8 (C-3), 118.1 (Chinolin), 119.1 (Chinolin), 123.9 (C-4a), 123.9 (C-5), 125.7 (C-7), 127.8 (C-8), 128.0 (Chinolin), 128.5 (Chinolin), 128.9 (Chinolin), 129.3 (Chinolin), 130.7 (C-6), 138.5 (Chinolin), 145.6 (Chinolin), 145.9 (Chinolin), 148.6 (C-8a), 151.3 (C-2), 159.6 (CO_2Et), 161.8 (CO-NH), 176.8 (C-4). LC-MS (m/z): 387 [M-H] $^-$, 389 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94.8 %. Smp.: 215–216 °C.

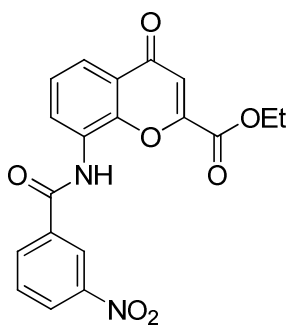


8-Benzamido-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (217, MF_AM3). Die Synthese erfolgte aus Benzoylchlorid (163 mg, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2. Das Rohprodukt wurde abfiltriert und zweimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Der Feststoff wurde anschließend in Aceton umkristallisiert. Das Filtrat wurde eingengt und über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Produkt zu isolieren. Das Amid konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 216 mg (92 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.55-7.59 (m, 3H, 6-H, 3'-H, 5'-H), 7.64 (m, 1H, 4'-H), 7.92 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.03 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.10 (d, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.25 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 (CH_3), 62.8 (CH_2), 113.7 (C-3), 121.7 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.9 (C-7), 127.8 (C-2', C-6'), 128.4 (C-8), 128.7 (C-3', C-5'), 131.0 (C-6), 132.2 (C-4'), 134.0 (C-1'), 149.4 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 165.6 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (m/z): 336 [M-H] $^-$, 338 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.4 %. Smp.: 218–219 °C.



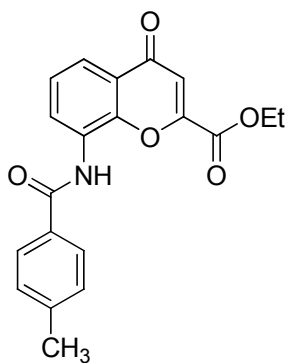
8-(3-Methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (218, MF147). Die Synthese erfolgte aus 3-Toluoylchlorid (148 mg, 1.0 mmol) und Amin **121** (187 mg, 0.8 mmol) in einer Reaktionszeit von 24 h nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie (9:1 DCM/EtOAc) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 265 mg (94 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.42 (s, 1H, Ar- CH_3), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.44-7.46 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.56 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H),

7.80-7.83 (m, 1H, 5'-H), 7.85 (s, 1H, 2'-H), 7.91 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.19 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 13.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 21.1 (Ar- CH_3), 62.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 113.7 (C-3), 121.6 (C-5), 124.5 (C-4a), 124.9 (C-6'), 125.9 (C-7), 128.4 (C-2' or C-5'), 128.4 (C8), 128.5 (C-2' or C-5'), 131.0 (C-6), 132.7 (C-4'), 134.0 (C-1'), 138.0 (C-3'), 149.4 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 165.7 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 350 $[\text{M-H}]^-$, 352 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 170–171 °C.



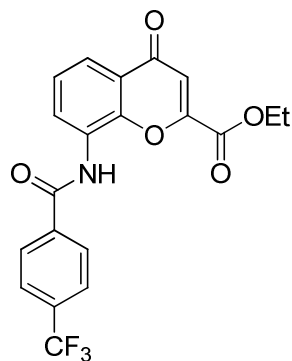
8-(3-Nitrobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (219, MF_AM10). Die Synthese erfolgte aus 3-Nitrobenzoylchlorid (260 mg, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 221 mg (83 %).

^1H -NMR: δ 1.17 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.30 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.59 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 5'-H), 7.96 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 5-H), 8.02 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 8.46 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 4'-H or 6'-H), 8.49 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4'-H or 6'-H), 8.85-8.86 (m, 1H, 2'-H), 10.76 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 13.7 (CH_3), 62.8 (CH_2), 113.9 (C-3), 122.6 (C-5, C-2'), 124.6 (C-8), 126.0 (C-7), 126.7 (C-4'), 127.8 (C-4a), 130.6 (C-6), 132.0 (C-5'), 134.3 (C-6'), 135.4 (C-1'), 148.0 (C-3'), 149.9 (C-8a), 151.9 (C-2), 159.9 (CO_2Et), 163.7 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (m/z): 381 $[\text{M-H}]^-$, 383 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.1 %. Smp.: 223–224 °C.

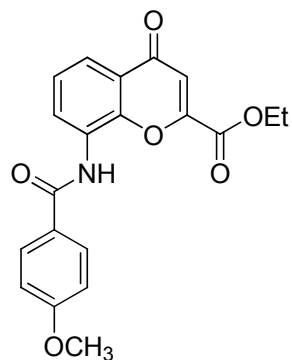


8-(4-Methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (220, MF_AM2). Die Synthese erfolgte aus 4-Toluoylchlorid (216 mg, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weiß-gelbes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 183 mg (75 %).

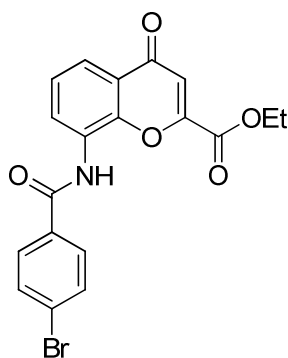
^1H -NMR (343 K): δ 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.42 (s, 3H, Ar- CH_3), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.37 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.94 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.17 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.86 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 13.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 20.8 (Ar- CH_3), 62.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 113.4 (C-3), 120.8 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 127.4 (C-2', C-6'), 128.3 (C-8), 128.8 (C-3', C-5'), 129.7 (C-6), 131.1 (C-1'), 141.9 (C-4'), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.6 (CO_2Et), 165.1 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 350 $[\text{M-H}]^-$, 352 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.6 %. Smp.: 217–218 °C.



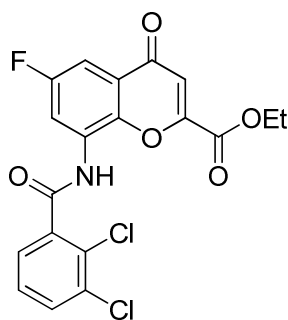
4-Oxo-8-(4-(trifluormethyl)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (221, MF_AM5). Die Synthese erfolgte aus 4-(Trifluormethyl)benzoylchlorid (0.21 mL, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung A). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 9:1) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 203 mg (71 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.35 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.57 (dd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 6-H), 7.92-7.96 (m, 3H, 5-H, 3'-H, 5'-H), 8.08 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 8.22 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 10.31 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 (CH_3), 62.4 (CH_2), 113.5 (C-3), 121.8 (C-5), 122.6 (CF_3), 124.3 (C-4a), 125.3 (C-3', C-5'), 125.5 (C-7), 127.8 (C-8), 128.3 (C-2', C-6'), 130.9 (C-6), 131.8 (q, $J = 32.1$ Hz, C-4'), 137.7 (C-1'), 149.4 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.6 (CO_2Et), 164.4 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 404 $[\text{M-H}]^-$, 406 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.1 %. Smp.: 219 °C.



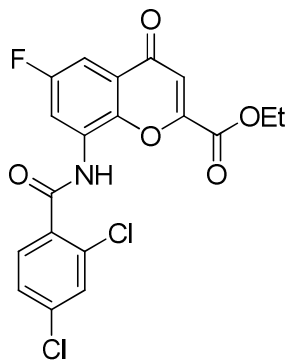
8-(4-Methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (222, MF_AM1). Die Synthese erfolgte aus 4-Methoxybenzoylchlorid (239 mg, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2. Das ausgefallene Amid wurde abfiltriert und zweimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand in Aceton/Ethanol (1:1) unter Zusatz von 4 Tropfen DMF umkristallisiert. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 228 mg (89 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.10 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 55.7 (OCH_3), 62.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 113.7 (C-3), 114.0 (C-3', C-5'), 121.4 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.9 (C-7), 126.1 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 149.3 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 162.4 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 366 $[\text{M-H}]^-$, 368 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 96.5 %. Smp.: 202–203 °C.



8-(4-Bromobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (223, MF_AM4). Die Synthese erfolgte aus 4-Bromobenzoylchlorid (307 mg, 1.4 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.2 (Aufarbeitung B). Das Produkt konnte als weiß-gelbes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 222 mg (76 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.21 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.57 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.79 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.92-7.94 (m, 1H, 5-H), 7.97 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.01-8.03 (m, 1H, 7-H), 10.39 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 (CH_3), 62.8 (CH_2), 113.7 (C-3), 122.0 (C-5), 124.5 (C-4'), 125.9 (C-7), 125.9 (C-4a), 128.1 (C-8), 129.9 (C-2', C-6'), 131.5 (C-6), 131.7 (C-3', C-5'), 133.1 (C-1'), 149.7 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.9 (CO_2Et), 164.7 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (m/z): 444 [M-H] $^-$, 446 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 216–217 °C.

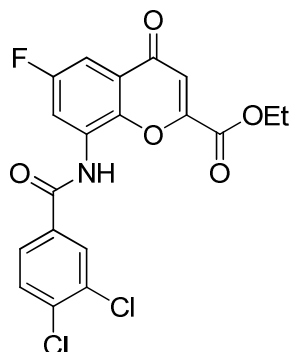


8-(2,3-Dichlorobenzamido)-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (224, MF336). Die Synthese erfolgte aus 2,3-Dichlorobenzoylchlorid (251 mg, 1.2 mmol) und Amin **128** (226 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 95:5) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 80 mg (21 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.64 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 3.0$ Hz, 1H, 5-H), 7.68 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 6'-H), 7.82 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4'-H), 8.05 (dd, $J = 9.3$ Hz, $J = 2.7$ Hz, 1H, 7-H), 10.77 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.9 (CH_3), 63.0 (CH_2), 106.6 (d, $J = 22.9$ Hz, C-5), 113.3 (C-3), 118.6 (d, $J = 27.5$ Hz, C-7), 125.4 (d, $J = 9.2$ Hz, C-4a), 128.0 (C-6'), 128.6 (C-2'), 128.7 (C-5'), 129.6 (d, $J = 10.1$ Hz, C-8), 132.0 (C-4'), 132.5 (C-1'), 138.1 (C-3'), 145.9 (C-8a), 152.2 (C-2), 158.6 (d, $J = 245.6$ Hz, C-6), 159.8 (CO_2Et), 164.8 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (m/z): 422 [M-H] $^-$, 424 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.7 %. Smp.: 202–204 °C.

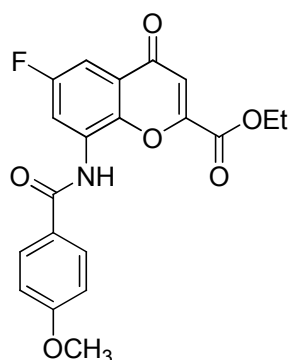


8-(2,4-Dichlorobenzamido)-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (225, MF335). Die Synthese erfolgte aus 2,4-Dichlorobenzoylchlorid (251 mg, 1.2 mmol) und Amin **128** (226 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A: DCM/EtOAc 99:5). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 299 mg (78 %). $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz): δ 1.31 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_3), 4.38 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, CH_2), 7.01 (s, 1H, 3-H), 7.63-7.64 (m, 2H, 5-H, 5'-H), 7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6'-H), 7.81 (s, 1H, 3'-H), 8.06 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, 7-H), 10.69 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz): δ 14.3 (CH_3), 63.3 (CH_2), 106.9 (d, $J = 23.1$ Hz, C-5), 113.6 (C-3), 118.8 (d, $J = 29.7$ Hz, C-7), 125.7 (d, $J = 7.7$ Hz, C-4a), 128.0 (C-5'), 130.0 (C-3' or C-6'), 130.1 (C-

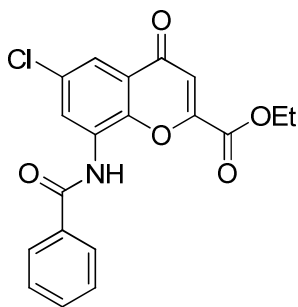
8), 131.4 (C3' or C6'), 132.1 (C-4'), 134.8 (C-1'), 136.1 (C-2'), 146.2 (C-8a), 152.5 (C-2), 159.0 (d, $J = 245.4$ Hz, C-6), 160.2 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 164.9 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 422 $[\text{M-H}]^-$, 424 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 229–230 °C.



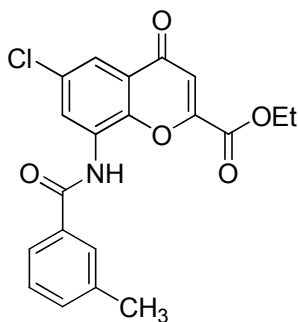
8-(3,4-Dichlorobenzamido)-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (226, MF334). Die Synthese erfolgte aus 3,4-Dichlorbenzoylchlorid (251 mg, 1.2 mmol) und Amin **128** (226 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 95:5) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 254 mg (66 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.63 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.88 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 7.98 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, 6'-H), 8.02 (dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 7-H), 8.24 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2'-H), 10.65 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 (CH_3), 62.9 (CH_2), 106.6 (d, $J = 23.8$ Hz, C-5), 113.1 (C-3), 119.0 (d, $J = 27.5$ Hz, C-7), 125.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-4a), 128.2 (C-6'), 129.8 (C-2'), 130.1 (d, $J = 11.0$ Hz, C-8), 131.1 (C-5'), 131.7 (C-3'), 134.0 (C-1'), 135.2 (C-4'), 146.1 (C-8a), 152.0 (C-2), 158.6 (d, $J = 245.6$ Hz, C-6), 159.8 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 163.5 (CO-NH), 176.6 (C-4). LC-MS (m/z): 422 $[\text{M-H}]^-$, 424 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 195–197 °C.



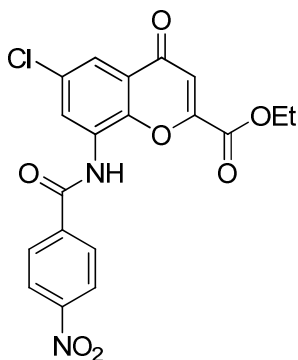
6-Fluor-8-(4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (227, MF297). Die Synthese erfolgte aus 4-Methoxybenzoylchlorid (293 mg, 1.72 mmol) und Amin **128** (325 mg, 1.29 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 436 mg (88 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 4.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.52 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.15 (dd, $J = 9.8$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 7-H), 9.86 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 55.4 (CH, OCH_3), 62.6 ($\underline{\text{CH}}_2\text{-CH}_3$), 104.6 (d, $J = 23.8$ Hz, C-5), 112.7 (C-3), 113.8 (C-3', C-5'), 116.4 (d, $J = 29.3$ Hz, C-7), 124.8 (d, $J = 9.2$ Hz, C-4a), 125.6 (C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 130.7 (d, $J = 11.0$ Hz, C-8), 144.8 (C-8a), 151.7 (C-2), 158.6 (d, $J = 244.7$ Hz, C-6), 159.5 ($\underline{\text{CO}}_2\text{Et}$), 162.5 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 384 $[\text{M-H}]^-$, 386 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 218–219 °C



8-Benzamido-6-chlor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (228, WA08). Die Synthese erfolgte aus Benzoylchlorid (0.14 mL, 1.2 mmol) und Amin **127** (241 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 261 mg (78 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.58 (dd, $J = 7.6$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.66 (tt, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H, 4'-H), 7.83 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.01-8.03 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.25 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.07 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 (CH_3), 62.9 (CH_2), 113.8 (C-3), 120.0 (C-7), 125.3 (C-4a), 127.8 (C-2', C6'), 128.7 (C-3', C-5'), 129.1 (C-5), 130.3, 130.4 (C-6, C-8), 132.3 (C-4'), 133.8 (C-1'), 147.6 (C-8a), 152.1 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 165.6 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 370 [M-H] $^-$, 372 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 231–232 °C.

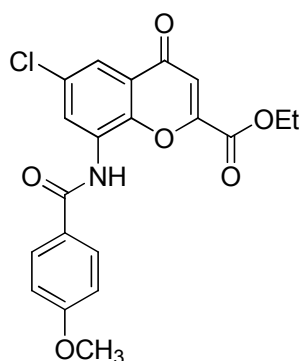


6-Chlor-8-(3-methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (229, MF323). Die Synthese erfolgte aus 3-Toluoylchlorid (186 mg, 1.2 mmol) und Amin **127** (241 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 98:2) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 315 mg (91 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.42 (s, 3H, Ar- CH_3), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.44-7.48 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.79-7.84 (m, 3H, 5-H, 2'-H, 6'-H), 8.21 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.27 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 21.1 (Ar- CH_3), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 113.8 (C-3), 120.1 (C-7), 125.0 (C-6'), 125.2 (C-4a), 128.4 (C-5'), 128.6 (C-2'), 129.5 (C-5), 130.2 (C-8), 130.3 (C-6), 133.0 (C-4'), 133.6 (C-1'), 138.1 (C-3'), 147.8 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 165.6 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 384 [M-H] $^-$, 386 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.8 %. Smp.: 170–171 °C.



6-Chlor-8-(4-nitrobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (230, MF333). Die Synthese erfolgte aus 4-Nitrobenzoylchlorid (223 mg, 1.2 mmol) und Amin **127** (241 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 4 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A: DCM/EtOAc 98:2). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 205 mg (55 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.03 (s, 1H, 3-H), 7.89 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.15 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 8.24 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.42 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 10.80 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 (CH_3), 62.9 (CH_2), 113.9 (C-3), 121.2 (C-7), 123.9 (C-3', C-5'), 125.4 (C-4a), 129.4 (C-2', C-6'), 129.8 (C-8), 130.1 (C-6), 130.9 (C-5), 139.3 (C-1'), 148.4 (C-

8a), 149.7 (C-4'), 152.0 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 164.2 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (*m/z*): 415 [M-H]⁻, 417 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 223–224 °C.

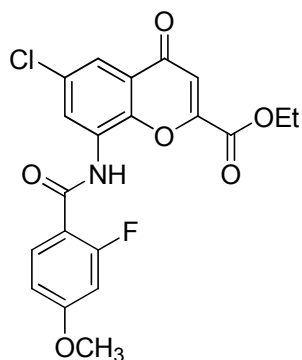


6-Chlor-8-(4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (231, MF249).

Die Synthese erfolgte aus 4-Methoxybenzoylchlorid (205 mg, 1.2 mmol) und Amin **127** (241 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 318 mg (88 %).

¹H-NMR (343 K): δ 1.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.38 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.80 (d, *J* = 2.5 Hz,

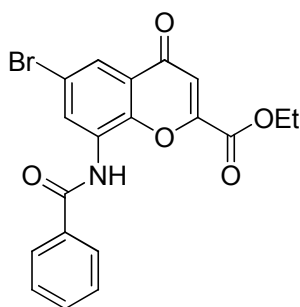
1H, 5-H), 8.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.27 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 9.89 (br, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.5 (CH₂-CH₃), 55.4 (OCH₃), 62.6 (CH₂-CH₃), 113.4 (C-3), 113.8 (C-3', C-5'), 119.2 (C-7), 124.9 (C-4a), 125.7 (C-1'), 128.3 (C-5), 129.4 (C-2', C-6'), 130.0, 130.3 (C-6, C-8), 147.1 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.5 (CO₂Et), 162.5 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 175.8 (C-4). LC-MS (*m/z*): 328 [M-CO₂H]⁻, 372 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 252–253 °C.



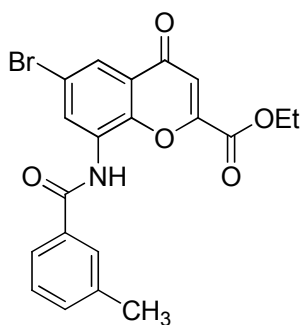
6-Chlor-8-(2-fluor-4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (232, MF371).

Die Synthese erfolgte aus 2-Fluor-4-methoxybenzoesäure (204 mg, 1.2 mmol) und **127** (241 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 95:5) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C

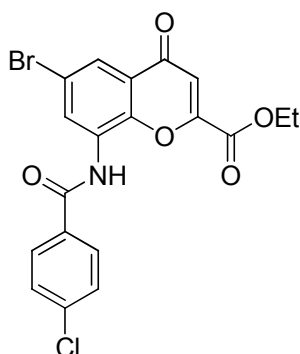
getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 310 mg (82 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.37 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 4.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.97-7.02 (m, 3H, 3-H, 3'-H, 5'-H), 7.74 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 7.95 (dd, *J* = 9.1 Hz, 1H, 6'-H), 8.57 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 9.64 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.5 (CH₂-CH₃), 56.1 (OCH₃), 62.7 (CH₂-CH₃), 101.9 (d, *J* = 28.4 Hz, C-3'), 111.3 (C-5'), 113.0 (d, *J* = 11.9 Hz, C-1'), 113.6 (C-3), 118.5 (C-7), 124.7 (C-4a), 125.6 (C-5), 129.8 (C-6 or C-8), 130.2 (C-6 or C-8), 132.3 (d, *J* = 3.7 Hz, C-6'), 145.4 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.4 (CO₂Et), 161.1 (d, *J* = 249.3 Hz, C-2'), 161.3 (d, *J* = 3.7 Hz, C-4'), 164.1 (d, *J* = 12.8 Hz, CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (*m/z*): 418 [M-H]⁻, 420 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 212–213 °C.



8-Benzamido-6-brom-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (233, WA07). Die Synthese erfolgte aus Benzoylchlorid (0.14 mL, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 303 mg (81 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.26 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.56 (dd, $J = 7.6$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.64 (tt, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.8$ Hz, 1H, 4'-H), 7.95 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.98-8.00 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.34 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.10 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 (CH_3), 63.0 (CH_2), 113.8 (C-3), 118.0 (C-6), 123.2 (C-5), 125.5 (C-4a), 127.7 (C-2', C-6'), 128.8 (C-3', C-5'), 130.3 (C-8), 131.8 (C-4'), 132.4 (C-7), 133.7 (C-1'), 148.1 (C-8a), 152.4 (C-2), 159.8 (CO_2Et), 165.9 (CO-NH), 176.3 (C-4). LC-MS (m/z): 414 [M-H] $^-$, 416 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.0 %. Smp.: 218 °C.

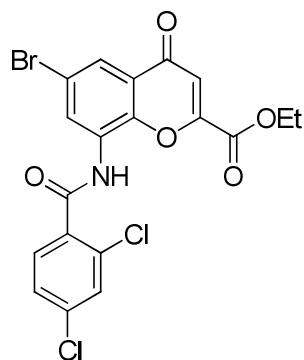


6-Brom-8-(3-methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (234, MF131). Die Synthese erfolgte aus 3-Toluoylchlorid (145 mg, 0.94 mmol) und Amin **126** (243 mg, 0.78 mmol) in einer Reaktionszeit von 24 h nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 240 mg (71 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.42 (s, 1H, Ar- CH_3), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.44-7.48 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.79-7.82 (m, 1H, 5'-H), 7.84 (s, 1H, 2'-H), 7.96 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.31 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.28 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 21.1 (Ar- CH_3), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 113.9 (C-3), 118.0 (C-6), 123.3 (C-5), 125.0 (C-6'), 125.5 (C-4a), 128.4, 128.6 (C-2', C-5'), 130.3 (C-8), 132.3 (C-7), 133.0 (C-4'), 133.6 (C-1'), 138.1 (C-3'), 148.2 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 165.6 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 428 [M-H] $^-$, 432 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.4 %. Smp.: 186 °C.



6-Brom-8-(4-chlorbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (235, MF250). Die Synthese erfolgte aus 4-Chlorbenzoylchlorid (210 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 323 mg (80 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.27 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.36 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.63 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.98 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.03 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.30 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.21 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 (CH_3), 62.6 (CH_2), 113.6 (C-3), 117.6 (C-6), 123.2 (C-5), 125.3 (C-4a), 128.5 (C-3', C-5'), 129.4 (C-2', C-6'), 129.9 (C-8), 132.1 (C-1'), 132.3 (C-7), 137.0 (C-4'), 148.0 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.4 (CO_2Et), 164.4 (CO-NH), 175.6 (C-4). LC-MS (m/z):

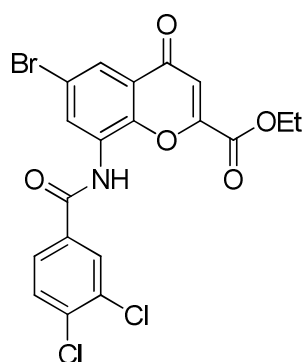
450 [M-H]⁻, 452 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.2 %. Smp.: 237–238 °C.



6-Brom-8-(2,4-dichlorbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (236, MF348).

Die Synthese erfolgte aus 2,4-Dichlorbenzoylchlorid (251 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A: DCM/EtOAc 95:5). Das Produkt konnte als weißer Feststoff isoliert werden. Ausbeute: 318 mg (73 %). ¹H-NMR: δ 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 4.40 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.59 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.9 Hz, 1H, 5'-H), 7.73 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 7.76

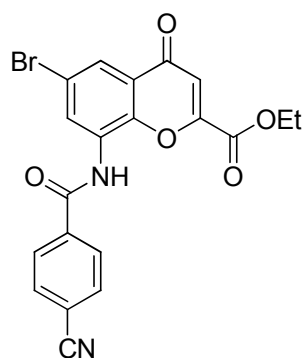
(d, *J* = 1.6 Hz, 1H, 3'-H), 7.99 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.30 (d, *J* = 2.2, 1H, 7-H). ¹³C-NMR: δ 13.6 (CH₃), 62.7 (CH₂), 113.8 (C-3), 117.7 (C-6), 123.6 (C-5), 125.5 (C-4a), 127.3 (C-5'), 129.4 (C-8), 129.4 (C-3' or C-6'), 130.8 (C-3' or C-6'), 131.5 (C-4'), 132.0 (C-7), 134.1 (C-1'), 135.6 (C-2'), 148.0 (C-8a), 152.1 (C-2), 159.5 (CO₂Et), 164.3 (CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (*m/z*): 484 [M-H]⁻, 486 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 221–223 °C.



6-Brom-8-(3,4-dichlorbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (237, MF349).

Die Synthese erfolgte aus 3,4-Dichlorbenzoylchlorid (251 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 259 mg (71 %). ¹H-NMR: δ 1.23 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 5'-H), 7.97 (dd, *J* = 8.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, 1H, 6'-H), 8.00 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H,

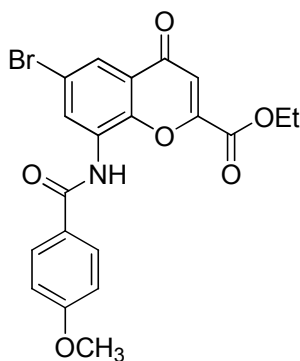
5-H), 8.23-8.24 (m, 2H, 7-H, 2'-H), 10.64 (br, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.8 (CH₃), 62.9 (CH₂), 114.0 (C-3), 117.9 (C-6), 124.1 (C-5), 125.7 (C-4a), 128.2 (C-6'), 129.8 (C-2'), 129.9 (C-8), 131.2 (C-5'), 131.7 (C-3'), 133.4 (C-7), 134.1 (C-1'), 135.2 (C-4'), 148.7 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 163.5 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (*m/z*): 484 [M-H]⁻, 486 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 206–207 °C.



6-Brom-8-(4-cyanobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (238, MF317).

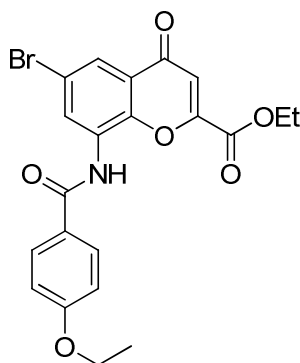
Die Synthese erfolgte aus 4-Cyanobenzoylchlorid (199 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A: DCM/EtOAc 95:5). Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 228 mg (57 %). ¹H-NMR: δ 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₃), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 7.02 (s, 1H, 3-H), 8.00 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.08 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H),

8.15 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.25 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.69 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.7 (CH₃), 62.9 (CH₂), 113.9 (C-3), 114.6 (C-4'), 117.9 (C-6), 118.3 (CN), 124.1 (C-5), 125.6 (C-4a), 128.7 (C-2', C-6'), 129.8 (C-8), 132.8 (C-3', C-5'), 133.3 (C-7), 137.6 (C-1'), 148.7 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 164.4 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 439 [M-H]⁻, 441 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.7 %. Smp.: 229–230 °C.



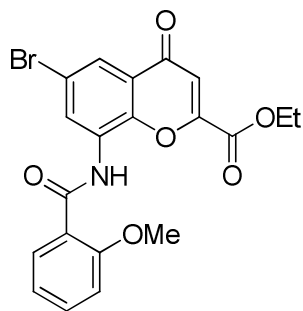
6-Brom-8-(4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (239, MF246). Die Synthese erfolgte aus 4-Methoxybenzoylchlorid (205 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A: DCM/EtOAc 98:2). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 354 mg (89 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.94 (d, $J =$

2.2 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.38 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.88 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.5 (CH₃), 55.4 (OCH₃), 62.6 (CH₂), 113.5 (C-3), 113.8 (C-3', C-5'), 117.7 (C-6), 122.4 (C-5), 125.2, 125.7 (C-10, C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 130.4 (C-8), 131.0 (C-7), 147.5 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.4 (CO₂Et), 162.5 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (m/z): 444 [M-H]⁻, 448 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 248–249 °C.

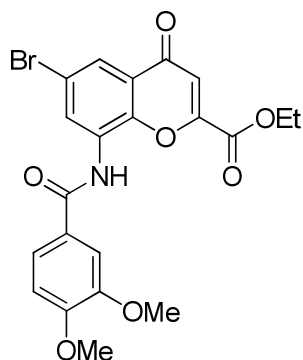


6-Brom-8-(4-ethoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (240, MF307). Die Synthese erfolgte aus 4-Ethoxybenzoylchlorid (222 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 271 mg (65 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CO-OCH₂-CH₃), 1.37 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, Ar-OCH₂-CH₃), 4.16 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, Ar-OCH₂-CH₃), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CO-OCH₂-CH₃),

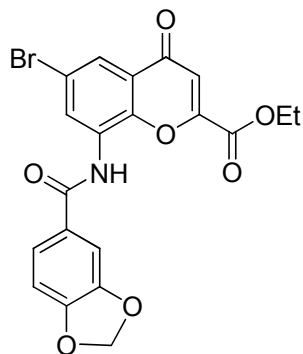
7.00 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.93 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.39 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 9.85 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 (CO-OCH₂-CH₃), 14.2 (Ar-OCH₂-CH₃), 62.6 (CO-OCH₂-CH₃), 63.4 (Ar-OCH₂-CH₃), 113.5 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 117.7 (C-6), 122.3 (C-5), 125.2, 125.5 (C-4a, C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 130.4 (C-8), 130.9 (C-7), 147.4 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.4 (CO₂Et), 161.7 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (m/z): 458 [M-H]⁻, 460 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 208–209 °C.



6-brom-8-(2-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (241, MF313). Die Synthese erfolgte aus 2-Methoxybenzoylchlorid (205 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung B). Säulenchromatografie (DCM/EtOAc 95:5) lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 340 mg (85 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 4.16 (s, 3H, OCH_3), 4.45 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2), 7.03 (s, 1H, 3-H), 7.16-7.20 (m, 1H, 4'-H), 7.33 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 3'-H), 7.62 (ddd, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 5'-H), 7.84 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.10 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 6'-H), 9.03 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.65 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.9 (CH_3), 57.1 (OCH_3), 63.1 (CH_2), 113.1 (C-3'), 114.2 (C-3), 118.4 (C-6), 120.6 (C-1'), 121.0 (C-5'), 121.5 (C-5), 125.3 (C-4a), 127.1 (C-6'), 130.5 (C-8), 131.8 (C-7), 134.5 (C-4'), 145.2 (C-8a), 152.0 (C-2), 157.8 (C-2'), 159.7 (CO_2Et), 163.6 (CO-NH), 176.0 (C-4). LC-MS (m/z): 444 [M-H] $^-$, 448 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 196–197 °C.

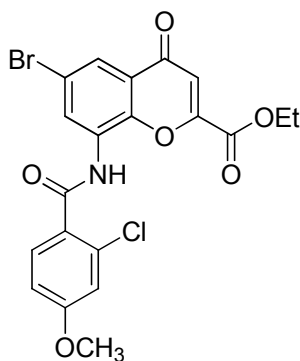


6-Brom-8-(3,4-dimethoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (242, MF251). Die Synthese erfolgte aus 3,4-Dimethoxybenzoylchlorid (241 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A: DCM/EtOAc 98:2). Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 327 mg (76 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.85, 3.86 (s, 6H, OCH_3), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 5'-H), 7.59 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 2'-H), 7.66 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.1$ Hz, 1H, 6'-H), 7.94 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.32 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.14 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 55.8, 55.9 (OCH_3), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 111.3 (C-2', C-5'), 113.9 (C-3), 118.0 (C-6), 121.4 (C-6'), 123.0 (C-5), 125.5, 125.7 (C-4a, C-1'), 130.6 (C-8), 132.1 (C-7), 148.1 (C-3'), 148.6 (C-8a), 152.0 (C-4'), 152.4 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 164.9 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 474 [M-H] $^-$, 476 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 221–223 °C.



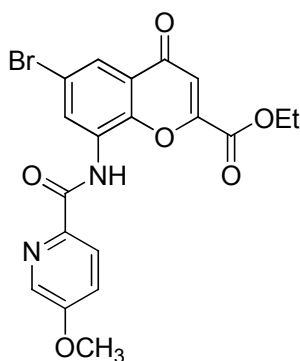
8-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-carboxamido)-6-brom-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (243, MF252). Die Synthese erfolgte aus Piperonylchlorid (222 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) in einer Reaktionszeit von 2 d nach Vorschrift 5.2.15.3 (Aufarbeitung A). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 329 mg (79 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.31 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.14 (s, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.06 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.51 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2'-H), 7.62 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 6'-H), 7.94 (d, $J = 2.2$ Hz,

1H, 5-H), 8.35 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.89 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 13.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 62.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 101.8 (O- $\text{CH}_2\text{-O}$), 107.4 (C-5'), 107.9 (C-2'), 113.5 (C-3), 117.7 (C-6), 122.6 (C-5), 122.8 (C-6'), 125.2 (C-4a), 127.4 (C-1'), 130.2 (C-8), 131.2 (C-7), 147.5, 147.6 (C-3', C8a), 150.5 (C-4'), 151.8 (C-2), 159.4 (CO_2Et), 164.3 (CO-NH), 175.6 (C4). LC-MS (m/z): 460 $[\text{M-H}]^-$, 460 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 231–232 °C.



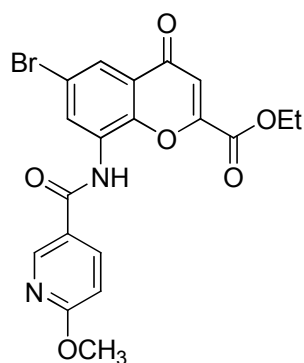
6-Brom-8-(2-chlor-4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (244, MF353).

Die Synthese erfolgte aus 2-Chloro-4-methoxybenzoesäure (224 mg, 1.2 mmol) und Amin **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 350 mg (81 %). ^1H -NMR (343 K): δ 1.34 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.07 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5'-H), 7.15 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 3'-H), 7.77 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 6'-H), 7.95 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.41 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.07 (br, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 13.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 55.2 (OCH_3), 62.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 112.5 (C-5'), 113.1 (C-3), 114.8 (C-3'), 117.1 (C-6), 122.1 (C-5), 124.7 (C-4a), 126.1 (C-1'), 129.1 (C-8), 130.1 (C-6'), 130.7 (C-7), 131.0 (C-2'), 146.7 (C-8a), 151.3 (C-2), 158.8 (CO_2Et), 160.9 (C-4'), 163.8 (CO-NH), 175.0 (C-4). LC-MS (m/z): 480 $[\text{M-H}]^-$, 482 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 223–224 °C.



6-Brom-8-(5-methoxypicolinamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (245, MF368).

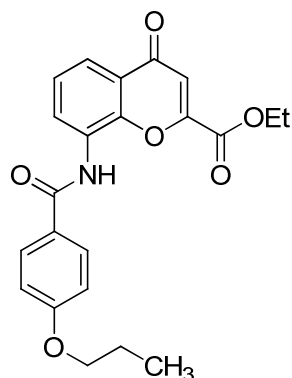
Die Synthese erfolgte aus 5-Methoxypicolinsäure (184 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 321 mg (80 %). ^1H -NMR (500 MHz, 343 K): δ 1.43 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.98 (s, 3H, OCH_3), 4.47 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.66 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, 4'-H), 7.84 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 3'-H), 8.37 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, 6'-H), 8.93 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.65 (br, 1H, NH). ^{13}C -NMR (151 MHz, 303 K): 14.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 56.4 (OCH_3), 63.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 114.0 (C-3), 114.0 (C-6), 120.9 (C-4'), 121.6 (C-3'), 124.3 (C-5), 125.2 (C-4a), 125.9 (C-6'), 129.9 (C-8), 137.1 (C-7), 140.7 (C-2'), 145.1 (C-8a), 151.9 (C-2), 158.8 (C-5'), 159.7 (CO_2Et), 162.1 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 447 $[\text{M-H}]^-$, 447 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.6 %. Smp.: 242–244 °C.



6-Brom-8-(6-methoxynicotinamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (246, MF369).

Die Synthese erfolgte aus 6-Methoxynicotinsäure (184 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 318 mg (79 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-

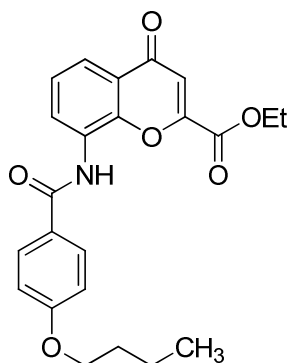
CH₃), 6.97 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, 5'-H), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.97 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, 5-H), 8.26 (dd, *J* = 8.7 Hz, *J* = 2.4 Hz, 1H, 4'-H), 8.31 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, 2'-H), 8.86 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 10.19 (br, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (CH₂-CH₃), 53.6 (OCH₃), 62.6 (CH₂-CH₃), 110.2 (C-5'), 113.6 (C-3), 117.6 (C-6), 123.0 (C-3'), 123.1 (C-5), 125.3 (C-4a), 130.0 (C-8), 132.0 (C-7), 138.3 (C-4'), 147.5 (C-2'), 147.5 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.3 (CO₂Et), 163.7 (C-6'), 165.8 (CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (*m/z*): 447 [M-H]⁻, 449 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 252–253 °C.



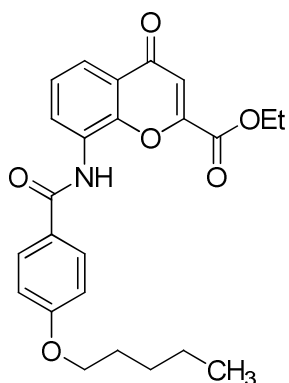
4-Oxo-8-(4-propoxybenzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (247, MF223).

Die Synthese erfolgte aus **148** (234 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das ausgefallene Amid wurde abfiltriert und zweimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 311 mg (79 %). ¹H-NMR

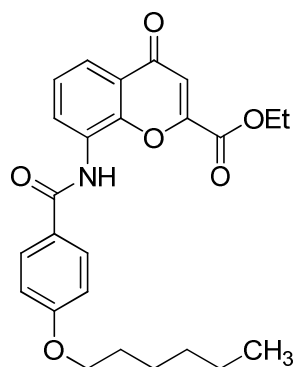
(343 K): δ 1.01 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, CH₂-CH₂-CH₃), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.78 (sext., *J* = 6.6 Hz, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 4.06 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 9.78 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 10.0 (CH₂-CH₂-CH₃), 13.4 (O-CH₂-CH₃), 21.7 (CH₂-CH₂-CH₃), 62.4 (O-CH₂-CH₃), 69.3 (CH₂-CH₂-CH₃), 113.4 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.1 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.4 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.6 (CO₂Et), 161.7 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 394 [M-H]⁻, 396 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 215–216 °C.



8-(4-Butoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (248, MF225). Die Synthese erfolgte aus **149** (253 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 329 mg (80 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.95 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.45 (sext., $J = 7.4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.73 (quint., $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.08 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.33 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.10 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 10.04 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 18.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 30.8 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 62.8 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 67.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.7 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 161.8 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 408 $[\text{M-H}]^-$, 410 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.0 %. Smp.: 192–193 °C.



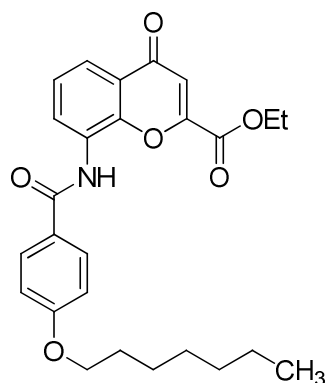
4-Oxo-8-(4-(pentyloxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (249, MF196). Die Synthese erfolgte aus **150** (271 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 319 mg, 75 %. $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 0.92 (t, $J = 7.3$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.34-1.47 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.76 (quint., $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.09 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.06-7.08 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.98-8.00 (m, 2H, C2'H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.78 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4, 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 21.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 27.4 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.1 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 62.5 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.7 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 422 $[\text{M-H}]^-$, 424 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 192–193 °C.



8-(4-(Hexyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (250, MF238).

Die Synthese erfolgte aus **151** (267 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 345 mg (88 %).

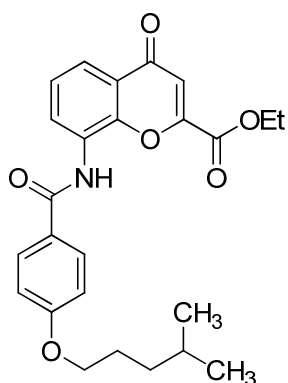
$^1\text{H-NMR}$: δ 0.88 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.30-1.34 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.38-1.45 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 1.72 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.07 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.05 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 14.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 25.2 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.6 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 31.1 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 62.8 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.7 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.7 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 161.8 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 436 $[\text{M-H}]^-$, 438 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.1 %. Smp.: 184 °C.



8-(4-(Heptyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (251, MF239).

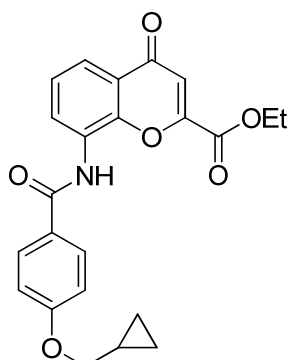
Die Synthese erfolgte aus **152** (284 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 253 mg (62 %).

$^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 0.89 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.25-1.39 (m, 9H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.42-1.48 (m, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.76 (quint., $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.06 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.78 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4, 13.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 21.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 25.2 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.1 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.4 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 30.9 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 62.4 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.7 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 450 $[\text{M-H}]^-$, 452 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.0 %. Smp.: 183–184 °C.



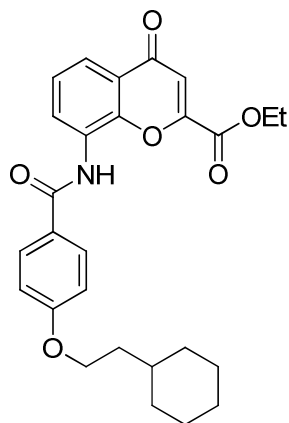
8-(4-(4-Methylpentyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (252, MF197). Die Synthese erfolgte aus **153** (289 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 334 mg (76 %). ¹H-NMR (343 K): δ 0.91 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, O-CH₂-CH₃), 1.32-1.37 (m, 2H, CH₂-*i*Pr), 1.63 (sept., *J* = 6.6 Hz, 1H, CH(CH₃)₂), 1.73-1.80

(m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.08 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 9.79 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (O-CH₂-CH₃), 22.1 (CH(CH₃)₂), 26.3 (CH₂-*i*Pr), 27.0 (CH(CH₃)₂), 34.5 (O-CH₂-CH₂), 62.5 (O-CH₂-CH₃), 68.1 (CH₂-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 161.7 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 436 [M-H]⁻, 438 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 190–191 °C.

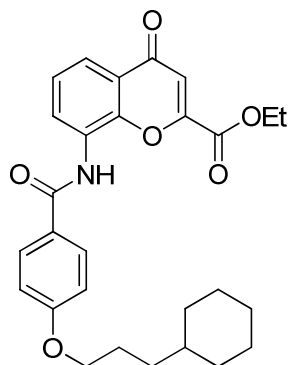


8-(4-(Cyclopropylmethoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (253, MF234). Die Synthese erfolgte aus **154** (231 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 270 mg (74 %). ¹H-NMR (343 K): δ 0.35-0.38 (m, 2H, CH₂(Cyclopropyl)), 0.57-0.62 (m, 2H, CH₂(Cyclopropyl)), 1.22-1.30 (m, 4H, CH₂-CH₃, CH(Cyclopropyl)), 3.96 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂-O), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.87 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 9.79 (s, 1H, NH).

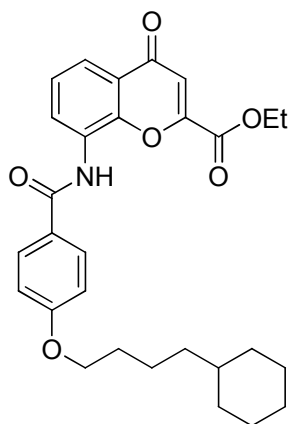
¹³C-NMR (343 K): δ 2.79 (CH₂(Cyclopropyl)), 9.84 (CH(Cyclopropyl)), 13.5 (CH₂-CH₃), 62.6 (CH₂-CH₃), 72.2 (CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.1 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 161.7 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 406 [M-H]⁻, 408 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 231–232 °C.



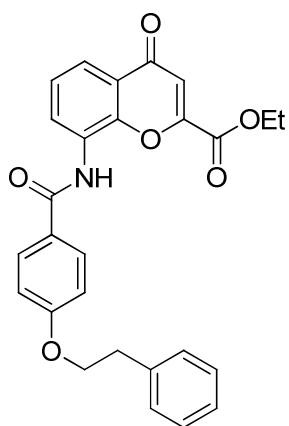
8-(4-(2-Cyclohexylethoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (254, MF180). Die Synthese erfolgte aus **155** (322 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingeeignet und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 283 mg (61 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 0.97-1.05 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.13-1.30 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, Cyclohexyl), 1.47-1.53 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.61-1.71 (m, 5H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 1.74-1.77 (m, 2H, Cyclohexyl), 4.13 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.77 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 25.5 (C-3'', C-5''), 25.9 (C-4''), 32.5 (C-2'', C-6''), 34.0 (C-1''), 35.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 62.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 66.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.6 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 462 [M-H]⁻, 464 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 179 °C.



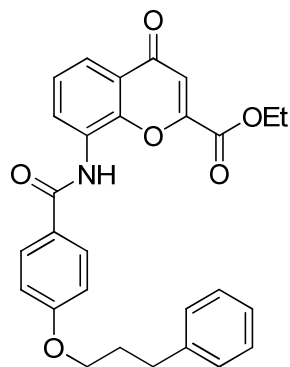
8-(4-(3-Cyclohexylpropoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (255, MF235). Die Synthese erfolgte aus **156** (315 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Nach einer Reaktionszeit von 3 d wurde das Reaktionsgemisch unter Zugabe von 3 Tropfen DMF auf 50 °C erhitzt. Kühlung auf RT bewirkte die Auskristallisation des Produktes, welches abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen wurde. Nach Umkristallisation in THF/Aceton (8:1) unter Zusatz von 3 Tropfen DMF konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 306 mg (71 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 0.89-0.97 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.11-1.37 (m, 9H, O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 1.60-1.79 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 4.08 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.79 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 (O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 25.6 (C-3'', C-5''), 25.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 26.0 (C-4''), 32.6 (C-2'', C-6''), 32.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 36.6 (C-1''), 62.5 (O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.7 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.7 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 177.0 (C-4). LC-MS (m/z): 476 [M-H]⁻, 478 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 198–199 °C.



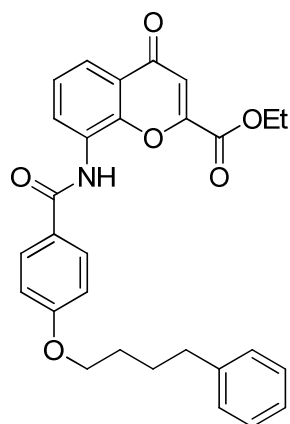
8-(4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (256, WA23). Die Synthese erfolgte aus **157** (331 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 336 mg (76 %). ¹H-NMR (343 K): δ 0.86-0.93 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.22-1.29 (m, 9H, CH₂-CH₃, CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 1.42-1.48 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.59-1.75 (m, 7H, CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 4.08 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.06 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.2 Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.15 (dd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 7-H), 9.79 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.5 (CH₂-CH₃), 22.6 (CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O), 25.7 (C-3'', C-5''), 26.1 (C-4''), 28.8 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 32.7 (C-2'', C-6''), 36.3 (CH₂-CH₂-O), 36.9 (C-1''), 62.5 (CH₂-CH₃), 67.9 (CH₂-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 120.8 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.5 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.4 (C-2', C-6'), 129.7 (C-6), 148.8 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 161.7 (C-4'), 164.8 (CO-NH), 177.0 (C-4). LC-MS (*m/z*): 490 [M-H]⁻, 492 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 167 °C.



4-Oxo-8-(4-phenethoxybenzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (257, MF181). Die Synthese erfolgte aus **158** (315 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 259 mg (57 %). ¹H-NMR: δ 1.24 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.07 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.29-4.35 (m, 4H, CH₂-CH₃, CH₂-CH₂-O), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.23 (tt, *J* = 6.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 4''-H), 7.30-7.36 (m, 4H, 2''-H, 3''-H, 5''-H, 6''-H), 7.55 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.8 (CH₂-CH₃), 34.9 (CH₂-Ph), 62.8 (CH₂-CH₃), 68.6 (CH₂-CH₂-O), 113.7 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.1 (C-1'), 126.5 (C-4''), 128.5 (C-2'', C-6''), 128.6 (C-8), 129.1 (C-3'', C-5''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 138.3 (C-1''), 149.3 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 161.6 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 456 [M-H]⁻, 458 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %. Smp.: 175–176 °C.

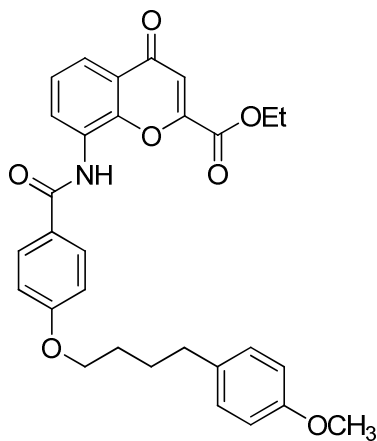


4-Oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (258, MF179). Die Synthese erfolgte aus **159** (333 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 426 mg (90 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.04-2.07 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.76 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.08 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.17-7.31 (m, 5H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 30.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 31.5 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 62.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 67.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.7 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.0 (C-4''), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 141.4 (C-1''), 149.3 (C-8a), 151.9 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 161.8 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 470 [M-H] $^-$, 472 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 186 °C.



4-Oxo-8-(4-(4-phenylbutoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (259, MF149).³³⁸ Zu einer Suspension von **160** (208 mg, 0.77 mmol) mit 3 Tropfen wasserfreiem DMF in 4 mL DCM wurde 1 mL frisch destilliertes Thionylchlorid gegeben und das Reaktionsgemisch in einer Argon-Atmosphäre für 20 min bei RT und anschließend für 30 min bei 45 °C gerührt. Das DCM und der Überschuss Thionylchlorid wurden mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe unter vermindertem Druck abdestilliert. Kühlung (Eisbad) bewirkte das Auskristallisieren des Säurechlorids. In der Zwischenzeit wurden das Amin **121** (163 mg, 0.7 mmol) und DIPEA (0.12 mL, 0.8 mmol) in 4 mL DCM gelöst. Die Lösung wurde anschließend zum Säurechlorid, welches zuvor in 5 mL DCM gelöst wurde, zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für zwei Tage in einer Argon-Atmosphäre gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) und lieferte das Produkt als weißes Pulver. Ausbeute: 222 mg (65 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.24 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.74-1.76 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.67 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.09 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.06-7.08 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.15-7.30 (m, 5H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.98-8.00 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.05 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (303 K): δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 27.5, 28.3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 62.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 67.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.7 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7, C-4''),

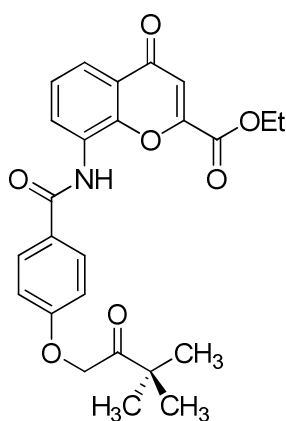
125.9 (C-1'), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 128.6 (C-8), 129.7 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 142.1 (C-1''), 149.2 (C-8a), 151.8 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 161.8 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 484 [M-H]⁻, 486 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 159 °C.



8-(4-(3-(4-Methoxyphenyl)propoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (260, MF240).

Die Synthese erfolgte aus **161** (344 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 247 mg (55 %). ¹H-NMR: δ 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.01 (tt, *J* = 6.9 Hz, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.70 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH₂-Ph), 3.71 (s, 3H,

CH₃), 4.06 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂-O), 4.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 6.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.15 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.55 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.8 (O-CH₂-CH₃), 30.6 (CH₂-CH₂-O), 39.7 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 55.1 (OCH₃), 62.8 (O-CH₂-CH₃), 67.1 (CH₂-O), 113.7 (C-3), 113.9 (C-3'', C-5''), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.4 (C-2'', C-6''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 133.2 (C-1''), 149.3 (C-8a), 151.8 (C-2), 157.6 (C-4''), 160.0 (CO₂Et), 161.8 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 500 [M-H]⁻, 502 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 190–191 °C.

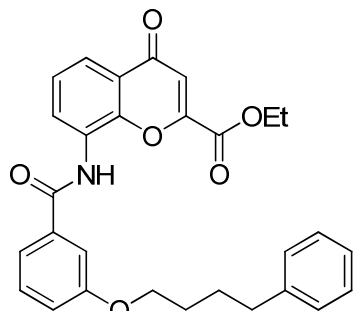


8-(4-(3,3-Dimethyl-2-oxobutoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (261, MF187).

Die Synthese erfolgte aus **162** (307 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 273 mg (61 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.21 (s, 9H, ^tBu), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.20 (s, 2H, CO-CH₂-O), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.04

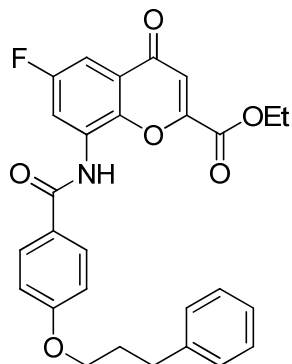
(d, *J* = 8.7 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.97 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 9.81 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.5 (CH₂-CH₃), 25.6 (C(CH₃)₃), 42.3 (C(CH₃)₃), 62.5 (CH₂-CH₃), 68.6 (CO-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 126.4 (C-1'), 128.4 (C-8), 129.2 (C-2', C-6'), 129.7 (C-6), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 161.0 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9

(C-4), 208.9 (CH₂-CO). LC-MS (*m/z*): 450 [M-H]⁻, 452 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 191–193 °C.



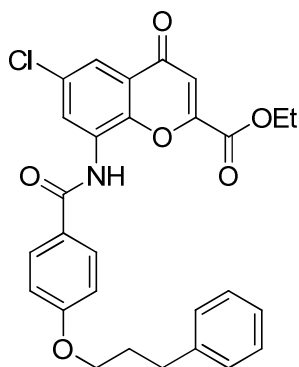
4-Oxo-8-(3-(4-phenylbutoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (262, MF188). Die Synthese erfolgte aus **164** (351 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 430 mg (89 %). ¹H-NMR: δ

1.21 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 1.76-1.77 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 2.66 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.09 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.30 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.15-7.22 (m, 4H, 2'-H, 2''-H, 4''-H, 6''-H), 7.27 (dd, *J* = 7.5 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.46 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.56-7.59 (m, 3H, 4'-H, 5'-H, 6'-H), 7.91 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H, 5-H), 8.09 (dd, *J* = 7.7 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H, 7-H), 10.19 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.5 (CH₂-CH₃), 27.6, 28.4 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 34.9 (CH₂-Ph), 62.8 (CH₂-CH₃), 67.7 (CH₂-CH₂-O), 113.8 (C-3), 118.2, 119.9 (C-4', C-6'), 121.7 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.8, 125.9 (C-7, C-4''), 128.3 (C-8), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.8 (C-5'), 131.0 (C-6), 135.4 (C-1'), 142.1 (C-1''), 149.4 (C-8a), 151.9 (C-2), 158.9 (C-4'), 160.0 (CO₂Et), 165.3 (CO-NH), 177.3 (C-4). LC-MS (*m/z*): 484 [M-H]⁻, 486 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 140 °C.

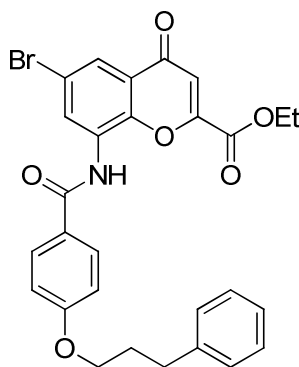


6-Fluor-4-oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (263, WA06). Die Synthese erfolgte aus **159** (308 mg, 1.2 mmol) und **121** (226 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Nach einer Reaktionszeit von 2 d wurde das Reaktionsgemisch eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1). Das Produkt konnte als fein-kristalliner, weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 342 mg (78 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H,

CH₂-CH₃), 2.05-2.11 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.78 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.11 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.16-7.20 (m, 1H, 4''-H), 7.23-7.24 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.27-7.30 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.53 (dd, *J* = 8.1 Hz, *J* = 3.1 Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.15 (dd, *J* = 9.9 Hz, *J* = 3.1 Hz, 1H, 7-H), 9.86 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.5 (CH₂-CH₃), 30.0 (CH₂-CH₂-O), 31.2 (CH₂-Ph), 62.6 (CH₂-CH₃), 67.2 (CH₂-O), 104.7 (d, *J* = 24.3 Hz, C-5), 112.7 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 116.4 (d, *J* = 28.9 Hz, C-7), 124.8 (d, *J* = 8.5 Hz, C-4a), 125.5 (C-1'), 125.6 (C-4''), 128.1 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.4 (C-2', C-6'), 130.7 (d, *J* = 11.3 Hz, C-8), 141.1 (C-1''), 144.9 (C-8a), 151.7 (C-2), 158.5 (d, *J* = 244.6 Hz, C-6), 159.5 (CO₂Et), 161.8 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (*m/z*): 488 [M-H]⁻, 490 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 179 °C.

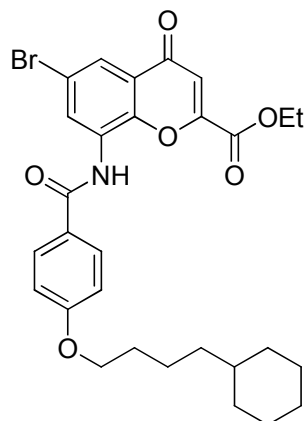


6-Chlor-4-oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (264, MF241). Die Synthese erfolgte aus **159** (333 mg, 1.3 mmol) und **127** (241 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und zweimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 95:5) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 326 mg (72 %). ¹H-NMR: δ 1.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 2.05-2.10 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.78 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.11 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂-O), 4.38 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, 4''-H), 7.23 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.28 (dd, *J* = 7.5 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.79 (m, 1H, 5-H), 7.98 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.27 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, 7-H), 9.85 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.4 (CH₂-CH₃), 30.0 (CH₂-CH₂-O), 31.2 (CH₂-Ph), 62.6 (CH₂-CH₃), 67.1 (CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 119.2 (C-7), 124.8 (C-4a), 125.5 (C-1'), 125.6 (C-4''), 128.1 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.4 (C-5, C-2', C-6'), 130.0 (C-8), 130.2 (C-6), 141.4 (C-1''), 147.0 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.4 (CO₂Et), 161.8 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 175.8 (C-4). LC-MS (*m/z*): 504 [M-H]⁻, 506 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 185 °C.



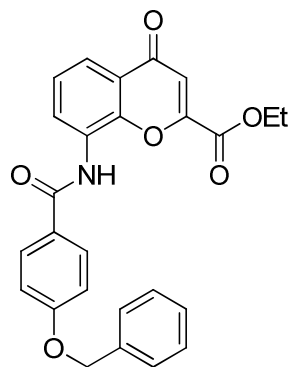
6-Brom-4-oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (265, MF224). Die Synthese erfolgte aus **159** (333 mg, 1.3 mmol) und **126** (312 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Nach einer Reaktionszeit von 3 d wurde das Reaktionsgemisch unter Zugabe von 3 Tropfen DMF auf 60 °C erhitzt um das ausgefallene Amid wieder zu lösen. Kühlung auf RT bewirkte das Auskristallisieren des Produktes, welches abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet wurde. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 247 mg (45 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.32 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, O-CH₂-CH₃), 2.09 (quint., *J* = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.81 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.14 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.40 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, 4''-H), 7.26 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.95 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.40 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, 7-H), 9.87 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (O-CH₂-CH₃), 30.0 (CH₂-CH₂-O), 31.3 (CH₂-Ph), 62.6 (O-CH₂-CH₃), 67.2 (CH₂-CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 117.7 (C-6), 122.4 (C-5), 125.2 (C-4a, C-1'), 125.6 (C-4''), 128.1 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.4 (C-2', C-6'), 130.3 (C-8), 130.9 (C-7), 141.1 (C-1''), 147.5 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.4 (CO₂Et),

161.8 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (m/z): 550 [M-H]⁻, 550 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 177–178 °C.



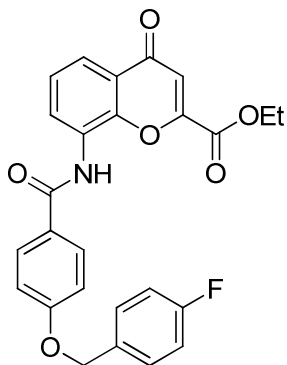
6-Brom-8-(4-(4-cyclohexylbutoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (266, WA20). Die Synthese erfolgte aus **157** (331 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 98:2). Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 287 mg (56 %). ¹H-NMR: δ 0.87-0.93 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.13-1.26 (m, 6H, CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 1.30 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 1.43-1.47 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 1.60-1.76 (m, 7H, CH₂-CH₂-O, Cyclohexyl), 4.09 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.38 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.93 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.39 (m, 1H, 7-H), 9.88 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.4 (CH₂-CH₃), 22.5 (CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-O), 25.6 (C-3'', C-5''), 26.0 (C-4''), 28.7 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 32.6 (C-2'', C-6''), 36.2 (CH₂-CH₂-O), 36.8 (C-1''), 62.6 (CH₂-CH₃), 67.9 (CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 117.7 (C-6), 122.2 (C-5), 125.2 (C-4a od. C-1'), 125.5 (C-4a od. C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 130.5 (C-8), 130.9 (C-7), 147.5 (C-8a), 151.7 (C-2), 159.4 (CO₂Et), 161.8 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 175.7 (C-4).

LC-MS (m/z): 568 [M-H]⁻, 572 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 164–165 °C.



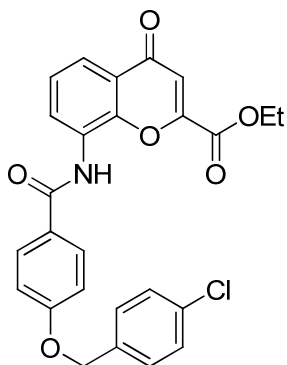
8-(4-(Benzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (267, MF269). Die Synthese erfolgte aus **176** (167 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 298 mg (75 %). ¹H-NMR: δ 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.33 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.23 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.34 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, 4''-H), 7.41 (dd, $J = 7.5$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.48 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.08 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.8 (CH₂-CH₃), 62.8 (CH₂-CH₃), 69.6 (Ar-CH₂-O), 113.7 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.3 (C-1'), 127.9 (C-2'', C-6''), 128.1 (C-4''), 128.6 (C-8, C-3'', C-5''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 136.7 (C-1''), 149.3 (C-8a), 151.8 (C-2), 160.0

(CO₂Et), 161.4 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 442 [M-H]⁻, 444 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 216–217 °C.



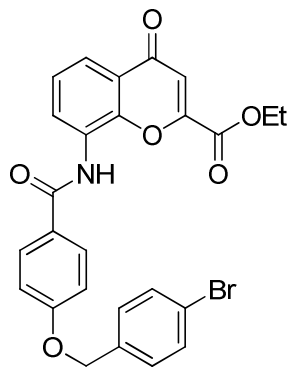
8-(4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (268, MF198). Die Synthese erfolgte aus **177** (320 mg, 1.3 mmol) und **121** (233 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurden 10 Tropfen DMF zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde auf 60 °C für 10 min erhitzt. Abkühlen auf RT bewirkte das Ausfällen des reinen Produktes, welches abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet wurde. Das Amid konnte als weißer Feststoff gewonnen

werden. Ausbeute: 367 mg (80 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.22 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.16-7.22 (m, 4H, 3'-H, 5'-H, 3''-H, 5''-H), 7.51-7.56 (m, 3H, 6-H, 2''-H, 6''-H), 7.88 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.15 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 9.82 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (CH₂-CH₃), 62.5 (CH₂-CH₃), 68.8 (Ar-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 115.0 (d, *J* = 21.1 Hz, C-3'', C-5''), 120.8 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 126.4 (C-1'), 128.4 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.6 (d, *J* = 8.2 Hz, C-2'', C-6''), 129.7 (C-6), 132.8 (C-1''), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 161.1 (C-4'), 162.0 (d, *J* = 243.8 Hz, C-4''), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 460 [M-H]⁻, 462 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 242–243 °C.

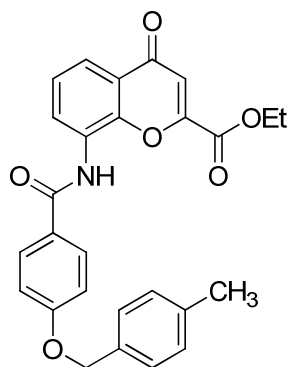


8-(4-(4-Chlorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (269, MF289). Die Synthese erfolgte aus **178** (315 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver

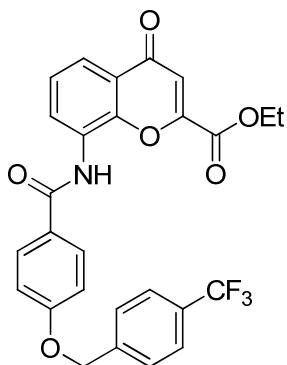
gewonnen werden. Ausbeute: 198 mg (46 %). ¹H-NMR: δ 1.22 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.23 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.46 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.50 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.55 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, *J* = 7.7 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H, 7-H), 10.13 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.8 (CH₂-CH₃), 62.8 (CH₂-CH₃), 68.8 (Ar-CH₂-O), 113.7 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.4 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.4 (C-1'), 128.6 (C-8), 128.6 (C-3'', C-5''), 129.7 (C-2'', C-6''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 132.7 (C-4''), 135.8 (C-1''), 149.3 (C-8a), 151.8 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 161.2 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 476 [M-H]⁻, 478 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 220–221 °C.



8-(4-(4-Bromobenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (270, MF287). Die Synthese erfolgte aus **179** (385 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 285 mg (61 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.22 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.21 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.44 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.89 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.11 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 62.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.8 (Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 113.7 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.2 (C-4''), 121.4 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.5 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.0 (C-2'', C-6''), 130.8 (C-6), 131.5 (C-3'', C-5''), 136.2 (C-1''), 149.3 (C-8a), 151.8 (C-2), 160.0 (CO_2Et), 161.2 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 522 $[\text{M-H}]^-$, 524 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 224–226 °C.

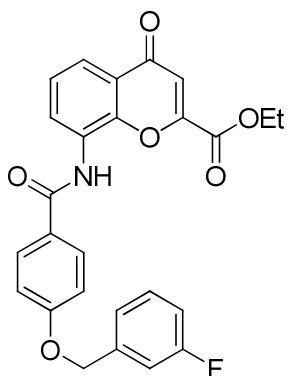


8-(4-(4-Methylbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (271, MF277). Die Synthese erfolgte aus **180** (291 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 315 mg (77 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 2.32 (s, 3H, Ar- CH_3), 4.36 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.18 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.21 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.35 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.80 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 20.4 (Ar- CH_3), 62.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 69.5 (Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.1 (C-4a), 125.4 (C-7), 126.3 (C-1''), 127.5 (C-2'', C-6''), 128.4 (C-8), 128.8 (C-3'', C-5''), 129.3 (C-2', C-6'), 129.7 (C-6), 133.5 (C-1'), 137.0 (C-4''), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.3 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 456 $[\text{M-H}]^-$, 458 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.5 %. Smp.: 212 °C.



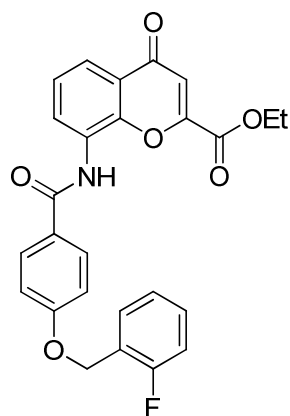
4-Oxo-8-(4-(4-(trifluormethyl)benzyloxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (272, MF284). Die Synthese erfolgte aus **181** (356 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt

konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 386 mg (84 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.35 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.18-7.20 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.70 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.76 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.89 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 5-H), 8.01-8.02 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.15 (dd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H, 7-H), 9.82 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (CH₂-CH₃), 62.4 (CH₂-CH₃), 68.6 (Ar-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 120.8 (C-5), 122.9 (CF₃), 124.2 (C-4a), 125.1 (q, *J* = 3.7 Hz, C-3'', C-5''), 125.4 (C-7), 126.6 (C-1'), 127.8 (C-2'', C-6''), 128.3 (C-8), 128.4 (q, *J* = 31.4 Hz, C-4''), 129.4 (C-2', C-6'), 129.7 (C-6), 141.4 (C-1''), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.6 (CO₂Et), 160.9 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 510 [M-H]⁻, 512 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 234–235 °C.



8-(4-(3-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (273, MF276). Die Synthese erfolgte aus **182** (296 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver

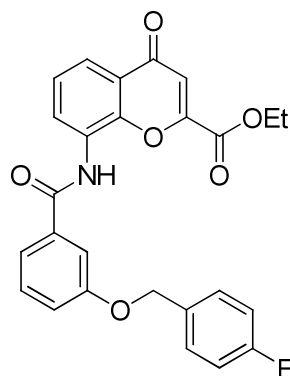
gewonnen werden. Ausbeute: 314 mg (76 %). ¹H-NMR: δ 1.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.32 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.26 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.15-7.19 (m, 3H, 3'-H, 5'-H, 2''-H), 7.29-7.32 (m, 2H, 4''-H, 6''-H), 7.43-7.47 (m, 1H, 5''-H), 7.55 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 10.08 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.7 (CH₂-CH₃), 62.8 (CH₂-CH₃), 68.7 (Ar-CH₂-O), 113.7 (C-3), 114.4 (d, *J* = 22.0 Hz, C-2''), 114.8 (C-3', C-5'), 114.8 (d, *J* = 20.2 Hz, C-4''), 121.4 (C-5), 123.7 (C-6''), 124.4 (C-4a), 125.8 (C-7), 126.5 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.6-130.7 (m, C-6, C-5''), 139.7 (d, *J* = 7.3 Hz, C-1''), 149.2 (C-8a), 151.8 (C-2), 160.0 (CO₂Et), 161.2 (C-4'), 162.3 (d, *J* = 249.3 Hz, C-3''), 164.9 (CO-NH), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 460 [M-H]⁻, 462 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 198–199 °C.



8-(4-(2-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (274, MF278).

Die Synthese erfolgte aus **184** (296 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 9:1) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 338 mg (81 %). ¹H-NMR

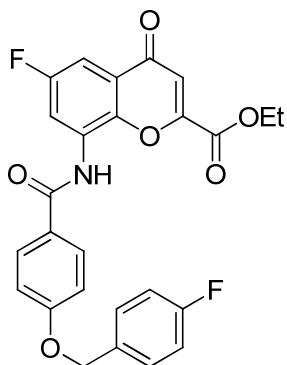
(343 K): δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.36 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.28 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.18-7.20 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.23-7.27 (m, 2H, 5''-H, 6''-H), 7.40-7.43 (m, 1H, 3''-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.58 (td, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 4''-H), 7.88 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.01-8.03 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.81 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (CH₂-CH₃), 62.5 (CH₂-CH₃), 63.9 (Ar-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.6 (C-3', C-5'), 115.2 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3''), 120.8 (C-5), 123.3 (d, $J = 15.1$ Hz, C-1''), 124.2 (C-4a), 124.3 (d, $J = 3.4$ Hz, C-5''), 125.4 (C-7), 126.6 (C-1'), 128.4 (C-8), 129.4 (C-2', C-6'), 129.7 (C-6), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-4''), 130.4 (d, $J = 3.8$ Hz, C-6''), 148.7 (C-8a), 151.6 (C-2), 159.6 (CO₂Et), 160.3 (d, $J = 246.5$ Hz, C-2''), 161.1 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 460 [M-H]⁻, 462 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 194–195 °C.



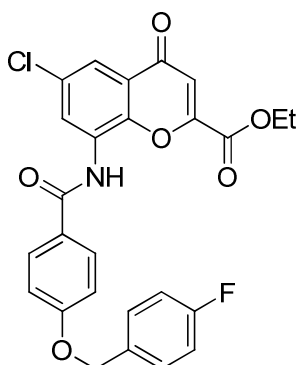
8-(3-(4-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (275, MF312).

Die Synthese erfolgte aus **185** (296 mg, 1.2 mmol) und **121** (210 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 313 mg (75 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.25 (t,

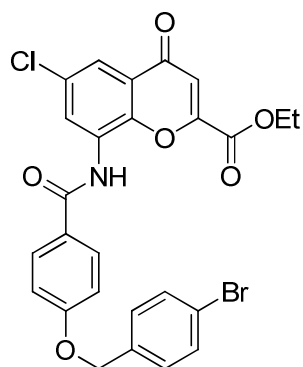
$J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.35 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.20 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.19-7.22 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.28 (ddd, $J = 8.2$ Hz, $J = 2.5$ Hz, $J = 0.8$ Hz, 1H, 4'-H), 7.48 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.51-7.57 (m, 3H, 5'-H, 2''-H, 6''-H), 7.62-7.64 (m, 1H, 6'-H), 7.67 (dd, $J = 1.5$ Hz, 1H, 2'-H), 7.91 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.14 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.96 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.4 (CH₂-CH₃), 62.4 (CH₂-CH₃), 69.0 (Ar-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.2 (C-2'), 115.0 (d, $J = 21.4$ Hz, C-3'', C-5''), 118.4 (C-4'), 120.0 (C-6'), 121.1 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.4 (C-7), 128.1 (C-8), 129.5 (C-5'), 129.6 (d, $J = 8.4$ Hz, C-2'', C-6''), 130.0 (C-6), 132.9 (d, $J = 2.5$ Hz, C-1''), 135.4 (C-1'), 148.9 (C-8a), 151.6 (C-2), 158.3 (C-3'), 159.6 (CO₂Et), 161.7 (d, $J = 244.0$ Hz, C-4''), 162.7 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 460 [M-H]⁻, 462 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 198 °C.



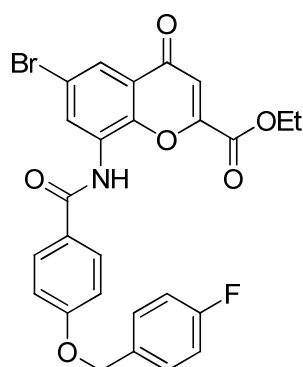
6-Fluor-8-(4-(4-fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (276, MF305). Die Synthese erfolgte aus **177** (295 mg, 1.2 mmol) und **227** (226 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 259 mg (60 %). ¹H-NMR (343 K): δ 1.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.38 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.22 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.17-7.22 (m, 4H, 3'-H, 5'-H, 3''-H, 5''-H), 7.51-7.54 (m, 3H, 5-H, 2''-H, 6''-H), 8.01 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.14 (dd, *J* = 9.8 Hz, *J* = 3.1 Hz, 1H, 7-H), 10.13 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (343 K): δ 13.5 (CH₂-CH₃), 62.6 (CH₂-CH₃), 68.9 (Ar-CH₂-O), 104.7 (d, *J* = 24.1 Hz, C-5), 112.7 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 115.0 (d, *J* = 21.5 Hz, C-3'', C-5''), 116.6 (d, *J* = 28.7 Hz, C-7), 124.9 (d, *J* = 8.8 Hz, C-4a), 126.0 (C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 129.7 (d, *J* = 8.2 Hz, C-2'', C-6''), 130.7 (d, *J* = 11.7 Hz, C-8), 132.7 (d, *J* = 2.5 Hz, C-1''), 145.5 (C-8a), 151.7 (C-2), 158.5 (d, *J* = 242.7 Hz, C-6), 159.5 (CO₂Et), 161.4 (C-4'), 161.7 (d, *J* = 245.2 Hz, C-4''), 164.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 478 [M-H]⁻, 480 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.7 %. Smp.: 214–215 °C.



6-Chlor-8-(4-(4-fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (277, MF243). Die Synthese erfolgte aus **177** (295 mg, 1.2 mmol) und **127** (241 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 95:5) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 272 mg (61 %). ¹H-NMR: δ 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 5.22 (s, 2H, Ar-CH₂-O), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.17-7.22 (m, 4H, 3'-H, 5'-H, 3''-H, 5''-H), 7.51-7.54 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.80 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.00-8.01 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.26 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 9.93 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 13.4 (CH₂-CH₃), 62.6 (CH₂-CH₃), 68.8 (Ar-CH₂-O), 113.4 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 115.0 (d, *J* = 21.6 Hz, C-3'', C-5''), 119.3 (C-7), 124.9 (C-4a), 125.9 (C-1'), 128.4 (C-5), 129.4 (C-2', C-6'), 129.6 (d, *J* = 8.5 Hz, C-2'', C-6''), 129.9 (C-6 or C-8), 130.3 (C-6 or C-8), 132.9 (d, *J* = 2.7 Hz, C-1''), 147.7 (C-8a), 153.3 (C-2), 159.4 (CO₂Et), 161.3 (C-4'), 162.0 (d, *J* = 244.7 Hz, C-4''), 164.6 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (*m/z*): 494 [M-H]⁻, 496 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.9 %. Smp.: 230–232 °C.

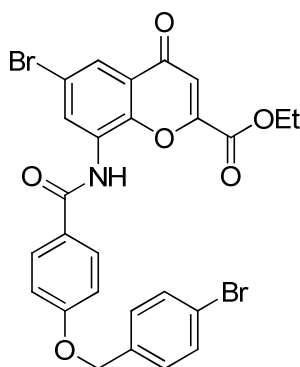


8-(4-(4-Brombenzyloxy)benzamido)-6-chlor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (278, MF327). Die Synthese erfolgte aus **179** (369 mg, 1.2 mmol) und **127** (241 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 370 mg (74 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.22 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.99 (s, 1H, 3-H), 7.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.59 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.80 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.25 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.99 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 62.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.8 (Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 119.3 (C-7), 120.9 (C-4''), 124.9 (C-4a), 126.0 (C-1'), 128.4 (C-5), 129.5 (C-2', C-6', C-2'', C-6''), 129.9 (C-8), 130.3 (C-6), 131.2 (C-3'', C-5''), 136.0 (C-1''), 147.2 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.4 (CO_2Et), 161.2 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 175.8 (C-4). LC-MS (m/z): 556 [M-H] $^-$, 558 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 251–252 °C.



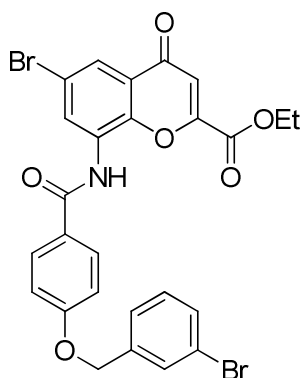
6-Brom-8-(4-(4-fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (279, MF254). Die Synthese erfolgte aus **177** (295 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 95:5) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das

Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 415 mg (85 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.34 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.21 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.02 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.23 (dd, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.51-7.55 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.94 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.32 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.19 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.9 (Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 113.8 (C-3), 114.9 (C-3', C-5'), 115.4 (d, $J = 22.0$ Hz, C-3'', C-5''), 118.0 (C-6), 123.0 (C-5), 125.5 (C-4a), 126.0 (C-1'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 130.5 (C-8), 132.1 (C-7), 132.9 (d, $J = 2.8$ Hz, C-1''), 148.1 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.5 (C-4'), 162.0 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4''), 164.9 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 538 [M-H] $^-$, 542 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 227 °C.



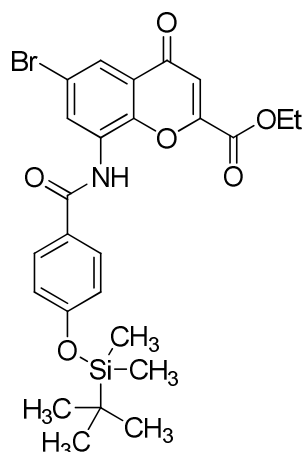
6-Brom-8-(4-(4-brombenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (280, MF318). Die Synthese erfolgte aus **179** (369 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen. Das Filtrat wurde eingedunstet und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel chromatografiert (DCM/EtOAc 98:2) um zusätzliches Amid zu isolieren. Beide Feststoffe wurden vereinigt und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das

Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 426 mg (79 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.29 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.38 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.22 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.59 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.94 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.37 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.89 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 62.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 69.8 (Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 117.7 (C-6), 120.9 (C-4''), 122.5 (C-5), 125.2 (C-4a), 126.0 (C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 129.5 (C-2'', C-6''), 130.3 (C-8), 131.1 (C-7), 131.2 (C-3'', C-5''), 136.0 (C-1''), 147.5 (C-8a), 151.8 (C-2), 159.4 (CO_2Et), 161.2 (C-4'), 164.6 (CO-NH), 175.7 (C-4). LC-MS (m/z): 600 $[\text{M-H}]^-$, 602 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 257–258 °C.

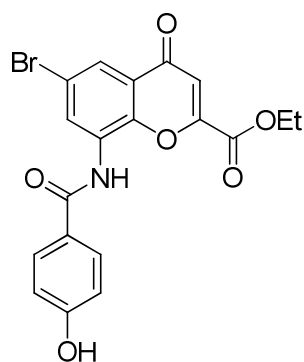


6-Brom-8-(4-(3-brombenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (281, MF324). Die Synthese erfolgte aus **183** (369 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Der Niederschlag wurde abfiltriert, dreimal mit je 1 mL DCM gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 376 mg (70 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.37 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.25 (s, 2H, Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.19 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.37 (dd, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5''-H), 7.48 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 6''-H), 7.52-7.54 (m, 1H, 4''-H), 7.68 (dd, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2''-H), 7.95 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.37 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.93 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.8 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.9 (Ar- $\text{CH}_2\text{-O}$), 113.8 (C-3), 115.1 (C-3', C-5'), 118.0 (C-6), 121.9 (C-3''), 122.8 (C-5), 125.6 (C-4a), 126.4 (C-1'), 126.6 (C-6''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.3 (C-5''), 130.6 (C-8), 130.7 (C-4''), 130.9 (C-2''), 131.5 (C-7), 139.6 (C-1''), 148.1 (C-8a), 152.1 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 161.5 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 176.0 (C-4). LC-MS (m/z): 600 $[\text{M-H}]^-$, 602 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.

Smp.: 219–221 °C.

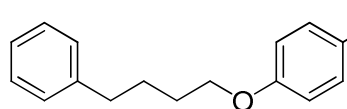


6-Brom-8-(4-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)benzamido)-4-oxo-4*H*-chromen-2-carbonsäureethylester (284, MF345). Die Synthese erfolgte aus **282** (303 mg, 1.2 mmol) und **126** (281 mg, 0.9 mmol) nach Vorschrift 5.2.15.4. Das Reaktionsgemisch wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand über eine Kieselgelsäule (DCM/EtOAc 98:2) chromatografiert. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 419 mg (85 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.24 (s, 6H, Si-CH₃), 0.97 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.32 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 7.00-7.03 (m, 3H, 3-H, 3'-H, 5'-H), 7.94-7.97 (m, 3H, 5-H, 2'-H, 6'-H), 8.30 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.15 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ -4.42 (Si-CH₃), 13.7 (CH₂-CH₃), 18.1 (C(CH₃)₃), 25.6 (C(CH₃)₃), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.8 (C-3), 118.0 (C-6), 120.0 (C-3', C-5'), 123.1 (C-5), 125.5 (C-4a), 126.7 (C-1'), 130.0 (C-2', C-6'), 130.5 (C-8), 132.0 (C-7), 148.1 (C-8a), 152.0 (C-2), 158.9 (C-4'), 159.7 (CO₂Et), 164.9 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 544 [M-H]⁻, 546 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 167–168 °C.

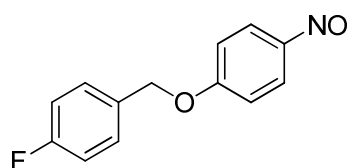


6-Brom-8-(4-hydroxybenzamido)-4-oxo-4*H*-chromen-2-carbonsäureethylester (285, MF355). Zu einer Suspension des Silylethers **284** (148 mg, 0.27 mmol) in abs. Ethanol (5 mL) wurde konz. (12 N) HCl-Lösung (0.09 ml, 1.08 mmol) gegeben und unter Rückfluss in einer Argon-Atmosphäre über Nacht gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert, zweimal mit je 1 mL eiskaltem EtOH gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 100 mg (86 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.28 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH₂-CH₃), 4.35 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.01 (s, 1H, 3-H), 7.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.92 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.36 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.98 (s, 1H, OH), 10.23 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 13.8 (CH₂-CH₃), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.8 (C-3), 115.3 (C-3', C-5'), 118.0 (C-6), 122.6 (C-5), 124.1 (C-1'), 125.5 (C-4a), 130.0 (C-2', C-6'), 130.6 (C-8), 131.4 (C-7), 147.8 (C-8a), 152.0 (C-2), 159.7 (CO₂Et), 161.4 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 430 [M-H]⁻, 432 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 94.2 %*. Smp.: 302–304 °C (Zers.). *In geringen Mengen (3.8 %) wurde bereits der Ethylester hydrolysiert (Folgeprodukt **337**).

5.3.19 1-Alkyloxy-4-nitrobenzene

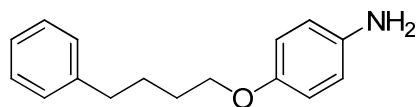


1-Nitro-4-(4-phenylbutoxy)benzen (288, MF_FB01).³²⁶ Die Synthese erfolgte aus 1-Chlor-4-phenylbutan (1.27 mL, 7.7 mmol) und 4-Nitrophenol (974 mg, 7.0 mmol) mit einer Spatelspitze KI in einer Reaktionszeit von 4 h nach Vorschrift 5.2.16. Das Produkt konnte als gelbe Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 1.88 g (99 %). LC-MS (m/z): 272 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.

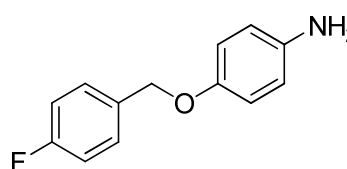


1-Fluor-4-((4-nitrophenoxy)methyl)benzen (289, WA17).³⁴⁴ Die Synthese erfolgte aus 4-Fluorbenzylbromid (0.87 mL, 7.0 mmol) und 4-Nitrophenol (974 mg, 7.0 mmol) in einer Reaktionszeit von 17 h nach Vorschrift 5.2.16. Das Produkt konnte als gelber, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.50 g (86 %). LC-MS (m/z): 246 $[M-H]^-$, 248 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %.

5.3.20 4-Alkyloxyaniline

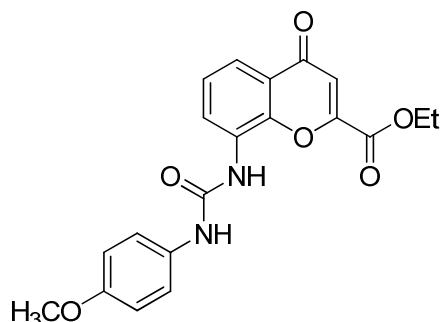


4-(4-phenylbutoxy)anilin (290, MF_FB06).³⁴⁵ Die Synthese erfolgte aus **288** (1.36 g, 5.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.17. Das Produkt konnte als braune, oxidationsempfindliche Flüssigkeit gewonnen werden. Ausbeute: 1.63 g (96 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 1.75-1.80 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 2.65-2.68 (m, 2H, CH₂-Ph), 3.39 (br, 2H, NH₂), 3.87-3.89 (m, 2H, CH₂-O), 6.60-6.63 (m, 2H, 2-H, 6-H), 6.70-6.73 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.15-7.19 (m, 3H, 2'-H, 4'-H, 6'-H), 7.25-7.28 (m, 2H, 3'-H, 5'-H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 27.9 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 29.0 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 35.6 (CH₂-Ph), 68.4 (CH₂-O), 115.6 (C-3, C-5), 116.4 (C-2, C-6), 125.7 (C-4'), 128.3 (C-2', C-6'), 128.4 (C-3', C-5'), 139.8 (C-1), 142.3 (C-1'), 152.2 (C-4). LC-MS (m/z): 242 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (220 – 450 nm)-ESI-MS: 93.3 %.



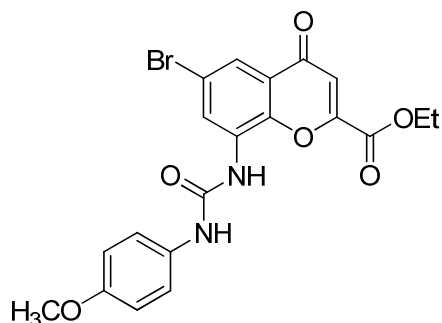
4-(4-Fluorbenzyloxy)anilin (291, WA21).³⁴⁶ Die Synthese erfolgte aus **289** (1.24 g, 5.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.17. Das Produkt konnte als brauner, oxidationsempfindlicher Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 1.04 g (96 %). ¹H-NMR: δ 4.58 (br, 2H, NH₂), 4.91 (s, 2H, CH₂-O), 6.48-6.51 (m, 2H, 2-H, 6-H), 6.69-6.72 (m, 2H, 3-H, 5-H), 7.16-7.19 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.42-7.45 (m, 2H, 2'-H, 6'-H). ¹³C-NMR: δ 69.3 (CH₂-O), 115.0 (C-3, C-5), 115.2 (d, J = 21.4 Hz, C-3', C-5'), 115.9 (C-2, C-6), 129.8 (d, J = 8.2 Hz, C-2', C-6'), 134.2 (d, J = 2.7 Hz, C-1'), 142.8 (C-1), 149.7 (C-4), 161.7 (d, J = 243.3 Hz, C-4'). LC-MS (m/z): 218 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (220 – 450 nm)-ESI-MS: 91.2 %.

5.3.21 8-Ureido- und 8-Thioureido-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester



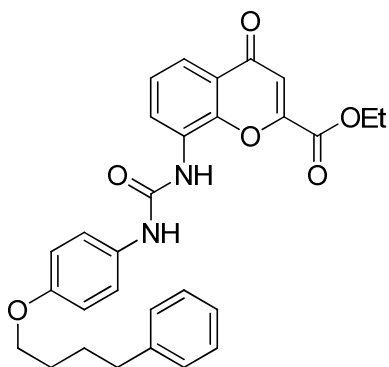
8-(3-(4-Methoxyphenyl)ureido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (292, MF364).

Die Synthese erfolgte aus **121** (187 mg, 0.8 mmol) und 4-Methoxyanilin (123 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.18. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und zweimal mit je 1 ml CH₂Cl₂ gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel (Gradient von EtOAc/CH₂Cl₂ 9:1 zu 5:1) chromatografiert um weiteres Produkt zu isolieren. Die Feststoffe wurden im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Der Harnstoff konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 272 mg (89 %). ¹H-NMR: δ 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.89 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.39 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.45 (dd, *J* = 8.0 Hz, 1H, 6-H), 7.65 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.39 (s, 1H, NH), 8.41 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 1.5 Hz, 1H, 7-H), 9.45 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₂-CH₃), 55.3 (OCH₃), 62.9 (CH₂-CH₃), 113.9 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 117.5 (C-5), 120.4 (C-2', C-6'), 124.2 (C-4a), 125.2 (C-7), 125.8 (C-6), 129.7 (C-8), 132.5 (C-1'), 146.1 (C-8a), 151.8 (C-2), 152.5 (NH-CO-NH), 154.9 (C-4'), 160.0 (CO₂Et), 177.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 381 [M-H]⁻, 383 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 239–240 °C.

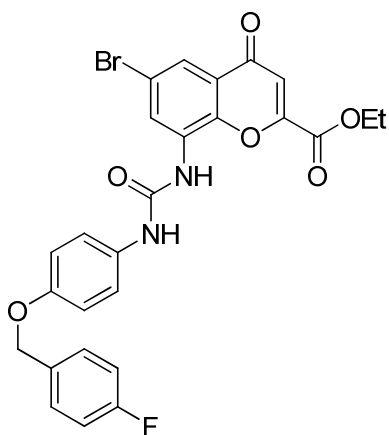


6-Brom-8-(3-(4-methoxyphenyl)ureido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (293, MF365).

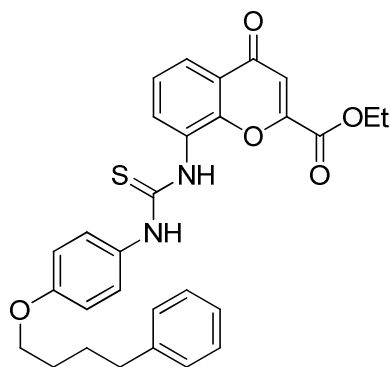
Die Synthese erfolgte aus **126** (250 mg, 0.8 mmol) und 4-Methoxyanilin (123 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.18. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und zweimal mit je 1 ml CH₂Cl₂ gewaschen. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand über eine Säule aus Kieselgel (Gradient von EtOAc/CH₂Cl₂ 95:5 zu 5:1) chromatografiert um weiteres Produkt zu isolieren. Die Feststoffe wurden im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Der Harnstoff konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 245 mg (66 %). ¹H-NMR: δ 1.36 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH₂-CH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.41 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH₂-CH₃), 6.90 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.39 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.68 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, 5-H), 8.54 (br, 1H, NH), 8.65 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, 7-H), 9.61 (br, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 14.0 (CH₂-CH₃), 55.3 (OCH₃), 63.0 (CH₂-CH₃), 114.0 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 118.5 (C-6), 118.8 (C-5), 120.6 (C-2', C-6'), 125.3 (C-4a), 125.9 (C-7), 131.6 (C-8), 132.1 (C-1'), 144.9 (C-8a), 151.9 (C-2), 152.2 (NH-CO-NH), 155.1 (C-4'), 159.7 (CO₂Et), 176.2 (C-4). LC-MS (*m/z*): 459 [M-H]⁻, 461 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 235–236 °C.



4-Oxo-8-(3-(4-(4-phenylbutoxy)phenyl)ureido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (294, MF204). Die Synthese erfolgte aus **121** (187 mg, 0.8 mmol) und **290** (241 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.18. Nach einer Reaktionszeit von 1.5 h wurde das Reaktionsgemisch eingengt und der Rückstand über eine Kieselgelsäule (Gradient von DCM/EtOAc 98:2 zu 9:1) chromatografiert. Das Produkt wurde noch einmal in EtOAc umkristallisiert und konnte anschließend als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 246 mg (62 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 1.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.70-1.77 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.66 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.97 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.43 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.87 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.14-7.18 (m, 1H, 4''-H), 7.20-7.22 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.26-7.29 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.37 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.45 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6-H), 7.67 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.25 (br, 1H, NH), 8.39 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.24 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 27.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.6 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 62.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 67.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 117.4 (C-5), 120.5 (C-2', C-6'), 124.0 (C-4a), 125.1 (C-7), 125.4 (C-6, C-4''), 128.0 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.5 (C-8), 132.2 (C-1'), 141.9 (C-1''), 146.1 (C-8a), 151.6 (C-2), 152.3 (NH-CO-NH), 154.3 (C-4'), 159.7 (CO_2Et), 177.0 (C-4). LC-MS (m/z): 499 [M-H]⁻, 501 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.4 %. Smp.: 204–205 °C.



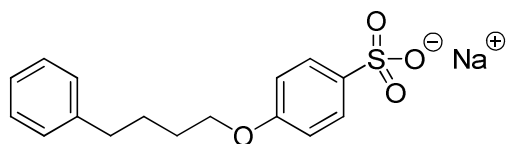
6-Brom-8-(3-(4-(4-fluorbenzyloxy)phenyl)ureido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (295, WA25). Die Synthese erfolgte aus **126** (250 mg, 0.8 mmol) und **291** (217 mg, 1.0 mmol) nach Vorschrift 5.2.18. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand über eine Kieselgelsäule (DCM/EtOAc 9:1) chromatografiert. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 307 mg (69 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.41 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 5.05 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.97 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.00 (s, 1H, 3-H), 7.18-7.22 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.39 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.47-7.50 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.68 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.54 (s, 1H, NH), 8.65 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.61 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 63.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.0 (C-3), 115.2-115.4 (m, C-3', C-5', C-3'', C-5''), 118.5 (C-6), 118.9 (C-5), 120.5 (C-2', C-6'), 125.3 (C-4a), 126.0 (C-7), 130.0 (d, $J = 8.3$ Hz, C-2'', C-6''), 131.6 (C-8), 132.4 (C-1'), 133.6 (d, $J = 2.7$ Hz, C-1''), 144.9 (C-8a), 151.9 (C-2), 152.1 (NH-CO-NH), 154.0 (C-4'), 159.7 (CO_2Et), 161.8 (d, $J = 243.4$ Hz, C-4''), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 553 [M-H]⁻, 555 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 88.3 %.



4-Oxo-8-(3-(4-(4-phenylbutoxy)phenyl)thioureido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (296, MF207).

Die Synthese erfolgte aus **121** (210 mg, 0.90 mmol) und **290** (326 mg, 1.35 mmol) nach Vorschrift 5.2.19. Das Produkt konnte als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 465 mg (31 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.32 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.70-1.73 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.63 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.97 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.39 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.91 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.14-7.18 (m, 1H, 4''-H), 7.19-7.21 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.25-7.28 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.35 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.50 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89-7.92 (m, 2H, 5-H, 7-H), 9.42 (s, 1H, NH), 9.90 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 27.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 67.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.9 (C-3), 114.6 (C-3', C-5'), 122.3 (C-5), 124.6 (C-4a), 125.5 (C-6), 125.8 (C-4''), 126.5 (C-2', C-6'), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.8 (C-8), 131.7 (C-1'), 133.6 (C-7), 142.1 (C-1''), 150.7 (C-8a), 151.9 (C-2), 156.5 (C-4'), 160.0 ($\text{C=O}_2\text{Et}$), 177.4 (C-4), 180.9 (C=S). LC-MS (m/z): 515 $[\text{M-H}]^-$, 517 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.9 %. Smp.: 104–105 °C.

5.3.22 4-Alkyloxybenzonsulfonate

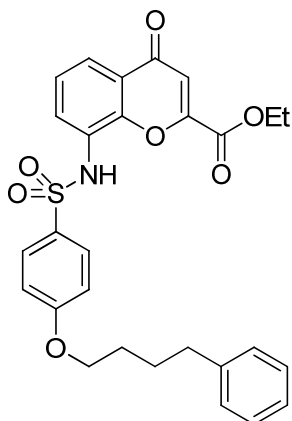


Natrium-4-(4-phenylbutoxy)benzonsulfonat (298, MF_FB02). Die Synthese erfolgte aus 1-Chlor-4-phenylbutan (1.15 mL, 7.0 mmol) und

Natrium-4-hydroxybenzonsulfonat-Dihydrat

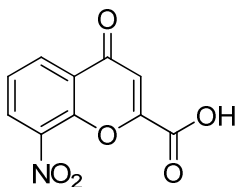
(2.44 g, 10.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.20. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 870 mg (38 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.69-1.72 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.61-2.64 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.96-3.99 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3-H, 5-H), 7.16 (tt, $J = 7.3$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4'-H), 7.19-7.21 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.25-7.28 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.49 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2-H, 6-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 67.5 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3, C-5), 125.8 (C-4'), 127.2 (C-2, C-6), 128.4 (C-2', C-3', C-5', C-6'), 141.1 (C-1), 142.1 (C-1'), 158.7 (C-4). LC-MS (m/z): 305 $[\text{M-Na}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (220 – 450 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: > 300 °C.

5.3.23 8-Sulfonamidochromen-4-on-2-carbonsäureethylester

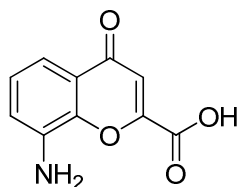


4-Oxo-8-(4-(4-phenylbutoxy)phenylsulfonamido)-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (299, MF202). Die Synthese erfolgte aus **298** (296 mg, 0.9 mmol) und **121** (280 mg, 1.2 mmol) nach Vorschrift 5.2.21. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 306 mg (65 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.36 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.65-1.71 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.61 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.00 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 4.40 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 6.86 (s, 1H, 3-H), 6.94 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, C3'H, C5'H), 7.14-7.19 (m, 3H, 2''-H, 4''-H, 6''-H), 7.24-7.27 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.46 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.62-7.66 (m, 3H, 5-H, 2'-H, 6'-H), 7.84 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.22 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 27.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.8 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 62.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 68.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.8 (C-3), 114.6 (C-3', C-5'), 122.4 (C-5), 124.6 (C-4a), 125.8 (C-2', C-6'), 126.1 (C-4''), 127.1 (C-1'), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.1 (C-7), 131.1 (C-8), 131.9 (C-6), 142.0 (C-1'), 149.9 (C-8a), 151.9 (C-2), 159.7 (CO_2Et), 162.0 (C-4'), 177.0 (C-4). LC-MS (m/z): 520 $[\text{M-H}]^-$, 522 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 95.6 %. Smp.: 124–125 °C.

5.3.24 (6-Halogen)-4-oxo-4H-chromen-4-oncarbonsäuren



8-Nitro-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (306, MF_AM19).³⁴⁷ Eine Lösung von K_2CO_3 (138 mg, 1.0 mmol) in Wasser (3 mL) wurde langsam zu einer Suspension von **122** (132 mg, 0.5 mmol) in THF (5 mL) und EtOH (5 mL) getropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei RT für 16 h gerührt. Nach der Zugabe von Wasser (3 mL) wurde das Gemisch mit verdünnter, wässriger HCl-Lösung (1 N) angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde. Die Lösungsmittel THF und EtOH wurden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde anschließend über eine RP-HPLC-Säule mit einem Gradienten von 10 % MeOH nach 60 % MeOH in Wasser chromatografiert und die entsprechenden Fraktionen wurden durch Lyophilisierung getrocknet. Das Produkt konnte als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 112 mg (96 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.83 (s, 1H, 3-H), 7.64 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 8.32 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 7-H), 8.45 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 5-H). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 112.0 (C-3), 125.1 (C-6), 125.4 (C-4a), 130.1, 130.4 (C-5, C-7), 139.6 (C-8), 147.7 (C-8a), 159.5 (C-2), 160.5 (CO_2H), 176.8 (C-4). LC-MS (m/z): 190 $[\text{M-CO}_2\text{H}]^-$, 234 $[\text{M-H}]^-$, 469 $[\text{2M-H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 248 °C (Zers.).

**8-Amino-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (307,****MF_AM18).**²⁹⁴ Eine Lösung von K₂CO₃ (117 mg, 0.9 mmol) inWasser (2 mL) wurde langsam zu einer Suspension von **121**

(117 mg, 0.5 mmol) in THF (5 mL) und EtOH (5 mL) getropft. Das

Reaktionsgemisch wurde bei RT für 16 h gerührt. Nach der Zugabe

von Wasser (3 mL) wurde das Gemisch mit verdünnter, wässriger HCl-Lösung (1 N)

angesäuert bis ein pH-Wert ≤ 2 erreicht wurde. Die Lösungsmittel THF und EtOH

wurden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde anschließend über

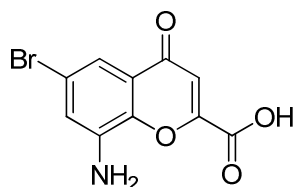
eine RP-HPLC-Säule mit einem Gradienten von 10 % MeOH nach 60 % MeOH in

Wasser chromatografiert und die entsprechenden Fraktionen wurden durch

Lyophilisierung getrocknet. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden.

Ausbeute: 99 mg (96 %). ¹H-NMR: δ 6.78 (s, 1H, 3-H), 7.07 (m, 1H, 6-H), 7.15-7.18(m, 2H, 5-H, 7-H). ¹³C-NMR: δ 110.5 (C-5), 112.1 (C-3), 117.4 (C-7), 124.4 (C-4a),125.9 (C-6), 138.9 (C-8), 143.9 (C-8a), 155.3 (C-2), 161.6 (CO₂H), 178.5 (C-4). LC-MS (*m/z*): 160 [M-CO₂H]⁻, 204 [M-H]⁻, 206 [M+H]⁺, 469 [2M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-

UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 237 °C (Zers.).

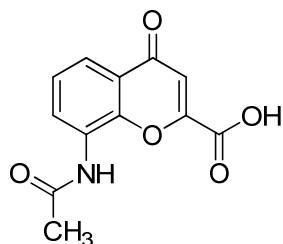
**8-Amino-6-bromo-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (308,****MF_AM24).** Die Synthese erfolgte aus **126** (156 mg,

0.5 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als

orange-farbenes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 103 mg

(99 %). ¹H-NMR: δ 5.89 (br, 2H, NH₂), 6.75 (s, 1H, 3-H), 7.16(d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H or 7-H), 7.17 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H or 7-H). ¹³C-NMR: δ

111.6 (C-3), 111.9 (C-5), 118.5 (C-7), 118.6 (C-6), 124.5 (C-4a), 141.0 (C-8), 143.1 (C-

8a), 157.2 (C-2), 161.3 (CO₂H), 177.3 (C-4). LC-MS (*m/z*): 240 [M-CO₂H]⁻, 282 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 260 °C (langsame Zers.).**8-Acetamido-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (309,****MF160).** Die Synthese erfolgte aus **210** (96 mg, 0.35 mmol)

nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 3 h. Die

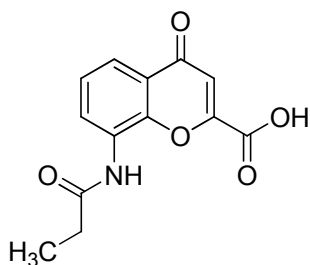
Verbindung wurde als weiß-gelbes Pulver isoliert. Ausbeute:

67 mg (77 %). ¹H-NMR: δ 2.14 (s, 3H, CH₃), 6.92 (s, 1H, 3-H),7.47 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.81 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz,1H, 5-H), 8.10 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 7-H), 9.79 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 23.6 (CH₃),

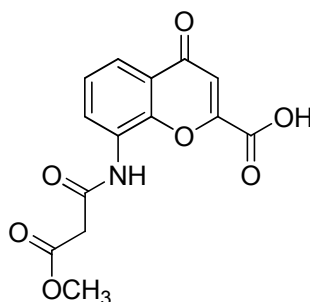
113.6 (C-3), 120.6 (C-5), 124.4 (C-8), 125.6 (C-7), 128.4 (C-4a), 129.4 (C-6), 148.2 (C-

8a), 153.0 (C-2), 161.4 (CO₂H), 168.9 (CO-NH), 177.5 (C-4). LC-MS (*m/z*): 202 [M-CO₂H]⁻, 246 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %. Smp.: 286–

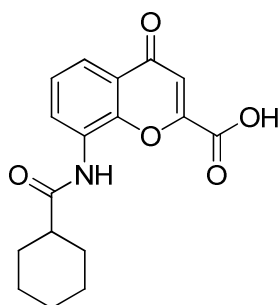
288 °C (Zers.).



4-Oxo-8-propionamido-4H-chromen-2-carbonsäure (310, MF158). Die Synthese erfolgte aus **211** (101 mg, 0.35 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 3 h. Das Rohprodukt wurde in verd. wässriger NaOH-Lösung (0.01 N, 50 mL) gelöst und mit Chloroform gewaschen (2 x 50 mL). Nach Ansäuern mit verd. wässriger HCl-Lösung (0.1 N) bis sich ein pH-Wert ≤ 2 eingestellte, wurde die wässrige Phase lyophilisiert und der Rückstand in Wasser (4 mL) gelöst. Behandlung mit Ultraschall bewirkte das Ausfällen des Produktes, welches abfiltriert, mit Wasser (10 mL) gewaschen und im Vakuum bei 65 °C getrocknet wurde. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 75 mg (82 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.14 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_3), 2.43 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H, CH_2), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.47 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.81 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.08 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.67 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 9.83 (CH_3), 29.3 (CH_2), 113.5 (C-3), 120.6 (C-5), 124.4 (C-8), 125.7 (C-7), 128.4 (C-4a), 129.5 (C-6), 148.4 (C-8a), 153.0 (C-2), 161.4 (CO_2H), 172.6 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 216 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 260 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 282–284 °C (Zers.).

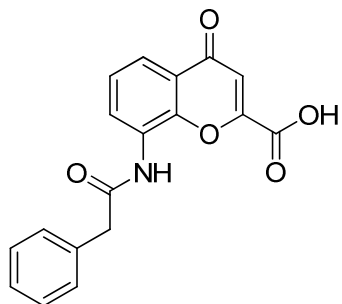


8-(3-Methoxy-3-oxopropanamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (311, MF161). Die Synthese erfolgte aus **212** (117 mg, 0.35 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als orange-farbener Feststoff isoliert. Ausbeute: 96 mg (90 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.63 (s, 2H, CH_2), 3.68 (s, 3H, CH_3), 6.93 (s, 1H, 3-H), 7.50 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.83 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, 5-H), 8.17 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.13 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 43.0 (CH_2), 52.2 (CH_3), 113.6 (C-3), 120.8 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 127.8 (C-8), 128.9 (C-6), 147.9 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.3 (CO_2H), 164.8 (CO-NH), 168.1 (CO_2CH_3), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 260 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 304 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 248–250 °C (Zers.).

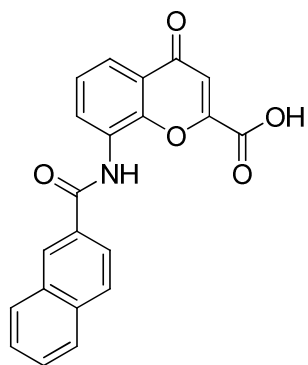


8-(Cyclohexancarboxamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (312, MF157). Die Synthese erfolgte aus **213** (104 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 2 h. Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) (5 mL) lieferte das Produkt als weißen Feststoff. Ausbeute: 78 mg (82 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.21 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.27-1.34 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.41-1.50 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.65 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.75-1.78 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.89-1.91 (m, 2H, Cyclohexyl), 2.47 (m, 1H, 1'-H), 6.91 (s, 1H, 3-H), 7.47 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.81 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.59 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 25.3 (C3', C5'), 25.6 (C-4'), 29.2 (C2', C6'), 44.4 (C-1'), 113.5 (C-3), 120.7 (C-5), 124.4 (C-8), 125.6 (C-7), 128.4 (C-4a), 129.9 (C-6), 148.7 (C-8a), 153.0 (C-2), 161.3 (CO_2H), 174.7 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 270 [$\text{M-$

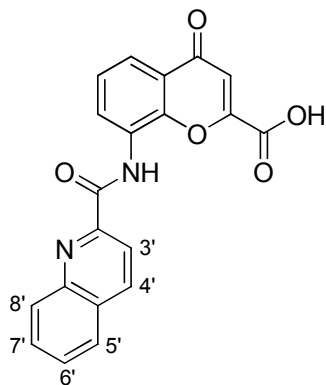
$\text{CO}_2\text{H}]^-$, 314 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 316 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %. Smp.: 274–276 °C (Zers.).



4-Oxo-8-(2-phenylacetamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (313, MF155). Die Synthese erfolgte aus **214** (80 mg, 0.23 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 72 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.78 (s, 2H, CH_2), 6.93 (s, 1H, 3-H), 7.24 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, 4'-H), 7.33 (dd, $J = 7.6$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.42-7.49 (m, 3H, 6-H, 2'-H, 6'-H), 7.82 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 5-H), 8.07 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 7-H), 9.97 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 43.0 (CH_2), 113.6 (C-3), 120.9 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.7 (C-4'), 128.1 (C-8), 128.5 (C-3', C-5'), 129.4 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 135.7 (C-1'), 148.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H), 169.7 (CO-NH), 177.5 (C-4). LC-MS (m/z): 278 $[\text{M}-\text{CO}_2\text{H}]^-$, 322 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 324 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 260–262 °C (Zers.).

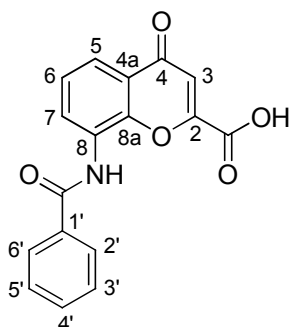


8-(2-Naphthamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (314, MF_AM23). Die Synthese erfolgte aus **215** (116 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weiß-gelbes Pulver isoliert. Ausbeute: 102 mg (94 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.58 (dd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 6-H), 7.59-7.68 (m, 2H, 7'-H, 8'-H), 7.93 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.03-8.14 (m, 5H, 7-H, 4'-H, 5'-H, 6'-H, 9'-H), 8.68 (s, 1H, 2'-H), 10.42 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.5 (C-3), 121.7 (C-5), 124.4 (C-3'), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 127.1 (C-7'), 127.9 (C-5'), 128.2 (C-4'), 128.4 (C-6'), 128.4 (C-2'), 128.5 (C-1'), 129.1 (C-8'), 130.9 (C-6), 131.5 (C-8), 132.3 (Cq, C4a'), 134.6 (C-8a'), 149.5 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H), 165.7 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 314 $[\text{M}-\text{CO}_2\text{H}]^-$, 358 $[\text{M}-\text{H}]^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 271–273 °C (Zers.).

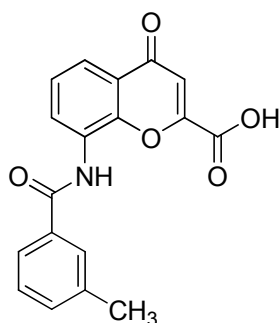


4-Oxo-8-(chinolin-2-carboxamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (315, MF162). Die Synthese erfolgte aus **216** (117 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 8 h. Die Aufarbeitung erfolgte entsprechend der allgemeinen Vorschrift. Zur weiteren Aufreinigung wurde das Rohprodukt in 3 mL Chloroform suspendiert und für 15 min auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf RT wurde der Feststoff abfiltriert, zweimal mit je 1 mL Chloroform gewaschen und im Vakuum bei 50 °C getrocknet. Das Produkt konnte als weiß-gelbes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 53 mg (49 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.54 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 6-H), 7.74-7.77 (m, 2H, 5-H, 6'-H), 7.88-7.91 (m, 1H, 7'-H), 8.11 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 7-H), 8.25-8.28 (m, 2H, 5'-H, 8'-H), 8.64 (d, $J = 8.5$ Hz,

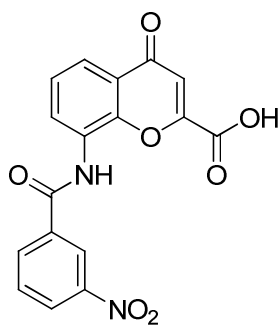
1H, 3'-H), 8.81 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 4'-H), 11.34 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 113.3 (C-3), 117.9 (Chinolin), 118.7 (Chinolin), 122.9 (C-5), 123.8 (C-4a), 125.6 (C-7), 127.9 (C-8), 127.9 (Chinolin), 128.5 (Chinolin), 129.1 (Chinolin), 130.6 (C-6), 138.5 (Chinolin), 145.6, 145.7 (Chinolin), 148.4 (C-8a), 152.6 (C-2), 161.0 (CO₂H), 161.7 (CO-NH), 177.2 (C-4). LC-MS (m/z): 315 [M-CO₂H]⁻, 359 [M-H]⁻, 361 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.6 %. Smp.: 288–290 °C (Zers.).



8-Benzamido-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (316, MF_AM17). Die Synthese erfolgte aus **217** (148 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 121 mg (89 %). ^1H -NMR: δ 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.54–7.58 (m, 3H, 6-H, 3'-H, 5'-H), 7.63 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, 4'-H), 7.91 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, 5-H), 8.03 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H, 7-H), 10.21 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 113.5 (C-3), 121.7 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 127.8 (C-2', C-6'), 128.4 (C-8), 128.7 (C-3', C-5'), 131.0 (C-6), 132.2 (C-4'), 134.1 (C-1'), 149.5 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.4 (CO₂H), 165.7 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 264 [M-CO₂H]⁻, 308 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.5 %. Smp.: 276–278 °C (Zers.).

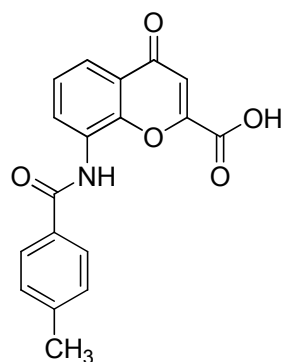


8-(3-Methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (317, MF148). Die Synthese erfolgte aus **218** (154 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weiß-gelber Feststoff isoliert. Ausbeute: 135 mg (95 %). ^1H -NMR: δ 2.41 (s, 1H, CH₃), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.44–7.45 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.80–7.82 (m, 1H, 5'-H), 7.85 (s, 1H, 2'-H), 7.90 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.15 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 21.1 (CH₃), 113.5 (C-3), 121.5 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.0 (C-6'), 125.7 (C-7), 128.4, 128.6 (C8, C-2', C-5'), 130.7 (C-6), 132.7 (C-4'), 134.2 (C-1'), 138.1 (C-3'), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO₂H), 165.7 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 278 [M-CO₂H]⁻, 322 [M-H]⁻, 324 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 267–269 °C (Zers.).

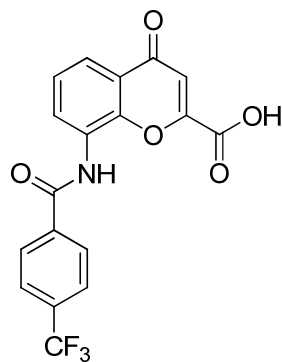


8-(3-Nitrobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (318, MF159). Die Synthese erfolgte aus **219** (115 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 3 h. Das Rohprodukt wurde in verd. wässriger NaOH (0.01 N, 50 mL) gelöst und mit Chloroform gewaschen (2 x 50 mL). Nach Ansäuern mit verd. wässriger HCl-Lösung (0.1 N) bis sich ein pH-Wert ≤ 2 einstellte, wurde die wässrige Phase lyophilisiert und der Rückstand in Wasser (4 mL) gelöst. Behandlung mit Ultraschall bewirkte das Ausfällen des Produktes, welches abfiltriert,

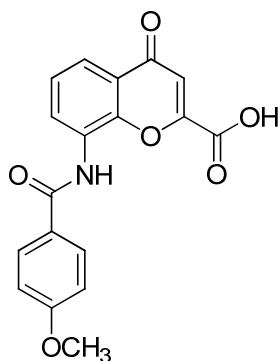
mit Wasser (10 mL) gewaschen und im Vakuum bei 65 °C getrocknet wurde. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 84 mg (79 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.57 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, 5'-H), 7.96 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 7-H), 8.43-8.48 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 8.85 (s, 1H, 2'-H), 10.71 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.5 (C-3), 122.4, 122.6 (C-5, C-2'), 124.6 (C-8), 125.7 (C-7), 126.7 (C-4'), 127.8 (C-4a), 130.5 (C-6), 131.8 (C-5'), 134.2 (C-6'), 135.6 (C-1'), 148.0 (C-3'), 149.9 (C-8a), 153.2 (C-2), 161.3 (CO₂H), 163.8 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 309 [M-CO₂H]⁻, 353 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %. Smp.: 273–275 °C (Zers.).



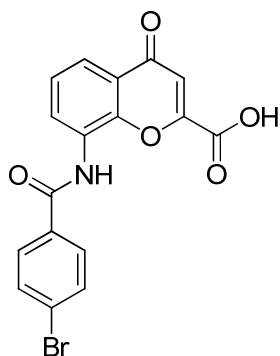
8-(4-Methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (319, MF151). Die Synthese erfolgte aus **220** (147 mg, 0.42 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 8 mL) lieferte das Produkt als weiß-gelben Feststoff. Ausbeute: 66 mg (49 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.40 (s, 3H, CH₃), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.36 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.90 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.93 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.11 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.2 (CH₃), 113.5 (C-3), 121.5 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 127.9 (C-2', C-6'), 128.5 (C-8), 129.2 (C-3', C-5'), 130.8 (C-6), 131.3 (C-1'), 142.3 (C-4'), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO₂H), 165.5 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 278 [M-CO₂H]⁻, 322 [M-H]⁻, 324 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %. Smp.: 284–286 °C (Zers.).



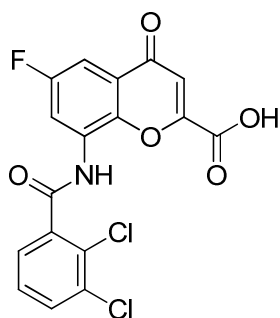
4-Oxo-8-(4-(trifluoromethyl)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (320, MF152). Die Synthese erfolgte aus **221** (134 mg, 0.33 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 6 mL) konnte das Produkt als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 77 mg (62 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.57 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.94-7.97 (m, 3H, 5-H, 3'-H, 5'-H), 8.03 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 8.22 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 10.58 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.7 (C-3), 122.4 (C-5), 124.1 (q, $J = 272.2$ Hz, CF₃), 124.6 (C-4a), 125.8 (C-7, C-3', C-5'), 128.0 (C-8), 128.9 (C-2', C-6'), 131.8 (C-6), 131.9 (q, $J = 32.0$ Hz, C-4'), 137.9 (C-1'), 149.9 (C-8a), 151.1 (C-2), 161.4 (CO₂H), 164.8 (CO-NH), 177.7 (C-4). LC-MS (m/z): 332 [M-CO₂H]⁻, 376 [M-H]⁻, 378 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 290–292 °C (Zers.).



8-(4-Methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (115, MF_AM11). Die Synthese erfolgte aus **222** (161 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 127 mg (85 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.85 (s, 3H, OCH_3), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 10.04 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.6 (CH, OCH_3), 113.51 (C-3), 114.0 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.2 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H), 162.4 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 294 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 338 [M-H] $^-$, 340 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 277–279 °C (Zers.).

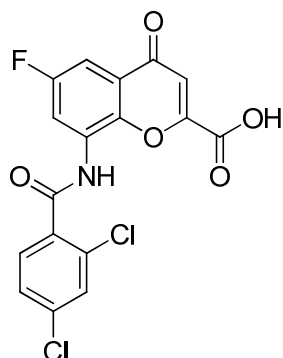


8-(4-Bromobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (321, MF_AM22). Die Synthese erfolgte aus **223** (125 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 3 h. Das Rohprodukt wurde in verd. wässriger NaOH (0.01 N, 70 mL) gelöst und mit Chloroform gewaschen (2 x 50 mL). Ansäuern mit verd. wässriger HCl-Lösung (2 N) bis sich ein pH-Wert ≤ 2 einstellte, bewirkte das Ausfällen des Produktes, welches abfiltriert, mit Wasser (10 mL) gewaschen, und im Vakuum bei 65 °C getrocknet wurde. Das Produkt wurde als beige-farbenes Pulver isoliert. Ausbeute: 52 mg (45 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.55 (dd, $J = 7.7$ Hz, 1H, 6-H), 7.78 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.92 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.03 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.35 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.6 (C-3), 122.0 (C-5), 124.5 (C-4'), 125.7 (C-7), 125.9 (C-4a), 128.1 (C-8), 130.0 (C-2', C-6'), 131.4 (C-6), 131.8 (C-3', C-5'), 133.2 (C-1'), 149.7 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.3 (CO_2H), 164.8 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 342 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 386 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 286–288 °C (Zers.).

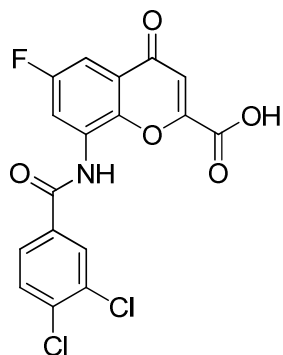


8-(2,3-Dichlorobenzamido)-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (322, MF342). Die Synthese erfolgte aus **224** (59 mg, 0.14 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weiß-gelber Feststoff isoliert. Ausbeute: 49 mg (89 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.62 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 3.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.69 (dd, $J = 7.4$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 6'-H), 7.81 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H, 4'-H), 8.12 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.76 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 106.4 (d, $J = 23.8$ Hz, C-5), 113.0 (C-3), 117.9 (d, $J = 27.5$ Hz, C-7), 125.3 (d, $J = 8.2$ Hz, C-4a), 128.0 (C-6'), 128.6 (C-2'), 128.8 (C-5'), 129.7 (d, $J = 11.0$ Hz, C-8), 132.0 (C-4'), 132.4 (C-1'), 138.2 (C-3'), 145.6 (C-8a), 153.4 (C-2), 158.6 (d, $J = 245.6$ Hz, C-

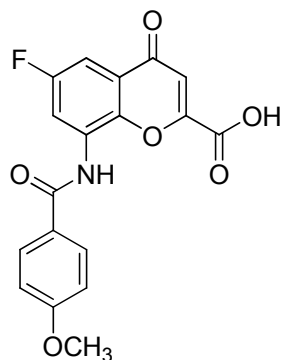
6), 161.1 (CO₂H), 164.9 (CO-NH), 176.8 (C-4). LC-MS (*m/z*): 350 [M-CO₂H]⁻, 394 [M-H]⁻, 396 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 275–277 °C (Zers.).



8-(2,4-Dichlorobenzamido)-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (323, MF337). Die Synthese erfolgte aus **225** (170 mg, 0.40 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 154 mg (97 %). ¹H-NMR: δ 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.59-7.61 (m, 2H, 5-H, 5'-H), 7.76-7.80 (m, 2H, 3'-H, 6'-H), 8.13-8.15 (m, 1H, 7-H), 10.66 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 106.2 (d, *J* = 23.8 Hz, C-5), 113.0 (C-3), 117.6 (d, *J* = 29.3 Hz, C-7), 125.3 (d, *J* = 9.2 Hz, C-4a), 127.6 (C-5'), 129.6 (C-3' or C-6'), 129.7 (d, *J* = 11.0 Hz, C-8), 131.1 (C-3' or C-6'), 131.7 (C-4'), 134.5 (C-1'), 135.8 (C-2'), 145.4 (C-8a), 153.3 (C-2), 158.4 (d, *J* = 245.6 Hz, C-6), 161.1 (CO₂H), 164.6 (CO-NH), 176.8 (C-4). LC-MS (*m/z*): 350 [M-CO₂H]⁻, 394 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 282–283 °C (Zers.).

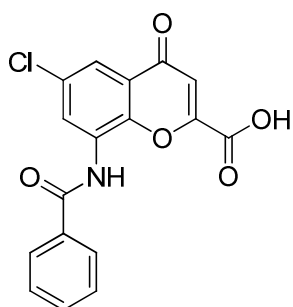


8-(3,4-Dichlorobenzamido)-6-fluor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (324, MF340). Die Synthese erfolgte aus **226** (127 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 110 mg (92 %). ¹H-NMR: δ 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.62 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 3.0 Hz, 1H, 5-H), 7.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 5'-H), 7.97 (dd, *J* = 8.4 Hz, *J* = 2.0 Hz, 1H, 6'-H), 8.02 (dd, *J* = 9.3 Hz, *J* = 3.0 Hz, 1H, 7-H), 8.24 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, 2'-H), 10.62 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 106.5 (d, *J* = 23.8 Hz, C-5), 112.9 (C-3), 118.8 (d, *J* = 28.4 Hz, C-7), 125.2 (d, *J* = 8.2 Hz, C-4a), 128.2 (C-6'), 129.9 (C-2'), 130.1 (d, *J* = 11.0 Hz, C-8), 131.2 (C-5'), 131.7 (C-3'), 134.1 (C-1'), 135.2 (C-4'), 146.1 (C-8a), 153.2 (C-2), 158.5 (d, *J* = 244.7 Hz, C-6), 161.2 (CO₂H), 163.6 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 350 [M-CO₂H]⁻, 394 [M-H]⁻, 396 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 275–276 °C (Zers.).

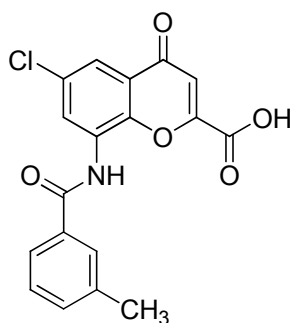


6-Fluor-8-(4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (325, MF310). Die Synthese erfolgte aus **227** (170 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weiß-gelber Feststoff isoliert. Ausbeute: 154 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.55 (dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 3.0 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.11 (dd, *J* = 9.8 Hz, *J* = 3.2 Hz, 1H, 7-H), 10.12 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 55.7 (CH, OCH₃), 105.3 (d, *J* = 23.8 Hz, C-5), 112.8 (C-3), 114.1 (C-3', C-5'), 117.5 (d, *J* = 28.4 Hz, C-7), 125.1 (d, *J* = 8.2 Hz, C-4a), 125.8 (C-1'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.9 (d, *J* = 11.9 Hz, C-8), 145.5 (C-8a), 153.2 (C-2), 158.7 (d, *J* = 243.8

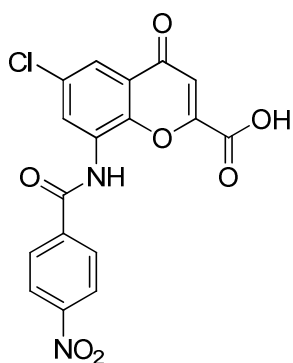
Hz, C-6), 161.2 (CO₂H), 162.6 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (*m/z*): 312 [M-CO₂H]⁻, 356 [M-H]⁻, 358 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 277 °C (Zers.).



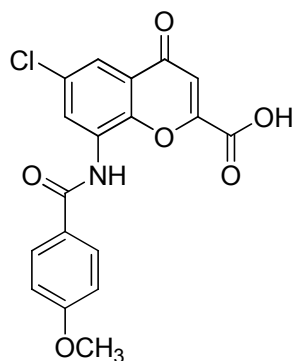
8-Benzamido-6-chlor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (326, WA11). Die Synthese erfolgte aus **228** (164 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 144 mg (95 %). ¹H-NMR: δ 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.58 (dd, *J* = 7.6 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, 4'-H), 7.83 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.22 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 10.31 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 113.5 (C-3), 120.2 (C-7), 125.2 (C-4a), 127.9 (C-2', C6'), 128.8 (C-3', C-5'), 129.6 (C-5), 130.0, 130.2 (C-6, C-8), 132.4 (C-4'), 133.8 (C-1'), 147.9 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO₂H), 165.7 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (*m/z*): 298 [M-CO₂H]⁻, 342 [M-H]⁻, 344 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 289–290 °C (Zers.).



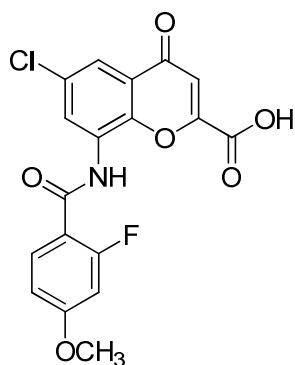
6-Chlor-8-(3-methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (327, MF325). Die Synthese erfolgte aus **229** (170 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 128 mg (82 %). ¹H-NMR: δ 2.41 (s, 3H, CH₃), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.43–7.46 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.78–7.83 (m, 3H, 5-H, 2'-H, 6'-H), 8.22 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 10.24 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 21.1 (CH₃), 113.5 (C-3), 120.0 (C-7), 125.0 (C-6'), 125.2 (C-4a), 128.4 (C-5'), 128.7 (C-2'), 129.3 (C-5), 130.0 (C-8), 130.2 (C-6), 133.0 (C-4'), 133.7 (C-1'), 138.1 (C-3'), 147.7 (C-9), 153.3 (C-2), 161.1 (CO₂H), 165.7 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (*m/z*): 312 [M-CO₂H]⁻, 356 [M-H]⁻, 358 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %. Smp.: 277–278 °C (Zers.).



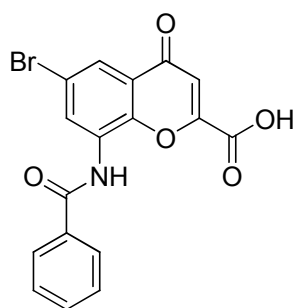
6-Chlor-8-(4-nitrobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (328, MF341). Die Synthese erfolgte aus **230** (71 mg, 0.17 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 66 mg (99 %). ¹H-NMR: δ 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.88 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.16 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 8.24 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.41 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 10.76 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 113.6 (C-3), 121.1 (C-7), 123.9 (C-3', C-5'), 125.4 (C-4a), 129.5 (C-2', C-6'), 129.7 (C-8), 130.0 (C-6), 130.7 (C-5), 139.4 (C-1'), 148.4 (C-8a), 149.7 (C-4'), 153.4 (C-2), 161.0 (CO₂H), 164.4 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (*m/z*): 343 [M-CO₂H]⁻, 387 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 271–272 °C (Zers.).



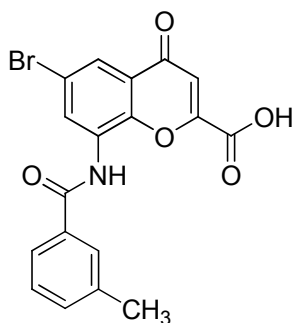
6-Chlor-8-(4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (329, MF257). Die Synthese erfolgte aus **231** (177 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 161 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.86 (s, 3H, OCH₃), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.80 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, J = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.22 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 10.13 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.7 (OCH₃), 113.5 (C-3), 114.1 (C-3', C-5'), 119.8 (C-7), 125.2 (C-4a), 125.8 (C-1'), 129.3 (C-5), 129.9 (C-2', C-6'), 130.0, 130.5 (C-6, C-8), 147.7 (C-8a), 153.4 (C-2), 161.1 (CO₂H), 162.6 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (m/z): 328 [M-CO₂H]⁻, 372 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 278–280 °C (Zers.).



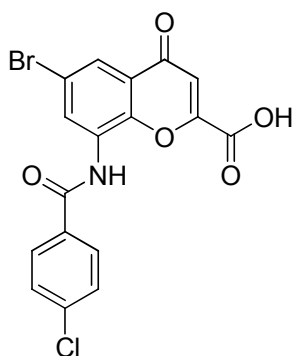
6-Chlor-8-(2-fluor-4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (330, MF374). Die Synthese erfolgte aus **232** (168 mg, 0.40 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 126 mg (80 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.87 (s, 3H, OCH₃), 6.96-7.03 (m, 3H, 3-H, 3'-H, 5'-H), 7.72 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 7.92 (dd, J = 9.0 Hz, 1H, 6'-H), 8.56 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 9.77 (d, J = 11.7 Hz, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 56.3 (OCH₃), 102.1 (d, J = 27.5 Hz, C-3'), 111.6 (C-5'), 113.3 (d, J = 11.9 Hz, C-1'), 113.6 (C-3), 118.7 (C-7), 124.9 (C-4a), 125.8 (C-5), 130.0 (C-6 or C-8), 130.2 (C-6 or C-8), 132.6 (d, J = 3.7 Hz, C-6'), 145.7 (C-8a), 153.1 (C-2), 160.3 (CO₂H), 161.3 (d, J = 249.3 Hz, C-2'), 161.7 (d, J = 3.7 Hz, C-4'), 164.2 (d, J = 11.9 Hz, CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 346 [M-CO₂H]⁻, 390 [M-H]⁻, 392 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 279–280 °C (Zers.).



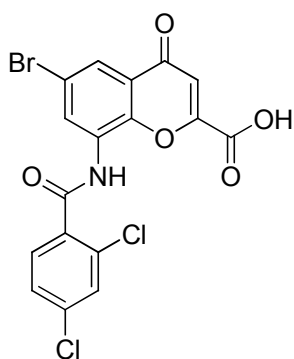
8-Benzamido-6-brom-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (331, WA10). Die Synthese erfolgte aus **233** (183 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 125 mg (73 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.57 (dd, J = 7.4 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.65 (tt, J = 7.3 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 4'-H), 7.97 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.00-8.02 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.33 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 10.31 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.6 (C-3), 117.8 (C-6), 123.3 (C-5), 125.6 (C-4a), 127.9 (C-2', C6'), 128.8 (C-3', C5'), 130.3 (C-8), 132.3, 132.4 (C-7, C-4'), 133.8 (C-1'), 148.3 (C-8a), 152.4 (C-2), 161.1 (CO₂H), 165.7 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 344 [M-CO₂H]⁻, 386 [M-H]⁻, 390 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 291–292 °C (Zers.).



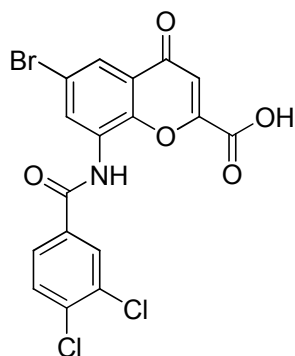
6-Brom-8-(3-methylbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (332, MF133). Die Synthese erfolgte aus **234** (80 mg, 0.19 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 75 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.41 (s, 1H, CH_3), 6.98 (s, 1H, 3-H), 7.43-7.46 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.78-7.80 (m, 1H, 5'-H), 7.81 (s, 1H, 2'-H), 7.95 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.31 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.30 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 21.2 (CH_3), 113.7 (C-3), 117.9 (C-6), 123.3 (C-5), 125.1 (C-6'), 125.6 (C-4a), 128.5, 128.8 (C-2', C-5'), 130.4 (C-8), 132.3 (C-7), 133.1 (C-4'), 133.8 (C-1'), 138.2 (C-3'), 148.3 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.3 (CO_2H), 165.8 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (m/z): 356 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 400 [M-H] $^-$, 402 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 284–286 °C (Zers.).



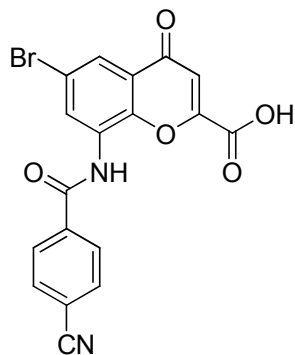
6-Brom-8-(4-chlorbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (333, MF256). Die Synthese erfolgte aus **235** (198 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 181 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.65 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.98 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.27 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.44 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.7 (C-3), 117.8 (C-6), 123.7 (C-5), 125.6 (C-4a), 128.9 (C-3', C-5'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.0 (C-8), 132.5 (C-1'), 132.9 (C-7), 137.3 (C-4'), 148.6 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO_2H), 164.8 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 378 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 422 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 281–283 °C (Zers.).



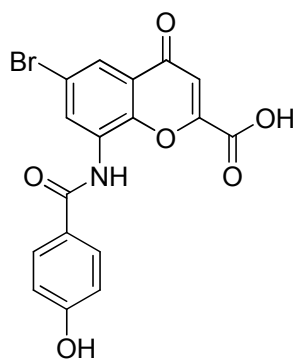
6-Brom-8-(2,4-dichlorbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (334, MF351). Die Synthese erfolgte aus **236** (146 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißer Feststoff isoliert. Ausbeute: 124 mg (91 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.60 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.76 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 6'-H), 7.78 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 3'-H), 7.98 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.36 (br, 1H, 7-H), 10.66 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.8 (C-3), 117.8 (C-6), 123.8 (C-5), 125.7 (C-4a), 127.6 (C-5'), 129.4 (C-8), 129.6 (C-3' or C-6'), 131.1 (C-3' or C-6'), 131.7 (C-4'), 132.1 (C-7), 134.5 (C-1'), 135.7 (C-2'), 148.1 (C-8a), 153.4 (C-2), 161.1 (CO_2H), 164.7 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 412 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 456 [M-H] $^-$, 458 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 284–286 °C (Zers.).



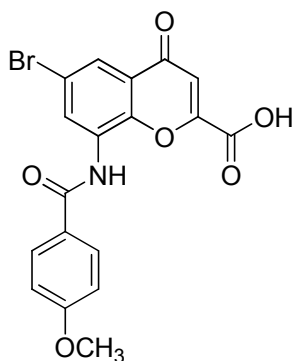
6-Brom-8-(3,4-dichlorbenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (335, MF352). Die Synthese erfolgte aus **237** (194 mg, 0.40 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißer Feststoff isoliert. Ausbeute: 180 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.83 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 5'-H), 7.92 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.1$ Hz, 1H, 6'-H), 7.96 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.20-8.21 (m, 2H, 7-H, 2'-H), 10.58 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.7 (C-3), 117.8 (C-6), 124.1 (C-5), 125.7 (C-4a), 128.2 (C-6'), 129.7 (C-8), 129.1 (C-2'), 131.2 (C-5'), 131.7 (C-3'), 133.3 (C-7), 134.1 (C-1'), 135.2 (C-4'), 148.7 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO₂H), 163.7 (CO-NH), 176.3 (C-4). LC-MS (m/z): 412 [M-CO₂H]⁻, 456 [M-H]⁻, 458 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 281–282 °C (Zers.).



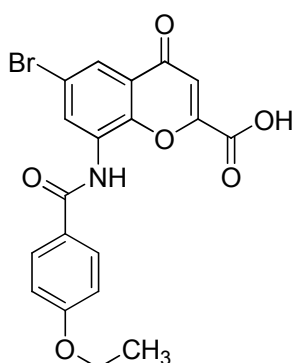
6-Brom-8-(4-cyanobenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (336, MF344). Die Synthese erfolgte aus **238** (148 mg, 0.34 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 4 mL) konnte das Produkt als weiß-gelbes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 100 mg (71 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.98 (s, 1H, 3-H), 8.00 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.07 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 8.15 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.26 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.66 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.7 (C-3), 114.6 (C-4'), 117.8 (C-6), 118.3 (CN), 124.1 (C-5), 125.7 (C-4a), 128.7 (C-2', C-6'), 129.8 (C-8), 132.9 (C-3', C-5'), 133.3 (C-7), 137.8 (C-1'), 148.7 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO₂H), 164.6 (CO-NH), 176.3 (C-4). LC-MS (m/z): 367 [M-CO₂H]⁻, 413 [M-H]⁻. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 279–280 °C (Zers.).



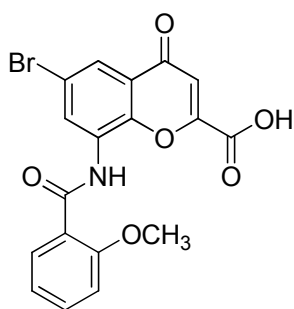
6-Brom-8-(4-hydroxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (337, MF356). Die Synthese erfolgte aus **285** (79 mg, 0.18 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 2 mL) konnte das Produkt als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 58 mg (79 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.88 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.92 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.34 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.98 (s, 1H, NH), 10.22 (br, 1H, OH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 113.6 (C-3), 115.3 (C-3', C-5'), 117.9 (C-6), 122.6 (C-5), 124.2 (C-1'), 125.5 (C-4a), 130.0 (C-2', C-6'), 130.6 (C-8), 131.6 (C-7), 147.9 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO₂H), 161.3 (C-4'), 165.1 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 360 [M-CO₂H]⁻, 404 [M-H]⁻, 406 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.8 %. Smp.: 288–290 °C (Zers.).



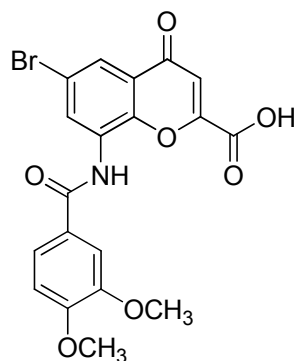
6-Brom-8-(4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (338, MF253). Die Synthese erfolgte aus **239** (196 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 174 mg (95 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.86 (s, 3H, OCH_3), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.93 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.33 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.11 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.7 (OCH_3), 113.6 (C-3), 114.0 (C-3', C-5'), 117.8 (C-6), 122.9 (C-5), 125.5, 125.8 (C-10, C-1'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.5 (C-8), 132.0 (C-7), 148.1 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO_2H), 162.6 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 372 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 416 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 278–279 °C (Zers.).



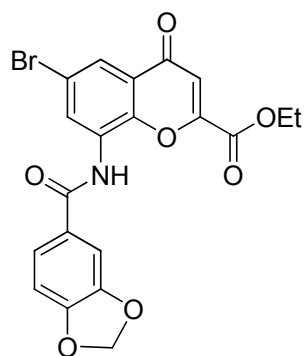
6-Brom-8-(4-ethoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (339, MF315). Die Synthese erfolgte aus **240** (170 mg, 0.37 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weiß-gelbes Pulver isoliert. Ausbeute: 158 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.36 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H, CH_3), 4.13 (q, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.93 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.33 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.10 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.7 (CH_3), 63.7 (CH_2), 113.6 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 117.8 (C-6), 122.9 (C-5), 125.5, 125.6 (C-4a, C-1'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.5 (C-8), 132.0 (C-7), 148.1 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO_2H), 161.9 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 386 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 430 [M-H] $^-$, 432 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 275–276 °C (Zers.).



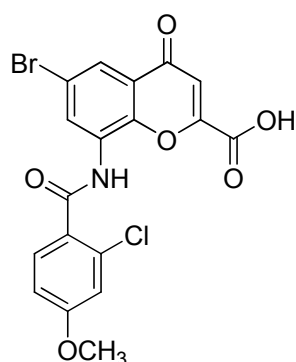
6-Brom-8-(2-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (340, MF350). Die Synthese erfolgte aus **241** (196 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 10 mL) konnte das Produkt als weiß-gelbes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 158 mg (86 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 4.13 (s, 3H, OCH_3), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.15 (dd, $J = 7.4$ Hz, 1H, 4'-H), 7.29 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 3'-H), 7.62 (ddd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 5'-H), 7.75 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 6'-H), 9.06 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.68 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 56.9 (OCH_3), 112.7 (C-3'), 113.8 (C-3), 118.4 (C-6), 119.9 (C-1'), 120.6 (C-5'), 121.4 (C-5), 125.1 (C-4a), 126.3 (C-6'), 130.4 (C-8), 131.9 (C-7), 134.7 (C-4'), 144.7 (C-8a), 153.0 (C-2), 157.7 (C-2'), 161.2 (CO_2H), 163.4 (CO-NH), 176.2 (C-4). LC-MS (m/z): 374 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 416 [M-H] $^-$, 420 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 278–279 °C (Zers.).



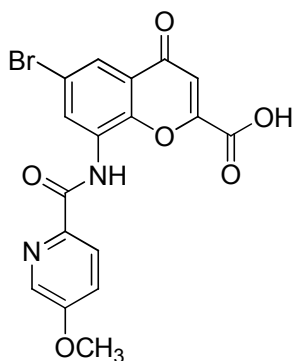
6-Brom-8-(3,4-dimethoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (341, MF298). Die Synthese erfolgte aus **242** (210 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 192 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.85, 3.86 (s, 6H, OCH_3), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, 5'-H), 7.57 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2'-H), 7.64 (dd, $J = 8.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz, 1H, 6'-H), 7.92 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.38 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.10 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.8, 55.9 (OCH_3), 111.0, 111.4 (C-2', C-5'), 113.6 (C-3), 117.9 (C-6), 121.5 (C-6'), 122.7 (C-5), 125.5, 125.8 (C-4a, C-1'), 130.4 (C-8), 131.4 (C-7), 147.8 (C-3'), 148.6 (C-8a), 152.3 (C-4'), 153.3 (C-2), 161.2 (CO_2H), 165.0 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 402 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 448 [M-H] $^-$, 450 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 264–265 °C (Zers.).



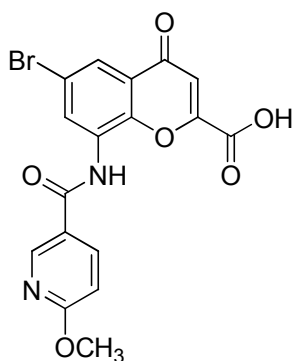
8-(Benzo[*d*][1,3]dioxol-5-carboxamido)-6-brom-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (342, MF255). Die Synthese erfolgte aus **243** (203 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 182 mg (96 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 6.15 (s, 2H, CH_2), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5'-H), 7.52 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2'-H), 7.62 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 6'-H), 7.94 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.30 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.12 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 102.1 (CH_2), 107.8 (C-5'), 108.3 (C-2'), 113.6 (C-3), 117.8 (C-6), 123.1 (C-5), 123.3 (C-6'), 125.5 (C-4a), 127.5 (C-1'), 130.3 (C-8), 132.1 (C-7), 147.7 (C-3'), 148.1 (C-8a), 150.8 (C-4'), 153.3 (C-2), 161.1 (CO_2H), 164.6 (CO-NH), 176.3 (C4). LC-MS (m/z): 386 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 430 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 281–282 °C (Zers.).



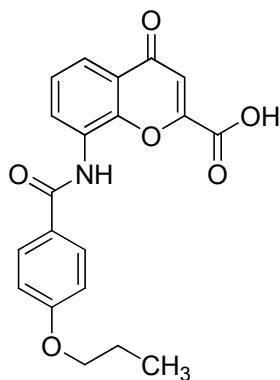
6-Brom-8-(2-chlor-4-methoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (343, MF354). Die Synthese erfolgte aus **244** (212 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt wurde als weißes Pulver isoliert. Ausbeute: 190 mg (95 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 3.85 (s, 3H, OCH_3), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.06 (dd, $J = 8.7$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H, 5'-H), 7.16 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 3'-H), 7.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, 6'-H), 7.93 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.44 (br, 1H, 7-H), 10.34 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 56.1 (OCH_3), 113.4 (C-5'), 113.7 (C-3), 115.5 (C-3'), 117.9 (C-6), 123.0 (C-5), 125.6 (C-4a), 127.1 (C-1'), 129.9 (C-8), 131.0 (C-6'), 131.6 (C-7), 131.9 (C-2'), 147.5 (C-8a), 153.4 (C-2), 161.1 (CO_2H), 161.6 (C-4'), 164.9 (CO-NH), 176.3 (C-4). LC-MS (m/z): 408 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 452 [M-H] $^-$, 454 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 281–282 °C (Zers.).



6-Bromo-8-(5-methoxypicolinamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (344, MF372). Die Synthese erfolgte aus **245** (197 mg, 0.44 mmol) mit K_2CO_3 (79 mg, 0.57 mmol) in THF (15 mL), Wasser (5.5 mL) und EtOH (3 mL) nach Vorschrift 5.2.22. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 d bei RT gerührt und entsprechend der Vorschrift aufgearbeitet. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 5 mL) konnte das Produkt als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 125 mg (68 %). 1H -NMR (343 K): δ 3.97 (s, 3H, OCH_3), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.64 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, 4'-H), 7.82 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 8.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, 3'-H), 8.34 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H, 6'-H), 8.87 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.64 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 56.1 (OCH_3), 113.4 (C-3), 117.9 (C-6), 120.7 (C-4'), 121.5 (C-3'), 123.8 (C-5), 125.0 (C-4a), 125.8 (C-6'), 129.7 (C-8), 136.6 (C-7), 140.8 (C-2'), 145.1 (C-8a), 152.9 (C-2), 158.5 (C-5'), 160.5 (CO_2H), 161.9 (CO-NH), 175.9 (C-4). LC-MS (m/z): 375 [$M-CO_2H$] $^-$, 419 [$M-H$] $^-$, 419 [$M+H$] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 282-284 °C (Zers.).

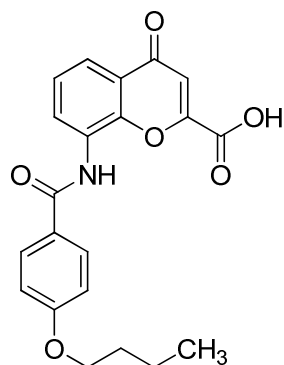


6-Bromo-8-(6-methoxynicotinamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (345, MF373). Die Synthese erfolgte aus **246** (197 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 180 mg (98 %). 1H -NMR (343 K): δ 3.98 (s, 3H, OCH_3), 6.95-6.97 (m, 2H, 3-H, 5'-H), 7.96 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.24 (dd, $J = 8.5$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, 4'-H), 8.34 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, 2'-H), 8.84 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 10.15 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 53.6 (OCH_3), 110.2 (C-5'), 113.3 (C-3), 117.5 (C-6), 123.0 (C-5), 123.1 (C-3'), 125.3 (C-4a), 129.9 (C-8), 131.7 (C-7), 138.4 (C-4'), 147.5 (C-2'), 147.8 (C-8a), 153.2 (C-2), 160.6 (CO_2H), 163.8 (C-6'), 165.8 (CO-NH), 175.9 (C-4). LC-MS (m/z): 375 [$M-CO_2H$] $^-$, 419 [$M-H$] $^-$, 419 [$M+H$] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 273 °C (langsame Zers.).

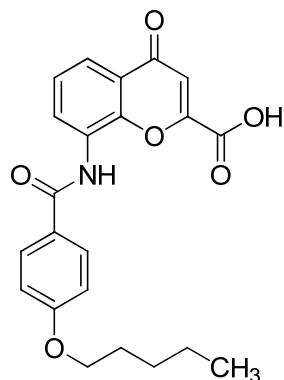


4-Oxo-8-(4-propoxybenzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (346, MF231). Die Synthese erfolgte aus **247** (174 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 161 mg (99 %). 1H -NMR: δ 1.00 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_3), 1.76 (sext., $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2-CH_3), 4.03 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2-O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.1$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.1$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 10.5 (CH_3), 22.1 (CH_2-CH_3), 69.4 (CH_2-O), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.9 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 322

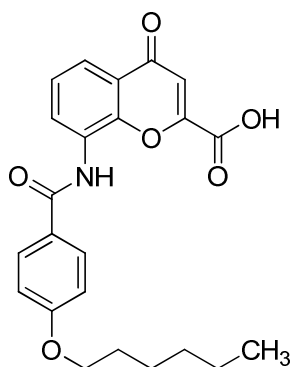
$[M-CO_2H]^-$, 366 $[M-H]^-$, 368 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.9 %. Smp.: 253 °C (Zers.).



8-(4-Butoxybenzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (347, MF229). Die Synthese erfolgte aus **248** (180 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 166 mg (99 %). 1H -NMR: δ 0.94 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H, CH_3), 1.45 (sext., $J = 7.5$ Hz, 2H, \underline{CH}_2-CH_3), 1.73 (quint., $J = 7.0$ Hz, 2H, \underline{CH}_2-CH_2-O), 4.07 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2-O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 13.8 (CH_3), 18.8 (\underline{CH}_2-CH_3), 30.8 ($O-CH_2-\underline{CH}_2$), 67.7 (CH_2-O), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 153.0 (C-2), 161.3 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 ($CO-NH$), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 336 $[M-CO_2H]^-$, 380 $[M-H]^-$, 382 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 239–241 °C (Zers.).

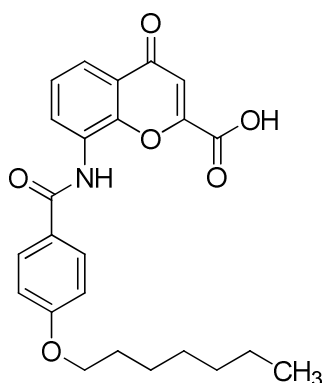


4-Oxo-8-(4-(pentyloxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (348, MF199). Die Synthese erfolgte aus **249** (186 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 173 mg (99 %). 1H -NMR: δ 0.90 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 1.32-1.44 (m, 4H, $\underline{CH}_2-CH_2-CH_3$), 1.75 (quint., $J = 6.6$ Hz, 2H, \underline{CH}_2-CH_2-O), 4.06 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2-O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 14.0 (CH_3), 22.0 (\underline{CH}_2-CH_3), 27.8 ($CH_3-CH_2-\underline{CH}_2$), 28.4 ($O-CH_2-\underline{CH}_2$), 68.0 (CH_2-O), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.2 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.4 (C-8a), 153.0 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.9 (C-4'), 165.0 ($CO-NH$), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 350 $[M-CO_2H]^-$, 394 $[M-H]^-$, 396 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 232–233 °C (Zers.).



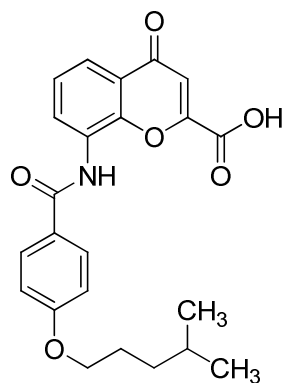
8-(4-(Hexyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (349, MF375). Die Synthese erfolgte aus **250** (131 mg, 0.30 mmol). Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als farbloser kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 116 mg (94 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 0.90 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3), 1.32-1.35 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.42-1.47 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 1.76 (quint., $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.09 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.92 (s, 1H, 3-H), 7.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H),

7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.87 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.76 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 13.5 (CH_3), 21.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 24.9 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.4 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 30.7 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 67.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.1 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 120.6 (C-5), 124.1 (C-4a), 125.2 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.4 (C-8), 129.3 (C-2', C-6'), 129.5 (C-6), 148.7 (C-8a), 152.8 (C-2), 160.9 (CO_2H), 161.6 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 177.2 (C-4). LC-MS (m/z): 364 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 408 [M-H] $^-$, 410 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 233–234 °C (Zers.).

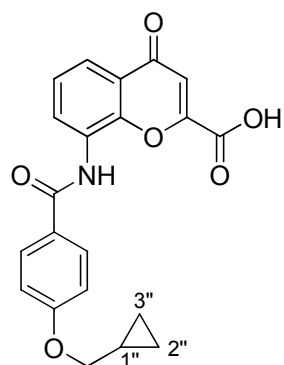


8-(4-(Heptyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (350, MF259). Die Synthese erfolgte aus **251** (199 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 181 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.87 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H, CH_3), 1.29-1.47 (m, 8H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.74 (quint., $J = 7.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 4.06 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J =$

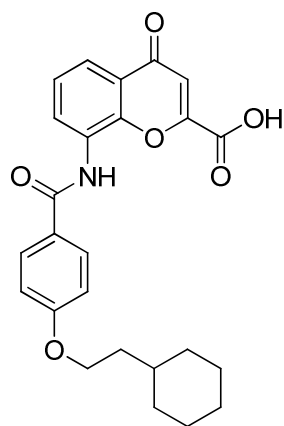
7.7 Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 14.1 (CH_3), 22.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 25.6 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.5 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.7 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 31.3 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_2$), 68.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.6 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.3 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 378 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 422 [M-H] $^-$, 424 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 224–225 °C (Zers.).



8-(4-(4-Methylpentyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (351, MF200). Die Synthese erfolgte aus **252** (192 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 179 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.89 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.29–1.34 (m, 2H, CH_2 -*i*Pr), 1.59 (sept., $J = 6.6$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.74 (pent., $J = 7.3$ Hz, 2H, CH_2 - CH_2 -O), 4.05 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H, CH_2 -O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 22.6 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 26.6 (CH_2 -*i*Pr), 27.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 34.8 (O- CH_2 - CH_2), 68.3 (CH_2 - CH_2 -O), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 149.4 (C-9), 153.0 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.9 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 364 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 408 [M-H] $^-$, 410 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 229–230 °C (Zers.).

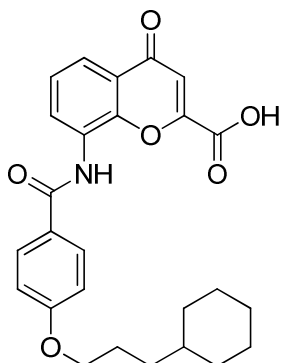


8-(4-(Cyclopropylmethoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (352, MF247). Die Synthese erfolgte aus **253** (179 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 165 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.33–0.37 (m, 2H, 2''-H od. 3''-H), 0.57–0.61 (m, 2H, 2''-H od. 3''-H), 1.21–1.29 (m, 1H, 1''-H), 3.92 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2 -O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 3.24 ($\text{CH}_2(\text{Cyclopropyl})$), 10.2 ($\text{CH}(\text{Cyclopropyl})$), 72.5 (CH_2 -O), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 125.9 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 334 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 378 [M-H] $^-$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 237–239 °C (Zers.).

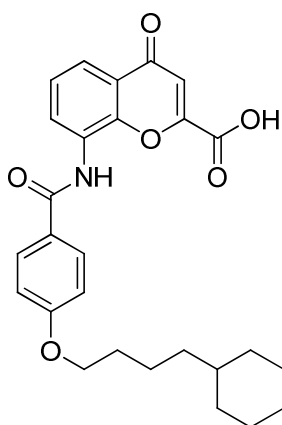


8-(4-(2-Cyclohexylethoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (353, MF191). Die Synthese erfolgte aus **254** (204 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 190 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.92–1.00 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.10–1.26 (m, 3H, Cyclohexyl), 1.47 (m, 1H, Cyclohexyl), 1.60–1.69 (m, 5H, CH_2 - CH_2 -O, Cyclohexyl), 1.73–1.76 (m, 2H, Cyclohexyl), 4.10 (t, 2H, $J = 6.6$ Hz, CH_2 -O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.03

(s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 25.9 (C-3'', C-5''), 26.2 (C-4''), 32.8 (C-2'', C-6''), 34.2 (C-1''), 36.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 66.1 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 149.4 (C-8a), 153.0 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 390 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 434 [M-H] $^-$, 436 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 240–241 °C (Zers.).

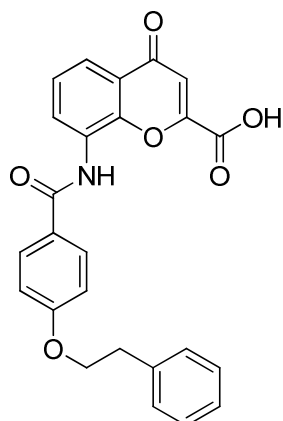


8-(4-(3-Cyclohexylpropoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (354, MF248). Die Synthese erfolgte aus **255** (210 mg, 0.44 mmol) mit K_2CO_3 (79 mg, 0.57 mmol) in THF (15 mL), EtOH (3 mL) und Wasser (4.5 mL) entsprechend der Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 42 h. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 194 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.85-0.93 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.08-1.34 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 1.60-1.77 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 4.05 (t, 2H, $J = 6.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 25.9 (C-3'', C-5''), 26.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 26.3 (C-4''), 32.9 (C-2'', C-6''), 33.3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 36.9 (C-1''), 68.3 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.6 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 153.0 (C-2), 161.3 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 476 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 520 [M-H] $^-$, 524 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 233–234 °C (Zers.).

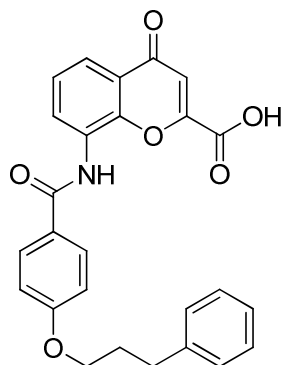


8-(4-(4-Cyclohexylbutoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (355, WA24). Die Synthese erfolgte aus **256** (216 mg, 0.44 mmol) mit K_2CO_3 (79 mg, 0.57 mmol) in THF (14 mL), EtOH (4 mL) und Wasser (6.5 mL) entsprechend der Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 24 h. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 147 mg (72 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 0.83-0.90 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.10-1.25 (m, 6H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 1.40-1.46 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 1.58-1.74 (m, 7H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$, Cyclohexyl), 4.06 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 22.9 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 26.0 (C-3'', C-5''), 26.3 (C-4''), 29.0 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 33.0 (C-2'', C-6''), 36.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 37.1 (C-1''), 68.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.6 (C-7), 126.0 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.3 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.3 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4).

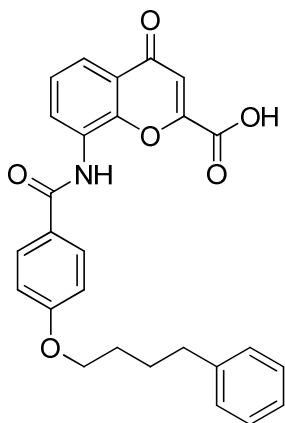
LC-MS (m/z): 418 $[M-CO_2H]^-$, 462 $[M-H]^-$, 464 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 237–238 °C (Zers.).



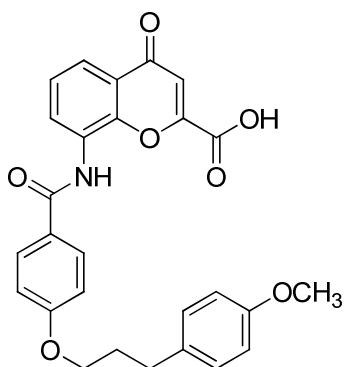
4-Oxo-8-(4-phenethoxybenzamido)-4H-chromen-2-carbon-säure (356, MF192). Die Synthese erfolgte aus **257** (202 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 5 h. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 180 mg, 95 % yield). 1H -NMR: δ 3.07 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2 -Ph), 4.30 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, CH_2 -O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.24 (tt, $J = 7.1$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 4''-H), 7.30-7.35 (m, 4H, 2''-H, 3''-H, 5''-H, 6''-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.04 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 35.0 (CH_2 -Ph), 68.6 (CH_2 -O), 113.5 (C-3), 114.5 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.2 (C-1'), 126.5 (C-4''), 128.5 (C-2'', C-6''), 128.6 (C-8), 129.1 (C-3'', C-5''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 138.3 (C-1''), 149.4 (C-9), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.6 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.7 (C-4). LC-MS (m/z): 384 $[M-CO_2H]^-$, 428 $[M-H]^-$, 430 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.8 %. Smp.: 215–216 °C (Zers.).



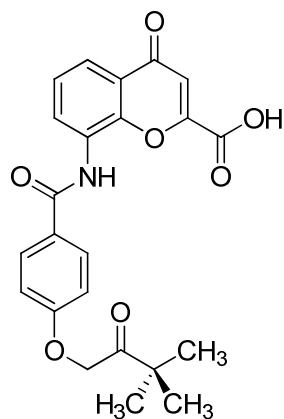
4-Oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (357, MF190). Die Synthese erfolgte aus **258** (187 mg, 0.40 mmol) nach Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 5 h. Nach Umkristallisation in $CHCl_3$ konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 158 mg (89 %). 1H -NMR (343 K): δ 2.07 (tt, $J = 6.3$ Hz, $J = 7.6$ Hz, 2H, $\underline{CH_2-CH_2-O}$), 2.78 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, CH_2 -Ph), 4.10 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2 -O), 6.92 (s, 1H, 3-H), 7.06 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.16-7.30 (m, 5H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.16 (dd, $J = 7.6$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 7-H), 9.77 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR (343 K): δ 30.0 ($\underline{CH_2-CH_2-O}$), 31.3 (CH_2 -Ph), 67.1 (CH_2 -O), 113.2 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 120.7 (C-5), 124.2 (C-4a), 125.3 (C-7), 125.6 (C-4''), 126.2 (C-1'), 128.1 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 128.4 (C-8), 129.4 (C-2', C-6'), 129.6 (C-6), 141.1 (C-1''), 148.7 (C-8a), 152.8 (C-2), 160.9 (C-4'), 161.6 (CO_2H), 164.8 (CO-NH), 177.2 (C-4). LC-MS (m/z): 398 $[M-CO_2H]^-$, 443 $[M-H]^-$, 444 $[M+H]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.5 %. Smp.: 224–225 °C (Zers.).



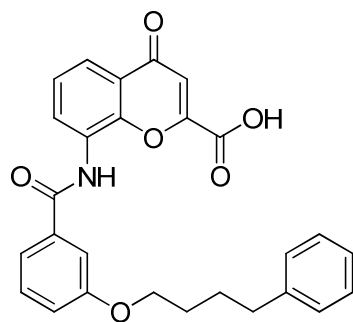
4-Oxo-8-(4-(4-phenylbutoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (113, MF150). Die Synthese erfolgte aus **259** (134 mg, 0.28 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 112 mg (88 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.73-1.76 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.65 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.09 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.93 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.16-7.29 (m, 5H, 2''-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H, 6''-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.88 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.3$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.0$ Hz, 1H, 7-H), 10.02 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.5, 28.3 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 67.8 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 114.4 (C-3', C-5'), 121.2 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.6 (C-7), 125.9 (C-4''), 126.0 (C-1'), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.6 (C-6), 142.1 (C-1''), 149.3 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.4 (CO_2H), 161.8 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.7 (C-4). LC-MS (m/z): 412 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 456 [M-H] $^-$, 458 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 204–205 °C (Zers.).



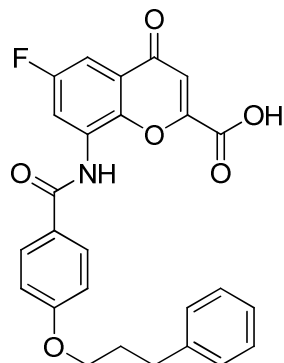
8-(4-(3-(4-Methoxyphenyl)propoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (358, MF258). Die Synthese erfolgte aus **260** (221 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 203 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.01 (tt, $J = 7.0$ Hz, $J = 6.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.69 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.71 (s, 3H, CH_3), 4.05 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.85 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.08 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.15 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.53 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.03 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 30.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 39.7 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 55.1 (OCH_3), 67.1 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.4 (C-3), 113.9 (C-3'', C-5''), 114.3 (C-3', C-5'), 121.2 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.6 (C-7), 126.1 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.4 (C-2'', C-6''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 133.2 (C-1''), 149.3 (C-8a), 153.1 (C-2), 157.6 (C-4''), 161.3 (CO_2H), 161.7 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 428 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 472 [M-H] $^-$, 474 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.7 %. Smp.: 220–221 °C (Zers.).



8-(4-(3,3-Dimethyl-2-oxobutoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (359, MF193). Die Synthese erfolgte aus **261** (199 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 177 mg (94 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.19 (s, 9H, CH_3), 5.24 (s, 2H, CH_2), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.03 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.97 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.17 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 25.9 (CH_3), 43.2 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 68.7 (CH_2), 113.5 (C-3), 114.5 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.4 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.6 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 149.4 (C-9), 153.0 (C-2), 161.1 (C-4'), 161.4 (CO_2H), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4), 209.5 ($\text{CH}_2\text{-CO}$). LC-MS (m/z): 378 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 422 [M-H] $^-$, 424 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 246–249 °C (Zers.).

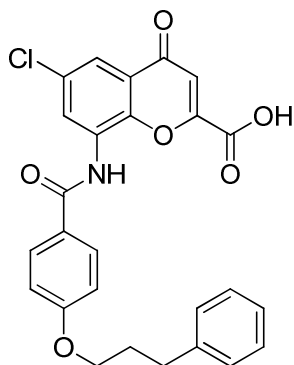


4-Oxo-8-(3-(4-phenylbutoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (360, MF194). Die Synthese erfolgte aus **262** (214 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 195 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.73-1.90 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.66 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.08 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.15-7.19 (m, 2H, 2'-H, 4''-H), 7.21 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.27 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.45 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.53-7.59 (m, 3H, 4'-H, 5'-H, 6'-H), 7.91 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.09 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.04 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.5, 28.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 67.7 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 118.5, 120.0 (C-4', C-6'), 121.6 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 125.8 (C-4''), 128.3 (C-8), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.9 (C-5'), 130.9 (C-6), 135.5 (C-1'), 142.1 (C-1''), 149.4 (C-8a), 153.0 (C-2), 158.9 (C-3'), 161.4 (CO_2H), 165.4 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 412 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 456 [M-H] $^-$, 458 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 211–212 °C (Zers.).



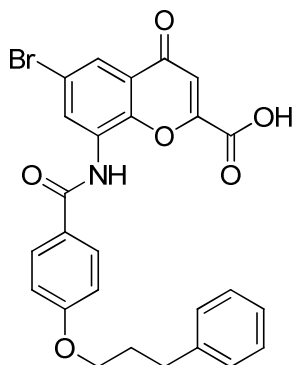
6-Fluor-4-oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (361, WA09). Die Synthese erfolgte aus **263** (215 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer, kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 127 mg (63 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 2.03-2.08 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.76 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.08 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.18 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H, 4''-H), 7.24 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.29 (dd, $J = 7.4$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.11 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, 7-H), 10.12 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 30.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 31.5 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 67.2 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 105.3 (d, $J = 23.9$

Hz, C-5), 112.8 (C-3), 114.5 (C-3', C-5'), 117.5 (d, $J = 28.4$ Hz, C-7), 125.1 (d, $J = 8.3$ Hz, C-4a), 125.7 (C-1'), 126.0 (C-4''), 128.5 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.9 (C-2', C-6'), 130.9 (d, $J = 11.4$ Hz, C-8), 141.4 (C-1''), 144.5 (C-8a), 153.3 (C-2), 158.6 (d, $J = 244.4$ Hz, C-6), 161.2 (CO₂H), 162.0 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 416 [M-CO₂H]⁻, 460 [M-H]⁻, 462 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 240–241 °C (Zers.).



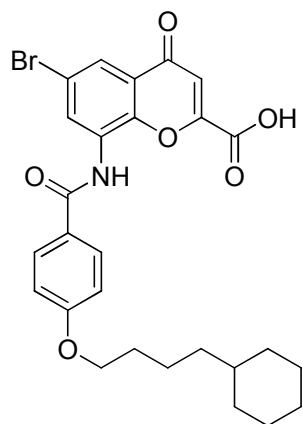
6-Chlor-4-oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (362, MF300). Die Synthese erfolgte aus **264** (177 mg, 0.35 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 123 mg (74 %). ¹H-NMR: δ 2.03-2.08 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.76 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.08 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.18 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H, 4''-H), 7.24 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.29

(dd, $J = 7.4$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.80 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.22 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.11 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 30.4 (CH₂-CH₂-O), 31.5 (CH₂-Ph), 67.2 (CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.5 (C-3', C-5'), 119.7 (C-7), 125.2 (C-4a), 125.7 (C-1'), 126.0 (C-4''), 128.5 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.2 (C-5), 129.9 (C-2', C-6'), 130.2 (C-8), 130.4 (C-6), 141.4 (C-1''), 147.7 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (CO₂H), 161.9 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (m/z): 432 [M-CO₂H]⁻, 476 [M-H]⁻, 478 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 238–239 °C (Zers.).

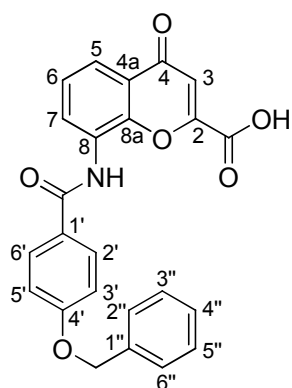


6-Brom-4-oxo-8-(4-(3-phenylpropoxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (363, MF230). Die Synthese erfolgte aus **265** (121 mg, 0.22 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 97 mg (84 %). ¹H-NMR: δ 2.03-2.08 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 2.76 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, CH₂-Ph), 4.08 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.09 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.17-7.20 (m, 1H, 4''-H), 7.24 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.27-

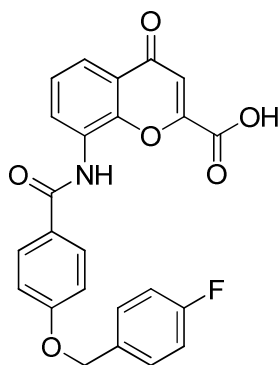
7.30 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.94 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.98 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.33 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.11 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 30.4 (CH₂-CH₂-O), 31.5 (CH₂-Ph), 67.2 (CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.5 (C-3', C-5'), 117.8 (C-6), 122.9 (C-5), 125.5 (C-4a), 125.7 (C-1'), 126.0 (C-4''), 128.5 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.9 (C-2', C-6'), 130.5 (C-8), 132.0 (C-7), 141.4 (C-1''), 148.1 (C-8a), 153.4 (C-2), 161.1 (CO₂H), 161.9 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 476 [M-CO₂H]⁻, 520 [M-H]⁻, 524 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 242–243 °C (Zers.).



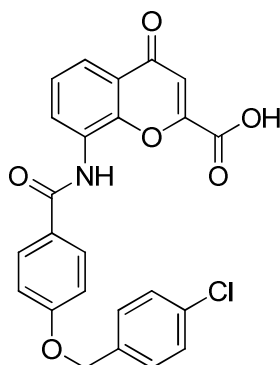
6-Brom-8-(4-(4-cyclohexylbutoxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (364, WA22). Die Synthese erfolgte aus **266** (251 mg, 0.44 mmol) mit K_2CO_3 (79 mg, 0.57 mmol) in THF (14 mL), EtOH (4 mL) und Wasser (4.5 mL) entsprechend der Vorschrift 5.2.22 in einer Reaktionszeit von 24 h. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 158 mg (65 %). 1H -NMR: δ 0.87-0.93 (m, 2H, Cyclohexyl), 1.13-1.26 (m, 6H, \underline{CH}_2 - CH_2 - CH_2 - CH_2 -O, Cyclohexyl), 1.42-1.48 (m, 2H, \underline{CH}_2 - CH_2 -O), 1.60-1.76 (m, 7H, \underline{CH}_2 - CH_2 -O, Cyclohexyl), 4.09 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H, CH_2 -O), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.07 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.93 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 5-H), 7.97 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.39 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.84 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 22.5 (\underline{CH}_2 - CH_2 - CH_2 - CH_2 -O), 25.6 (C-3'', C-5''), 26.0 (C-4''), 28.7 (\underline{CH}_2 - CH_2 -O), 32.6 (C-2'', C-6''), 36.2 (\underline{CH}_2 - CH_2 -O), 36.8 (C-1''), 67.9 (CH_2 -O), 113.2 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 117.5 (C-6), 122.3 (C-5), 125.2 (C-4a od. C-1'), 125.5 (C-4a od. C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 130.3 (C-8), 130.8 (C-7), 147.5 (C-8a), 153.2 (C-2), 160.6 (CO_2H), 161.9 (C-4'), 164.7 (CO-NH), 175.9 (C-4). LC-MS (m/z): 498 [$M-CO_2H$] $^-$, 542 [$M-H$] $^-$, 544 [$M+H$] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 226–228 °C (Zers.).



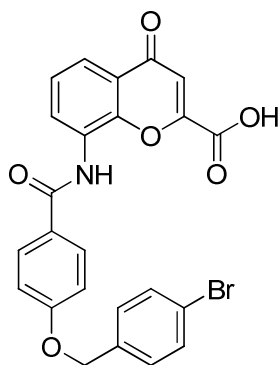
8-(4-(Benzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (365, MF320). Die Synthese erfolgte aus **267** (167 mg, 0.38 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 158 mg (100 %). 1H -NMR: δ 5.22 (s, 2H, CH_2 -O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.34 (tt, $J = 7.3$ Hz, 1H, 4''-H), 7.41 (dd, $J = 7.4$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.48 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.05 (s, 1H, NH). ^{13}C -NMR: δ 69.7 (CH_2 -O), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.4 (C-1'), 127.9 (C-2'', C-6''), 128.1 (C-4''), 128.6 (C-8), 128.6 (C-3'', C-5''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 136.8 (C-1''), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4, 161.5 (CO_2H , C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 370 [$M-CO_2H$] $^-$, 414 [$M-H$] $^-$, 416 [$M+H$] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 257–258 °C (Zers.).



8-(4-(4-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (114, MF201). Die Synthese erfolgte aus **268** (203 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 190 mg (99 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.20 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.23 (dd, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.52-7.55 (m, 3H, 6-H, 2''-H, 6''-H), 7.89 (dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.9 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 115.5 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3'', C-5''), 121.4 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.5 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 130.8 (C-6), 133.0 (C-1''), 149.0 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO_2H , C-4'), 162.0 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4''), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 388 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 432 [M-H] $^-$, 434 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 248–249 °C (Zers.).

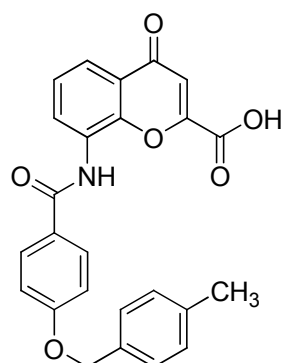


8-(4-(4-Chlorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (366, MF303). Die Synthese erfolgte aus **269** (96 mg, 0.20 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 71 mg (78 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.22 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.46 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.51 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.05 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.8 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.5 (C-1'), 128.5 (C-8), 128.6 (C-3'', C-5''), 129.7 (C-2'', C-6''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 132.7 (C-4''), 135.8 (C-1''), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.2 (C-4'), 161.3 (CO_2H), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 404 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 448 [M-H] $^-$, 450 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.9 %. Smp.: 250–251 °C (Zers.).

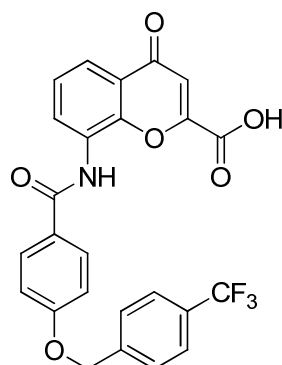


8-(4-(4-Brombenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (367, MF302). Die Synthese erfolgte aus **270** (230 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 212 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.21 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.16 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.44 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.89 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.05 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.8 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.2 (C-4''), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.5 (C-1'), 128.5 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.0 (C-2'', C-6''), 130.7 (C-6), 131.6 (C-3'', C-5''), 136.3

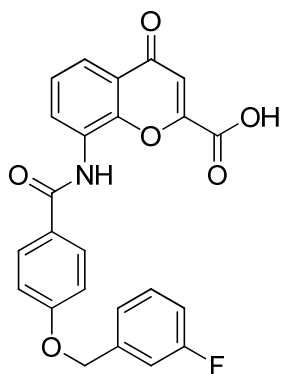
(C-1''), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.2 (C-4'), 161.3 (CO₂H), 164.9 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (*m/z*): 448 [M-CO₂H]⁻, 492 [M-H]⁻, 494 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 251–253 °C (Zers.).



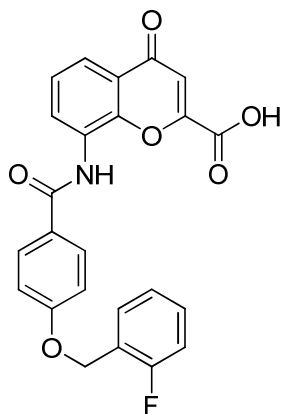
8-(4-(4-Methylbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (368, MF282). Die Synthese erfolgte aus **271** (201 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 182 mg (96 %). ¹H-NMR: δ 2.31 (s, 3H, CH₃), 5.16 (s, 2H, CH₂-O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.15 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.21 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.36 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 10.04 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 20.9 (CH₃), 69.6 (CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.3 (C-5), 124.4 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.3 (C-1''), 128.0 (C-2'', C-6''), 128.6 (C-8), 129.2 (C-3'', C-5''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (C-6), 133.7 (C-1'), 137.4 (C-4''), 149.3 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.4 (CO₂H), 161.5 (C-4'), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (*m/z*): 428 [M-H]⁻, 430 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 226–227 °C (Zers.).



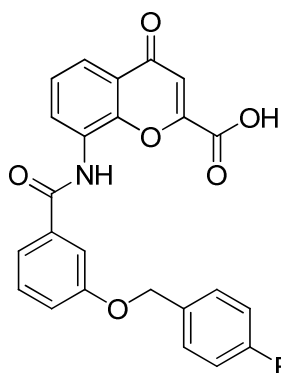
4-Oxo-8-(4-(4-(trifluormethyl)benzyloxy)benzamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (369, MF301). Die Synthese erfolgte aus **272** (203 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 190 mg (99 %). ¹H-NMR: δ 5.35 (s, 2H, CH₂-O), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.19 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.54 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6-H), 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.78 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.89 (dd, *J* = 7.9 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, *J* = 7.6 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 68.7 (CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 121.4 (C-5), 123.3 (CF₃), 124.4 (C-4a), 125.5 (d, *J* = 3.7 Hz, C-3'', C-5''), 125.7 (C-7), 126.7 (C-1'), 128.2 (C-2'', C-6''), 128.5–128.7 (m, C-8, C-4''), 129.8 (C-2', C-6'), 130.8 (C-6), 141.7 (C-1''), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.1 (C-4'), 161.4 (CO₂H), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (*m/z*): 438 [M-CO₂H]⁻, 482 [M-H]⁻, 484 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 251–253 °C (Zers.).



8-(4-(3-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (370, MF281). Die Synthese erfolgte aus **273** (203 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 185 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.25 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.15-7.19 (m, 3H, 3'-H, 5'-H, 2''-H), 7.30-7.33 (m, 2H, 4''-H, 6''-H), 7.43-7.48 (m, 1H, 5''-H), 7.54 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.01 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.08 (dd, $J = 7.2$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.06 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.8 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.5 (d, $J = 22.0$ Hz, C-2''), 114.8 (C-3', C-5'), 114.9 (d, $J = 21.1$ Hz, C-4''), 121.4 (C-5), 123.7 (C-6''), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 126.6 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7 (d, $J = 8.2$ Hz, C-5''), 130.8 (C-6), 139.7 (d, $J = 7.3$ Hz, C-1''), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.2 (C-4'), 161.4 (CO_2H), 162.4 (d, $J = 247.4$ Hz, C-3''), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 388 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 432 [M-H] $^-$, 434 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %. Smp.: 260–261 °C (Zers.).

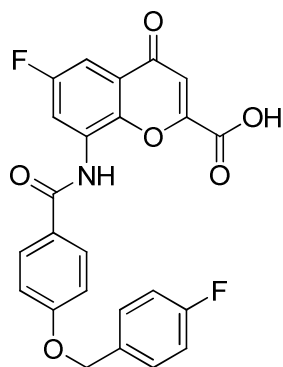


8-(4-(2-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (371, MF285). Die Synthese erfolgte aus **274** (203 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 183 mg (96 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.26 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.24-7.29 (m, 2H, 5''-H, 6''-H), 7.42-7.46 (m, 1H, 3''-H), 7.55 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.60 (td, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 4''-H), 7.89 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.02 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.07 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 64.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 115.6 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3''), 121.4 (C-5), 123.5 (d, $J = 13.7$ Hz, C-1''), 124.4 (C-4a), 124.7 (d, $J = 3.7$ Hz, C-5''), 125.7 (C-7), 126.6 (C-1'), 128.6 (C-8), 129.8 (C-2', C-6'), 130.7-130.9 (C-6, C-4'', C-6''), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 160.6 (d, $J = 246.5$ Hz, C-2''), 161.3 (C-4'), 161.4 (CO_2H), 165.0 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 388 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 432 [M-H] $^-$, 434 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %. Smp.: 261–263 °C (Zers.).



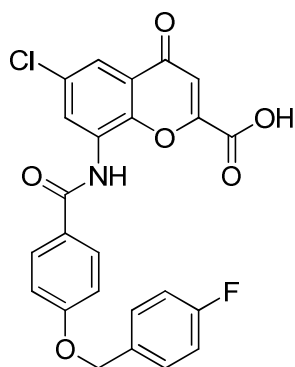
8-(3-(4-Fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (372, MF316). Die Synthese erfolgte aus **275** (203 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißes Pulver gewonnen werden. Ausbeute: 185 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.19 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.94 (s, 1H, 3-H), 7.21-7.25 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.27 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 2.2$ Hz, 1H, 4'-H), 7.48 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.53-7.57 (m, 3H, 5'-H, 2''-H, 6''-H), 7.62 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, 6'-H), 7.67

(dd, $J = 1.9$ Hz, 1H, 2'-H), 7.91 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.09 (dd, $J = 7.7$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 7-H), 10.20 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 69.0 (CH₂-O), 113.6 (C-3), 114.0 (C-2'), 115.4 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3'', C-5''), 118.8 (C-4'), 120.4 (C-6'), 121.6 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.7 (C-7), 128.3 (C-8), 129.9 (C-5'), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 130.9 (C-6), 133.2 (C-1''), 135.6 (C-1'), 149.4 (C-8a), 153.1 (C-2), 158.5 (C-3'), 161.4 (CO₂H, C-4'), 162.0 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4''), 165.3 (CO-NH), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 388 [M-CO₂H]⁻, 432 [M-H]⁻, 434 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 251–252 °C (Zers.).

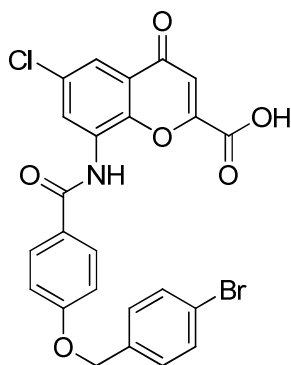


6-Fluor-8-(4-(4-fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (373, MF311). Die Synthese erfolgte aus **276** (192 mg, 0.40 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 167 mg (92 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.20 (s, 2H, CH₂-O), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.21-7.25 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.51-7.56 (m, 3H, 5-H, 2''-H, 6''-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.11 (dd, $J = 9.8$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 1H, 7-H), 10.13 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 69.0 (CH₂-O), 105.3 (d, $J =$

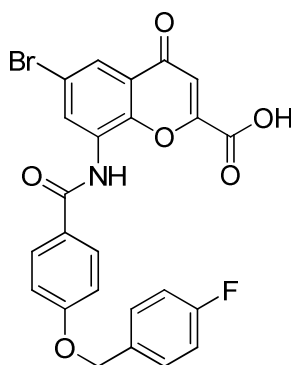
23.8 Hz, C-5), 112.8 (C-3), 114.9 (C-3', C-5'), 115.5 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3'', C-5''), 117.5 (d, $J = 28.4$ Hz, C-7), 125.1 (d, $J = 8.2$ Hz, C-4a), 126.1 (C-1'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 130.8 (d, $J = 11.0$ Hz, C-8), 133.0 (d, $J = 2.7$ Hz, C-1''), 145.5 (C-8a), 153.2 (C-2), 158.7 (d, $J = 244.7$ Hz, C-6), 161.2 (C-4'), 161.6 (CO₂H), 162.0 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4''), 164.9 (CO-NH), 176.9 (C-4). LC-MS (m/z): 406 [M-CO₂H]⁻, 450 [M-H]⁻, 452 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %. Smp.: 244–245 °C (Zers.).



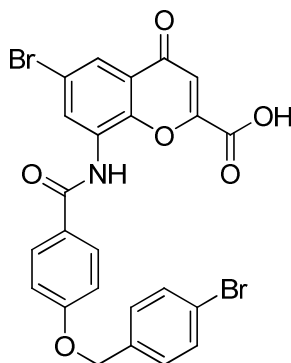
6-Chlor-8-(4-(4-fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (374, MF304). Die Synthese erfolgte aus **277** (124 mg, 0.25 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 115 mg (98 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.20 (s, 2H, CH₂-O), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.23 (dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.51-7.54 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.80 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.21 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 10.14 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 69.0 (CH₂-O), 113.5 (C-3), 114.9 (C-3', C-5'), 115.5 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3'', C-5''), 119.8 (C-7), 125.2 (C-4a), 126.0 (C-1'), 129.3 (C-5), 129.9 (C-2', C-6'), 130.0 (C-6 or C-8), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 130.4 (C-6 or C-8), 132.9 (d, $J = 2.7$ Hz, C-1''), 147.7 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (C-4'), 161.6 (CO₂H), 162.0 (d, $J = 244.7$ Hz, C-4''), 165.0 (CO-NH), 176.5 (C-4). LC-MS (m/z): 422 [M-CO₂H]⁻, 466 [M-H]⁻, 468 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.3 %. Smp.: 246–247 °C (Zers.).



8-(4-(4-Brombenzyloxy)benzamido)-6-chlor-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (375, MF329). Die Synthese erfolgte aus **278** (245 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 211 mg (91 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.21 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.16-7.17 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.58-7.59 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.79 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.98-7.99 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.26 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.90 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.8 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.1 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 119.2 (C-7), 120.9 (C-4''), 124.9 (C-4a), 126.1 (C-1'), 128.2 (C-5), 129.5 (C-2', C-6', C-2'', C-6''), 129.8 (C-8), 130.2 (C-6), 131.2 (C-3'', C-5''), 136.0 (C-1''), 147.7 (C-8a), 153.1 (C-2), 160.6 (C-4'), 161.3 (CO_2H), 164.7 (CO-NH), 176.1 (C-4). LC-MS (m/z): 484 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 528 [M-H] $^-$, 530 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.8 %. Smp.: 262–264 °C (Zers.).

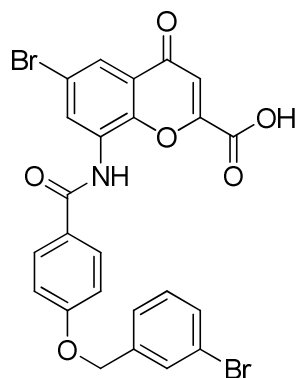


6-Brom-8-(4-(4-fluorbenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (376, MF299). Die Synthese erfolgte aus **279** (238 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 219 mg (97 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.20 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.18 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.21-7.26 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.52-7.55 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.94 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.32 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 10.14 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 69.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.9 (C-3', C-5'), 115.5 (d, $J = 21.1$ Hz, C-3'', C-5''), 117.8 (C-6), 123.0 (C-5), 125.5 (C-4a), 126.1 (C-1'), 129.9 (C-2', C-6'), 130.2 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 130.5 (C-8), 132.0 (C-7), 132.9 (d, $J = 2.8$ Hz, C-1''), 148.1 (C-8a), 153.5 (C-2), 161.1 (C-4'), 161.5 (CO_2H), 162.0 (d, $J = 243.8$ Hz, C-4''), 165.0 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 466 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 512 [M-H] $^-$, 512 [M+H] $^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.2 %. Smp.: 239–240 °C (Zers.).

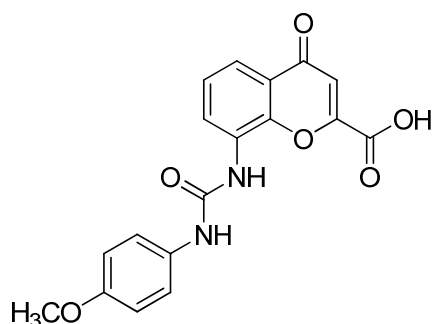


6-Brom-8-(4-(4-brombenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (377, MF321). Die Synthese erfolgte aus **280** (265 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als weißes Pulver isoliert werden. Ausbeute: 252 mg (100 %). $^1\text{H-NMR}$ (343 K): δ 5.22 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.95 (s, 1H, 3-H), 7.17 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.93 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 5-H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.38 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 7-H), 9.88 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (343 K): δ 68.8 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.2 (C-3), 114.8 (C-3', C-5'), 117.5 (C-6), 120.9 (C-4''), 122.4 (C-5), 125.2 (C-4a), 126.2 (C-1'), 129.5 (C-2', C-6', C-2'', C-6''), 130.3 (C-8), 130.9 (C-7), 131.2 (C-3'', C-5''), 136.0 (C-1''), 147.5 (C-8a), 153.1 (C-2), 160.6 (C-4'), 161.3 (CO_2H), 164.7 (CO-NH), 175.9 (C-4). LC-MS (m/z): 528 [$\text{M-CO}_2\text{H}$] $^-$, 572

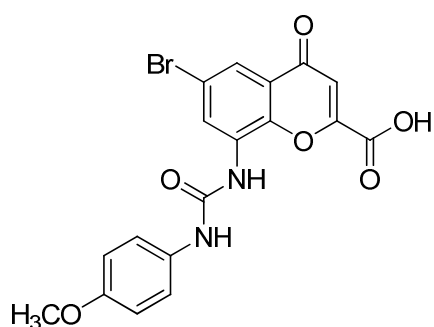
[M-H]⁻, 574 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %. Smp.: 259–261 °C (Zers.).



6-Brom-8-(4-(3-brombenzyloxy)benzamido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (378, MF326). Die Synthese erfolgte aus **281** (265 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1) konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 236 mg (94 %). ¹H-NMR: δ 5.24 (s, 2H, CH₂-O), 6.97 (s, 1H, 3-H), 7.19 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.37 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5''-H), 7.49 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 6''-H), 7.53-7.55 (m, 1H, 4''-H), 7.69 (s, 1H, 2''-H), 7.94 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.32 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 7-H), 10.14 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 68.6 (CH₂-O), 113.6 (C-3), 114.9 (C-3', C-5'), 117.8 (C-6), 121.9 (C-3''), 123.0 (C-5), 125.5 (C-4a), 126.2 (C-1'), 126.8 (C-6''), 129.9 (C-2', C-6'), 130.4 (C-5''), 130.5 (C-8), 130.8 (C-4''), 131.0 (C-2''), 132.0 (C-7), 139.5 (C-1''), 148.1 (C-8a), 153.3 (C-2), 161.1 (C-4'), 161.4 (CO₂H), 164.9 (CO-NH), 176.4 (C-4). LC-MS (*m/z*): 528 [M-CO₂H]⁻, 572 [M-H]⁻, 574 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 252–254 °C (Zers.).

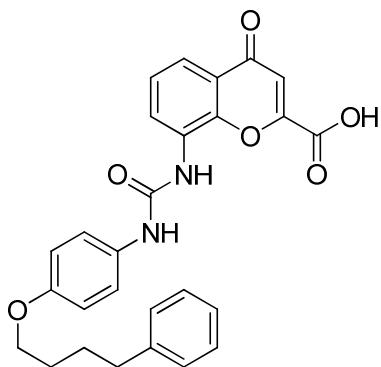


8-(3-(4-Methoxyphenyl)ureido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (379, MF366). Die Synthese erfolgte aus **292** (134 mg, 0.35 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als gelber kristalliner Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 122 mg (98 %). ¹H-NMR: δ 3.72 (s, 3H, OCH₃), 6.89 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.93 (s, 1H, 3-H), 7.39 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.44 (dd, *J* = 8.0 Hz, 1H, 6-H), 7.64 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5-H), 8.38 (s, 1H, NH), 8.45 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 7-H), 9.47 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR: δ 55.3 (OCH₃), 113.6 (C-3), 114.2 (C-3', C-5'), 117.3 (C-5), 120.4 (C-2', C-6'), 124.2 (C-4a), 124.8 (C-7), 125.7 (C-6), 129.7 (C-8), 132.5 (C-1'), 145.9 (C-8a), 152.5 (C-2), 152.9 (NH-CO-NH), 154.9 (C-4'), 161.5 (CO₂H), 177.6 (C-4). LC-MS (*m/z*): 353 [M-H]⁻, 355 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 242–243 °C.

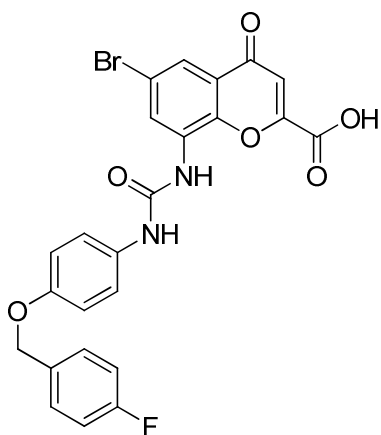


6-Brom-8-(3-(4-methoxyphenyl)ureido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (380, MF367). Die Synthese erfolgte aus **293** (138 mg, 0.30 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 6 mL) konnte das Produkt als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 101 mg (78 %). ¹H-NMR: δ 3.72 (s, 3H, OCH₃), 6.89 (d, *J* = 9.1 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.96 (s, 1H, 3-H), 7.39 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.68 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, 5-H), 8.55 (s, 1H,

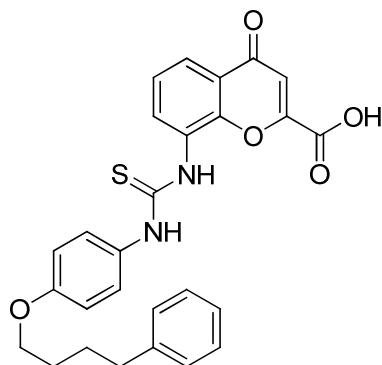
NH), 8.68 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, 7-H), 9.63 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 55.4 (OCH₃), 113.8 (C-3), 114.3 (C-3', C-5'), 118.4 (C-6), 118.4 (C-5), 120.6 (C-2', C-6'), 124.3 (C-4a), 125.6 (C-7), 131.7 (C-8), 132.1 (C-1'), 144.8 (C-8a), 152.2 (C-2), 153.2 (NH-CO-NH), 155.1 (C-4'), 161.3 (CO₂H), 176.4 (C-4). LC-MS (m/z): 431 [M-H]⁻, 433 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 100.0 %. Smp.: 221–223 °C.



4-Oxo-8-(3-(4-(4-phenylbutoxy)phenyl)ureido)-4H-chromen-2-carbonsäure (381, MF203). Die Synthese erfolgte aus **294** (220 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Produkt konnte als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 199 mg (96 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.68-1.74 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-O), 2.63 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH₂-Ph), 3.94 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH₂-O), 6.87 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.93 (s, 1H, 3-H), 7.14-7.18 (m, 1H, 4''-H), 7.19-7.22 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.25-7.28 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.37 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.44 (dd, $J = 8.1$ Hz, 1H, 6-H), 7.64 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.38 (s, 1H, NH), 8.44 (dd, $J = 8.2$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 9.46 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.6, 28.5 (CH₂-CH₂-CH₂-O), 34.9 (CH₂-Ph), 67.6 (CH₂-CH₂-O), 113.6 (C-3), 114.9 (C-3', C-5'), 117.3 (C-5), 120.4 (C-2', C-6'), 124.2 (C-4a), 124.7 (C-7), 125.7, 125.8 (C-6, C-4''), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.7 (C-8), 132.4 (C-1'), 142.2 (C-1''), 145.9 (C-8a), 152.5 (C-2), 152.9 (NH-CO-NH), 154.3 (C-4'), 161.5 (CO₂H), 177.6 (C-4). LC-MS (m/z): 427 [M-CO₂H]⁻, 471 [M-H]⁻, 473 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.5 %. Smp.: 226–227 °C (Zers.).

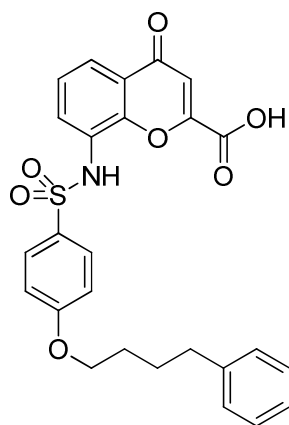


6-Brom-8-(3-(4-(4-fluorbenzyloxy)phenyl)ureido)-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäure (382, WA26). Die Synthese erfolgte aus **295** (244 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Aceton/Ethanol (1:1, 7 mL) konnte das Produkt als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 137 mg (59 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 5.05 (s, 2H, CH₂-O), 6.96-6.98 (m, 3H, 3-H, 3'-H, 5'-H), 7.18-7.22 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.39 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.47-7.49 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.68 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 5-H), 8.55 (s, 1H, NH), 8.68 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, 7-H), 9.64 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 68.9 (CH₂-O), 113.4 (C-3), 115.2-115.4 (m, C-3', C-5', C-3'', C-5''), 118.3 (C-6), 118.7 (C-5), 120.5 (C-2', C-6'), 125.2 (C-4a), 125.6 (C-7), 130.0 (d, $J = 8.2$ Hz, C-2'', C-6''), 131.6 (C-8), 132.4 (C-1'), 133.6 (d, $J = 2.8$ Hz, C-1''), 144.7 (C-8a), 152.1 (C-2), 153.2 (NH-CO-NH), 154.0 (C-4'), 161.2 (CO₂H), 161.8 (d, $J = 243.3$ Hz, C-4''), 177.4 (C-4). LC-MS (m/z): 525 [M-H]⁻, 529 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.5 %. Smp.: 215–216 °C



4-Oxo-8-(3-(4-(4-phenylbutoxy)phenyl)thioureido)-4H-chromen-2-carbonsäure (383, MF208). Die Synthese erfolgte aus **296** (114 mg, 0.22 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Das Reaktionsgemisch wurde mit 2 mL Wasser verdünnt und mit verd. wässriger HCl-Lösung (2 N) angesäuert bis sich ein pH-Wert ≤ 2 einstellte. THF und EtOH wurden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit weiteren 6 mL Wasser verdünnt und mit EtOAc extrahiert (3 x

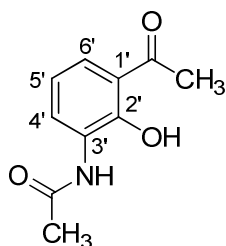
20 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 30 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet. Das EtOAc wurde unter vermindertem Druck entfernt und der gelbe Rückstand in MeOH (8 mL) umkristallisiert. Das Produkt konnte als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 60 mg (56 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.70-1.73 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.63 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.97 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 3'-H, 5'-H), 6.93 (s, 1H, 3-H), 7.14-7.18 (m, 1H, 4''-H), 7.19-7.21 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.25-7.28 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.37 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.44 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.89 (dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H or 7-H), 7.97 (dd, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.4$ Hz, 1H, 5-H or 7-H), 9.42 (s, 1H, NH), 9.92 (s, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.5, 28.4 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.9 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 67.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.6 (C-3', C-5'), 122.1 (C-5), 124.5 (C-4a), 125.3 (C-6), 125.8 (C-4''), 126.5 (C-2', C-6'), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.7 (C-8), 131.7 (C-1'), 133.4 (C-7), 142.1 (C-1''), 150.6 (C-8a), 153.1 (C-2), 156.5 (C-4'), 161.5 (CO_2H), 177.6 (C-4), 180.7 (C=S). LC-MS (m/z): 487 $[\text{M-H}]^-$, 489 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.6 %. Smp.: 151–152 °C (Zers.).



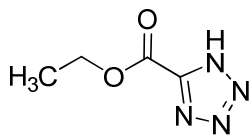
4-Oxo-8-(4-(4-phenylbutoxy)phenylsulfonamido)-4H-chromen-2-carbonsäure (384, MF205).³⁴⁸ Die Synthese erfolgte aus **MF202** (229 mg, 0.44 mmol) nach Vorschrift 5.2.22. Nach Umkristallisation in Diethylether konnte das Produkt als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 148 mg (68 %). $^1\text{H-NMR}$: δ 1.64-1.71 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 2.61 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ph}$), 3.99 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$), 6.83 (s, 1H, 3-H), 6.94 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, C3'H, C5'H), 7.13-7.19 (m, 3H, 2''-H, 4''-H, 6''-H), 7.24-7.27 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.44 (dd, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6-H), 7.64 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 5-H), 7.68 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, 2'-H, 6'-H), 7.81 (dd, $J = 7.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, 1H, 7-H), 10.25 (br, 1H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$: δ 27.3,

28.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O}$), 34.8 ($\text{CH}_2\text{-Ph}$), 68.0 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 113.5 (C-3), 114.7 (C-3', C-5'), 122.1 (C-5), 124.6 (C-4a), 125.8 (C-2', C-6'), 126.0 (C-4''), 127.1 (C-1'), 128.4 (C-2'', C-3'', C-5'', C-6''), 129.2 (C-7), 130.4 (C-6), 131.1 (C-8), 142.0 (C-1''), 149.3 (C-8a), 153.1 (C-2), 161.0 (CO_2H), 162.1 (C-4'), 177.2 (C-4). LC-MS (m/z): 448 $[\text{M-CO}_2\text{H}]^-$, 492 $[\text{M-H}]^-$, 450 $[\text{M-CO}_2\text{+H}]^+$, 494 $[\text{M+H}]^+$. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.0 %. Smp.: 184–185 °C (Zers.).

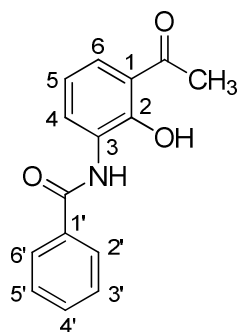
5.3.25 Sonstige Verbindungen



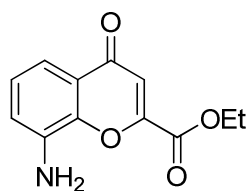
3'-Acetamido-2'-hydroxyacetophenon (118, MF09).²⁹⁸ Ein Gemisch aus 5'-Brom-2'-hydroxy-3'-nitroacetophenon (780 mg, 3.0 mmol) und Pd/Aktivkohle (5 %, 350 mg) wurde in EtOH (8 mL) in einer Wasserstoff-Atmosphäre bei 45 psi und RT für 17 h gerührt. Anschließend wurde die Wasserstoff-Atmosphäre durch Argon ersetzt und gesättigte Natriumdithionitlösung (3 Tropfen) neben Natriumacetat (221 mg, 2.7 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf 50 °C für 30 min erhitzt. Der Katalysator wurde über Celite[®] abfiltriert und mit wenig EtOH gewaschen. Nach Zugabe von Acetanhydrid (0.4 ml, 4.3 mmol) zum Filtrat wurde die Reaktionslösung in einer Argon-Atmosphäre bei RT für 5 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand chromatografisch über eine Kieselgelsäule (EtOAc/Cyclohexan 3:2) aufgetrennt. Nach Umkristallisation in EtOAc konnte das Produkt als gelb-weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 477 mg (82 %). ¹H-NMR: δ 2.10 (s, 3H, NH-CO-CH₃), 2.65 (s, 3H, Ar-CO-CH₃), 6.93 (dd, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5'-H), 7.67 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 6'-H), 8.15 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, 4'-H), 9.33 (s, 1H, NH), 12.67 (s, 1H, OH). ¹³C-NMR: δ 23.8 (NH-CO-CH₃), 27.2 (Ar-CO-CH₃), 118.6 (5'-H), 119.7 (C-1'), 126.4 (C-6'), 127.5 (C-3'), 128.6 (C-4'), 152.4 (C-2'), 169.0 (C-7'), 205.9 (C-1). LC-MS (*m/z*): 150 [M-Acetyl]⁻, 192 [M-H]⁻, 194 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 97.7 %.



5-Ethoxycarbonyl-1H-tetrazol (119, MF20).³⁰⁰ Zu einer Suspension von Natriumazid (533 mg, 8.2 mmol) und ZnCl₂ (559 mg, 4.1 mmol) Methylethylketon (7 mL) wurde über einen Zeitraum von 20 min eine Lösung von Ethylcyanoformat (396 mg, 4.0 mmol) in Methylethylketon (3 mL) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 1.5 h auf 60 – 70 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wurde ein Überschuss an verd. HCl-Lösung zugegeben bis eine klare Lösung entstand und das Reaktionsgemisch für weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Methylethylketon wurde unter vermindertem Druck entfernt und die übrige wässrige Phase dreimal mit *tert*-Butylmethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck zur Trockne eingengt. Nach Umkristallisation in Toluol konnte das Produkt als weißen Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 509 mg (90 %). ¹H-NMR: δ 1.33 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, CH₃), 4.41 (q, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH₂). ¹³C-NMR: δ 14.1 (CH₃), 62.3 (CH₂), 151.3 (N=C-NH), 157.1 (C=O). LC-MS (*m/z*): 143 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 98.5 %.



3'-Benzamido-2'-hydroxyacetophenon (120, MF26).²⁹⁶ Zu einer Lösung von 3'-Amino-2'-hydroxyacetophenon-Hydrochlorid (**117***HCl) (328 mg, 1.7 mmol) in H₂O (4 ml) wurde eine Lösung von Benzoylchlorid (0.34 ml, 2.9 mmol) in CHCl₃ (5 ml) zugetropft. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch kräftig für 4 h in einer Argon-Atmosphäre gerührt. Nach der Zugabe eines Überschusses an 0.1 N HCl-Lösung wurde die organische von der wässrigen Phasen abgetrennt, wobei die wässrige Phase noch dreimal mit CHCl₃ extrahiert wurde. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Nach säulenchromatografischer Aufreinigung (Kieselgel, DCM/EtOH 100:0 -> 95:5) konnte das Produkt als weiß-gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 409 mg (94 %). ¹H-NMR (CDCl₃): δ 2.65 (s, 1H, CH₃), 6.97 (dd, 1H, *J* = 7.9 Hz, *J* = 8.2 Hz, 5-H), 7.47-7.51 (m, 3H, 6-H, 3'-H, 5'-H), 7.55 (tt, 1H, *J* = 7.3 Hz, *J* = 1.3 Hz, 4'-H), 7.89-7.92 (m, 2H, 2'-H, 6'-H), 8.64 (s, 1H, NH), 8.78 (dd, 1H, *J* = 8.2 Hz, *J* = 1.3 Hz, 4-H), 12.96 (s, 1H, OH). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ 26.7 (CH₃), 118.8 (C-1), 119.1 (C-6), 124.6 (C-4), 125.7 (C-5), 127.1 (C-2', C-6'), 128.1 (C-3), 128.8 (C-3', C-5'), 132.0 (C-4'), 134.7 (C-1'), 151.5 (C-2), 165.4 (CO-NH), 205.1 (CO-CH₃). LC-MS (*m/z*): 256 [M+H]⁺. Reinheit mit HPLC-UV (254 nm)-ESI-MS: 99.4 %.



8-Amino-4-oxo-4H-chromen-2-carbonsäureethylester (121, MF146).²⁹⁷ Zu einer Suspension von NaOEt (300 mg, 4.4 mmol) in trockenem Ethanol (5 mL) wurde in einer Argon-Atmosphäre langsam eine Lösung von **118** (224 mg, 1.1 mmol) und Diethyloxalat (0.3 mL, 2.2 mmol) in trockenem THF (4 mL) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Argon-Atmosphäre für 3.5 h refluxiert und anschließend mit 0.1 N HCl-Lösung hydrolysiert. Das Gemisch wurde mehrmals mit CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Rückstand wurde in THF/EtOH (1:1, 10 mL) gelöst und nach Zugabe von von konz. HCl (0.3 mL) für 2 h in einer Argon-Atmosphäre refluxiert. Nach säulenchromatografischer Aufreinigung über eine Kieselgelsäule (DCM/MeOH 95:5) konnte das Produkt als gelber Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 117 mg (45 %). Analytik: siehe oben.

5.4 Bestimmung der hydrolytischen Stabilität ausgewählter Verbindungen

5.4.1 Benzensulfonsäurephenylester-Derivat **76**

Zur Bestimmung der hydrolytischen Stabilität von **76** wurden 4 Proben hergestellt:

1. Hydrolytische Stabilität bei pH = 3: 1.0 mg **76** wurde in 1 mL eines MeOH/H₂O-Gemisches (9:1) gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat und 1 % Ameisensäure (10 µl) enthielt. 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 2.5 und 24 Stunden analysiert.
2. Hydrolytische Stabilität bei pH = 7: 1.0 mg **76** wurde in 1 mL eines MeOH/H₂O-Gemisches (9:1) gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat enthielt. 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 2.5 und 24 Stunden analysiert.
3. Hydrolytische Stabilität bei pH = 9: 1.0 mg **76** wurde in 1 mL eines MeOH/H₂O-Gemisches (9:1) gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat und 1 % Ammoniak (40 µl einer 25%-igen NH₄OH-Lösung) enthielt. 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 2.5, 12, 24 und 48 Stunden analysiert.
4. Hydrolytische Stabilität bei 70 °C (pH = 7): 1.0 mg **76** wurde in 1 mL eines MeOH/H₂O-Gemisches (9:1) gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat enthielt. Anschließend wurde die Probe für 90 Minuten bei 70 °C erhitzt. Dabei verdunstetes Lösungsmittel wurde durch die Zugabe der entsprechenden Menge MeOH wieder aufgefüllt. 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung analysiert.

Tabelle 5.1. Stabilitätsuntersuchungen der Verbindung **76**

Probe	pH-Wert	T (°C)	Messung nach	Retentionszeit 76 (min) ^a	Anteil (%) ^b	Retentionszeit 85 (min) ^a	Anteil (%) ^b
1	3	22	direkt	15.02	98.9	-	-
1	3	22	2.5 h	15.02	98.8	-	-
1	3	22	24 h	15.00	98.8	-	-
2	7	22	direkt	14.87	98.6	-	-
2	7	22	2.5 h	14.98	98.7	-	-
2	7	22	24 h	14.97	98.4	-	-
3	9	22	direkt	15.02	98.8	12.64	0.5
3	9	22	2.5 h	15.00	98.5	12.63	0.7
3	9	22	12 h	14.75	98.6	12.78	0.9
3	9	22	24 h	14.96	97.9	12.67	1.4
3	9	22	48 h	15.00	98.0	12.66	1.5
4 ^c	7	70	direkt	14.87	98.6	-	-

^aBestimmung mit HPLC-UV (220-450 nm); Messmethode: MeOH/H₂O 10:90 für 15 min, 10:90 -> 100:0 für 15 min und 10:90 für 15 min. ^bentspricht dem prozentualen Flächenanteil bei UV-Detektion zw. 220-450 nm. ^cDie Lösung ist durch das Erwärmen bis über die Hälfte verdunstet. Daher wurde mit der entsprechenden Menge MeOH wieder aufgefüllt.

5.4.2 Chromen-4-on-2-carbonsäure-Derivat **338**

Zur Bestimmung der hydrolytischen Stabilität von **338** wurden 4 Proben hergestellt:

1. Hydrolytische Stabilität bei pH = 3.5: 0.5 mg **338** wurden in 1 mL eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (1:1) gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat und 2 % Eisessig (20 µl) enthält. 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 90 min, 4 h und 3 d analysiert (n = 3).
2. Hydrolytische Stabilität bei pH = 5.5: 0.5 mg **338** wurden in 1 mL eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (1:1) gelöst. 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 90 min, 4 h und 4 d analysiert (n = 3).
3. Hydrolytische Stabilität bei pH = 8.0: 0.5 mg **338** wurden in 1 mL eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (1:1) gelöst, welches 2 mM Ammoniumacetat und 2 % Ammoniak (80 µl 25%-ige NH₄OH-Lösung). 10 µl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 90 min, 4 h und 2 d analysiert (n = 3).

4. Hydrolytische Stabilität bei $\text{pH} \geq 12$: 0.5 mg **338** wurden in 1 mL eines Acetonitril/Wasser-Gemisches (1:1) gelöst, welches 4 mM Natriumhydroxid enthielt. 10 μl des resultierenden Gemisches wurden durch HPLC-MS sofort nach Herstellung und nach 90 min, 4 h und 18 h analysiert ($n = 2$).

Tabelle 5.2. Stabilitätsuntersuchungen der Verbindung **338**

Probe	pH-Wert	Messung nach	Peakfläche über DAD $\pm \text{SEM}$ (counts) ^a	Peakfläche über DAD $\pm \text{SEM}$ (%) ^b
1	3.5	direkt	29033 \pm 410	100.0 \pm 1.4
1	3.5	1.5 h	28133 \pm 987	96.9 \pm 3.4
1	3.5	4 h	27100 \pm 1115	93.3 \pm 3.8
1	3.5	3 d	26700 \pm 950	92.0 \pm 3.2
2	5.5	direkt	27000 \pm 473	100.0 \pm 1.8
2	5.5	1.5 h	24967 \pm 1059	92.5 \pm 3.9
2	5.5	4 h	25067 \pm 884	92.8 \pm 3.2
2	5.5	4 d	22000 \pm 379	81.5 \pm 1.4
3	8.0	direkt	24300 \pm 115	100.0 \pm 0.5
3	8.0	1.5 h	26033 \pm 33	107.1 \pm 0.1
3	8.0	4 h	25867 \pm 120	106.4 \pm 0.5
3	8.0	2 d	25400 \pm 252	104.5 \pm 1.0

^aBestimmung erfolgte mit HPLC-UV (DAD); Messmethode: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ 10:90 für 20 min und 100:0 für 10 min. ^bWerte wurden auf den Ausgangswert von 100 % normalisiert.

5 Experimenteller Teil

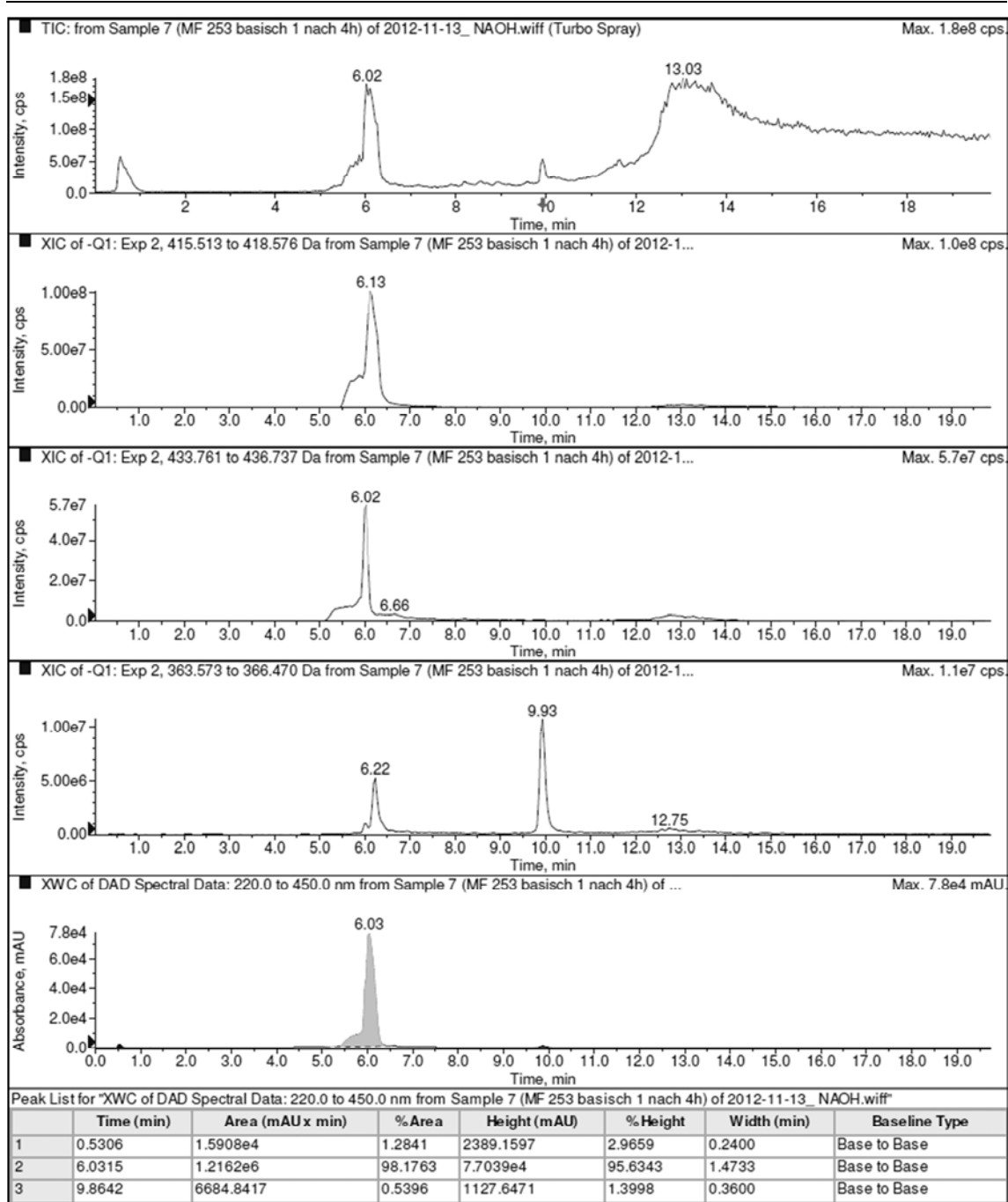


Abb. 5.1. LC/ESI-MS-Spektrum mit UV-Absorption (220-450 nm) von **338** ($M_r = 418.19$, $t_R = 6.13$ min) und den Zerfallsprodukten **385** ($M_r + 18$, $t_R = 6.02$ min) und **386** ($M_r - 54$, $t_R = 9.93$ min) nach einer Inkubationszeit von 4 h.

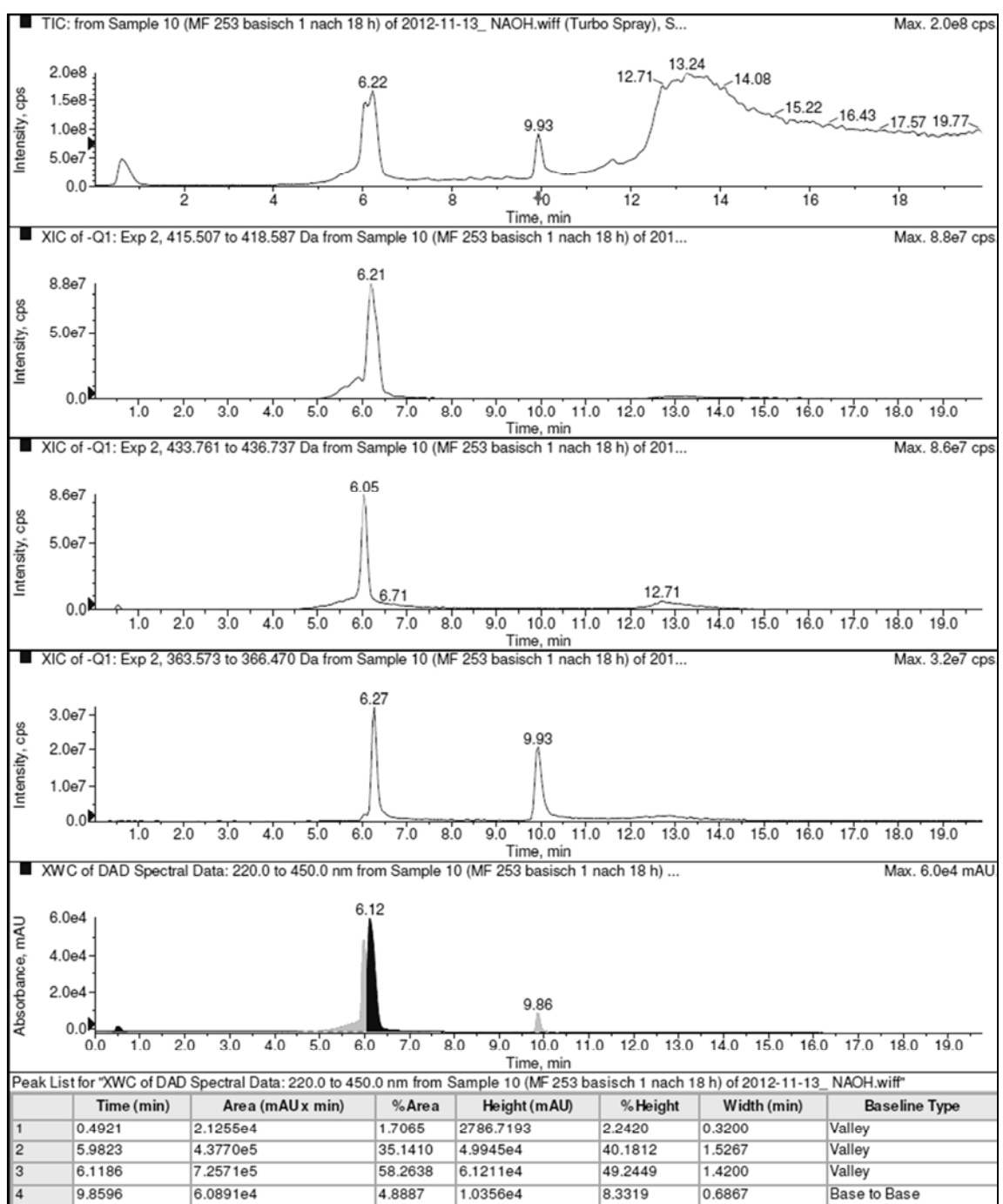
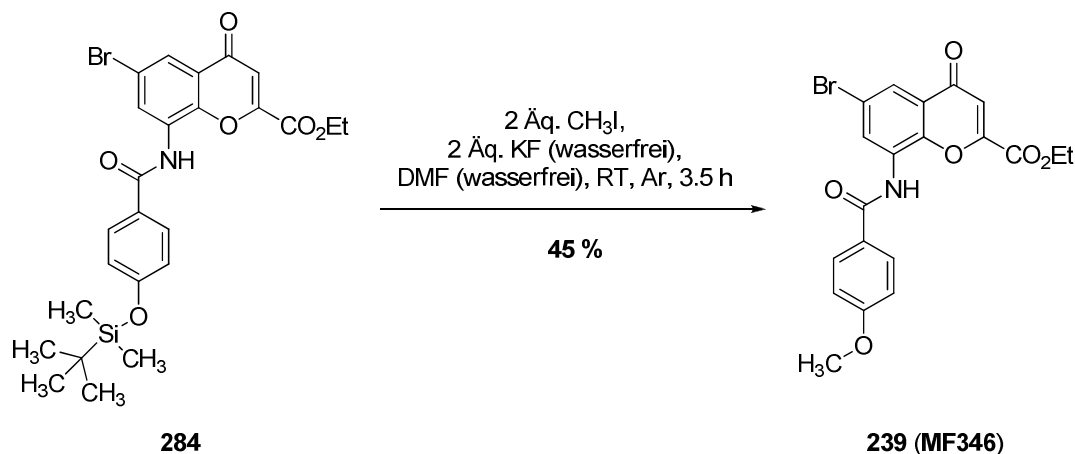


Abb. 5.2. LC/ESI-MS-Spektrum mit UV-Absorption (220-450 nm) von **338** ($M_r = 418.19$, $t_R = 6.12$ min) und den Zerfallsprodukten **385** ($M_r + 18$, $t_R = 5.98$ min) und **386** ($M_r - 54$, $t_R = 9.86$ min) nach einer Inkubationszeit von 18 h.

5.5 Entwicklung des GPR35-Radioliganden [³H]PSB-13253

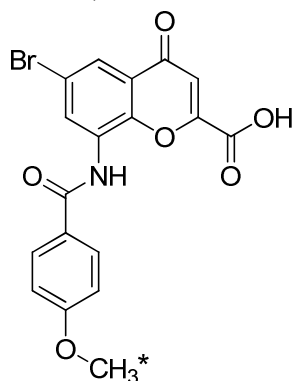
5.5.1 Vorversuch im Labor



Der Silylether **284** (74 mg, 0.14 mmol) wurde in trockenem DMF (2 mL) in einer Argon-Atmosphäre gelöst. Anschließend wurde wasserfreies Kaliumfluorid (16 mg, 0.28 mmol) zugegeben und Methyljodid (18 µL, 0.28 mmol) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 3.5 h bei RT unter Argon gerührt bis der Ausgangsstoff vollständig umgesetzt wurde. Das Gemisch wurde mit Wasser (10 mL) verdünnt und dreimal mit je 15 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingedunstet. Der Rückstand wurde über eine Säule aus Kieselgel (CH₂Cl₂/EtOAc 98:2) chromatografiert. Das Produkt **338** konnte als weißer Feststoff gewonnen werden. Ausbeute: 28 mg (45 %). LC-MS (*m/z*): 444 [M-H]⁻, 446 [M+H]⁺. ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren stimmen mit denen von Verbindung **239** überein.

5.5.2 Tritium-Markierung durch eine Firma

6-Brom-8-(4-[³H]methoxybenzamido)-4-oxo-4*H*-chromen-2-carbonsäure ([³H]**338**, [³H]PSB-13253)



Die Tritium-Markierung der Verbindung **338** wurde durch die Firma Quotient Bioresearch (Cardiff, GB) nach folgender Methode durchgeführt: Zu einer Lösung von [³H]Methyltosylat (100 mCi) mit einer spezifischen Aktivität von 84 Ci/mmol in DMF

(1 mL) wurde wasserfreies KF (0.1 mg, 1.7 μ mol) und **284** (1.0 mg, 1.8 μ mol) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bei 25 °C für 5 h gerührt und anschließend bei RT über Nacht stehen gelassen. Das Gemisch wurde durch Säulenchromatografie über eine 5g-Kieselgelsäule (DCM/EtOAc 98:2) aufgereinigt. Der isolierte Ester [3 H]**239** wurde anschließend in THF (6 mL) und Ethanol (1.5 mL) gelöst und eine Lösung von K₂CO₃ (79 mg, 0.57 mmol) in Wasser (4.5 mL) langsam zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei 25 °C gerührt, mit Wasser (4 mL) verdünnt und anschließend mit verd. wässriger HCl-Lösung (1 N) angesäuert bis sich ein pH-Wert < 2 einstellte. Das Gemisch wurde durch präparative HPLC (siehe unten) aufgereinigt. Nach der chromatografischen Auftrennung wurde der Eluent unter vermindertem Druck entfernt und die Verbindung in Ethanol gelöst und in Lösung bei – 20 °C gelagert. [3 H]**338** konnte mit einer radiochemischen Reinheit von > 99.9 % und einer spezifischen Aktivität von 36 Ci/mmol gewonnen werden. Die Gesamtausbeute betrug 7.8 mCi ausgehend von 100 mCi [3 H]Methyltosylat.

Die präparative HPLC erfolgte über eine Säule des Typs Ultrasphere ODS column (250 x 10 mm) mit einem Gradienten Wasser/CH₃CN von 100:0 zu 0:100 in Anwesenheit von 0.1 % Trifluoressigsäure innerhalb von 60 min mit einer Flussrate von 3 mL/min.

Die radiochemische Reinheit von [3 H]**338** wurde mittels analytischer HPLC bestimmt (Abb. 5.3). Sie erfolgte über eine Säule des Typs Atlantis T3 column (150 x 4.6 mm, Partikelgröße: 5 μ m) mit einem Gradienten Wasser/CH₃CN von 80:20 zu 0:100 in Anwesenheit von 0.1 % Trifluoressigsäure bei 22 °C innerhalb von 15 min und anschließend für 10 min mit einer Flussrate von 1.0 mL/min. Die Detektion erfolgte bei 254 nm. Die spezifische Aktivität wurde durch HRMS bestimmt (Abb. 5.4).

5 Experimenteller Teil

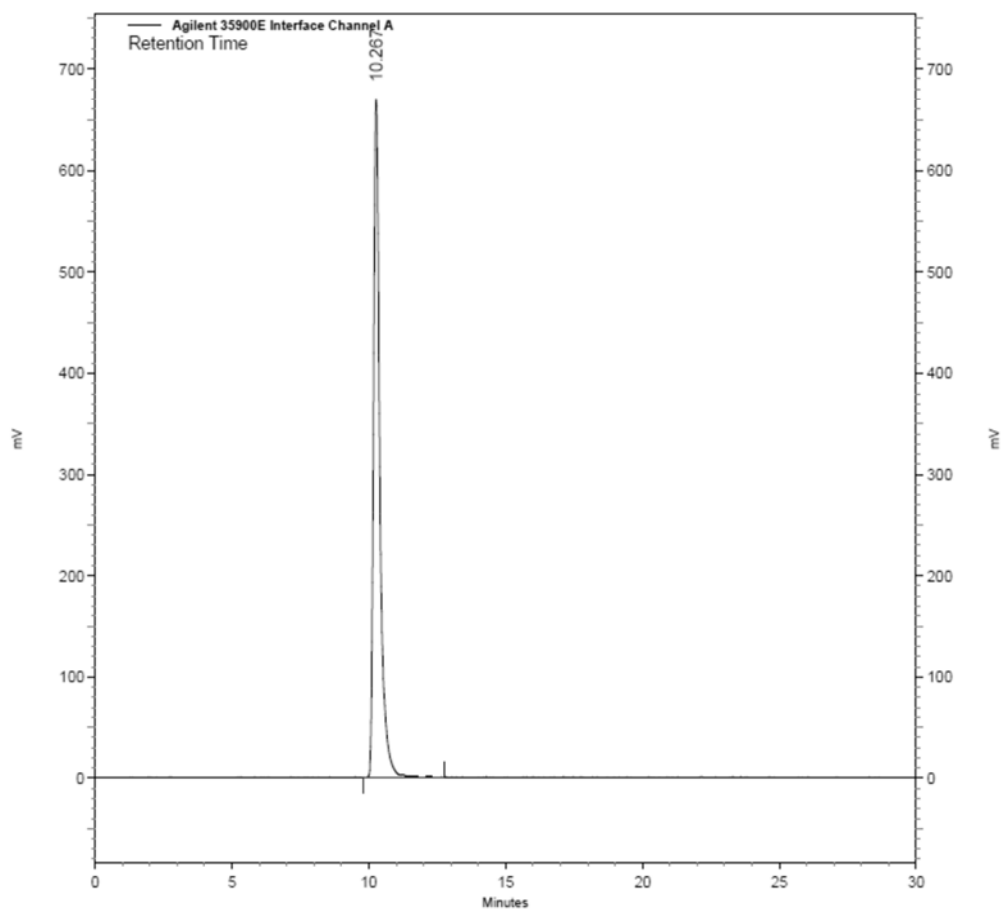


Abb. 5.3. Hochleistungsflüssigkeitschromatogramm von [^3H]338 ($t_R = 10.267$ min).

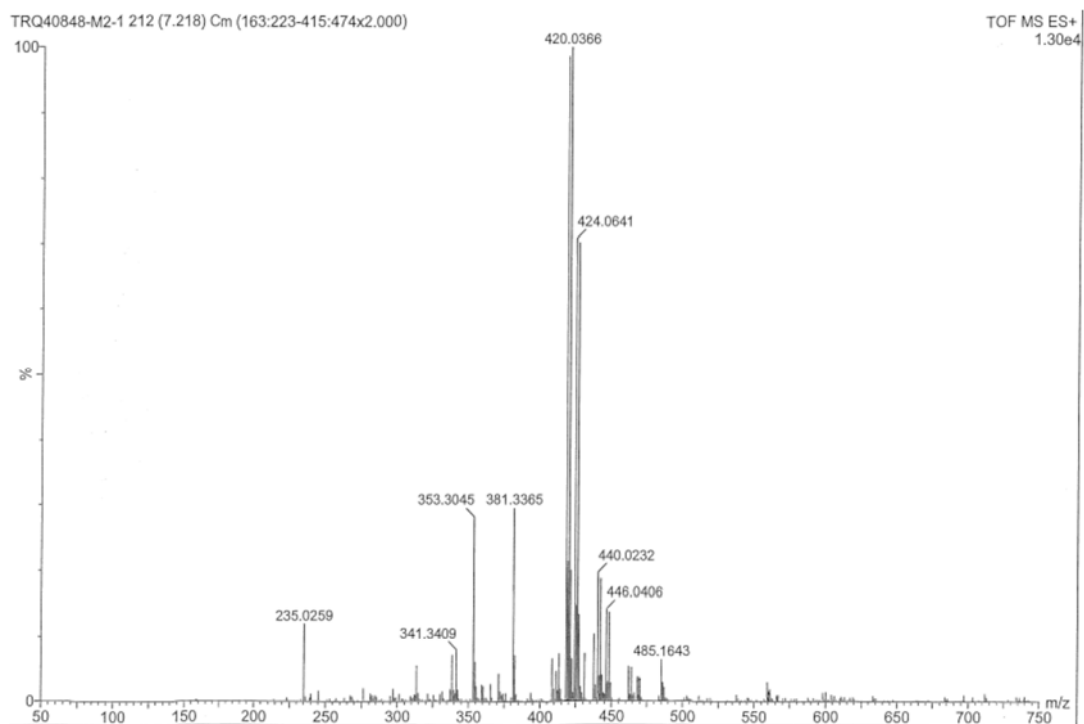


Abb. 5.4. Massenspektrogramm von [^3H]338.

5.6 Pharmakologische Testung

5.6.1 Calciumionen-Mobilisationsassay

Der entsprechende Rezeptor (hP2Y₁, hP2Y₂, hP2Y₄, rP2Y₆, hP2Y₁₁, GPR17) wurde in 1321N1-Astrozytomazellen stabil exprimiert. Die Zellen von zwei 175cm²-Zellkulturflaschen, die eine Konfluenz von 70 – 80 % aufwiesen, wurden abgelöst und in 30 mL Kulturmedium im Brutschrank für 45 min inkubiert. Anschließend wurden die Zellen bei 200 x g für 5 min sedimentiert und der Überstand wurde verworfen. Die Zellen wurden in 994 µL KHP-Puffer aufgenommen und in ein Eppendorf-Gefäß pipettiert, in welches bereits 3 µL einer Oregon Green® BAPTA-1/AM- und 3 µL einer Pluronic® F127-Stammlösung vorgelegt wurden. Es schloss sich eine einstündige Inkubation unter Lichtausschluss bei RT und 200 rpm an. In der Zwischenzeit wurden in jede Vertiefung einer schwarzen 96-Loch-Platte 2 µL der Antagonistlösung (verschiedene Konzentrationen; in DMSO, Endkonzentration 1 %) pipettiert. Nach Ende der Inkubation wurden die Zellen bei 2000 rpm innerhalb von einer Minute sedimentiert. Nach Entfernen des Überstandes wurden die Zellen zweimal mit je 1 mL KHP-Puffer gewaschen. Anschließend wurden die Zellen in 1 mL KHP-Puffer aufgenommen, vereinzelt und in einer Glaswanne mit 19 mL KHP-Puffer verdünnt. Unter Schwenken der Wanne wurde die schwarze 96-Loch-Platte pro Vertiefung mit 178 µL Zellsuspension beladen. Nach einer 30-minütigen Inkubation der Platte wurde unter Verwendung eines NOVOstar®-Fluorimeters eine Validierung durchgeführt. Danach wurden 20 µL der Agonistlösung in DMSO/KHP-Puffer (EC₈₀, hP2Y₁: 1 µM ATP, hP2Y₂: 3 µM ATP, hP2Y₄: 1 µM UTP, rP2Y₆: 3 µM UDP, hP2Y₁₁: 10 µM ATP, hGPR17: 1 µM MDL29,951¹⁷⁸) in jede Vertiefung der Reagenzplatte pipettiert. Die Lösungen wurden automatisch durch das NOVOstar®-Fluorimeter zugegeben. Dazu wurden die Lösungen durch das Gerät aus einer 96-Loch-Reagenzplatte entnommen, in welche die entsprechenden Lösungen vorgelegt wurden. Die Fluoreszenzintensität wurde über einen Zeitraum von 36 s in jeder Vertiefung der Platte gemessen (Anregungswellenlänge 485 nm, Emissionswellenlänge 520 nm). Anhand dieses Parameters konnte auf die Inhibition des Anstiegs der intrazellulären Calciumionenkonzentration geschlossen werden. Nach einem Basislinien-Abgleich wurden die erhaltenen Fluoreszenzwerte für jede Vertiefung gemittelt. Anschließend erfolgte die Normalisierung der Signale auf das Signal des EC₈₀-Wertes des Agonists. Es wurden in der Regel drei unabhängige Experimente durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism 4.02 oder 5. Durch Auftragung des relativen Fluoreszenzsignals gegen die Antagonist-Konzentration konnten eine Konzentration-Inhibitionskurve und ein IC₅₀-Wert bestimmt werden. Vortestungen wurden in der Regel bei einer Konzentration von 10 oder 30 µM durchgeführt.

5.6.2 cAMP-Akkumulationsassay

CHO-Zellen, welche den humanen GPR84 stabil exprimieren, wurden für zwei Tage auf 24-Well-Platten kultiviert. Nach Entfernen des Kulturmediums wurden die Zellen mit HBSS (Hanks' balanced salt solution, pH 7.4) gewaschen. Anschließend wurde der cAMP-Akkumulationsassay in einem Gesamtvolumen von 500 μL durchgeführt. Nach Zugabe von 300 μL HBSS wurde in jedes Well 50 μL Ro20-1724 als Phosphodiesterasehemmer zupipettiert. Die Inkubationsdauer betrug 10 min bei 37 °C. Es erfolgte die Zugabe von entweder 50 μL Antagonist-Lösung (100 % DMSO) (oder 50 μL HBSS zu den Kontrollen mit Forskolin bzw. Dekansäure), der sich nach einer 60-minütigen Inkubation die Zugabe von entweder 50 μL Dekansäure als Agonist (oder 50 μL HBSS mit 10 % DMSO zur Kontrolle mit Forskolin) anschloss. Nach exakt 5 min wurden 50 μL Forskolin zur Stimulation der zellulären cAMP-Produktion zugegeben und nach einer weiteren 15-minütigen Inkubation wurde die Reaktion durch Entfernen des Reaktionspuffers und Zugabe eines heißen Lysepuffers (500 μL , 90 °C, 4 mM EDTA, 0.01 % Triton™ X-100, pH 7.4; Sigma, München) angehalten. Nach einer Abkühlzeit von fünf Minuten wurden die 24-Well-Platten bis zur Fortsetzung des Assays bei -20 °C tiefgefroren.

Vor der Fortsetzung des Experiments wurden die Zelllysate aufgetaut und durch mehrmaliges Aufziehen mit der Pipette homogenisiert. Zur Bestimmung des cAMP-Gehalts wurden jeweils 50 μL des Zelllysats mit 30 μL [^3H]cAMP (3 nM) und 40 μL cAMP-Bindeprotein (cAMP-abhängige Proteinkinase³⁶⁸) (beides in Lysepuffer verdünnt) für 1 h bei 4 °C inkubiert. Anschließend wurde durch GF/B-Glasfaserfilter unter Verwendung eines Brandel Harvesters (Brandel, Gaithersburg, MD) filtriert. Die auf dem Filter verbliebene Radioaktivität entsprach dem gebundenen [^3H]cAMP und wurde durch Flüssigszintillationszählung unter Verwendung eines Tri-Carb 1810 TR (Perkin-Elmer, Waltham, MA) bestimmt. Für alle Untersuchungen wurden drei bis vier unabhängige Experimente durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism 4.02. Der cAMP-Gehalt pro Well wurde durch lineare Regression einer Standardkurve, die für jedes Experiment bestimmt wurde, berechnet.

5.6.3 β -Arrestin-Rekrutierungsassay

Für β -Arrestin-Assays wurden CHO-Zelllinien des Pathhunter β -Arrestin-Rekrutierungsassay-Systems verwendet. Diese Zellen exprimieren Fusionsproteine, die aus β -Arrestin und einer N-terminalen Deletionsmutante der β -Galaktosidase bestehen. Weiterhin wurde ein Rezeptor zur Expression gebracht, der C-terminal ein Enzymfragment aufweist. Die mit dem humanen GPR18, GPR35, GPR55 oder GPR84 transfizierten Zelllinien wurden käuflich erworben. Die Generierung der Zelllinien, in denen die murinen GPR35-Rezeptoren zur Expression gebracht wurden, erfolgte durch die Transfektion einer Pathhunter β -Arrestin-Mutterzelllinie mit entsprechenden Plasmiden. Am Tag vor dem Experiment wurden pro Well einer weißen 96-Well-Platte 20000 Zellen in 90 μL Cell Plating 2 Reagenz ausgesät. Nach einer etwa 24-stündigen Inkubation bei 37 °C, 5 % CO_2 wurde in jedes Well 10 μL einer Agonist-Lösung

zugegeben (10 % DMSO in Cell Plating 2 Reagenz). In Antagonismus-Assays erfolgte stattdessen zunächst die Zugabe von 5 μ L einer Antagonist-Lösung, der sich nach einer 30-minütigen Inkubation die Zugabe von 5 μ L einer Standard-Agonist-Lösung anschloss (je 10 % DMSO in Cell Plating Medium 2, hGPR18: 10 μ M THC, hGPR35: 5 μ M Zaprinast, hGPR55: 1 μ M LPI, hGPR84: 20 μ M Embelin). 90 min nach der Zugabe des Agonisten wurde in jedes Well 50 μ L Detektionsreagenz gegeben (hGPR18 und GPR35: Pathhunter, DiscoverX; hGPR55: Galacton-Star[®] (2mM), Emerald-II[™] und Lyse-Puffer im Verhältnis 1:5:19). Nach einer weiteren Inkubation von 60 min wurden schließlich die Lumineszenz-Signale jedes Wells bestimmt (Messzeit: 1 min, Topcount NXT). Für alle Untersuchungen wurden drei bis vier unabhängige Experimente durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit dem Programm GraphPad Prism 4.02. Nach einer Grundlinienkorrektur wurden die Lumineszenzsignale auf das Signal eines Standardagonisten normalisiert (hGPR18: 10 μ M THC, hGPR35: 5 μ M Zaprinast, mGPR35: 30 μ M Zaprinast, rGPR35: 10 μ M Zaprinast, hGPR55: 1 μ M LPI, hGPR84: 20 μ M Embelin). Die normalisierten Lumineszenzsignale wurden dann gegen die Konzentration der jeweils untersuchten Verbindung aufgetragen. Anhand der erhaltenen Konzentration-Wirkungs-Kurve konnte der EC₅₀-Wert der entsprechenden Verbindung bestimmt werden.

5.6.4 Membranpräparationen für Radioligandbindungsassays

Die CHO-Zellen wurden mit dem entsprechenden Rezeptor (hGPR35) unter Verwendung eines kürzlich in der Literatur beschriebenen retroviralen Transfektionssystems transfiziert.³⁶⁹ GP⁺envAM12-Verpackungszellen wurden mit dem Plasmid pLXSN, in das der humane GPR35 eingebracht wurde, transfiziert. Nach der Bildung von pseudotypisierten Retroviren wurde der Virus-enthaltende Überstand der Verpackungszellen steril filtriert und den CHO-Zellen zugegeben. Erfolgreich transfizierte CHO-Zellen wurden für eine Woche selektioniert (DMEM/F-12-Medium, Invitrogen, Carlsbad, CA; 10 % fötales Kälberserum (FKS); 100 U/mL Penicillin G; 100 μ g/mL Streptomycin; 0.8 mg/mL G418). Anschließend wurden die Zellen in demselben Medium, welches eine verringerte Konzentration von G418 (0.2 mg/mL) enthielt, kultiviert und auf Zellkulturplatten ausgesät. Membranpräparationen wurden wie folgt durchgeführt:³⁷⁰ Nach Entfernung des Kulturmediums wurden die Zellen mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS-Puffer) gewaschen und sofort bei - 20 °C tiefgefroren. Die Zellen wurden in einen sterilen Puffer, der 5 mM Tris-HCl und 2 mM EDTA (pH = 7.4) enthielt, abgelöst. Die Zellen wurden mechanisch lysiert und homogenisiert unter Verwendung eines Ultra-Turrax (11000 UpM für 15 s). Das Homogenisat wurde für 10 min bei 1000g und 4 °C zentrifugiert. Die im Überstand enthaltenen Membranen wurden anschließend für 1 h bei 48000g und 4 °C sedimentiert. Das Pellet wurde in sterilem 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4) resuspendiert. Nach Homogenisierung wurde die Membranpräparation aliquotiert und bis zur Benutzung bei - 80 °C gelagert. Die Proteinkonzentration der Membranpräparationen wurde nach der von Lowry beschriebenen Methode bestimmt.³⁷¹

5.6.5 Radioligandbindungsassay

5.6.5.1 CB₁- und CB₂-Rezeptoren

Kompetitionsexperimente wurden unter Verwendung des Radioliganden [³H] CP55,940 (0.1 nM; in 50 mM Tris-HCl, 3 mM MgCl₂, 0.1 % BSA, pH 7.4) und Membranpräparationen von CHO-Zellen, die den humanen CB₁- oder CB₂-Rezeptor stabil exprimieren (Proteinmenge: CB₁ 35 µg/Probe, CB₂ 8 µg/Probe), durchgeführt. Stammlösungen der Testverbindungen wurden in DMSO hergestellt. Die Endkonzentration von DMSO betrug im Assay 2.5 %. Nach Zugabe von 15 µL Testverbindung in DMSO, 60 µL Radioligand [³H]CP55,940, 60 µL Membranpräparation zu 465 µL Assay-Puffer (50 mM Tris-HCl, 3 mM MgCl₂, 0.1 % BSA, pH 7.4) wurde die Suspension für 2 h bei RT inkubiert. Für die totale Bindung wurde DMSO ohne Testverbindung verwendet. Die unspezifische Bindung wurde in Anwesenheit von 10 µM unmarkiertes CP55,940 bestimmt. Anschließend wurde über einem GF/C-Filter (zuvor in 0.3%-ige PEI-Lösung eingelegt) mit einem 96-Well-Harvester abgesaugt. Es wurde dreimal mit 4 °C kaltem 50 mM Tris-HCl-Puffer, der 0.1 % BSA enthält, nachgewaschen. Die Filter wurden im Trockenschrank bei 50 °C getrocknet. Anschließend wurden 50 µl Microscint 50 Szintillationscocktail dazugegeben. Nach 10 h wurde die Platte im Lumineszenz-Zähler vermessen (TopCount NXT, Packard, Perkin-Elmer).

5.6.5.2 GPR35

Radioligandbindungsassays wurden unter Verwendung von [³H]338 in einem Endvolumen von 400 µL durchgeführt. Die Zusammensetzung ist nachfolgend angegeben: 10 µL DMSO oder in 100 % DMSO gelöste Testsubstanz, 190 µL Puffer (steriles 50 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, pH 7.4), 100 µL Radioligandlösung (Endkonzentration betrug 5 nM, außer für Sättigungsexperimente) und 100 µL Membranpräparation (10 µg Protein pro Probe). Die Membranpräparation und der Radioligand wurden mit sterilem Puffer, welcher 50 mM Tris-HCl und 10 mM MgCl₂ (pH = 7.4) enthielt, verdünnt. Sättigungsexperimente wurden über einen Konzentrationsbereich von 0.4 – 60 nM [³H]338 durchgeführt und für 150 min inkubiert. Die unspezifische Bindung wurde unter Verwendung von 250 µM Zaprinast bestimmt. Drei unabhängige Experimente wurden in Duplikaten durchgeführt. Für alle anderen Experimente wurde die unspezifische Bindung in Anwesenheit von 10 µM Embonsäure bestimmt. Assoziationsexperimente wurden über einen Zeitraum von 200 min durchgeführt. Die Dissoziation wurde durch die Zugabe von 10 µM Embonsäure nach 100 min Präinkubation eingeleitet. Zwei unabhängige Experimente wurden in Duplikaten durchgeführt. Für Kompetitionsexperimente wurde das Assay-Gemisch für 100 min bei RT inkubiert und anschließend durch GF/B-Filter unter Verwendung eines Brandel Harvesters (Brandel, Gaithersburg, MD) filtriert. Die Filter wurden dreimal mit je 2 – 3 mL eiskaltem 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4) gewaschen. Die auf dem Filter verbliebene Radioaktivität wurde durch Flüssigszintillationszählung unter Verwendung eines Tri-Carb 1810 TR (Perkin-Elmer),

Waltham, MA; Zählereffizienz liegt bei ca. 52 %) bestimmt. Drei bis vier unabhängige Experimente wurden in Duplikaten durchgeführt.

6 Abkürzungsverzeichnis

2-AG	2-Arachidonoylglycerol
5-LO	5-Lipoxygenase
abs.	absolut
AC	Adenylcyclase
ADP	Adenosindiphosphat
AgRP	agouti-related protein
AMP	Adenosinmonophosphat
Anandamid	Arachidonylethanolamin
Ap ₄ A	Diadenosin-Tetraphosphat
Ar	Argon
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	attenuated total reflection (dt. abgeschwächte Total-reflexion)
Bn	Benzyl
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CLL	chronische lymphatische Leukämie
clogP	berechneter Verteilungskoeffizient (1-Octanol/Wasser)
COPD	chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CREB	cAMP Responsive Element-Binding Protein
Cys	Cystein
CysLT	Cysteinyl-Leukotrien
DAG	Diacylglycerol
DCM	Dichlormethan
DHA	Docosahexansäure
DIM	3,3'-Diindolylmethan
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMR	Dynamic Mass Redistribution
EAE	experimentelle autoimmune Encephalomyelitis
ECS	Endocannabinoid-System
EGF	Epidermal Growth Factor
E-NPP	Ecto-Nucleotidpyrophosphatase/phosphodiesterase
E-NTPDase	Ecto-Nucleosidtriphosphatdiphosphohydrolase
EPA	Eicosapentaensäure
ERK	Extracellular-signal Regulated Kinase
ESI-MS	Elektronenspray-Ionisations-Massenspektrometrie

EST	Expressed Sequence Tag
FFA	freie Fettsäure
FOXO1	Forkhead box protein O1
FT	Fourier-Transformation
GDP	Guanosindiphosphat
Glc	Glucose
Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
G-Protein	Guanin-Nukleotid-bindendes Protein
GTP	Guanosintriphosphat
HRMS	hochaufgelöste Massenspektrometrie
HTS	Hochdurchsatzscreening
IL1B	Interleukin-1 β
IP ₁	Inositol-1-phosphat
IP ₃	Inositol-1,4,5-trisphosphat
IR	Infrarot
kat.	Katalytisch
KO	Knock-out
langs.	Langsam
LC-MS	Flüssigchromatografie-Massenspektrometrie
LE	Ligand Efficiency
LGIC	Ligand-gesteuerter Ionenkanal
Lit.	Literatur
LLE (LipE)	Ligand-Lipophilicity Efficiency
LM	Lösungsmittel
LPA	Lysophosphatidsäure
LPI	Lysophosphatidylinositol
LPS	Lipopolysaccharid
LT	Leukotrien
LTA	Leukotrien A
LTC	Leukotrien C
LTD	Leukotrien D
LTE	Leukotrien E
m	Maus
MAPKinase	Mitogen-aktivierte Proteinkinase
MCFA	mittellange freie Fettsäure
MRG	MAS regulated gene
MRP	Multidrug resistance-associated protein
MS	Multiple Sklerose
MW	Mikrowelle
NAGly	<i>N</i> -Arachidonoylglycin
n. b.	nicht bestimmt
NGF	Nerve Growth Factor
NPC	neuronale Progenitorzelle

PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PAR	Protease-aktivierter Rezeptor
PCl ₅	Phosphopentachlorid
PG	Prostaglandin
Ph	Phenyl
PIP ₂	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PKA	Proteinkinase A
PKB	Proteinkinase B
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
POCl ₃	Phosphoroxychlorid
PTX	pertussin toxin
r	Ratte
R	Rezeptor
RP-HPLC	Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography
RT	Raumtemperatur
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
siRNA	small interfering Ribonukleinsäure
Smp.	Schmelzpunkt
Subst.muster	Substitutionsmuster
t	Truthahn
TEA	Triethylamin
T _{H1}	Typ1-T-Helferzelle
T _{H2}	Typ2-T-Helferzelle
THC	Tetrahydrocannabinol
THF	Tetrahydrofuran
TMP	Thymidinmonophosphat
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
TRK A	Tyrosin-Rezeptor Kinase A
UDP	Uridindiphosphat
UTP	Uridintriphosphat
UV	Ultraviolett
VCAM-1	vaskuläres Adhäsionsmolekül-1
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
Verbg.	Verbindung
verd.	verdünnt
wässr.	wässrig
Zers.	Zersetzung
ZNS	zentrales Nervensystem

7 Literaturverzeichnis

- (1) Wise, A.; Gearing, K.; Rees, S. Target validation of G-protein coupled receptors. *Drug Discov. Today* **2002**, *7*, 235-246.
- (2) Lagerstrom, M. C.; Schioth, H. B. Structural diversity of G protein-coupled receptors and significance for drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7*, 339-357.
- (3) Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Ruth, P.; Schäfer-Korting, M. *Mutschler Arzneimittelwirkungen - Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH: Stuttgart, 9. Auflage, 2008.
- (4) Fredriksson, R.; Lagerstrom, M. C.; Lundin, L. G.; Schioth, H. B. The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Mol. Pharmacol.* **2003**, *63*, 1256-1272.
- (5) Overington, J. P.; Al-Lazikani, B.; Hopkins, A. L. How many drug targets are there? *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5*, 993-996.
- (6) Tyndall, J. D.; Sandilya, R. GPCR agonists and antagonists in the clinic. *Med. Chem.* **2005**, *1*, 405-421.
- (7) Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavecz, M.; Roth, H. J. *Medizinische Chemie - Targets, Arzneistoffe, Chemische Biologie*. Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, 2. Auflage, 2010.
- (8) Jacoby, E.; Bouhelal, R.; Gerspacher, M.; Seuwen, K. The 7 TM G-protein-coupled receptor target family. *ChemMedChem* **2006**, *1*, 761-782.
- (9) Warne, T.; Serrano-Vega, M. J.; Baker, J. G.; Moukhametzianov, R.; Edwards, P. C.; Henderson, R.; Leslie, A. G.; Tate, C. G.; Schertler, G. F. Structure of a β_1 -adrenergic G-protein coupled receptor. *Nature* **2008**, *454*, 486-491.
- (10) Ostermeier, C.; Michel, H. Crystallization of membrane proteins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 697-701.
- (11) Loll, P. J. Membrane protein structural biology: the high throughput challenge. *J. Struct. Biol.* **2003**, *142*, 144-153.
- (12) Rosenbusch, J. P. Stability of membrane proteins: relevance for the selection of appropriate methods for high-resolution structure determinations. *J. Struct. Biol.* **2001**, *136*, 144-157.

- (13) Palczewski, K.; Kumasaka, T.; Hori, T.; Behnke, C. A.; Motoshima, H.; Fox, B. A.; Le Trong, I.; Teller, D. C.; Okada, T.; Stenkamp, R. E.; Yamamoto, M.; Miyano, M. Crystal structure of rhodopsin: A G protein-coupled receptor. *Science* **2000**, *289*, 739-745.
- (14) Schwartz, T. W.; Frimurer, T. M.; Holst, B.; Rosenkilde, M. M.; Elling, C. E. Molecular mechanism of 7TM receptor activation - a global toggle switch model. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2006**, *46*, 481-519.
- (15) Kobilka, B. K. G protein coupled receptor structure and activation. *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1768*, 794-807.
- (16) Park, J. H.; Scheerer, P.; Hofmann, K. P.; Choe, H. W.; Ernst, O. P. Crystal structure of the ligand-free G-protein-coupled receptor opsin. *Nature* **2008**, *454*, 183-187.
- (17) Scheerer, P.; Park, J. H.; Hildebrand, P. W.; Kim, Y. J.; Krauss, N.; Choe, H. W.; Hofmann, K. P.; Ernst, O. P. Crystal structure of opsin in its G-protein-interacting conformation. *Nature* **2008**, *455*, 497-502.
- (18) Rosenbaum, D. M.; Cherezov, V.; Hanson, M. A.; Rasmussen, S. G.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Choi, H. J.; Yao, X. J.; Weis, W. I.; Stevens, R. C.; Kobilka, B. K. GPCR engineering yields high-resolution structural insights into β_2 -adrenergic receptor function. *Science* **2007**, *318*, 1266-1273.
- (19) Cherezov, V.; Rosenbaum, D. M.; Hanson, M. A.; Rasmussen, S. G.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Choi, H. J.; Kuhn, P.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K.; Stevens, R. C. High-resolution crystal structure of an engineered human β_2 -adrenergic G protein-coupled receptor. *Science* **2007**, *318*, 1258-1265.
- (20) Chien, E. Y.; Liu, W.; Zhao, Q.; Katritch, V.; Han, G. W.; Hanson, M. A.; Shi, L.; Newman, A. H.; Javitch, J. A.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. Structure of the human dopamine D3 receptor in complex with a D2/D3 selective antagonist. *Science* **2010**, *330*, 1091-1095.
- (21) Shimamura, T.; Shiroishi, M.; Weyand, S.; Tsujimoto, H.; Winter, G.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Cherezov, V.; Liu, W.; Han, G. W.; Kobayashi, T.; Stevens, R. C.; Iwata, S. Structure of the human histamine H1 receptor complex with doxepin. *Nature* **2011**, *475*, 65-70.
- (22) Haga, K.; Kruse, A. C.; Asada, H.; Yurugi-Kobayashi, T.; Shiroishi, M.; Zhang, C.; Weis, W. I.; Okada, T.; Kobilka, B. K.; Haga, T.; Kobayashi, T. Structure of the human M2 muscarinic acetylcholine receptor bound to an antagonist. *Nature* **2012**, *482*, 547-551.
- (23) Kruse, A. C.; Hu, J.; Pan, A. C.; Arlow, D. H.; Rosenbaum, D. M.; Rosemond, E.; Green, H. F.; Liu, T.; Chae, P. S.; Dror, R. O.; Shaw, D. E.; Weis, W. I.; Wess, J.; Kobilka, B. K. Structure and dynamics of the M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Nature* **2012**, *482*, 552-556.

-
- (24) Jaakola, V. P.; Griffith, M. T.; Hanson, M. A.; Cherezov, V.; Chien, E. Y.; Lane, J. R.; Ijzerman, A. P.; Stevens, R. C. The 2.6 angstrom crystal structure of a human A_{2A} adenosine receptor bound to an antagonist. *Science* **2008**, *322*, 1211-1217.
- (25) Standfuss, J.; Edwards, P. C.; D'Antona, A.; Fransen, M.; Xie, G.; Oprian, D. D.; Schertler, G. F. The structural basis of agonist-induced activation in constitutively active rhodopsin. *Nature* **2011**, *471*, 656-660.
- (26) Choe, H. W.; Park, J. H.; Kim, Y. J.; Ernst, O. P. Transmembrane signaling by GPCRs: insight from rhodopsin and opsin structures. *Neuropharmacology* **2011**, *60*, 52-57.
- (27) Okada, T.; Sugihara, M.; Bondar, A. N.; Elstner, M.; Entel, P.; Buss, V. The retinal conformation and its environment in rhodopsin in light of a new 2.2 Å crystal structure. *J. Mol. Biol.* **2004**, *342*, 571-583.
- (28) Nakamichi, H.; Okada, T. Local peptide movement in the photoreaction intermediate of rhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 12729-12734.
- (29) Moukhametzianov, R.; Warne, T.; Edwards, P. C.; Serrano-Vega, M. J.; Leslie, A. G.; Tate, C. G.; Schertler, G. F. Two distinct conformations of helix 6 observed in antagonist-bound structures of a β_1 -adrenergic receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108*, 8228-8232.
- (30) Warne, T.; Moukhametzianov, R.; Baker, J. G.; Nehme, R.; Edwards, P. C.; Leslie, A. G.; Schertler, G. F.; Tate, C. G. The structural basis for agonist and partial agonist action on a β_1 -adrenergic receptor. *Nature* **2011**, *469*, 241-244.
- (31) Rasmussen, S. G.; Choi, H. J.; Fung, J. J.; Pardon, E.; Casarosa, P.; Chae, P. S.; Devree, B. T.; Rosenbaum, D. M.; Thian, F. S.; Kobilka, T. S.; Schnapp, A.; Konetzki, I.; Sunahara, R. K.; Gellman, S. H.; Pautsch, A.; Steyaert, J.; Weis, W. I.; Kobilka, B. K. Structure of a nanobody-stabilized active state of the β_2 adrenoceptor. *Nature* **2011**, *469*, 175-180.
- (32) Rasmussen, S. G.; DeVree, B. T.; Zou, Y.; Kruse, A. C.; Chung, K. Y.; Kobilka, T. S.; Thian, F. S.; Chae, P. S.; Pardon, E.; Calinski, D.; Mathiesen, J. M.; Shah, S. T.; Lyons, J. A.; Caffrey, M.; Gellman, S. H.; Steyaert, J.; Skiniotis, G.; Weis, W. I.; Sunahara, R. K.; Kobilka, B. K. Crystal structure of the β_2 adrenergic receptor-G_s protein complex. *Nature* **2011**, *477*, 549-555.
- (33) Hanson, M. A.; Cherezov, V.; Griffith, M. T.; Roth, C. B.; Jaakola, V. P.; Chien, E. Y.; Velasquez, J.; Kuhn, P.; Stevens, R. C. A specific cholesterol binding site is established by the 2.8 Å structure of the human β_2 -adrenergic receptor. *Structure* **2008**, *16*, 897-905.
- (34) Wacker, D.; Fenalti, G.; Brown, M. A.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. Conserved binding mode of human β_2 adrenergic receptor inverse agonists and antagonist revealed by X-ray crystallography. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11443-11445.

(35) Xu, F.; Wu, H.; Katritch, V.; Han, G. W.; Jacobson, K. A.; Gao, Z. G.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. Structure of an agonist-bound human A_{2A} adenosine receptor. *Science* **2011**, *332*, 322-327.

(36) Lebon, G.; Warne, T.; Edwards, P. C.; Bennett, K.; Langmead, C. J.; Leslie, A. G.; Tate, C. G. Agonist-bound adenosine A_{2A} receptor structures reveal common features of GPCR activation. *Nature* **2011**, *474*, 521-525.

(37) Dore, A. S.; Robertson, N.; Errey, J. C.; Ng, I.; Hollenstein, K.; Tehan, B.; Hurrell, E.; Bennett, K.; Congreve, M.; Magnani, F.; Tate, C. G.; Weir, M.; Marshall, F. H. Structure of the adenosine A_{2A} receptor in complex with ZM241385 and the xanthenes XAC and caffeine. *Structure* **2011**, *19*, 1283-1293.

(38) Congreve, M.; Andrews, S. P.; Dore, A. S.; Hollenstein, K.; Hurrell, E.; Langmead, C. J.; Mason, J. S.; Ng, I. W.; Tehan, B.; Zhukov, A.; Weir, M.; Marshall, F. H. Discovery of 1,2,4-triazine derivatives as adenosine A_{2A} antagonists using structure based drug design. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 1898-1903.

(39) Wu, B.; Chien, E. Y.; Mol, C. D.; Fenalti, G.; Liu, W.; Katritch, V.; Abagyan, R.; Brooun, A.; Wells, P.; Bi, F. C.; Hamel, D. J.; Kuhn, P.; Handel, T. M.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. Structures of the CXCR4 chemokine GPCR with small-molecule and cyclic peptide antagonists. *Science* **2010**, *330*, 1066-1071.

(40) Katritch, V.; Cherezov, V.; Stevens, R. C. Structure-function of the G protein-coupled receptor superfamily. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2013**, *53*, 531-556.

(41) Attwood, T. K.; Findlay, J. B. Fingerprinting G-protein-coupled receptors. *Protein Eng.* **1994**, *7*, 195-203.

(42) Kolakowski, L. F., Jr. GCRDb: a G-protein-coupled receptor database. *Receptors Channels* **1994**, *2*, 1-7.

(43) Davies, M. N.; Gloriam, D. E.; Secker, A.; Freitas, A. A.; Timmis, J.; Flower, D. R. Present perspectives on the automated classification of the G-protein coupled receptors (GPCRs) at the protein sequence level. *Curr Top Med Chem* **2011**, *11*, 1994-2009.

(44) Civelli, O. GPCR deorphanizations: the novel, the known and the unexpected transmitters. *Trends Pharmacol. Sci.* **2005**, *26*, 15-19.

(45) Chung, S.; Funakoshi, T.; Civelli, O. Orphan GPCR research. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *153 Suppl 1*, S339-346.

(46) Foord, S. M.; Bonner, T. I.; Neubig, R. R.; Rosser, E. M.; Pin, J. P.; Davenport, A. P.; Spedding, M.; Harmar, A. J. International Union of Pharmacology. XLVI. G protein-coupled receptor list. *Pharmacol. Rev.* **2005**, *57*, 279-288.

(47) <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6d/GPCR-Zyklus.png> (Zugriff Dezember 2013).

(48) Milligan, G.; Kostenis, E. Heterotrimeric G-proteins: a short history. *Br. J. Pharmacol.* **2006**, *147 Suppl 1*, S46-55.

-
- (49) Birnbaumer, L. Expansion of signal transduction by G proteins. The second 15 years or so: from 3 to 16 alpha subunits plus betagamma dimers. *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, *1768*, 772-793.
- (50) Riobo, N. A.; Manning, D. R. Receptors coupled to heterotrimeric G proteins of the G₁₂ family. *Trends Pharmacol. Sci.* **2005**, *26*, 146-154.
- (51) Suzuki, N.; Hajicek, N.; Kozasa, T. Regulation and physiological functions of G_{12/13}-mediated signaling pathways. *Neurosignals* **2009**, *17*, 55-70.
- (52) Luttrell, L. M. 'Location, location, location': activation and targeting of MAP kinases by G protein-coupled receptors. *J. Mol. Endocrinol.* **2003**, *30*, 117-126.
- (53) Lefkowitz, R. J. Historical review: A brief history and personal retrospective of seven-transmembrane receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* **2004**, *25*, 413-422.
- (54) Lefkowitz, R. J. Seven transmembrane receptors: something old, something new. *Acta Physiol.* **2007**, *190*, 9-19.
- (55) Rajagopal, K.; Lefkowitz, R. J.; Rockman, H. A. When 7 transmembrane receptors are not G protein-coupled receptors. *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 2971-2974.
- (56) McDonald, P. H.; Chow, C. W.; Miller, W. E.; Laporte, S. A.; Field, M. E.; Lin, F. T.; Davis, R. J.; Lefkowitz, R. J. beta-Arrestin 2: A receptor-regulated MAPK scaffold for the activation of JNK3. *Science* **2000**, *290*, 1574-1577.
- (57) Luttrell, L. M.; Roudabush, F. L.; Choy, E. W.; Miller, W. E.; Field, M. E.; Pierce, K. L.; Lefkowitz, R. J. Activation and targeting of extracellular signal-regulated kinases by beta-arrestin scaffolds. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98*, 2449-2454.
- (58) Sun, Y.; Cheng, Z. J.; Ma, L.; Pei, G. beta-arrestin2 is critically involved in CXCR4-mediated chemotaxis, and this is mediated by its enhancement of p38 MAPK activation. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 49212-49219.
- (59) Burnstock, G. Purinergic Nerves. *Pharmacol. Rev.* **1972**, *24*, 509.
- (60) Gorzalka, S.; Vittori, S.; Volpini, R.; Cristalli, G.; von Kügelgen, I.; Müller, C. E. Evidence for the functional expression and pharmacological characterization of adenine receptors in native cells and tissues. *Mol. Pharmacol.* **2005**, *67*, 955-964.
- (61) Von Kügelgen, I.; Schiedel, A. C.; Hoffmann, K.; Alsdorf, B. B. A.; Abdelrahman, A.; Müller, C. E. Cloning and functional expression of a novel G_i protein-coupled receptor for adenine from mouse brain. *Mol. Pharmacol.* **2008**, *73*, 469-477.
- (62) Bender, E.; Buist, A.; Jurzak, M.; Langlois, X.; Baggerman, G.; Verhasselt, P.; Ercken, M.; Guo, H. Q.; Wintmolders, C.; Van den Wyngaert, I.; Van Oers, I.; Schoofs, L.; Luyten, W. Characterization of an orphan G protein-coupled receptor localized in the dorsal root ganglia reveals adenine as a signaling molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 8573-8578.

(63) Burnstock, G. A basis for distinguishing two types of purinergic receptor, in cell membrane receptors for drugs and hormones: a multidisciplinary approach (Straub R. W.; Bolis, L. (eds.)). Raven Press, New York. **1978**, 107-118.

(64) Fredholm, B. B.; Ijzerman, A. P.; Jacobson, K. A.; Klotz, K. N.; Linden, J. International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors. *Pharmacol. Rev.* **2001**, *53*, 527-552.

(65) Fredholm, B. B.; Abbracchio, M. P.; Burnstock, G.; Daly, J. W.; Harden, T. K.; Jacobson, K. A.; Leff, P.; Williams, M. Nomenclature and Classification of Purinoceptors. *Pharmacol. Rev.* **1994**, *46*, 143-156.

(66) Abbracchio, M. P.; Burnstock, G. Purinoceptors - Are There Families of P2x and P2y Purinoceptors. *Pharmacol. Ther.* **1994**, *64*, 445-475.

(67) Brunschweiler, A.; Müller, C. E. P2 receptors activated by uracil nucleotides - An update. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13*, 289-312.

(68) Müller, C. E. P2-pyrimidineric receptors and their ligands. *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 2353-2369.

(69) Abbracchio, M. P.; Burnstock, G.; Boeynaems, J. M.; Barnard, E. A.; Boyer, J. L.; Kennedy, C.; Knight, G. E.; Fumagalli, M.; Gachet, C.; Jacobson, K. A.; Weisman, G. A. International union of pharmacology LVIII: Update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: From molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol. Rev.* **2006**, *58*, 281-341.

(70) Magni, G.; Ceruti, S. P2Y purinergic receptors: New targets for analgesic and antimigraine drugs. *Biochem. Pharmacol.* **2013**, *85*, 466-477.

(71) Jacobson, K. A.; Costanzi, S.; Deflorian, F. Probing GPCR structure: adenosine and P2Y nucleotide receptors. *Methods Enzymol.* **2013**, *520*, 199-217.

(72) Burnstock, G. Purinergic signalling: Its unpopular beginning, its acceptance and its exciting future. *Bioessays* **2012**, *34*, 218-225.

(73) Fields, R. D.; Burnstock, G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions. *Nat Rev Neurosci* **2006**, *7*, 423-436.

(74) Lustig, K. D.; Shiau, A. K.; Brake, A. J.; Julius, D. Expression Cloning of an Atp Receptor from Mouse Neuroblastoma-Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, *90*, 5113-5117.

(75) Parr, C. E.; Sullivan, D. M.; Paradiso, A. M.; Lazarowski, E. R.; Burch, L. H.; Olsen, J. C.; Erb, L.; Weisman, G. A.; Boucher, R. C.; Turner, J. T. Cloning and Expression of a Human P-2u Nucleotide Receptor, a Target for Cystic-Fibrosis Pharmacotherapy (Vol 91, Pg 3275, 1994). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1994**, *91*, 13067-13067.

(76) Janssens, R.; Paindavoine, P.; Parmentier, M.; Boeynaems, J. M. Human P2Y₂ receptor polymorphism: identification and pharmacological characterization of two allelic variants. *Br. J. Pharmacol.* **1999**, *127*, 709-716.

-
- (77) Deterding, R.; Retsch-Bogart, G.; Milgram, L.; Gibson, R.; Daines, C.; Zeitlin, P. L.; Milla, C.; Marshall, B.; Lavange, L.; Engels, J.; Mathews, D.; Gorden, J.; Schaberg, A.; Williams, J.; Ramsey, B. Safety and tolerability of denufosal tetrasodium inhalation solution, a novel P2Y₂ receptor agonist: results of a phase 1/phase 2 multicenter study in mild to moderate cystic fibrosis. *Pediatr. Pulmonol.* **2005**, *39*, 339-348.
- (78) Ghanem, E.; Robaye, B.; Leal, T.; Leipziger, J.; Van Driessche, W.; Beauwens, R.; Boeynaems, J. M. The role of epithelial P2Y₂ and P2Y₄ receptors in the regulation of intestinal chloride secretion. *Br. J. Pharmacol.* **2005**, *146*, 364-369.
- (79) Yamamoto, S.; Ichishima, K.; Ehara, T. Regulation of extracellular UTP-activated Cl⁻ current by P2Y-PLC-PKC signaling and ATP hydrolysis in mouse ventricular myocytes. *J. Physiol. Sci.* **2007**, *57*, 85-94.
- (80) Bagchi, S.; Liao, Z.; Gonzalez, F. A.; Chorna, N. E.; Seye, C. I.; Weisman, G. A.; Erb, L. The P2Y₂ nucleotide receptor interacts with alpha v integrins to activate Go and induce cell migration. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 39050-39057.
- (81) Liao, Z.; Seye, C. I.; Weisman, G. A.; Erb, L. The P2Y₂ nucleotide receptor requires interaction with alpha v integrins to access and activate G12. *J. Cell Sci.* **2007**, *120*, 1654-1662.
- (82) Liu, J.; Liao, Z.; Camden, J.; Griffin, K. D.; Garrad, R. C.; Santiago-Perez, L. I.; Gonzalez, F. A.; Seye, C. I.; Weisman, G. A.; Erb, L. Src homology 3 binding sites in the P2Y₂ nucleotide receptor interact with Src and regulate activities of Src, proline-rich tyrosine kinase 2, and growth factor receptors. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 8212-8218.
- (83) Seye, C. I.; Yu, N.; Gonzalez, F. A.; Erb, L.; Weisman, G. A. The P2Y₂ nucleotide receptor mediates vascular cell adhesion molecule-1 expression through interaction with VEGF receptor-2 (KDR/Flk-1). *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 35679-35686.
- (84) Arthur, D. B.; Akassoglou, K.; Insel, P. A. P2Y₂ and TrkA receptors interact with Src family kinase for neuronal differentiation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, *347*, 678-682.
- (85) Seye, C. I.; Agca, Y.; Agca, C.; Derbigny, W. P2Y₂ receptor-mediated lymphotoxin-alpha secretion regulates intercellular cell adhesion molecule-1 expression in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 10535-10543.
- (86) Kruse, R.; Save, S.; Persson, K. Adenosine triphosphate induced P2Y₂ receptor activation induces proinflammatory cytokine release in uroepithelial cells. *J. Urol.* **2012**, *188*, 2419-2425.
- (87) Cicko, S.; Lucattelli, M.; Muller, T.; Lommatzsch, M.; De Cunto, G.; Cardini, S.; Sundas, W.; Grimm, M.; Zeiser, R.; Durk, T.; Zissel, G.; Boeynaems, J. M.; Sorichter, S.; Ferrari, D.; Di Virgilio, F.; Virchow, J. C.; Lungarella, G.; Idzko, M. Purinergic receptor inhibition prevents the development of smoke-induced lung injury and emphysema. *J. Immunol.* **2010**, *185*, 688-697.

(88) Hoebertz, A.; Mahendran, S.; Burnstock, G.; Arnett, T. R. ATP and UTP at low concentrations strongly inhibit bone formation by osteoblasts: a novel role for the P2Y₂ receptor in bone remodeling. *J. Cell. Biochem.* **2002**, *86*, 413-419.

(89) Martin-Gil, A.; de Lara, M. J.; Crooke, A.; Santano, C.; Peral, A.; Pintor, J. Silencing of P2Y(2) receptors reduces intraocular pressure in New Zealand rabbits. *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *165*, 1163-1172.

(90) Offermanns, S.; Schumacher, D.; Wettschureck, N.; Strilic, B. Novel therapeutic target for the prevention of tumour metastasis. EP 2641969 A1, 20130925, 2013.

(91) Choi, J. H.; Ji, Y. G.; Lee, D. H. Uridine triphosphate increases proliferation of human cancerous pancreatic duct epithelial cells by activating P2Y₂ receptor. *Pancreas* **2013**, *42*, 680-686.

(92) Li, H. J.; Wang, L. Y.; Qu, H. N.; Yu, L. H.; Burnstock, G.; Ni, X.; Xu, M.; Ma, B. P2Y₂ receptor-mediated modulation of estrogen-induced proliferation of breast cancer cells. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2011**, *338*, 28-37.

(93) Accurso, F. J.; Moss, R. B.; Wilmott, R. W.; Anbar, R. D.; Schaberg, A. E.; Durham, T. A.; Ramsey, B. W. Denufosol tetrasodium in patients with cystic fibrosis and normal to mildly impaired lung function. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2011**, *183*, 627-634.

(94) Bronson, J.; Dhar, M.; Ewing, W.; Lonberg, N. To Market, To Market-2010. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2011**, *46*, 433-502.

(95) Weyler, S.; Baqi, Y.; Hillmann, P.; Kaulich, M.; Hunder, A. M.; Müller, I. A.; Müller, C. E. Combinatorial synthesis of anilinoanthraquinone derivatives and evaluation as non-nucleotide-derived P2Y₂ receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 223-227.

(96) Hillmann, P. Molekulare Basis der Aktivierung und Modulation des P2Y₂-Nukleotid-Rezeptors. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, 2007.

(97) Jacobson, K. A.; Ivanov, A. A.; de Castro, S.; Harden, T. K.; Ko, H. Development of selective agonists and antagonists of P2Y receptors. *Purinergic Signal.* **2009**, *5*, 75-89.

(98) Weyler, S. Synthese neuer P1- und P2-Rezeptor-Liganden unter der Anwendung kombinatorischer Methoden, in vitro-Testungen und Aufstellung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, 2004.

(99) Im, D. S. Discovery of new G protein-coupled receptors for lipid mediators. *J. Lipid Res.* **2004**, *45*, 410-418.

(100) Murakami, M. Lipid Mediators in Life Science. *Exp. Anim.* **2011**, *60*, 7-20.

(101) Austen, K. F. The cysteinyl leukotrienes: Where do they come from? What are they? Where are they going? *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 113-115.

-
- (102) Narumiya, S.; FitzGerald, G. A. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 25-30.
- (103) Narumiya, S.; Sugimoto, Y.; Ushikubi, F. Prostanoid receptors: Structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.* **1999**, *79*, 1193-1226.
- (104) Brink, C.; Dahlen, S. E.; Drazen, J.; Evans, J. F.; Hay, D. W. P.; Nicosia, S.; Serhan, C. N.; Shimizu, T.; Yokomizo, T. International union of pharmacology - XXXVII. Nomenclature for leukotriene and lipoxin receptors. *Pharmacol. Rev.* **2003**, *55*, 195-227.
- (105) Choi, J. W.; Herr, D. R.; Noguchi, K.; Yung, Y. C.; Lee, C. W.; Mutoh, T.; Lin, M. E.; Teo, S. T.; Park, K. E.; Mosley, A. N.; Chun, J. LPA Receptors: Subtypes and Biological Actions. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2010**, *50*, 157-186.
- (106) Ishii, S.; Nagase, T.; Shimizu, T. Platelet-activating factor receptor. *Prostag. Oth. Lipid M.* **2002**, *68-9*, 599-609.
- (107) Takabe, K.; Paugh, S. W.; Milstien, S.; Spiegel, S. "Inside-Out" signaling of sphingosine-1-phosphate: Therapeutic targets. *Pharmacol. Rev.* **2008**, *60*, 181-195.
- (108) Di Marzo, V. The endocannabinoid system: Its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. *Pharmacol. Res.* **2009**, *60*, 77-84.
- (109) Parrill, A. L.; Sardar, V. M.; Yuan, H. B. Sphingosine 1-phosphate and lysophosphatidic acid receptors: agonist and antagonist binding and progress toward development of receptor-specific ligands. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2004**, *15*, 467-476.
- (110) Console-Bram, L.; Marcu, J.; Abood, M. E. Cannabinoid receptors: nomenclature and pharmacological principles. *Prog. Neuropsychopharmacol. Bol. Psychiatry* **2012**, *38*, 4-15.
- (111) Ariel, A.; Serhan, C. N. Resolvins and protectins in the termination program of acute inflammation. *Trends Immunol.* **2007**, *28*, 176-183.
- (112) Chiang, N.; Arita, M.; Serhan, C. N. Anti-inflammatory circuitry: Lipoxin, aspirin-triggered lipoxins and their receptor ALX. *Prostag. Leukotr. Ess.* **2005**, *73*, 163-177.
- (113) Arita, M.; Bianchini, F.; Aliberti, J.; Sher, A.; Chiang, N.; Hong, S.; Yang, R.; Petasis, N. A.; Serhan, C. N. Stereochemical assignment, antiinflammatory properties, and receptor for the omega-3 lipid mediator resolvin E1. *J. Exp. Med.* **2005**, *201*, 713-722.
- (114) Krishnamoorthy, S.; Recchiuti, A.; Chiang, N.; Yacoubian, S.; Lee, C. H.; Yang, R.; Petasis, N. A.; Serhan, C. N. Resolvin D1 binds human phagocytes with evidence for proresolving receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, *107*, 1660-1665.
- (115) Stoddart, L.; Briscoe, C.; Brown, A.; Jenkinson, S.; Milligan, G.; Monaghan, A. E. Free fatty acid receptors, introduction. IUPHAR database (IUPHAR-DB), <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/FamilyIntroductionForward?familyId=24>, Accessed on 21/02/2014.

(116) Stoddart, L. A.; Smith, N. J.; Milligan, G. International Union of Pharmacology. LXXI. Free Fatty Acid Receptors FFA1,-2, and-3: Pharmacology and Pathophysiological Functions. *Pharmacol. Rev.* **2008**, *60*, 405-417.

(117) Drazen, J. M. Inhalation Challenge with Sulfidopeptide Leukotrienes in Human-Subjects. *Chest* **1986**, *89*, 414-419.

(118) Drazen, J. M.; O'Brien, J.; Sparrow, D.; Weiss, S. T.; Martins, M. A.; Israel, E.; Fanta, C. H. Recovery of Leukotriene-E4 from the Urine of Patients with Airway-Obstruction. *Am. Rev. Respir. Dis.* **1992**, *146*, 104-108.

(119) Riccioni, G.; Back, M.; Capra, V. Leukotrienes and Atherosclerosis. *Curr. Drug Targets* **2010**, *11*, 882-887.

(120) Magnusson, C.; Mezhybovska, M.; Lorinc, E.; Fernebro, E.; Nilbert, M.; Sjolander, A. Low expression of CysLT₁R and high expression of CysLT₂R mediate good prognosis in colorectal cancer. *Eur. J. Cancer* **2010**, *46*, 826-835.

(121) Beller, T. C.; Friend, D. S.; Maekawa, A.; Lam, B. K.; Austen, K. F.; Kanaoka, Y. Cysteinyl leukotriene 1 receptor controls the severity of chronic pulmonary inflammation and fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2004**, *101*, 3047-3052.

(122) Israel, E.; Chervinsky, P. S.; Friedman, B.; van Bavel, J.; Skalky, C. S.; Ghannam, A. F.; Bird, S. R.; Edelman, J. M.; Compari, M. B. Effects of montelukast and beclomethasone on airway function and asthma control. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2002**, *110*, 847-854.

(123) Israel, E.; Cohn, J.; Dube, L.; Drazen, J. M. Effect of treatment with zileuton, a 5-lipoxygenase inhibitor, in patients with asthma - A randomized controlled trial. *J. Am. Med. Assoc.* **1996**, *275*, 931-936.

(124) Knorr, B.; Matz, J.; Bernstein, J. A.; Nguyen, H.; Seidenberg, B. C.; Reiss, T. F.; Becker, A.; Grp, P. M. S. Montelukast for chronic asthma in 6- to 14-year-old children - A randomized, double-blind trial. *J. Am. Med. Assoc.* **1998**, *279*, 1181-1186.

(125) Laidlaw, T. M.; Boyce, J. A. Cysteinyl leukotriene receptors, old and new; implications for asthma. *Clin. Exp. Allergy* **2012**, *42*, 1313-1320.

(126) Heise, C. E.; O'Dowd, B. F.; Figueroa, D. J.; Sawyer, N.; Nguyen, T.; Im, D. S.; Stocco, R.; Bellefeuille, J. N.; Abramovitz, M.; Cheng, R.; Williams, D. L.; Zeng, Z. Z.; Liu, Q. Y.; Ma, L.; Clements, M. K.; Coulombe, N.; Liu, Y.; Austin, C. P.; George, S. R.; O'Neill, G. P.; Metters, K. M.; Lynch, K. R.; Evans, J. F. Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 30531-30536.

(127) Lynch, K. R.; O'Neill, G. P.; Liu, Q. Y.; Im, D. S.; Sawyer, N.; Metters, K. M.; Coulombe, N.; Abramovitz, M.; Figueroa, D. J.; Zeng, Z. Z.; Connolly, B. M.; Bai, C.; Austin, C. P.; Chateaufneuf, A.; Stocco, R.; Greig, G. M.; Kargman, S.; Hooks, S. B.; Hosfield, E.; Williams, D. L.; Ford-Hutchinson, A. W.; Caskey, C. T.; Evans, J. F. Characterization of the human cysteinyl leukotriene CysLT₁ receptor. *Nature* **1999**, *399*, 789-793.

-
- (128) Mellor, E. A.; Maekawa, A.; Austen, K. F.; Boyce, J. A. Cysteinyl leukotriene receptor 1 is also a pyrimidinergic receptor and is expressed by human mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98*, 7964-7969.
- (129) Paruchuri, S.; Jiang, Y. F.; Feng, C. L.; Francis, S. A.; Plutzky, J.; Boyce, J. A. Leukotriene E(4) activates peroxisome proliferator-activated receptor gamma and induces prostaglandin D(2) generation by human mast cells. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 16477-16487.
- (130) Kanaoka, Y.; Maekawa, A.; Austen, K. F. Identification of GPR99 protein as a potential third cysteinyl leukotriene receptor with a preference for leukotriene E-4 ligand. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 10967-10972.
- (131) He, W. H.; Miao, F. J. P.; Lin, D. C. H.; Schwandner, R. T.; Wang, Z. L.; Gao, J. H.; Chen, J. L.; Tian, H.; Ling, L. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. *Nature* **2004**, *429*, 188-193.
- (132) Hui, Y. Q.; Yang, G. C.; Galczenski, H.; Figueroa, D. J.; Austin, C. P.; Copeland, N. G.; Gilbert, D. J.; Jenkins, N. A.; Funk, C. D. The murine cysteinyl leukotriene 2 (CysLT₂) receptor - cDNA and genomic cloning, alternative splicing, and in vitro characterization. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 47489-47495.
- (133) Kanaoka, Y.; Boyce, A. A. Cysteinyl leukotrienes and their receptors: Cellular distribution and function in immune and inflammatory responses. *J. Immunol.* **2004**, *173*, 1503-1510.
- (134) Franco, R.; Casado, V.; Cortes, A.; Ferrada, C.; Mallol, J.; Woods, A.; Lluís, C.; Canela, E. I.; Ferre, S. Basic concepts in G-protein-coupled receptor homo- and heterodimerization. *The Scientific World J.* **2007**, *7*, 48-57.
- (135) Maekawa, A.; Kanaoka, Y.; Xing, W.; Austen, K. F. Functional recognition of a distinct receptor preferential for leukotriene E4 in mice lacking the cysteinyl leukotriene 1 and 2 receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 16695-16700.
- (136) Maekawa, A.; Balestrieri, B.; Austen, K. F.; Kanaoka, Y. GPR17 is a negative regulator of the cysteinyl leukotriene 1 receptor response to leukotriene D4. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 11685-11690.
- (137) Capra, V.; Ravasi, S.; Accomazzo, M. R.; Citro, S.; Grimoldi, M.; Abbracchio, M. P.; Rovati, G. E. CysLT₁ receptor is a target for extracellular nucleotide-induced heterologous desensitization: a possible feedback mechanism in inflammation. *J. Cell Sci.* **2005**, *118*, 5625-5636.
- (138) Drazen, J. M.; Israel, E.; O'Byrne, P. M. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *340*, 197-206.
- (139) Fanta, C. H. Asthma. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 1002-1014.
- (140) Wunder, F.; Tinel, H.; Kast, R.; Geerts, A.; Becker, E. M.; Kolkhof, P.; Hutter, J.; Erguden, J.; Harter, M. Pharmacological characterization of the first potent and selective antagonist at the cysteinyl leukotriene 2 (CysLT₂) receptor. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *160*, 399-409.

(141) Pacher, P.; Batkai, S.; Kunos, G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.* **2006**, *58*, 389-462.

(142) Pertwee, R. G.; Howlett, A. C.; Abood, M. E.; Alexander, S. P.; Di Marzo, V.; Elphick, M. R.; Greasley, P. J.; Hansen, H. S.; Kunos, G.; Mackie, K.; Mechoulam, R.; Ross, R. A. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacol. Rev.* **2010**, *62*, 588-631.

(143) Huffman, J. W.; Miller, J. R. A.; Liddle, J.; Yu, S.; Thomas, B. F.; Wiley, J. L.; Martin, B. R. Structure-activity relationships for 1',1'-dimethylalkyl-Delta(8)-tetrahydrocannabinols. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1397-1410.

(144) Demuth, D. G.; Molleman, A. Cannabinoid signalling. *Life Sci.* **2006**, *78*, 549-563.

(145) Galiegue, S.; Mary, S.; Marchand, J.; Dussossoy, D.; Carriere, D.; Carayon, P.; Bouaboula, M.; Shire, D.; Lefur, G.; Casellas, P. Expression of Central and Peripheral Cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocyte Subpopulations. *Eur. J. Biochem.* **1995**, *232*, 54-61.

(146) Glass, M.; Dragunow, M.; Faull, R. L. M. Cannabinoid receptors in the human brain: A detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience* **1997**, *77*, 299-318.

(147) Herkenham, M.; Lynn, A. B.; Little, M. D.; Johnson, M. R.; Melvin, L. S.; Decosta, B. R.; Rice, K. C. Cannabinoid Receptor Localization in Brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1990**, *87*, 1932-1936.

(148) Racz, I.; Nadal, X.; Alferink, J.; Banos, J. E.; Rehnelt, J.; Martin, M.; Pintado, B.; Gutierrez-Adan, A.; Sanguino, E.; Manzanares, J.; Zimmer, A.; Maldonado, R. Crucial Role of CB₂ Cannabinoid Receptor in the Regulation of Central Immune Responses during Neuropathic Pain. *J. Neurosci.* **2008**, *28*, 12125-12135.

(149) Gareau, Y.; Dufresne, C.; Gallant, M.; Rochette, C.; Sawyer, N.; Slipetz, D. M.; Tremblay, N.; Weech, P. K.; Metters, K. M.; Labelle, M. Structure activity relationships of tetrahydrocannabinol analogues on human cannabinoid receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 189-194.

(150) Alexander, A.; Smith, P. F.; Rosengren, R. J. Cannabinoids in the treatment of cancer. *Cancer Lett.* **2009**, *285*, 6-12.

(151) Rempel, V.; Fuchs, A.; Hinz, S.; Karcz, T.; Lehr, M.; Koetter, U.; Müller, C. E. Magnolia extract, magnolol, and metabolites: activation of cannabinoid CB₂ receptors and blockade of the related GPR55. *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *4*, 41-45.

(152) Mechoulam, R.; Parker, L. A. The endocannabinoid system and the brain. *Annu. Rev. Psychol.* **2013**, *64*, 21-47.

(153) Kreitzer, F. R.; Stella, N. The therapeutic potential of novel cannabinoid receptors. *Pharmacol. Ther.* **2009**, *122*, 83-96.

-
- (154) Mackie, K. Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2006**, *46*, 101-122.
- (155) Maccarrone, M.; Gasperi, V.; Catani, M. V.; Diep, T. A.; Dainese, E.; Hansen, H. S.; Avigliano, L. The endocannabinoid system and its relevance for nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* **2010**, *30*, 423-440.
- (156) Pertwee, R. G. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J* **2005**, *7*, E625-654.
- (157) Idris, A. I. Cannabinoid receptors as target for treatment of osteoporosis: a tale of two therapies. *Curr. Neuropharmacol* **2010**, *8*, 243-253.
- (158) Gamage, T. F.; Lichtman, A. H. The endocannabinoid system: role in energy regulation. *Pediatr. Blood Cancer* **2012**, *58*, 144-148.
- (159) Kang, J. G.; Park, C. Y. Anti-obesity drugs: A review about their effects and safety. *Diabetes Metab. J.* **2012**, *36*, 13-25.
- (160) Fuchs, A.; Rempel, V.; Müller, C. E. The natural product magnolol as a lead structure for the development of potent cannabinoid receptor agonists. *PLoS One* **2013**, *8*, e77739.
- (161) Elsebai, M. F.; Rempel, V.; Schnakenburg, G.; Kehraus, S.; Müller, C. E.; König, G. M. Identification of a potent and selective cannabinoid CB₁ receptor antagonist from *Auxarthron reticulatum*. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 866-869.
- (162) McHugh, D.; Page, J.; Dunn, E.; Bradshaw, H. B. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and *N*-arachidonyl glycine are full agonists at GPR18 receptors and induce migration in human endometrial HEC-1B cells. *Br. J. Pharmacol* **2012**, *165*, 2414-2424.
- (163) Tang, X. L.; Wang, Y.; Li, D. L.; Luo, J.; Liu, M. Y. Orphan G protein-coupled receptors (GPCRs): biological functions and potential drug targets. *Acta Pharmacol. Sin.* **2012**, *33*, 363-371.
- (164) Burnstock, G.; Knight, G. E. Cellular distribution and functions of P2 receptor subtypes in different systems. *Int. Rev. Cytol.* **2004**, *240*, 31-304.
- (165) Abbracchio, M. P.; Boeynaems, J. M.; Barnard, E. A.; Boyer, J. L.; Kennedy, C.; Miras-Portugal, M. T.; King, B. F.; Gachet, C.; Jacobson, K. A.; Weisman, G. A.; Burnstock, G. Characterization of the UDP-glucose receptor (re-named here the P2Y₁₄ receptor) adds diversity to the P2Y receptor family. *Trends Pharmacol. Sci.* **2003**, *24*, 52-55.
- (166) Ciceri, P.; Rabuffetti, M.; Monopoli, A.; Nicosia, S. Production of leukotrienes in a model of focal cerebral ischaemia in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **2001**, *133*, 1323-1329.
- (167) Drazen, J. M. Leukotrienes in asthma. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2003**, *525*, 1-5.
- (168) Samuelsson, B. The discovery of the leukotrienes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2000**, *161*, S2-6.

(169) Bläsius, R.; Weber, R. G.; Lichter, P.; Ogilvie, A. A novel orphan G protein-coupled receptor primarily expressed in the brain is localized on human chromosomal band 2q21. *J. Neurochem.* **1998**, *70*, 1357-1365.

(170) Raport, C. J.; Schweickart, V. L.; Chantry, D.; Eddy, R. L., Jr.; Shows, T. B.; Godiska, R.; Gray, P. W. New members of the chemokine receptor gene family. *J. Leukoc. Biol.* **1996**, *59*, 18-23.

(171) Kostenis, E.; Spinrath, A.; Hennen, S.; Peters, L.; Müller, C. E.; Akkari, R.; Baqi, Y.; Ritter, K. Methods of identifying modulators of GPR17. US 2013/0059899 A1, 20130307, 2013.

(172) Calleri, E.; Ceruti, S.; Cristalli, G.; Martini, C.; Temporini, C.; Parravicini, C.; Volpini, R.; Daniele, S.; Caccialanza, G.; Lecca, D.; Lambertucci, C.; Trincavelli, M. L.; Marucci, G.; Wainer, I. W.; Ranghino, G.; Fantucci, P.; Abbracchio, M. P.; Massolini, G. Frontal affinity chromatography-mass spectrometry useful for characterization of new ligands for GPR17 receptor. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 3489-3501.

(173) Ciana, P.; Fumagalli, M.; Trincavelli, M. L.; Verderio, C.; Rosa, P.; Lecca, D.; Ferrario, S.; Parravicini, C.; Capra, V.; Gelosa, P.; Guerrini, U.; Belcredito, S.; Cimino, M.; Sironi, L.; Tremoli, E.; Rovati, G. E.; Martini, C.; Abbracchio, M. P. The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor. *EMBO J.* **2006**, *25*, 4615-4627.

(174) Lecca, D.; Trincavelli, M. L.; Gelosa, P.; Sironi, L.; Ciana, P.; Fumagalli, M.; Villa, G.; Verderio, C.; Grumelli, C.; Guerrini, U.; Tremoli, E.; Rosa, P.; Cuboni, S.; Martini, C.; Buffo, A.; Cimino, M.; Abbracchio, M. P. The recently identified P2Y-like receptor GPR17 is a sensor of brain damage and a new target for brain repair. *PLoS One* **2008**, *3*, e3579.

(175) Pugliese, A. M.; Trincavelli, M. L.; Lecca, D.; Coppi, E.; Fumagalli, M.; Ferrario, S.; Failli, P.; Daniele, S.; Martini, C.; Pedata, F.; Abbracchio, M. P. Functional characterization of two isoforms of the P2Y-like receptor GPR17: [35S]GTP γ S binding and electrophysiological studies in 1321N1 cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2009**, *297*, C1028-1040.

(176) Benned-Jensen, T.; Rosenkilde, M. M. Distinct expression and ligand-binding profiles of two constitutively active GPR17 splice variants. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *159*, 1092-1105.

(177) Qi, A. D.; Harden, T. K.; Nicholas, R. A. Is GPR17 a P2Y/leukotriene receptor? examination of uracil nucleotides, nucleotide sugars, and cysteinyl leukotrienes as agonists of GPR17. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2013**, *347*, 38-46.

(178) Hennen, S.; Wang, H.; Peters, L.; Merten, N.; Simon, K.; Spinrath, A.; Blattermann, S.; Akkari, R.; Schrage, R.; Schroder, R.; Schulz, D.; Vermeiren, C.; Zimmermann, K.; Kehraus, S.; Drewke, C.; Pfeifer, A.; König, G. M.; Mohr, K.; Gillard, M.; Müller, C. E.; Lu, Q. R.; Gomeza, J.; Kostenis, E. Decoding signaling and function of the orphan G protein-coupled receptor GPR17 with a small-molecule agonist. *Sci. Signal.* **2013**, *6*, ra93.

-
- (179) Baqi, Y.; Alshaibani, S.; Ritter, K.; Abdelrahman, A.; Spinrath, A.; Kostenis, E.; Müller, C. E. Improved synthesis of 4-/6-substituted 2-carboxy-1H-indole-3-propionic acid derivatives and structure-activity relationships as GPR17 agonists. *Medchemcomm* **2014**, *5*, 86-92.
- (180) Köse, M.; Ritter, K.; Thiemke, K.; Gillard, M.; Kostenis, E.; Müller, C. E. Development of [³H]2-carboxy-4,6-dichloro-1H-indole-3-propionic acid ([³H]PSB-12150): A useful tool for studying GPR17. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, DOI: 10.1021/ml400399f.
- (181) Ceruti, S.; Villa, G.; Genovese, T.; Mazzon, E.; Longhi, R.; Rosa, P.; Bramanti, P.; Cuzzocrea, S.; Abbracchio, M. P. The P2Y-like receptor GPR17 as a sensor of damage and a new potential target in spinal cord injury. *Brain* **2009**, *132*, 2206-2218.
- (182) Zhao, B.; Zhao, C. Z.; Zhang, X. Y.; Huang, X. Q.; Shi, W. Z.; Fang, S. H.; Lu, Y. B.; Zhang, W. P.; Xia, Q.; Wei, E. Q. The new P2Y-like receptor G protein-coupled receptor 17 mediates acute neuronal injury and late microgliosis after focal cerebral ischemia in rats. *Neuroscience* **2012**, *202*, 42-57.
- (183) Maekawa, A.; Xing, W.; Austen, K. F.; Kanaoka, Y. GPR17 regulates immune pulmonary inflammation induced by house dust mites. *J. Immunol.* **2010**, *185*, 1846-1854.
- (184) Daniele, S.; Lecca, D.; Trincavelli, M. L.; Ciampi, O.; Abbracchio, M. P.; Martini, C. Regulation of PC12 cell survival and differentiation by the new P2Y-like receptor GPR17. *Cell. Signal.* **2010**, *22*, 697-706.
- (185) Ren, H.; Orozco, I. J.; Su, Y.; Suyama, S.; Gutierrez-Juarez, R.; Horvath, T. L.; Wardlaw, S. L.; Plum, L.; Arancio, O.; Accili, D. FoxO1 target Gpr17 activates AgRP neurons to regulate food intake. *Cell* **2012**, *149*, 1314-1326.
- (186) Aalto, Y.; El-Rifa, W.; Vilpo, L.; Ollila, J.; Nagy, B.; Vihinen, M.; Vilpo, J.; Knuutila, S. Distinct gene expression profiling in chronic lymphocytic leukemia with 11q23 deletion. *Leukemia* **2001**, *15*, 1721-1728.
- (187) Smith, I. M.; Glazer, C. A.; Mithani, S. K.; Ochs, M. F.; Sun, W.; Bhan, S.; Vostrov, A.; Abdullaev, Z.; Lobanenkova, V.; Gray, A.; Liu, C.; Chang, S. S.; Ostrow, K. L.; Westra, W. H.; Begum, S.; Dhara, M.; Califano, J. Coordinated activation of candidate proto-oncogenes and cancer testis antigens via promoter demethylation in head and neck cancer and lung cancer. *PLoS One* **2009**, *4*, e4961.
- (188) Maisel, M.; Herr, A.; Milosevic, J.; Hermann, A.; Habisch, H. J.; Schwarz, S.; Kirsch, M.; Antoniadis, G.; Brenner, R.; Hallmeyer-Elgner, S.; Lerche, H.; Schwarz, J.; Storch, A. Transcription profiling of adult and fetal human neuroprogenitors identifies divergent paths to maintain the neuroprogenitor cell state. *Stem Cells* **2007**, *25*, 1231-1240.
- (189) Chen, Y.; Wu, H.; Wang, S.; Koito, H.; Li, J.; Ye, F.; Hoang, J.; Escobar, S. S.; Gow, A.; Arnett, H. A.; Trapp, B. D.; Karandikar, N. J.; Hsieh, J.; Lu, Q. R. The oligodendrocyte-specific G protein-coupled receptor GPR17 is a cell-intrinsic timer of myelination. *Nat. Neurosci.* **2009**, *12*, 1398-1406.

(190) Alexander, S. P. So what do we call GPR18 now? *Br. J. Pharmacol.* **2012**, *165*, 2411-2413.

(191) Bradshaw, H. B.; Rimmerman, N.; Hu, S. S.; Benton, V. M.; Stuart, J. M.; Masuda, K.; Cravatt, B. F.; O'Dell, D. K.; Walker, J. M. The endocannabinoid anandamide is a precursor for the signaling lipid N-arachidonoyl glycine by two distinct pathways. *BMC Biochem* **2009**, *10*, 14.

(192) Kohno, M.; Hasegawa, H.; Inoue, A.; Muraoka, M.; Miyazaki, T.; Oka, K.; Yasukawa, M. Identification of N-arachidonoylglycine as the endogenous ligand for orphan G-protein-coupled receptor GPR18. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, *347*, 827-832.

(193) McHugh, D.; Hu, S. S.; Rimmerman, N.; Juknat, A.; Vogel, Z.; Walker, J. M.; Bradshaw, H. B. N-arachidonoyl glycine, an abundant endogenous lipid, potently drives directed cellular migration through GPR18, the putative abnormal cannabidiol receptor. *BMC Neurosci.* **2010**, *11*, 44.

(194) Lu, V. B.; Puhl, H. L., 3rd; Ikeda, S. R. N-Arachidonoyl glycine does not activate G protein-coupled receptor 18 signaling via canonical pathways. *Mol. Pharmacol.* **2013**, *83*, 267-282.

(195) Yin, H.; Chu, A.; Li, W.; Wang, B.; Shelton, F.; Otero, F.; Nguyen, D. G.; Caldwell, J. S.; Chen, Y. A. Lipid G protein-coupled receptor ligand identification using beta-arrestin PathHunter assay. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 12328-12338.

(196) Rempel, V.; Atzler, K.; Behrenswerth, A.; Karcz, T.; Schoeder, C.; Hinz, S.; Kaleta, M.; Thimm, D.; Kononocicz, K.; Müller, C. E. Bicyclic imidazole-4-one derivatives: a new class of antagonists for the G protein-coupled orphan receptors GPR18 and GPR55. *Med. Chem. Commun.* **2014**, DOI: 10.1039/C1033MD00394A.

(197) Qin, Y.; Verdegaal, E. M.; Siderius, M.; Bebelman, J. P.; Smit, M. J.; Leurs, R.; Willemze, R.; Tensen, C. P.; Osanto, S. Quantitative expression profiling of G-protein-coupled receptors (GPCRs) in metastatic melanoma: the constitutively active orphan GPCR GPR18 as novel drug target. *Pigment Cell Melanoma Res.* **2011**, *24*, 207-218.

(198) O'Dowd, B. F.; Nguyen, T.; Marchese, A.; Cheng, R.; Lynch, K. R.; Heng, H. H.; Kolakowski, L. F., Jr.; George, S. R. Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes. *Genomics* **1998**, *47*, 310-313.

(199) Okumura, S.; Baba, H.; Kumada, T.; Nanmoku, K.; Nakajima, H.; Nakane, Y.; Hioki, K.; Ikenaka, K. Cloning of a G-protein-coupled receptor that shows an activity to transform NIH3T3 cells and is expressed in gastric cancer cells. *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 131-135.

(200) Horikawa, Y.; Oda, N.; Cox, N. J.; Li, X.; Orho-Melander, M.; Hara, M.; Hinokio, Y.; Lindner, T. H.; Mashima, H.; Schwarz, P. E.; del Bosque-Plata, L.; Oda, Y.; Yoshiuchi, I.; Colilla, S.; Polonsky, K. S.; Wei, S.; Concannon, P.; Iwasaki, N.; Schulze, J.; Baier, L. J.; Bogardus, C.; Groop, L.; Boerwinkle, E.; Hanis, C. L.; Bell, G. I. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.* **2000**, *26*, 163-175.

-
- (201) Taniguchi, Y.; Tonai-Kachi, H.; Shinjo, K. Zaprinas, a well-known cyclic guanosine monophosphate-specific phosphodiesterase inhibitor, is an agonist for GPR35. *FEBS Lett.* **2006**, *580*, 5003-5008.
- (202) Funke, M.; Thimm, D.; Schiedel, A. C.; Müller, C. E. 8-Benzamidochromen-4-one-2-carboxylic acids: Potent and selective agonists for the orphan G protein-coupled receptor GPR35. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 5182-5197.
- (203) Milligan, G. Orthologue selectivity and ligand bias: translating the pharmacology of GPR35. *Trends Pharmacol. Sci.* **2011**, *32*, 317-325.
- (204) Wang, J.; Simonavicius, N.; Wu, X.; Swaminath, G.; Reagan, J.; Tian, H.; Ling, L. Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 22021-22028.
- (205) Zhao, P.; Sharir, H.; Kapur, A.; Cowan, A.; Geller, E. B.; Adler, M. W.; Seltzman, H. H.; Reggio, P. H.; Heynen-Genel, S.; Sauer, M.; Chung, T. D.; Bai, Y.; Chen, W.; Caron, M. G.; Barak, L. S.; Abood, M. E. Targeting of the orphan receptor GPR35 by pamoic acid: a potent activator of extracellular signal-regulated kinase and beta-arrestin2 with antinociceptive activity. *Mol. Pharmacol.* **2010**, *78*, 560-568.
- (206) Jenkins, L.; Brea, J.; Smith, N. J.; Hudson, B. D.; Reilly, G.; Bryant, N. J.; Castro, M.; Loza, M. I.; Milligan, G. Identification of novel species-selective agonists of the G-protein-coupled receptor GPR35 that promote recruitment of beta-arrestin-2 and activate Galphal3. *Biochem. J.* **2010**, *432*, 451-459.
- (207) Kuc, D.; Zgrajka, W.; Parada-Turska, J.; Urbanik-Sypniewska, T.; Turski, W. A. Micromolar concentration of kynurenic acid in rat small intestine. *Amino Acids* **2008**, *35*, 503-505.
- (208) Paluszkiwicz, P.; Zgrajka, W.; Saran, T.; Schabowski, J.; Piedra, J. L.; Fedkiv, O.; Rengman, S.; Pierzynowski, S. G.; Turski, W. A. High concentration of kynurenic acid in bile and pancreatic juice. *Amino Acids* **2009**, *37*, 637-641.
- (209) Pi, L. G.; Tang, A. G.; Mo, X. M.; Luo, X. B.; Ao, X. More rapid and sensitive method for simultaneous determination of tryptophan and kynurenic acid by HPLC. *Clin. Biochem.* **2009**, *42*, 420-425.
- (210) Oka, S.; Ota, R.; Shima, M.; Yamashita, A.; Sugiura, T. GPR35 is a novel lysophosphatidic acid receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *395*, 232-237.
- (211) Deng, H.; Hu, H.; Fang, Y. Multiple tyrosine metabolites are GPR35 agonists. *Scientific Reports* **2012**, *2*, 373.
- (212) Imielinski, M.; Baldassano, R. N.; Griffiths, A.; Russell, R. K.; Annese, V.; Dubinsky, M.; Kugathasan, S.; Bradfield, J. P.; Walters, T. D.; Sleiman, P.; Kim, C. E.; Muise, A.; Wang, K.; Glessner, J. T.; Saeed, S.; Zhang, H.; Frackelton, E. C.; Hou, C.; Flory, J. H.; Otieno, G.; Chiavacci, R. M.; Grundmeier, R.; Castro, M.; Latiano, A.; Dallapiccola, B.; Stempak, J.; Abrams, D. J.; Taylor, K.; McGovern, D.; Silber, G.; Wrobel, I.; Quiros, A.; Barrett, J. C.; Hansoul, S.; Nicolae, D. L.; Cho, J. H.; Duerr, R. H.; Rioux, J. D.; Brant, S. R.; Silverberg, M. S.; Taylor, K. D.; Barmuda, M. M.; Bitton, A.; Dassopoulos, T.; Datta, L. W.; Green, T.; Griffiths, A. M.; Kistner, E. O.; Murtha,

M. T.; Regueiro, M. D.; Rotter, J. I.; Schumm, L. P.; Steinhart, A. H.; Targan, S. R.; Xavier, R. J.; Libioulle, C.; Sandor, C.; Lathrop, M.; Belaiche, J.; Dewit, O.; Gut, I.; Heath, S.; Laukens, D.; Mni, M.; Rutgeerts, P.; Van Gossum, A.; Zelenika, D.; Franchimont, D.; Hugot, J. P.; de Vos, M.; Vermeire, S.; Louis, E.; Cardon, L. R.; Anderson, C. A.; Drummond, H.; Nimmo, E.; Ahmad, T.; Prescott, N. J.; Onnie, C. M.; Fisher, S. A.; Marchini, J.; Ghorji, J.; Bumpstead, S.; Gwillam, R.; Tremelling, M.; Delukas, P.; Mansfield, J.; Jewell, D.; Satsangi, J.; Mathew, C. G.; Parkes, M.; Georges, M.; Daly, M. J.; Heyman, M. B.; Ferry, G. D.; Kirschner, B.; Lee, J.; Essers, J.; Grand, R.; Stephens, M.; Levine, A.; Piccoli, D.; Van Limbergen, J.; Cucchiara, S.; Monos, D. S.; Guthery, S. L.; Denson, L.; Wilson, D. C.; Grant, S. F.; Daly, M.; Hakonarson, H. Common variants at five new loci associated with early-onset inflammatory bowel disease. *Nat. Genet.* **2009**, *41*, 1335-1340.

(213) Ohshiro, H.; Tonai-Kachi, H.; Ichikawa, K. GPR35 is a functional receptor in rat dorsal root ganglion neurons. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2008**, *365*, 344-348.

(214) Barth, M. C.; Ahluwalia, N.; Anderson, T. J.; Hardy, G. J.; Sinha, S.; Alvarez-Cardona, J. A.; Pruitt, I. E.; Rhee, E. P.; Colvin, R. A.; Gerszten, R. E. Kynurenic acid triggers firm arrest of leukocytes to vascular endothelium under flow conditions. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 19189-19195.

(215) Sparfel, L.; Pinel-Marie, M. L.; Boize, M.; Koscielny, S.; Desmots, S.; Pery, A.; Fardel, O. Transcriptional signature of human macrophages exposed to the environmental contaminant benzo(a)pyrene. *Toxicol. Sci.* **2010**, *114*, 247-259.

(216) Yang, Y.; Lu, J. Y.; Wu, X.; Summer, S.; Whoriskey, J.; Saris, C.; Reagan, J. D. G-protein-coupled receptor 35 is a target of the asthma drugs cromolyn disodium and nedocromil sodium. *Pharmacology* **2010**, *86*, 1-5.

(217) Min, K. D.; Asakura, M.; Liao, Y.; Nakamaru, K.; Okazaki, H.; Takahashi, T.; Fujimoto, K.; Ito, S.; Takahashi, A.; Asanuma, H.; Yamazaki, S.; Minamino, T.; Sanada, S.; Seguchi, O.; Nakano, A.; Ando, Y.; Otsuka, T.; Furukawa, H.; Isomura, T.; Takashima, S.; Mochizuki, N.; Kitakaze, M. Identification of genes related to heart failure using global gene expression profiling of human failing myocardium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *393*, 55-60.

(218) Cosi, C.; Mannaioni, G.; Cozzi, A.; Carla, V.; Sili, M.; Cavone, L.; Maratea, D.; Moroni, F. G-protein coupled receptor 35 (GPR35) activation and inflammatory pain: studies on the antinociceptive effects of kynurenic acid and zaprinast. *Neuropharmacology* **2011**, *60*, 1227-1231.

(219) Yoon, M. H.; Choi, J. I.; Bae, H. B.; Jeong, S. W.; Chung, S. S.; Yoo, K. Y.; Jeong, C. Y.; Kim, S. J.; Chung, S. T.; Kim, C. M. Lack of the nitric oxide-cyclic GMP-potassium channel pathway for the antinociceptive effect of intrathecal zaprinast in a rat formalin test. *Neurosci. Lett.* **2005**, *390*, 114-117.

(220) Fallarini, S.; Magliulo, L.; Paoletti, T.; de Lalla, C.; Lombardi, G. Expression of functional GPR35 in human iNKT cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2010**, *398*, 420-425.

(221) Sun, Y. V.; Bielak, L. F.; Peyser, P. A.; Turner, S. T.; Sheedy, P. F., 2nd; Boerwinkle, E.; Kardia, S. L. Application of machine learning algorithms to predict

coronary artery calcification with a sibship-based design. *Genet. Epidemiol.* **2008**, *32*, 350-360.

(222) Vander Molen, J.; Frisse, L. M.; Fullerton, S. M.; Qian, Y.; Del Bosque-Plata, L.; Hudson, R. R.; Di Rienzo, A. Population genetics of CAPN10 and GPR35: implications for the evolution of type 2 diabetes variants. *Am. J. Hum. Genet.* **2005**, *76*, 548-560.

(223) Jenkins, L.; Alvarez-Curto, E.; Campbell, K.; de Munnik, S.; Canals, M.; Schlyer, S.; Milligan, G. Agonist activation of the G protein-coupled receptor GPR35 involves transmembrane domain III and is transduced via $G\alpha_{13}$ and β -arrestin-2. *Br. J. Pharmacol.* **2011**, *162*, 733-748.

(224) Deng, H.; Hu, H.; He, M.; Hu, J.; Niu, W.; Ferrie, A. M.; Fang, Y. Discovery of 2-(4-methylfuran-2(5H)-ylidene)malononitrile and thieno[3,2-b]thiophene-2-carboxylic acid derivatives as G protein-coupled receptor 35 (GPR35) agonists. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7385-7396.

(225) Yang, Y.; Fu, A.; Wu, X.; Reagan, J. D. GPR35 is a target of the loop diuretic drugs bumetanide and furosemide. *Pharmacology* **2012**, *89*, 13-17.

(226) Hu, H.; Deng, H.; Fang, Y. Label-free phenotypic profiling identified D-luciferin as a GPR35 agonist. *PLoS One* **2012**, *7*, e34934.

(227) Neetoo-Isseljee, Z.; Mackenzie, A. E.; Southern, C.; Jerman, J.; McIver, E. G.; Harries, N.; Taylor, D. L.; Milligan, G. High-Throughput Identification and Characterization of Novel, Species-selective GPR35 Agonists. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2013**, *344*, 568-578.

(228) Jenkins, L.; Harries, N.; Lappin, J. E.; MacKenzie, A. E.; Neetoo-Isseljee, Z.; Southern, C.; McIver, E. G.; Nicklin, S. A.; Taylor, D. L.; Milligan, G. Antagonists of GPR35 display high species ortholog selectivity and varying modes of action. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, *343*, 683-695.

(229) MacKenzie, A. E.; Caltabiano, G.; Kent, T. C.; Jenkins, L.; McCallum, J. E.; Hudson, B. D.; Nicklin, S. A.; Fawcett, L.; Markwick, R.; Charlton, S. J.; Milligan, G. The antiallergic mast cell stabilizers lodoxamide and bufrolin as the first high and equipotent agonists of human and rat GPR35. *Mol. Pharmacol.* **2014**, *85*, 91-104.

(230) Gessi, S.; Varani, K.; Merighi, S.; Cattabriga, E.; Pancaldi, C.; Szabadkai, Y.; Rizzuto, R.; Klotz, K. N.; Leung, E.; Mac Lennan, S.; Baraldi, P. G.; Borea, P. A. Expression, pharmacological profile, and functional coupling of A_{2B} receptors in a recombinant system and in peripheral blood cells using a novel selective antagonist radioligand, [3 H]MRE 2029-F20. *Mol. Pharmacol.* **2005**, *67*, 2137-2147.

(231) Thor, D.; Schulz, A.; Hermsdorf, T.; Schoneberg, T. Generation of an agonistic binding site for blockers of the M(3) muscarinic acetylcholine receptor. *Biochem. J.* **2008**, *412*, 103-112.

(232) Ballesteros, J. A.; Weinstein, H. Integrated methods for the construction of three-dimensional models and computational probing of structure-function relations in an orphan G protein-coupled receptors. *Methods Neurosci.* **1995**, *25*, 366-428.

(233) Liu, C.; Wu, J.; Zhu, J.; Kuei, C.; Yu, J.; Shelton, J.; Sutton, S. W.; Li, X.; Yun, S. J.; Mirzadegan, T.; Mazur, C.; Kamme, F.; Lovenberg, T. W. Lactate inhibits lipolysis in fat cells through activation of an orphan G-protein-coupled receptor, GPR81. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 2811-2822.

(234) Henstridge, C. M.; Balenga, N. A.; Kargl, J.; Andradas, C.; Brown, A. J.; Irving, A.; Sanchez, C.; Waldhoer, M. Minireview: recent developments in the physiology and pathology of the lysophosphatidylinositol-sensitive receptor GPR55. *Mol. Endocrinol.* **2011**, *25*, 1835-1848.

(235) Obara, Y.; Ueno, S.; Yanagihata, Y.; Nakahata, N. Lysophosphatidylinositol causes neurite retraction via GPR55, G13 and RhoA in PC12 cells. *PLoS One* **2011**, *6*, e24284.

(236) Kapur, A.; Zhao, P.; Sharir, H.; Bai, Y.; Caron, M. G.; Barak, L. S.; Abood, M. E. Atypical responsiveness of the orphan receptor GPR55 to cannabinoid ligands. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 29817-29827.

(237) Anavi-Goffer, S.; Baillie, G.; Irving, A. J.; Gertsch, J.; Greig, I. R.; Pertwee, R. G.; Ross, R. A. Modulation of L-alpha-lysophosphatidylinositol/GPR55 mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling by cannabinoids. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 91-104.

(238) Sharir, H.; Abood, M. E. Pharmacological characterization of GPR55, a putative cannabinoid receptor. *Pharmacol. Ther.* **2010**, *126*, 301-313.

(239) Brown, A. J.; Daniels, D. A.; Kassim, M.; Brown, S.; Haslam, C. P.; Terrell, V. R.; Brown, J.; Nichols, P. L.; Staton, P. C.; Wise, A.; Dowell, S. J. Pharmacology of GPR55 in yeast and identification of GSK494581A as a mixed-activity glycine transporter subtype 1 inhibitor and GPR55 agonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2011**, *337*, 236-246.

(240) Schicho, R.; Storr, M. A potential role for GPR55 in gastrointestinal functions. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2012**, *12*, 653-658.

(241) Henstridge, C. M. Off-target cannabinoid effects mediated by GPR55. *Pharmacology* **2012**, *89*, 179-187.

(242) Oka, S.; Nakajima, K.; Yamashita, A.; Kishimoto, S.; Sugiura, T. Identification of GPR55 as a lysophosphatidylinositol receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**, *362*, 928-934.

(243) Okuno, T.; Yokomizo, T. What is the natural ligand of GPR55? *J. Biochem.* **2011**, *149*, 495-497.

(244) Pineiro, R.; Maffucci, T.; Falasca, M. The putative cannabinoid receptor GPR55 defines a novel autocrine loop in cancer cell proliferation. *Oncogene* **2011**, *30*, 142-152.

(245) Ryberg, E.; Larsson, N.; Sjogren, S.; Hjorth, S.; Hermansson, N. O.; Leonova, J.; Elebring, T.; Nilsson, K.; Drmota, T.; Greasley, P. J. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *152*, 1092-1101.

-
- (246) Whyte, L. S.; Ryberg, E.; Sims, N. A.; Ridge, S. A.; Mackie, K.; Greasley, P. J.; Ross, R. A.; Rogers, M. J. The putative cannabinoid receptor GPR55 affects osteoclast function in vitro and bone mass in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2009**, *106*, 16511-16516.
- (247) Henstridge, C. M.; Balenga, N. A.; Schroder, R.; Kargl, J. K.; Platzer, W.; Martini, L.; Arthur, S.; Penman, J.; Whistler, J. L.; Kostenis, E.; Waldhoer, M.; Irving, A. J. GPR55 ligands promote receptor coupling to multiple signalling pathways. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *160*, 604-614.
- (248) Staton, P. C.; Hatcher, J. P.; Walker, D. J.; Morrison, A. D.; Shapland, E. M.; Hughes, J. P.; Chong, E.; Mander, P. K.; Green, P. J.; Billinton, A.; Fulleylove, M.; Lancaster, H. C.; Smith, J. C.; Bailey, L. T.; Wise, A.; Brown, A. J.; Richardson, J. C.; Chessell, I. P. The putative cannabinoid receptor GPR55 plays a role in mechanical hyperalgesia associated with inflammatory and neuropathic pain. *Pain* **2008**, *139*, 225-236.
- (249) Balenga, N. A.; Aflaki, E.; Kargl, J.; Platzer, W.; Schroder, R.; Blattermann, S.; Kostenis, E.; Brown, A. J.; Heinemann, A.; Waldhoer, M. GPR55 regulates cannabinoid 2 receptor-mediated responses in human neutrophils. *Cell Res.* **2011**, *21*, 1452-1469.
- (250) McHugh, D.; Ross, R. A. Endogenous cannabinoids and neutrophil chemotaxis. *Vitam. Horm.* **2009**, *81*, 337-365.
- (251) Andradas, C.; Caffarel, M. M.; Perez-Gomez, E.; Salazar, M.; Lorente, M.; Velasco, G.; Guzman, M.; Sanchez, C. The orphan G protein-coupled receptor GPR55 promotes cancer cell proliferation via ERK. *Oncogene* **2011**, *30*, 245-252.
- (252) Ford, L. A.; Roelofs, A. J.; Anavi-Goffer, S.; Mowat, L.; Simpson, D. G.; Irving, A. J.; Rogers, M. J.; Rajnicek, A. M.; Ross, R. A. A role for L-alpha-lysophosphatidylinositol and GPR55 in the modulation of migration, orientation and polarization of human breast cancer cells. *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *160*, 762-771.
- (253) Rempel, V.; Volz, N.; Glaser, F.; Nieger, M.; Bräse, S.; Müller, C. E. Antagonists for the orphan G-protein-coupled receptor GPR55 based on a coumarin scaffold. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 4798-4810.
- (254) Wittenberger, T.; Schaller, H. C.; Hellebrand, S. An expressed sequence tag (EST) data mining strategy succeeding in the discovery of new G-protein coupled receptors. *J. Mol. Biol.* **2001**, *307*, 799-813.
- (255) Yousefi, S.; Cooper, P. R.; Potter, S. L.; Mueck, B.; Jarai, G. Cloning and expression analysis of a novel G-protein-coupled receptor selectively expressed on granulocytes. *J. Leukoc. Biol.* **2001**, *69*, 1045-1052.
- (256) Wang, J. H.; Wu, X. S.; Simonavicius, N.; Tian, H.; Ling, L. Medium-chain fatty acids as ligands for orphan G protein-coupled receptor GPR84. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 34457-34464.
- (257) Suzuki, M.; Takaishi, S.; Nagasaki, M.; Onozawa, Y.; Iino, I.; Maeda, H.; Komai, T.; Oda, T. Medium-chain fatty acid-sensing receptor, GPR84, is a proinflammatory receptor. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 10684-10691.

(258) Hakak, Y.; Unett, D. J.; Gatlin, J.; Liaw, C. W. Human G Protein-coupled receptor and modulators thereof for the treatment of atherosclerosis and atherosclerotic disease for the treatment of conditions related to MCP-1 expression. WO 2007/027661, 20070308, 2007.

(259) Venkataraman, C.; Kuo, F. The G-protein coupled receptor, GPR84 regulates IL-4 production by T lymphocytes in response to CD3 crosslinking. *Immunol. Lett.* **2005**, *101*, 144-153.

(260) Lattin, J. E.; Schroder, K.; Su, A. I.; Walker, J. R.; Zhang, J.; Wiltshire, T.; Saijo, K.; Glass, C. K.; Hume, D. A.; Kellie, S.; Sweet, M. J. Expression analysis of G Protein-Coupled Receptors in mouse macrophages. *Immunome Res.* **2008**, *4*, 5.

(261) Hsieh, C. S.; Macatonia, S. E.; Tripp, C. S.; Wolf, S. F.; O'Garra, A.; Murphy, K. M. Development of TH1 CD4⁺ T cells through IL-12 produced by Listeria-induced macrophages. *Science* **1993**, *260*, 547-549.

(262) Bouchard, C.; Page, J.; Bedard, A.; Tremblay, P.; Vallieres, L. G protein-coupled receptor 84, a microglia-associated protein expressed in neuroinflammatory conditions. *Glia* **2007**, *55*, 790-800.

(263) Krakowski, M. L.; Owens, T. The central nervous system environment controls effector CD4⁺ T cell cytokine profile in experimental allergic encephalomyelitis. *Eur. J. Immunol.* **1997**, *27*, 2840-2847.

(264) Labéguère, F. G.; Newsome, G. J. R.; Alvey, L. J.; Sanière, L. L. M.; Fletcher, S. R. Novel dihydropyrimidinoisoquinolinones and pharmaceutical compositions thereof for the treatment of inflammatory disorders. WO 2013/092791 A1, 20130627, 2013.

(265) Perry, K. J.; Johnson, V. R.; Malloch, E. L.; Fukui, L.; Wever, J.; Thomas, A. G.; Hamilton, P. W.; Henry, J. J. The G-protein-coupled receptor, GPR84, is important for eye development in *Xenopus laevis*. *Dev. Dyn.* **2010**, *239*, 3024-3037.

(266) Nagasaki, H.; Kondo, T.; Fuchigami, M.; Hashimoto, H.; Sugimura, Y.; Ozaki, N.; Arima, H.; Ota, A.; Oiso, Y.; Hamada, Y. Inflammatory changes in adipose tissue enhance expression of GPR84, a medium-chain fatty acid receptor: TNF α enhances GPR84 expression in adipocytes. *FEBS Lett.* **2012**, *586*, 368-372.

(267) Yonezawa, T.; Kurata, R.; Yoshida, K.; Murayama, M. A.; Cui, X.; Hasegawa, A. Free fatty acids-sensing G protein-coupled receptors in drug targeting and therapeutics. *Curr. Med. Chem.* **2013**, *20*, 3855-3871.

(268) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 3-25.

(269) Hillmann, P.; Ko, G. Y.; Spinrath, A.; Raulf, A.; von Kügelgen, I.; Wolff, S. C.; Nicholas, R. A.; Kostenis, E.; Höltje, H. D.; Müller, C. E. Key determinants of nucleotide-activated G protein-coupled P2Y₂ receptor function revealed by chemical and pharmacological experiments, mutagenesis and homology modeling. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2762-2775.

-
- (270) Ko, G. Y. Molecular Modelling Untersuchungen am humanen P2Y₂-Rezeptor und seinen Liganden. Dissertation, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, 2007.
- (271) Beyer, H.; Walter, W. *Lehrbuch der Organischen Chemie*. S. Hirzel Verlag: Stuttgart Leipzig, 23. Auflage, 1998.
- (272) Schroeter, G. Über die Acylierung von Anilin-Sulfonsäuren. *Chem. Ber.* **1906**, *39*, 1559-1570.
- (273) Sonawane, H. R.; Bellur, N. S.; Kulkarni, D. G.; Ayyangar, N. R. Photochemical-rearrangement of alpha-chloro-propiofenones to alpha-arylpropanoic acids - Studies on chirality transfer and synthesis of (S)-(+)-Ibuprofen and (S)-(+)-Ketoprofen. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 1243-1260.
- (274) Iwamoto, T.; Hiraku, Y.; Oikawa, S.; Mizutani, H.; Kojima, M.; Kawanishi, S. DNA intrastrand cross-link at the 5'-GA-3' sequence formed by busulfan and its role in the cytotoxic effect. *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 454-458.
- (275) Hilger, R. A.; Jacek, G.; Oberhoff, C.; Kredtke, S.; Baumgart, J.; Seeber, S.; Scheulen, M. E. Investigation of bioavailability and pharmacokinetics of treosulfan capsules in patients with relapsed ovarian cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2000**, *45*, 483-488.
- (276) Yan, L.; Müller, C. E. Preparation, properties, reactions, and adenosine receptor affinities of sulfophenylxanthine nitrophenyl esters: Toward the development of sulfonic acid prodrugs with peroral bioavailability. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1031-1043.
- (277) Galley, G.; Groebke Zbinden, K.; Norcross, R.; Stalder, H. Preparation of substituted benzamide derivatives for use as CNS agents. WO 2009016088 A1, 20090205, 2009.
- (278) Martz, K. E.; Dorn, A.; Baur, B.; Schattel, V.; Goettert, M. I.; Mayer-Wrangowski, S. C.; Rauh, D.; Laufer, S. A. Targeting the hinge glycine flip and the activation loop: Novel approach to potent p38 alpha inhibitors. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 7862-7874.
- (279) Zimmer, H.; Koenigkramer, R. E.; Cepulis, R. L.; Nene, D. M. Syntheses with alpha-heterosubstituted phosphonate carbanions.10. Autoxidation of the anion. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 2018-2020.
- (280) Xiao, Y.; Chen, X.; Karra, S. R.; Huck, B. R.; Sutton, A. E.; Goutopoulos, A. Preparation of naphthyridinone derivatives as Aurora kinase inhibitors. WO 2010002779 A2, 20100107, 2010.
- (281) Clark, C. R.; Lin, C. M.; Sansom, R. T. Anticonvulsant activity of 2-aminobenzanilides and 3-aminobenzanilides. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1534-1537.
- (282) Haridasan, V. K.; Ajayaghosh, A.; Pillai, V. N. R. Polymer-bound mixed carboxylic dithiocarbamic anhydrides - a new class of selective and recyclable solid-phase acylating reagents. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2662-2665.

(283) Lockemann, G.; Kugler, H. Nitrobenzoyl compounds and processes in their reduction. III. Reduction processes in nitrobenzoyl compounds of tolylhydrazines and toluidines. *Chem. Ber.* **1947**, *80*, 479-484.

(284) Zimmermann, H.; Zebisch, M.; Sträter, N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. *Purinergic Signal.* **2012**, *8*, 437-502.

(285) Sievers, F.; Wilm, A.; Dineen, D.; Gibson, T. J.; Karplus, K.; Li, W.; Lopez, R.; McWilliam, H.; Remmert, M.; Soding, J.; Thompson, J. D.; Higgins, D. G. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol. Syst. Biol.* **2011**, *7*, 539.

(286) Goujon, M.; McWilliam, H.; Li, W.; Valentin, F.; Squizzato, S.; Paern, J.; Lopez, R. A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL-EBI. *Nucleic Acids Res.* **2010**, *38*, W695-699.

(287) Beindl, W.; Mitterauer, T.; Hohenegger, M.; Ijzerman, A. P.; Nanoff, C.; Freissmuth, M. Inhibition of receptor/G protein coupling by suramin analogues. *Mol. Pharmacol.* **1996**, *50*, 415-423.

(288) Freissmuth, M.; Boehm, S.; Beindl, W.; Nickel, P.; Ijzerman, A. P.; Hohenegger, M.; Nanoff, C. Suramin analogues as subtype-selective G protein inhibitors. *Mol. Pharmacol.* **1996**, *49*, 602-611.

(289) Peters, J. U. Polypharmacology - foe or friend? *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 8955-8971.

(290) Nakade, S.; Ueda, S.; Ohno, T.; Nakayama, K.; Miyata, Y.; Yukawa, E.; Higuchi, S. Population pharmacokinetics of pranlukast hydrate dry syrup in children with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **2006**, *21*, 133-139.

(291) Spinrath, A. Development of pharmacological modulators for the orphan G protein-coupled receptor GPR17 and their application for the investigation of molecular signal transduction pathways. Dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, 2011.

(292) Barnes, N. C.; Pujet, J. C. Pranlukast, a novel leukotriene receptor antagonist: results of the first European, placebo controlled, multicentre clinical study in asthma. *Thorax* **1997**, *52*, 523-527.

(293) Toda, M.; Arai, Y.; Miyamoto, T. (Fused)benz(thio)amides. EP0173516, 19860305, 1986.

(294) Nakai, H.; Konno, M.; Kosuge, S.; Sakuyama, S.; Toda, M.; Arai, Y.; Obata, T.; Katsube, N.; Miyamoto, T.; Okegawa, T.; et al. New potent antagonists of leukotrienes C4 and D4. 1. Synthesis and structure-activity relationships. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 84-91.

(295) Geen, G. R.; Giles, R. G.; Grinter, T. J.; Hayler, J. D.; Howie, S. L. B.; Johnson, G.; Mann, I. S.; Novack, V. J.; Oxley, P. W.; Quick, J. K.; Smith, N. A direct and high yielding route to 2-(5-tetrazolyl) substituted benzopyran-4-ones: synthesis of pranlukast. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 1065-1073.

-
- (296) Kim, J. W.; Cha, Y. G.; Ryu, H. C.; Kim, S. J. Methods for preparing amide derivatives. WO 2010/002075 A1, 20100107, 2010.
- (297) Griera, R.; Armengol, M.; Reyes, A.; Alvarez, M.; Palomer, A.; Cabre, F.; Pascual, J.; Garcia, M.; Mauleon, D. Synthesis and pharmacological evaluation of new cysLT(1) receptor antagonists. *Eur. J. Med. Chem.* **1997**, *32*, 547-570.
- (298) Akama, T.; Shida, Y.; Sugaya, T.; Ishida, H.; Gomi, K.; Kasai, M. Novel 5-aminoflavone derivatives as specific antitumor agents in breast cancer. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3461-3469.
- (299) Murata, H.; Ushio, H.; Furutani, A.; Hibino, H.; Fukuda, E. Preparation of crystalline 3-amino-2-hydroxyacetophenone salt. CH 691112 A5, 20010430, 2001.
- (300) Tokuhara, G.; Yanguchi, T.; Iwasaki, T. Novel reagent for tetrazole synthesis and process for producing tetrazoles therewith. EP 0838458 A1, 19961128, 1996.
- (301) Raposo, C.; Luengo, A.; Almaraz, M.; Martin, M.; Mussons, M. L.; Caballero, M. C.; Moran, J. R. Malonic acid receptors with decarboxylative activity. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 12323-12332.
- (302) Raposo, C.; Martin, M.; Mussons, M. L.; Crego, M.; Anaya, J.; Caballero, M. C.; Moran, J. R. Chromenone derivatives as receptors for N-benzoylamino acids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1994**, 2113-2116.
- (303) Raposo, C.; Crego, M.; Mussons, M. L.; Caballero, M. C.; Moran, J. R. Readily available chromenone receptors for carboxylates. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3409-3410.
- (304) Hoveyda, H.; Fraser, G. L.; Benakli, K.; Beauchemin, S.; Brassard, M.; Drutz, D.; Marsault, E.; Ouellet, L.; Peterson, M. L.; Wang, Z. Macrocyclic ghrelin receptor modulators and methods of using the same. US20080194672A1, 20080814, 2008.
- (305) Hibino, H.; Yoshida, T. Method for producing carboxylic acid compound. EP1739071, 20070103, 2007.
- (306) Deshmukh, J. G.; Mane, R. B.; Jagdale, M. H.; Salunkhe, M. M. Polymer-supported reagents: O-alkylation of phenolic arylesters. *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents* **1987**, *6*, 89-91.
- (307) Malthete, J.; Canceill, J.; Gabard, J.; Jacques, J. Research on mesogenic substances .8. Preparation and mesomorphic properties of isometric series. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2815-2821.
- (308) Torraca, K. E.; Huang, X. H.; Parrish, C. A.; Buchwald, S. L. An efficient intermolecular palladium-catalyzed synthesis of aryl ethers. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10770-10771.
- (309) Cavill, G. W. K.; Gibson, N. A. The esters of 4-hydroxybenzoic acid and related compounds .3. Ethers of 4-hydroxybenzoic acid and their normal-alkyl esters. *J. Soc. Chem. Ind.* **1947**, *66*, 274-274.

(310) Percec, V.; Dulcey, A. E.; Balagurusamy, V. S. K.; Miura, Y.; Smidrkal, J.; Peterca, M.; Nummelin, S.; Edlund, U.; Hudson, S. D.; Heiney, P. A.; Hu, D. A.; Magonov, S. N.; Vinogradov, S. A. Self-assembly of amphiphilic dendritic dipeptides into helical pores. *Nature* **2004**, *430*, 764-768.

(311) Vasconcelos, U. B.; Dalmolin, E.; Merlo, A. A. Synthesis and thermal behavior of new N-heterotolan liquid crystals. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1027-1030.

(312) Ohkubo, M.; Kuroda, S.; Nakamura, H.; Minagawa, M.; Aoki, T.; Harada, K.; Seki, J. Preparation of β -alanine derivatives as fibrinogen receptor antagonists. WO 2001060813 A1, 20010823, 2001.

(313) Hollingworth, G. J.; Dinnell, K.; Dickinson, L. C.; Elliott, J. M.; Kulagowski, J. J.; Swain, C. J.; Thomson, C. G. A convenient method for the preparation of aryl cyclopropyl ethers from phenols. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2633-2636.

(314) Rohmann, C. S. Chemical constitution and local anesthetic action in alcamine esters of p-hydroxybenzoic ethers. *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* **1936**, *274*, 110-126.

(315) Naylor-Olsen, A. M.; Ponticello, G. S.; Vacca, J. P.; Hungate, R. W.; Coburn, C.; Phillips, B. T.; Lewis, S. D.; Fraley, M. E. Preparation of N-aralkylpyridine-4-amines and analogs as thrombin inhibitors. WO 9810763 A1, 19980319, 1998.

(316) Möller, H.; Banduhn, N. Antiseborrheic topical compositions containing aryl ethers. EP 315913 A1, 19890517, 1989.

(317) Ishii, T.; Sugane, T.; Kakefuda, A.; Takahashi, T.; Kanayama, T.; Sato, K.; Kuriwaki, I.; Kitada, C.; Suzuki, J. Preparation of piperazine-1-carboxamide and piperidine-1-carboxamide derivatives as inhibitors of fatty acid amide hydrolase (FAAH). WO 2008023720 A1, 20080228, 2008.

(318) Yoakim, C.; Guse, I.; O'Meara, J. A.; Thavonekham, B. Removable phosphine reagents for the Mitsunobu reaction. *Synlett* **2003**, 473-476.

(319) Kirsch, D. R.; Benmohamed, R.; Arvanites, A. C.; Morimoto, R. I.; Zhang, W.; Silverman, R. B. Cyclohexane-1,3-diones for use in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. WO 2011059821 A2, 20110519, 2011.

(320) Hibino, H.; Yoshida, T. Process for the preparation of carboxylic acid compound. WO 2005095319 A1, 20051013, 2005.

(321) Madsen, P.; Lundbeck, J. M.; Westergaard, N.; Naerum, L.; Varming, A. R.; Demuth, H.; Heide, M. Preparation of 4,5,6,7-tetrahydro-thieno[3,2-c]pyridines for the treatment of diseases related to glucose metabolic pathways. WO 9840385 A1, 19980917, 1998.

(322) Mase, T.; Murase, K.; Hara, H.; Tomioka, K. Preparation of phenylene derivatives as allergy inhibitors. WO 8605779 A1, 19860531, 1986.

(323) Lin, C. H.; Aristoff, P. A.; Johnson, P. D.; Mcgrath, J. P.; Timko, J. M.; Robert, A. Benzidene prostaglandins - Synthesis of optically pure 15-deoxy-U-68,215 and its

enantiomer via a modified intramolecular Wadsworth-Emmons-Wittig reaction. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5594-5601.

(324) Oriyama, T.; Noda, K.; Yatabe, K. Highly efficient and convenient methods for the direct conversion of aryl silyl ethers and aryl acetates into aryl alkyl ethers. *Synlett* **1997**, 701-703.

(325) Ilsley, W. H.; Zingaro, R. A.; Zoeller, J. H. The reactivity of ruthenium tetroxide towards aromatic and etheric functionalities in simple organic-compounds. *Fuel* **1986**, *65*, 1216-1220.

(326) Zhang, W.; Lu, Y. M. Automation of fluoruous solid-phase extraction for parallel synthesis. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 890-896.

(327) Walker, M., A.; Johnson, T., D.; Meanwell, N., A.; Banville, J. Preparation of carbamoyl keto acid tautomers as HIV integrase inhibitors for treatment of AIDS or ARC. WO 2001096283 A2, 20011220, 2001.

(328) Varma, R. S.; Rastogi, N.; Singh, A. P. Microwave assisted synthesis of 1-heterocyclic aminomethyl-3-{4'-(4"-chlorobenzyloxy)-benzoyl hydrazono}-indolin-2-ones. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **2003**, *13*, 131-134.

(329) Ferreira, P. C.; Kiyam, N. Z.; Miyata, Y.; Miller, J. Comparison of methanolysis of a series of p-benzyloxybenzoyl chlorides with that of benzoyl, p-phenoxybenzoyl, and p-methoxybenzoyl chlorides. *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2* **1976**, 1648-1651.

(330) Bouillot, A. M. J.; Bombrun, A.; Dumaitre, B. A.; Gosmini, R. L. M. Preparation of aryl piperidines and piperazines as inducers of LDL-receptor expression. WO 2002055496 A1, 20020718, 2002.

(331) Liu, L. G.; Li, C. P.; Cochran, S.; Jimmink, S.; Ferro, V. Synthesis of a Heparan sulfate mimetic library targeting FGF and VEGF via Click Chemistry on a monosaccharide template. *ChemMedChem* **2012**, *7*, 1267-1275.

(332) Schnatterer, S.; Maier, M.; Lochhaas, F.; Knauf, W.; Seeger, K. Preparation of pesticidal phenyl ether derivatives. WO 2006119876 A1, 20061116, 2006.

(333) Ishida, T.; Suzuki, T.; Hirashima, S.; Mizutani, K.; Yoshida, A.; Ando, I.; Ikeda, S.; Adachi, T.; Hashimoto, H. Benzimidazole inhibitors of hepatitis C virus NS5B polymerase: Identification of 2-[(4-diarylmethoxy)phenyl]-benzimidazole. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1859-1863.

(334) Zajac, M. A. Process for preparing α -carboxamide pyrrolidine derivatives. WO 2011029762 A1, 2011.

(335) Rosenbaum, D. M.; Zhang, C.; Lyons, J. A.; Holl, R.; Aragao, D.; Arlow, D. H.; Rasmussen, S. G.; Choi, H. J.; Devree, B. T.; Sunahara, R. K.; Chae, P. S.; Gellman, S. H.; Dror, R. O.; Shaw, D. E.; Weis, W. I.; Caffrey, M.; Gmeiner, P.; Kobilka, B. K. Structure and function of an irreversible agonist-beta(2) adrenoceptor complex. *Nature* **2011**, *469*, 236-240.

(336) Kubota, H.; Kakefuda, A.; Watanabe, T.; Ishii, N.; Wada, K.; Masuda, N.; Sakamoto, S.; Tsukamoto, S. Synthesis and pharmacological evaluation of 1-oxo-2-(3-

piperidyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines and related analogues as a new class of specific bradycardic agents possessing if channel inhibitory activity. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4728-4740.

(337) Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V. Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827-10852.

(338) Higashii, T.; Ushio, H.; Fujimoto, Y.; Matsumoto, T.; Minai, M.; Yasunaga, K.; Sogabe, H.; Kotera, T. Process of producing 2-cyano-4-oxo-4*H*-benzopyran compounds. EP 634409 A1, 19950118, 1995.

(339) Aquino, C. J.; Dickson, H.; Peat, A. J. Chemical compounds. WO2008/157330A1, 20081224, 2008.

(340) Stern, A. J.; Swenton, J. S. The unusually slow hydrolysis rate of silyl methyl ketals in benzoquinone systems - the question of siloxy stabilization of an adjacent positive charge and stereoelectronic effects on ketal hydrolysis. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2953-2958.

(341) de Jong, A. P. J. M.; Elema, J.; van de Berg, B. J. T. Gas-chromatography mass-spectrometry of tert-butyldimethylsilyl derivatives of organic acids. *Biomed. Mass Spectrom.* **1980**, *7*, 359-364.

(342) Giri, B. P.; Dagi, D.; Singh, P. New ultra-sensitive chemiluminescent substrates for enzymes and their conjugates. WO2006/073424A2, 20060713, 2006.

(343) Thimm, D.; Funke, M.; Meyer, A.; Müller, C. E. 6-Bromo-8-(4-[³H]methoxybenzamido)-4-oxo-4*H*-chromene-2-carboxylic acid: a powerful tool for studying orphan G protein-coupled receptor GPR35. *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 7084-7099.

(344) Debbabi, K.; Beji, M.; Baklouti, A. Alkylation of sulphamic esters by 4-fluorobenzyl bromide. *Phosphorus Sulfur* **2005**, *180*, 1545-1551.

(345) Catalano, A.; Carocci, A.; Defrenza, I.; Muraglia, M.; Carrieri, A.; Van Bambeke, F.; Rosato, A.; Corbo, F.; Franchini, C. 2-Aminobenzothiazole derivatives: Search for new antifungal agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *64*, 357-364.

(346) de Candia, M.; Liantonio, F.; Carotti, A.; De Cristofaro, R.; Altomare, C. Fluorinated benzyloxyphenyl piperidine-4-carboxamides with dual function against thrombosis: Inhibitors of Factor Xa and platelet aggregation. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1018-1028.

(347) Hibino, H.; Ohtsuka, S.; Miyamoto, Y.; Yoshida, T.; Okumoto, I. Process for producing chromone compound. WO2003080555, 20031002, 2003.

(348) Carganico, G.; Mauleon Casellas, D.; Pascual Avellana, J.; Garcia Perez, M. L.; Palomer Benet, A. Preparation of aryloxobenzopyrancarboxylate derivatives as leukotriene antagonists. WO 9734885 A1, 19970925, 1997.

(349) Spearman, C. Correlation calculated from faulty data. *Brit. J. Psychology*, 1904-1920 **1910**, *3*, 271-295.

-
- (350) Deng, H.; Hu, J.; Hu, H.; He, M.; Fang, Y. Thieno[3,2-b]thiophene-2-carboxylic acid derivatives as GPR35 agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 4148-4152.
- (351) Sinhababu, A. K.; Kawase, M.; Borchardt, R. T. Tert-butyldimethylsilyl ethers of phenols - their one-step conversion to benzyl or methyl ethers and utility in regioselective ortho-lithiation. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 4139-4142.
- (352) Goodman, R. R.; Cooper, M. J.; Gavish, M.; Snyder, S. H. Guanine nucleotide and cation regulation of the binding of [³H]cyclohexyladenosine and [³H]diethylphenylxanthine to adenosine A₁ receptors in brain membranes. *Mol. Pharmacol.* **1982**, *21*, 329-335.
- (353) Mong, S.; Wu, H. L.; Hogaboom, G. K.; Clark, M. A.; Crooke, S. T. Characterization of the leukotriene D₄ receptor in guinea-pig lung. *Eur. J. Pharmacol.* **1984**, *102*, 1-11.
- (354) Schloos, J.; Wellstein, A.; Palm, D. Agonist binding at alpha 2-adrenoceptors of human platelets using 3H-UK-14,304: regulation by Gpp(NH)p and cations. *Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **1987**, *336*, 48-59.
- (355) Slipetz, D. M.; O'Neill, G. P.; Favreau, L.; Dufresne, C.; Gallant, M.; Gareau, Y.; Guay, D.; Labelle, M.; Metters, K. M. Activation of the human peripheral cannabinoid receptor results in inhibition of adenylyl cyclase. *Mol. Pharmacol.* **1995**, *48*, 352-361.
- (356) Bruns, R. F.; Lu, G. H.; Pugsley, T. A. Characterization of the A₂ adenosine receptor labeled by [³H]NECA in rat striatal membranes. *Mol. Pharmacol.* **1986**, *29*, 331-346.
- (357) Chin, C. N.; Lucas-Lenard, J.; Abadji, V.; Kendall, D. A. Ligand binding and modulation of cyclic AMP levels depend on the chemical nature of residue 192 of the human cannabinoid receptor 1. *J. Neurochem.* **1998**, *70*, 366-373.
- (358) Igel, P.; Geyer, R.; Strasser, A.; Dove, S.; Seifert, R.; Buschauer, A. Synthesis and structure-activity relationships of cyanoguanidine-type and structurally related histamine H₄ receptor agonists. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6297-6313.
- (359) Tunaru, S.; Kero, J.; Schaub, A.; Wufka, C.; Blaukat, A.; Pfeffer, K.; Offermanns, S. PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect. *Nat. Med.* **2003**, *9*, 352-355.
- (360) Kenakin, T. Functional selectivity through protean and biased agonism: who steers the ship? *Mol. Pharmacol.* **2007**, *72*, 1393-1401.
- (361) Urban, J. D.; Clarke, W. P.; von Zastrow, M.; Nichols, D. E.; Kobilka, B.; Weinstein, H.; Javitch, J. A.; Roth, B. L.; Christopoulos, A.; Sexton, P. M.; Miller, K. J.; Spedding, M.; Mailman, R. B. Functional selectivity and classical concepts of quantitative pharmacology. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *320*, 1-13.
- (362) Edwards, M. P.; Price, D. A. Role of physicochemical properties and ligand lipophilicity efficiency in addressing drug safety risks. *Annu. Rep. Med. Chem.* **2010**, *45*, 380-391.

(363) Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3714-3717.

(364) Kuntz, I. D.; Chen, K.; Sharp, K. A.; Kollman, P. A. The maximal affinity of ligands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, *96*, 9997-10002.

(365) Leeson, P. D.; Springthorpe, B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6*, 881-890.

(366) Eisenhauer, H. R.; Link, K. P. Studies on 4-hydroxycoumarins .14. The reaction of 4-hydroxycoumarin with aromatic acid chlorides. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 2046-2049.

(367) Elandaloussi, E. H.; Somogyi, A.; Padias, A. B.; Bates, R. B.; Hall, H. K. Resequencing of comonomer units of well-defined vectra oligomers during MALDI-TOF mass spectral measurements. *Macromolecules* **2006**, *39*, 6913-6923.

(368) Nordstedt, C.; Fredholm, B. B. A modification of a protein-binding method for rapid quantification of cAMP in cell-culture supernatants and body fluid. *Anal. Biochem.* **1990**, *189*, 231-234.

(369) Thimm, D.; Knospe, M.; Abdelrahman, A.; Moutinho, M.; Alsdorf, B. B.; von Kugelgen, I.; Schiedel, A. C.; Müller, C. E. Characterization of new G protein-coupled adenine receptors in mouse and hamster. *Purinergic Signal.* **2013**, *9*, 415-426.

(370) Thimm, D.; Schiedel, A. C.; Sherbiny, F. F.; Hinz, S.; Hochheiser, K.; Bertarelli, D. C.; Maass, A.; Müller, C. E. Ligand-specific binding and activation of the human adenosine A(2B) receptor. *Biochemistry* **2013**, *52*, 726-740.

(371) Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; Randall, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **1951**, *193*, 265-275.