

Synthese und Strukturoptimierung der antimykobakteriellen Leitstrukturen Chlorflavonin und
KSK104

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Alexander Berger
aus Leverkusen

Düsseldorf, Juli 2021

Aus dem Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Berichtersteller:

1. Univ.-Prof. Dr. Thomas Kurz
2. Univ.-Prof. Dr. Rainer Kalscheuer

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Oktober 2021

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere an Eides Statt, dass die Dissertation von mir selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe unter Beachtung der „Grundsätze zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf“ erstellt worden ist. Die Dissertation wurde in der vorgelegten oder in ähnlicher Form noch bei keiner anderen Institution eingereicht. Ich habe bisher keine erfolglosen Promotionsversuche unternommen.

Düsseldorf, den _____

Alexander Berger

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum vom Oktober 2017 bis Dezember 2020 am Institut für „Pharmazeutische und Medizinische Chemie“ der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Thomas Kurz angefertigt.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Thomas Kurz für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, der interessanten Themenstellungen und vorbildlichen Betreuung. Für das entgegengebrachte Vertrauen und die gewährten Freiräume bei der Planung und Durchführung der experimentellen Arbeiten im Rahmen der Forschungsprojekte sowie die Unterstützung bei Problemstellungen möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

Bei Herrn Prof. Dr. Rainer Kalscheuer möchte ich mich für die freundliche Übernahme des Korreferats bedanken.

Für die Durchführung der biologischen Testungen sowie einer sehr produktiven und harmonischen Kooperation möchte ich mich bei Dr. Lasse van Geelen und Anna-Lene Kiffe-Delf bedanken. Bei Dr. Björn Burckhardt möchte ich mich für die fachliche Unterstützung und die Durchführungen der GC/MS Messungen zur Vorbereitung der pharmakokinetischen Untersuchungen bedanken.

Bei Maria Breuer und Mohanad Aian möchte ich mich für die Aufnahme der NMR-Spektren, bei Dr. Peter Tommes und Ralf Bürgel für die Durchführung der Massenspektrometrie und bei Gaby Zerta für die Messung der Elementaranalysen bedanken.

Beate und Petra danke ich für die hervorragende technische und experimentelle Unterstützung sowie die Darstellung von Ausgangsmaterialien und Substanzen. Ganz besonders möchte ich mich bei allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Fabian, Hendrik, Leandro, Marc, Mona, Oliver, Talea, Saskia, Stefan, Vitalij und Yodita für die fachliche Unterstützung sowie einer angenehmen und produktiven Arbeitsatmosphäre bedanken.

Meinen größten Dank gilt meinen Eltern Beate und Reiner, die mit ihrer harten unermüdlichen Arbeit mein Studium ermöglicht und mich mein ganzes Leben unterstützt haben.

Vom ganzen Herzen möchte ich meiner lieben Ehefrau Adrianna für Ihre Unterstützung und emotionalen Rückhalt während der gesamten Promotion danken.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Familie und Freunden, Biene, Danuta, Hanna, Justin, Klaus, Konrad, Lukas, Marvin, Marzena, Philipp und Torsten, für ihre Unterstützung, Rat und Hilfe bedanken.

Abschließend möchte ich mich bei allen Freunden und Menschen bedanken, die mich im Laufe meines Lebens beraten, unterstützt und begleitet haben.

Vielen Dank!

Für meine Familie!

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungen	1
2	Einleitung	9
2.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	9
2.2	Tuberkulose	14
2.2.1	Epidemiologie.....	14
2.2.2	Infektionsverlauf, Diagnose und Chemotherapie	16
2.3	Antibakterielle Wirkstoffziele.....	22
2.3.1	Inhibition des Zellmetabolismus.....	23
2.3.2	Inhibition der Zellwandbiosynthese.....	25
2.3.3	Inhibition der Proteinbiosynthese.....	27
2.3.4	Inhibition der Nukleinsäure Transkription und Replikation	28
2.3.5	Interaktion mit der Plasmamembran.....	30
2.4	Antibiotika-Resistenzen	31
2.4.1	Reduzierte Membranpermeabilität und aktiver Efflux.....	34
2.4.2	Inaktivierung und Modifikation des Wirkstoffs	35
2.4.3	Modifikation des Wirkstoffziels	37
2.5	Chlorflavonin (1).....	38
2.5.1	Flavonoide	38
2.5.2	Das natürliche Flavonoid Chlorflavonin (1).....	41
3	Zielsetzung.....	49
3.1	Chlorflavonin (1).....	49
3.2	Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur <i>KSK104</i> (3a)	50
4	Ergebnisse und Diskussion	53
4.1	Darstellung von Chlorflavonin (1) und Chlorflavonin-Analoga	53
4.1.1	Kenntnisstand	53
4.1.2	Erster Versuch der Darstellung von Chlorflavonin (1).....	58
4.1.3	Zweiter Versuch der Darstellung von Chlorflavonin (1).....	70
4.1.4	Methode zur Darstellung von Chlorflavonin (1).....	79
4.1.5	Untersuchung der Stabilität von Chlorflavonin (1).....	103
4.1.6	Strukturmodifikation von Chlorflavonin (1).....	103
4.1.6.1	Die Bindungsrolle von Halogen-Substituenten in der medizinischen Chemie.....	104
4.1.6.2	Geplante Strukturmodifikation von Chlorflavonin	105
4.1.6.3	Darstellung der Chlorflavonin-Analoga	106
4.1.7	Bestimmung der antimykobakteriellen <i>in vitro</i> Aktivitäten der Chlorflavonin-Analoga.....	115

4.1.8	Antimykobakterielle <i>in vitro</i> Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der dargestellten Chlorflavonin-Analoga.....	116
4.2	Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur <i>KSK104 (3a)</i>	121
4.2.1	Antimykobakterielle Eigenschaften der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur <i>KSK104 (3a)</i>	121
4.2.1.1	Kenntnisstand der antimykobakteriellen Eigenschaften von α -Aminooxycarbonsäure-Derivaten.....	123
4.2.1.2	Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur <i>KSK104 (3a)</i>	125
4.2.2	Strukturmodifikation der Alkoxyamid-Funktionalitäten 1 und 2.....	127
4.2.2.1	Vorarbeiten	127
4.2.2.2	Darstellung von <i>N</i> -alkylierten- <i>KSK104</i> -Analoga	131
4.2.2.3	Darstellung von <i>KSK104</i> -Amid-Analoga	137
4.2.2.4	Darstellung von kettensubstituierten <i>KSK104</i> -Analoga.....	138
4.2.2.5	Versuchte Darstellung von <i>KSK104-N</i> -Acetylhydrazon- und -Hydrazid-Analoga.....	145
4.2.3	Darstellung der Region C <i>KSK104</i> -Analoga	147
4.2.3.1	Darstellung der Region C Anilid-, Benzhydrazid-, <i>O</i> -Phenylhydroxylamin- und Phenylhydrazin- <i>KSK104</i> -Analoga.....	147
4.2.3.2	Strukturmodifikation der Region C.....	149
4.2.3.3	Darstellung der benötigten Hydroxylamine	150
4.2.3.4	Darstellung der Region C <i>KSK104</i> -Analoga	151
4.2.4	Darstellung der Region A <i>KSK104</i> -Analoga	153
4.2.5	Bestimmung der antimykobakteriellen <i>in vitro</i> Aktivitäten der <i>KSK104</i> -Analoga	154
4.2.6	Antimykobakterielle <i>in vitro</i> Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der dargestellten <i>KSK104</i> -Analoga	154
4.2.6.1	Antimykobakterielle <i>in vitro</i> Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der in Region B modifizierten <i>KSK104</i> -Analoga	154
4.2.6.2	Antimykobakterielle <i>in vitro</i> Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der in Region C modifizierten <i>KSK104</i> -Analoga	158
4.2.6.3	Antimykobakterielle <i>in vitro</i> Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der in Region A modifizierten <i>KSK104</i> -Analoga	162
4.2.6.4	Diskussion der antimykobakteriellen <i>in vitro</i> Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der <i>KSK104</i> -Analoga.....	162
4.2.7	Darstellung von chemischen Sonden zur Lokalisierung und Identifikation des Wirkstoffziels.....	164
4.2.8	Präklinische Formulierungen von <i>KSK104 (3a)</i>	172
4.2.9	Untersuchung der Stabilität von <i>KSK104 (3a)</i>	173
4.2.10	Darstellung des <i>KSK104-d₅</i> -Analogons 176	174

5	Zusammenfassung.....	176
5.1	Chlorflavonin (1).....	176
5.2	Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur <i>KSK104</i> (3a).....	181
6	Experimentaltteil.....	193
6.1	Material und Methoden.....	193
6.2	Allgemeine Synthesevorschriften (ASV).....	196
6.2.1	ASV. 1: Einführung der MOM-Schutzgruppe.....	196
6.2.2	ASV. 2: Darstellung der Flavonole im sequenziellen Eintopfverfahren.....	205
6.2.3	ASV. 3: Methylierung der Flavonole.....	217
6.2.4	ASV. 4: Acidolyse der MOM-Schutzgruppe.....	228
6.2.5	ASV. 5: Ruthenium-katalysierte <i>ortho</i> -C(sp ²)-H-Hydroxylierung.....	237
6.2.6	ASV. 6: Alkylierung von Boc-geschütztem O-Benzylhydroxylamin.....	248
6.2.7	ASV. 7: Acidolyse der <i>tert</i> -Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe.....	251
6.2.8	ASV. 8: Darstellung von O-alkylierten Hydroxylaminen über die analoge GABRIEL-Synthese.....	255
6.2.9	ASV. 9: Darstellung von O-alkylierten Hydroxylaminen über die analoge MITSUNOBU-Reaktion.....	271
6.2.10	ASV. 10: Aktivierung von Carbonsäuren durch Peptidkupplungsreagenzien.....	274
6.2.11	ASV. 11: Aktivierung von Carbonsäuren durch IBCF.....	316
6.2.12	ASV. 12: Kupfer-katalysierte Azid-Alkin 1,3-dipolare Cycloaddition.....	319
6.3	Synthesevorschriften: Chlorflavonin und Chlorflavonin-Analoga.....	321
6.4	Synthesevorschriften: <i>KSK104</i> und <i>KSK104</i> -Analoga.....	340
7	Literaturverzeichnis.....	372

1 Abkürzungen

18-Krone-6	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecan
22Rv1	humane Prostatakarzinom Zelllinie
30S	ribosomale kleine 30S-Untereinheit
4-DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
50S	ribosomale große 50S-Untereinheit
Å	Ångström [10 ⁻¹⁰ m]
AcOH	Essigsäure
ADME	Aufnahme, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung
ADP	Adenosindiphosphat
AFO	ALGAR-FLYNN-OYAMADA
AG	Arabinogalactan
AGP	Peptidoglycan-Arabinogalactan Komplex
AHAS	Acetohydroxysäure Synthase
AME	Aminoglycosid-modifizierende Enzyme
AMP	Adenosinmonophosphat
APCI	Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Äq.	Äquivalent
ATP	Adenosintriphosphat
ATP6V1A	Protonenpumpe
A.U.C	Fläche unter der Kurve (<i>area under the curve</i>)
BCAA	verzweigt-kettigen-Aminosäuren
BCG	<i>M. bovis</i> bacille CALMETTE-GUÉRIN
BDQ	Bedaquilin
BIES	basen-assistierte intramolekulare Substitution von elektrophiler Art
Bn	Benzylether
BnCl	Benzylchlorid
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
BocO ₂	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
br s	breites Singulett
Bu ₃ SnH	Tributylzinnhydrid
CALS	katabolische Acetohydroxysäure Synthase
CBT	Chinolonbindetasche

Abkürzungen

CD4 ⁺ T	CD4 ⁺ T-Lymphozyten
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol
CFU	Koloniebildende Einheit
CISH	<i>cytokine-inducible SH2-containing protein</i>
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
CMD	konzertierten Metallierung-Deprotonierung
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin 1,3-dipolare Cycloaddition
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCE	1,2-Dichlorethan
DCS	D-Cycloserin
Ddn	Nitroreduktase
dest.	destilliert
DG	dirigierende Gruppe
DHP	3,4-Dihydro-2H-pyran
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DIBAL-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMD	Delamanid
DMDO	Dimethyldioxiran
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMG	<i>ortho</i> -dirigierenden Gruppe
DMS	Dimethylsulfat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNS Gyrase	Topoisomerase II
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DoM	dirigierende <i>ortho</i> -Metallierung
dppf	1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen
EC	Enzymklasse (<i>enzyme class</i>)
EDC·HCl	3-(Ethyliminomethylidenamino)- <i>N,N</i> -dimethyl-propan-1-amin Hydrochlorid
EDTA-Na ₂	Dinatriumethylendiamintetraacetat
EIS	<i>enhanced intracellular survival</i>
EMA	Europäische Arzneimittel-Agentur
EMB	Ethambutol
EmbA-C	Arabinosyltransferase A-C
ESI	Elektrosprayionisation

Abkürzungen

EsxA	<i>early secretory antigenic target</i>
EtOAc	Essigsäureethylester
EtOH	Ethanol
F ₁ F ₀ -ATP	ATP-Synthase
FAD	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FAS-I	Typ I Fettsäure-Synthase
FAS-II	Typ II Fettsäure-Synthase
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GC/MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
Gew.-%	Gewichtsprozent
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluor-phosphat
HepG2	<i>Human Liver Cancer cell line</i>
hept.	Heptett
HGT	horizontaler Gentransfer
HIV	Humane Immundefizienz-Virus
HM	Hydrazin Monohydrat
HPLC	Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie
HPOS	protonierte Pyrazincarbonsäure
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie
HSQC	<i>Heteronuclear Single-Quantum Correlation</i>
IBCF	Chlorameisensäureisobutylester
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IGRA	Interferon- γ -Freisetzungstest
iLOGP	prognostizierter <i>n</i> -Octanol/Wasser Verteilungskoeffizient
IlvB1	katalytische Untereinheit der Acetohydroxysäure Synthase
IlvB2	katalytische Untereinheit der Acetohydroxysäure Synthase
IlvG	katalytische Untereinheit der Acetohydroxysäure Synthase
IlvN	regulatorische Untereinheit der Acetohydroxysäure Synthase
IlvX	katalytische Untereinheit der Acetohydroxysäure Synthase
IM	Intermediat
INH	Isoniazid
InhA	Enoyl-Acyl-Träger-Proteins Reduktase
IR	Infrarot-Spektroskopie
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
<i>J</i>	Kopplungskonstante [Hz]
<i>k</i>	Geschwindigkeitskonstante [s ⁻¹]

Abkürzungen

kat.	katalytisch
Kat.	Katalysator
KatG	Katalase-Peroxidase Enzym
kDa	Kilodalton [1000 Da]
KIE	kinetischer Isotopeneffekt
kJ	Kilojoule [1000 J]
konz.	konzentriert
KPS	Kaliumperoxodisulfat
LAM	Lipoarabinomannan
LDA	Lithiumdiisopropylamid
Lit.	Literatur
LM	Lipomannan
$\log P_{OW}$	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
Lsm.	Lösungsmittel
LSU	große katalytische Untereinheit
LTBI	Latente Tuberkulose Infektion
<i>m</i> -CBPA	<i>meta</i> - Chlorperbenzoesäure
M	Molar [mol/L]
m	Multipllett
<i>M. tb.</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
ManLAM	Mannose glykosyliertes Lipoarabinomannan
MDR	multiresistente
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MesCO ₂	Mesitylcarboxylat
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
MHK ₉₀	Minimale Hemmkonzentration einer Substanz, welche die Vermehrung der getesteten Stämme um mindestens 90 % reduziert
Miglyol® 812	Decanoyl- und Octanoylglyceride
MmpL3	Membrantransporter
mol	Mol
Mol%	Molprozent
MOM	Methoxymethylether
MOMCl	(Chlormethyl)methylether
MRC-5	<i>Medical Research Council cell strain 5</i>
mRNS	<i>messenger</i>

Abkürzungen

MS	Massenspektrometrie
MTBK	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Komplex
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid
NADP ⁺	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NAG	<i>N</i> -Acetylglucosamin
NAM	<i>N</i> -Acetylmuraminsäure
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NEt ₃	Triethylamin
NHPI	<i>N</i> -Hydroxyphthalimid
nm	Nanometer [10 ⁻⁹ m]
NMM	<i>N</i> -Methylmorpholin
NMP	1-Methylpyrrolidin-2-on
NMR	Kernspinresonanz
NTM	nicht-tuberkulösen Mykobakterien
OM	Äußere Membran (<i>outer membrane</i>)
OTf	Triflat
Oxon [®]	Kaliummonopersulfat Tripelsalz
p. a.	<i>pro analysi</i>
PAMM	Pathogen-assoziierte molekulare Muster
<i>p</i> -Cymol	4-Isopropyltoluol
Pd(OAc) ₂	Palladium(II)-acetat
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PDIM	Phthioceroldimykerosol
PEG	Polyethylenglycol
PET-CT	Positronen-Emissions-Tomographie Computertomographie
PFP	Pentafluorphenol
PGL	phenolische Glykolipide
Ph	Phenyl
Ph. Eur. 10.1	Europäisches Arzneibuch 10. Ausgabe, 1. Nachtrag
PhI(TFA) ₂	[Bis-(trifluoracetoxy)-iod]-benzen
PI	Phosphatidylinositol
PIDA	Phenylod(III)diacetat
PIFA	(Bis(trifluoracetoxy)iod)benzen
PIM	Phosphatidylinositolmannoside
pK _s	Säurekonstante
PM	innere Plasmamembran

Abkürzungen

PMD	Pretomanid
PNP	<i>para</i> -Nitrophenol
POS	Pyrazincarbonsäure
ppm	<i>parts per million</i>
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
PZA	Pyrazinamid
q	Quartett
QRDR	Chinolon Resistenz-bestimmende Region
quin.	Quintett
Rab5	<i>Ras-related protein</i>
R_f	Retentionsfaktor
RIF	Rifampicin
RNS	Ribonukleinsäure
RpoB	bakterielle DNS-abhängige RNS-Polymerase
RR	Rifampicin-Resistenz
RRDR	Rifampicin Resistenz-bestimmende Region
rRNS	ribosomale Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur [20 °C]
R_t	Retentionszeit
<i>Rv0552</i>	Gen Amidohydrolase
s	Singulett
SAR	Struktur-Aktivitäts-Beziehung (<i>structure-activity relationship</i>)
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat Polyacrylamidgelelektrophorese
S_{EAr}	elektrophile aromatische Substitution
<i>Selectfluor</i> [™]	1-Chlormethyl-4-fluor-1,4-diazonia bicyclo[2.2.2]octanebis(tetrafluorborat)
SI	Selektivitätsindex
SG	Schutzgruppe
SGL	Sulfoglycolipide
SSU	kleine regulatorische Untereinheit
t	Triplett
T7SS/ESX-1	<i>early secretory antigenic target</i> Typ VII Sekretionssystem
TB	Tuberkulose
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TBAHS	Tetrabutylammoniumhydrogensulfat
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBHP	<i>tert</i> -Butylhydroperoxid

Abkürzungen

TDM	Trehalose-di-Mykolat
Temp.	Temperatur [°C]
Tf	Trifluormethansulfonat
TFA	Trifluoressigsäure
TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
ThDP	Thiamindiphosphat
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyranylether
THP-1	<i>Human Acute Monocytic Leukemia cell line</i>
THT	Tuberkulin-Hauttest
TLR	<i>Toll-like</i> Rezeptor
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethylethylendiamin
TMM	Trehalose-mono-Mykolat
TNF- α	Tumornekrosefaktor Alpha
Transcutol® HP	2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol
Triton B®	Benzyltrimethylammoniumhydroxid
tRNS	Transfer-Ribonukleinsäure
Tween® 20	Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monolaurat
Tween® 80	Polyoxyethylen(20)-sorbitan-monooleat
USD	US-Dollar
v/v	Volumenprozent
VdW	van-der-WAALS
WHO	Weltgesundheitsorganisation
XDR	extensiv resistente
α -AOA	α -Aminooxycarbonsäure
δ	chemische Verschiebung [ppm]
μ M	Mikromolar [10^{-6} mol/L]
σ BM	σ -Bindungs-Metathese

2 Einleitung

2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

Das Genus *Mycobacterium* umfasst eine breite Gruppe säurefester Bakterien, von denen einige Vertreter Tier- und Human-Pathogene darstellen.^[1] Basierend auf den grundlegenden Unterschieden in Epidemiologie, Krankheitsassoziation und der Möglichkeit *in vitro* zu replizieren, werden Mykobakterien in vier Gruppen eingeteilt: Dem *Mycobacterium tuberculosis* Komplex (MTBK), *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium ulcerans* und in die nicht-tuberkulösen Mykobakterien (NTM). Dem MTBK werden die Mykobakterien *M. tuberculosis* (*M. tb.*), *M. bovis*, *M. bovis* bacille CALMETTE-GUÉRIN (BCG), *M. caprae*, *M. africanum*, *M. pinnipedii*, *M. microti*, *M. orygis*, *M. mungi* und *M. canettii* zugeordnet.^[2] Charakteristisch für diese Gruppe ist ein langsames Wachstum mit einer Verdopplungszeit von 12 bis 24 Stunden, selbst unter optimalen Bedingungen.^[3] Zudem weisen ihre Vertreter eine Übereinstimmung von 99 % in der Nukleotidsequenz des Erbguts und eine identische 16S rRNS Gensequenz auf.^[1,4,5] Trotz dieser Ähnlichkeiten unterscheiden sich die Mitglieder des MTBK signifikant in Pathogenität, Phänotyp und Wirtstropismus.^[5]

Die Gensequenzierung archäologischer Funde von prähistorischen Tuberkulose-Opfern ermöglichte einen genaueren Blick auf die gemeinsame Geschichte zwischen dem Menschen und dem MTBK. Mit Hilfe von Koaleszenz-Analysen konnte gezeigt werden, dass der MTBK vor ungefähr 70.000 Jahren zum ersten Mal in der Menschheitsgeschichte auftrat. Seit dieser Zeit haben die Vertreter des MTBK den anatomisch modernen Menschen bei seiner Migration aus Afrika begleitet und waren in der Lage mit der Zunahme der Populationsdichte im Neolithikum zu expandieren. Diese Coevolution zeigt, dass der MTBK stets in der Lage war, sich an die Veränderungen in der Menschheitsgeschichte anzupassen.^[6]

Von den Pathogenen des MTBK, welche den Menschen befallen, ist *M. tb.* der bedeutendste Vertreter. Bei diesem handelt es sich um ein stäbchenförmiges, nicht-sporenbildendes, unbewegliches und Gram-positives Bakterium,^[2] welches unter mikroaerophilen Bedingungen wächst.^[7] Das *M. tb.* ist ein prototrophes, metabolisch flexibles Bakterium,^[8] dessen Ausbreitung in der Weltbevölkerung einmalig ist und daher als eines der erfolgreichsten Pathogene in der Menschheitsgeschichte gilt.^[9] Dieser Erfolg basiert auf der außergewöhnlichen Anpassungsfähigkeit an die Veränderungen der äußeren Umwelteinflüsse während des Krankheitsverlaufs. Zudem weist *M. tb.* eine ausgeprägte Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen^[10] und physikalischen Umwelteinflüssen auf, sowie die Fähigkeit sich an Nährstoffmangel, Hypoxie und verschiedene exogene Belastungen anpassen zu können.^[8]

Einen besonderen Beitrag zur Erfolgsstrategie des *M. tb.* leistet der komplexe physiologische Aufbau der Zellhülle, welcher sich von anderen Prokaryoten unterscheidet.^[11] Die Zellhülle besteht aus vier Hauptschichten (Abbildung 1): (I) Der inneren Plasmamembran (PM), welche eine typische bakterielle Zellmembran darstellt;^[12] (II) dem Zellwandkern (AGP); (III) eine asymmetrische äußere Membran bzw. Mykomembran (OM) und (IV) die äußerste Hülle.^[10,11] Der Zellwandkern besteht aus Peptidoglycanen, welche kovalent über verbrückende Phosphoryl-*N*-acetylglucosaminosylrhamnosyl Einheiten mit Arabinogalactanen (AG) verbunden sind und somit den Peptidoglycan-Arabinogalactan Komplex (AGP) bilden. Das Arabinogalactan ist zusätzlich mit langkettigen (C₇₀-C₉₀) α -Alkyl, β -Hydroxyfettsäuren, die als Mykolsäuren bezeichnet werden und die äußere lipophile Mykomembran darstellen, verestert.^[10] In der Mykomembran sind verschiedene, nicht-kovalent gebundene Lipide und Lipoglycane wie die Phosphatidylinositolmannoside (PIMs), phenolische Glykolipide (PGLs), Phthioceroldimykokerosate (PDIMs), Sulfoglycolipide (SGL), Trehalose-mono- (TMM) und di-Mykolat (TDM), Lipoarabinomannan (LAM) und Lipomannan (LM), sowie (Lipo)proteine die zusätzlich glykosyliert vorliegen können, eingelagert.^[11-13] Die Lipoglycane, LAM und LM sind wichtige immunmodulatorische Moleküle, die an verschiedene Rezeptoren des Immunsystems binden können und somit die Immunreaktion des Wirts regulieren.^[14-16] Mit Mannose glykosyliertes LAM (ManLAM) ist ein weiterer wichtiger Virulenzfaktor des *M. tb.*, welcher das Anheften und den späteren Eintritt des Pathogens in die Makrophagen vermittelt.^[14-16] Die äußerste Hülle besteht im Wesentlichen aus einer Variation von nicht-kovalent gebundenen (Glyco)lipiden, Polysacchariden, Lipoglycane und Proteinen, inklusive der porenbildenden Proteine.^[10]

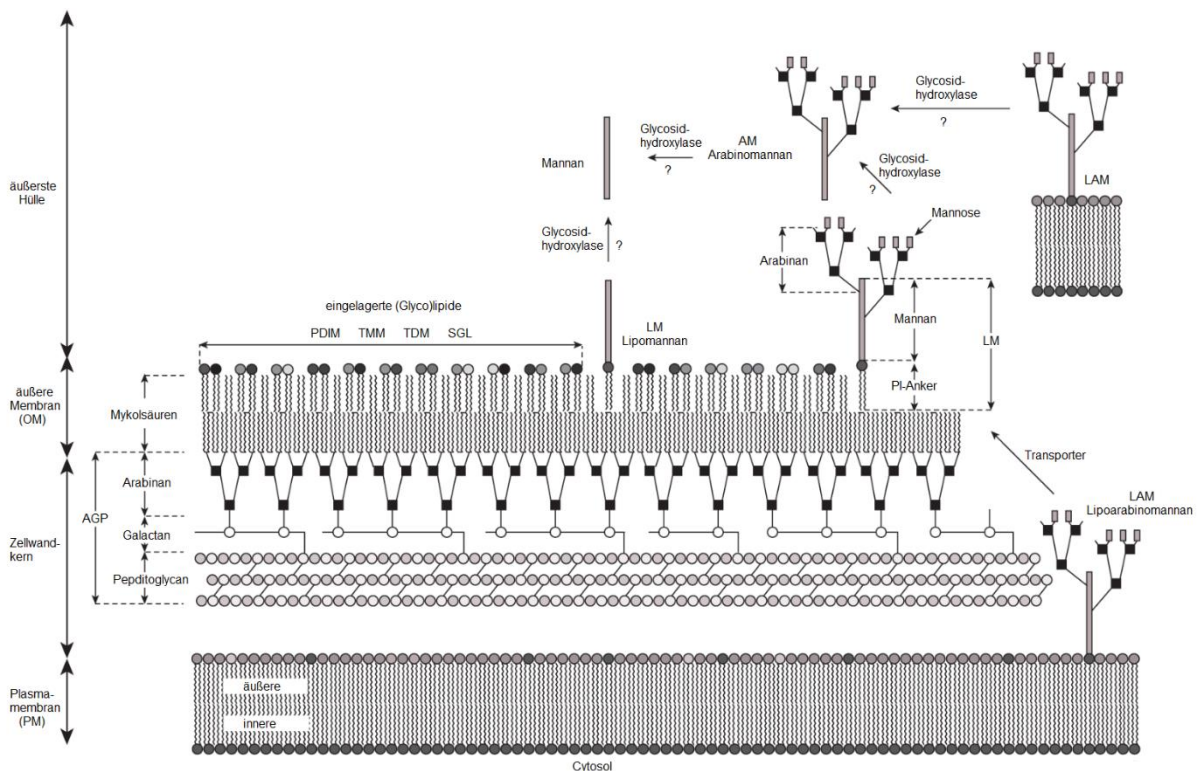


Abbildung 1: Schematischer Aufbau der Zellhülle des *M. tb.* bestehend aus den vier Hauptschichten: (I) Der inneren Plasmamembran (PM), welche eine typische bakterielle Zellmembran darstellt;^[12] (II) dem Zellwandkern der aus einem Peptidoglycan-Arabinogalactan Komplex besteht (AGP); (III) einer asymmetrischen äußeren Membran (OM) bzw. Mykomembran mit an Phosphatidylinositol (PI) verankertem Mannan^[17] und eingelagerten nicht kovalent gebundenen Lipiden und Lipoglycanen; (IV) der äußersten Hülle, welche hauptsächlich aus neutralen Polysacchariden besteht. Entnommen aus KALSCHUEER *et al.* und modifiziert.^[11]

Ein Hauptbestandteil der Zellhülle von Mykobakterien sind die einzigartigen Mykolsäuren, die einen wichtigen Beitrag zum zellulären Überleben des Pathogens leisten. Die Biosynthese der Mykolsäuren erfolgt durch die Multienzym-Komplex Typ I Fettsäure-Synthase (FAS-I) und der disaggregierten Synthase System Typ II Fettsäure-Synthase (FAS-II).^[18] In einer sich neun- bis zwölfmal wiederholenden Reaktionssequenz werden zunächst die gesättigten α -Alkylketten (C_{20} - C_{26}) durch die FAS-I synthetisiert.^[18,19] Es folgt die Elongation des Präkursors durch die FAS-II zu den Meromycoloyl-Ketten (C_{40} - C_{60}) und die anschließende Carboxylierung der α -Kette durch die Acyl-CoA Carboxylase.^[19] Danach erfolgt durch Desaturasen, Dehydratasen, Isomerasen und Methyltransferasen die Modifizierung der proximalen und distalen Enden der Meromycoloyl-Ketten bei denen Doppelbindungen, Cyclopropyl-, Methoxy- und Ketofunktionalitäten eingeführt werden.^[18-20] Die fertigen Mykolsäuren entstehen durch eine CLAISEN-Kondensation von α - und Meromycoloyl-Kette, welche von den Enzymen Acyl-AMP Ligase und Polyketid Synthase katalysiert wird.^[18] Als Trehalose-Ester werden die Mykolsäuren vom Membrantransporter MmpL3 zur äußeren

Membran transportiert und können dort entweder mit dem Arabinogalactan verestert werden oder mit einem weiteren Molekül TMM zum freien Lipid TDM, welches ein wichtiger Cord-Faktor ist, reagieren.^[18]

Die komplexe Organisation der einzigartigen Zellhüllen-Komponenten und der lipophile Charakter der Mykomembran führen zu einer geringen Permeabilität der Zellenhülle von Mykobakterien^[11] und damit zu einer erhöhten intrinsischen Resistenz gegenüber zahlreichen Antibiotika-Klassen und antibakteriellen Arzneistoffen.^[12]

M. tb. wird mittels Tröpfcheninfektion übertragen. Die Infizierung eines neuen Wirts geschieht über die Inhalation von mit Tuberkelbazillen verseuchtem Sputum, welche anschließend über die Lungen zu Alveolen gelangen.^[2] Die dort befindlichen Alveolarmakrophagen verfügen über Mannose-Rezeptoren auf der Membran, die mit den mykobakteriellen Zellwandkomponenten LAM und ManLAM interagieren und die Phagozytose des *M. tb.* vermitteln.^[21,22]

In den Makrophagen erkennen spezifische Rezeptoren (*Toll-like* Rezeptoren, TLR) bakterielle Moleküle, sogenannte Pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMM), und initiieren Signalkaskaden, die das angeborene Immunsystem aktivieren und das adaptive Immunsystem verstärken. Die Makrophagen präsentieren die mykobakteriellen Antigene über den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) Klasse II, was zur Stimulation der CD4⁺ T-Zellen führt. Diese können nach der Identifizierung von *M. tb.* infizierte Makrophagen weitere Zellen des adaptiven Immunsystems über Zytokin-Ausschüttung rekrutieren.^[23]

M. tb. hat Mechanismen zur Immunevasion entwickelt mit denen es in den Makrophagen überleben und sich replizieren kann.^[24–27] Die Infizierung von Makrophagen mit *M. tb.* resultiert in der TLR-2 abhängigen Inhibition der MHC Klasse II Transaktivator Expression, MHC Klasse II Molekülexpression, Antigenpräsentation durch Lipoproteine und verhindert dadurch die Erkennung von infizierten Makrophagen durch die CD4⁺ T-Zellen.^[22,23,28–30]

Nach der Internalisierung des *M. tb.* in die Makrophage induziert dieses die Expression des *cytokine-inducible SH2-containing protein* (CISH). Das CISH bindet an die Protonenpumpe ATP6V1A und initiiert deren Ubiquitinierung, welche die proteasomale Degradation der ATP6V1A zur Folge hat. Das Resultat dieser Strategie ist, dass der pH-Wert im Phagosom von infizierten Makrophagen höher ist als für die optimale enzymatische Aktivität der lysosomalen Verdauungsenzyme nötig ist.^[31,32]

Zusätzlich verzögert das Lipoglycan ManLAM die Azidifizierung des infizierten Phagosoms und verhindert die Akquirierung des Rab5 Effektors für das *early endosomal antigen 1*, welches zu einer Blockade der Lieferungen von lysosomalen Molekülen und Enzymen, einschließlich der hydrolytischen Enzyme, über das trans-Golgi-Netzwerk zum Phagosom

führt.^[33,34] Als Folge dessen wird die Reifung des Phagosoms gehemmt und somit die Phagosom-Lysosom Fusion zum Phagolysosom verhindert.^[34–37]

Die Infektion der Makrophagen mit *M. tb.* initiiert inflammatorische Reaktionen die zur Produktion des Tumornekrosefaktors Alpha (TNF- α) führen. Dieser ist für eine angemessene Expression von Chemokinen verantwortlich und hält deren Konzentration aufrecht.^[38,39] Infolgedessen bildet sich um die infizierte Makrophage eine zelluläre Matrix mononukleärer Zellen, die aus dem benachbarten Blutgefäßen stammen, und das frühe Granulom formen.^[39–41] Um den infizierten Kern lagern sich sukzessiv Schichten von aktivierten Makrophagen, mehrkernigen Riesenzellen, Epitheloidzellen, Lymphozyten, Fibroblasten und dendritischen Zellen an und das Granulom wächst.^[39,42] Durch die Bildung des Granuloms wird die sich entwickelnde akute *M. tb.* Infektion kontrolliert und das Pathogen abgeschirmt, jedoch nicht eliminiert.^[43] Im Granulom kann *M. tb.* für mehrere Jahre bis Jahrzehnte überleben und die Infektion verläuft für den Wirt asymptomatisch. Dieser Zustand wird als latente Tuberkulose bezeichnet.^[44] Währenddessen wechselt das Bakterium in einen Zustand der Dormanz. In diesem Zustand wird der zentrale Metabolismus herunterreguliert, die Replikation pausiert und es entwickelt eine phänotypische Resistenz gegenüber antibakteriellen Wirkstoffen und dem Immunsystem des Wirts.^[45] In Folge eines immunsuppressiven Ereignisses, wie beispielsweise einer zusätzlichen Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV), Krebs, Unterernährung, Behandlung mit Corticosteroiden, Alterung und Drogen- oder Alkoholmissbrauch kann es zur Reaktivierung der Mykobakterien kommen und in einer aktiven TB-Erkrankung resultieren.^[44,46]

Im Verlauf des Granulomwachstums wird ein Großteil der Lymphozyten vom infizierten Kern ausgeschlossen und die Anzahl der Blutgefäße, die das Granulom durchdringen, nehmen ab.^[39] Im Zusammenwirken des mykobakteriellen PDIM mit dem *early secretory antigenic target EsxA*, welches vom Typ VII Sekretionssystem ESX-1 (T7SS/ESX-1) abgesondert wird, verursachen diese Schäden an der phagosomalen Membran und induzieren somit die Ruptur der infizierten Makrophage, welche zur Apoptose der Wirtszelle führt. Als Folge dessen, können sich sowohl die mykobakteriellen Effektorproteine als auch das Pathogen im Cytoplasma der Makrophagen verteilen.^[36,47,48]

Die Zunahme des nekrotischen Gewebes kann zur Folge haben, dass das Granulom kollabiert und sich *M. tb.* von der Lunge auf andere Organe des Wirts ausbreitet oder über Tröpfcheninfektion auf einen neuen Wirt übertragen wird.^[39–41,44]

2.2 Tuberkulose

Die Tuberkulose (TB) sucht die Menschheit seit ihrer Urgeschichte heim und hat mehr Menschenleben gefordert als anderen bakteriellen Infektionskrankheiten. Nachverfolgen lassen sich die Spuren der TB bis in die Gräber des antiken Ägyptens, Griechenlands und Roms.^[49] Selbst in den fünf Büchern des Moses *Levitikus* und *Deuteronomium* wird die TB mit dem hebräischen Wort *schachepheth* erwähnt.^[50,51]

Im 18. Jahrhundert entwickelte sich in Westeuropa eine Tuberkuloseepidemie die mehr als 900 Tote pro 100.000 Einwohner im Jahr forderte. Aufgrund der prekären Wohn- und Lebensverhältnisse in den überfüllten Arbeitervierteln der Großstädte verschlimmerte sich die Lage kontinuierlich und gipfelte in dem Ausdruck *weiße Pest*. Doch Ursprung und Verursacher dieser Krankheit waren den Medizinern und Wissenschaftlern unbekannt, sodass in der Wissenschaft diese Frage heftig und für mehr als hundert Jahre diskutiert wurde.^[51] Erst am 24.März.1882 präsentierte der deutsche Wissenschaftler Dr. ROBERT KOCH seine Forschungsergebnisse zur Entdeckung und Kultivierung von *Tuberkelbazillen*, welche er als Erreger der TB identifiziert hatte.^[49,52] Ein Jahr später wurden diese in *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tb.*) umbenannt und im Jahr 1905 erhielt Dr. ROBERT KOCH für diese Forschungsergebnisse den Nobelpreis für Medizin.^[53]

„Wenn die Zahl der Opfer, welche eine Krankheit fordert, als Maßstab für ihre Bedeutung zu gelten hat, dann müssen alle Krankheiten, namentlich aber die gefürchtetsten Infektionskrankheiten, Pest, Cholera usw. weit hinter der Tuberkulose zurückstehen.“

- Dr. ROBERT KOCH, Berlin, 24.März.1882.^[52]

2.2.1 Epidemiologie

Nach Einschätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind zwei Milliarden Menschen mit *M. tb.* infiziert. Bei circa 10.0 Millionen Menschen entwickelte sich im Jahr 2019 eine aktive TB-Erkrankung aus. Dies entspricht einem marginalen Rückgang seit 2016 (10.4 Millionen).^[54] Weltweit starben 2019 mehr als 1.4 Millionen Menschen an den Folgen einer TB-Erkrankung, damit ist die TB die Infektionskrankheit mit den meisten Opfern und eine der zehn häufigsten Todesursachen.^[55]

Die weltweite Verbreitung von TB-Erkrankungen ist sehr ungleichmäßig und eng an den jeweiligen Wohlstand, Infrastruktur und Gesundheitssystem der entsprechenden Länder geknüpft (Abbildung 2). In den wohlhabenden Nationen Nordamerikas und Westeuropas liegt die Inzidenz bei unter zehn Erkrankten pro 100.000 Einwohnern. Wohingegen in Südostasien und Subsahara-Afrika die 30 besonders betroffenen Länder liegen, die 87 % der weltweiten TB-Erkrankungen melden, mit Inzidenzen von 150 bis über 500 Erkrankten pro 100.000

Einwohner. Daher gilt die TB als eine Krankheit der Armut und wirtschaftlichen Not, deren Erkrankte oft mit Ausgrenzung, Stigmatisierung und Diskriminierung konfrontiert werden.^[55,56]

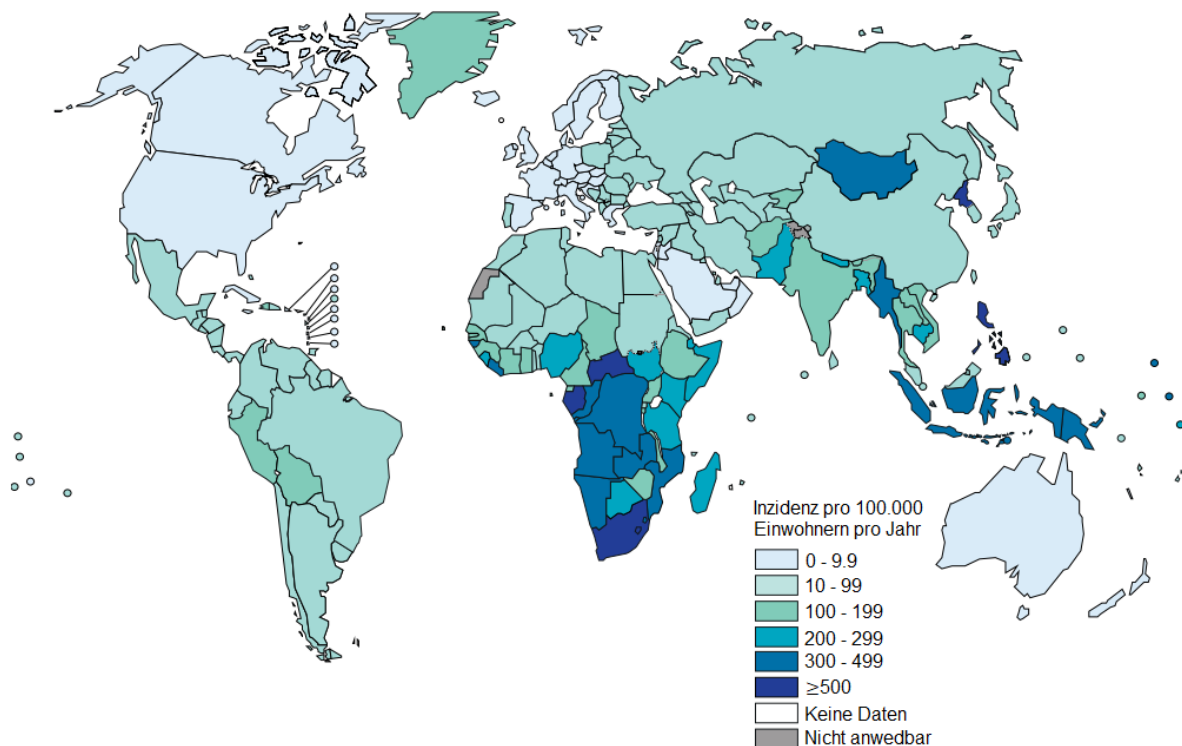


Abbildung 2: Die von der WHO geschätzten nationalen TB-Inzidenzen des Jahres 2019. Entnommen aus *Global Tuberculosis Report 2020* der WHO.^[55]

Die Entwicklung zu einer aktiven TB-Erkrankung wird maßgeblich durch Risikofaktoren wie einer zusätzlichen Infektion mit dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV), Diabetes mellitus Typ-II, (Innenraum)Luftverschmutzung, Unterernährung, Alterung, Rauchen, mangelnde Hygiene und Alkohol- oder Drogenkonsum gefördert.^[55,57] Weltweit waren 8.2 % aller aktiv an TB erkrankten Menschen zusätzlich mit dem HIV infiziert, somit ist die Wahrscheinlichkeit eines mit dem HIV infizierten Menschen eine aktive TB zu entwickeln 18-mal höher als bei nicht-infizierten Menschen. Von den 1.4 Millionen an TB verstorbenen Menschen waren 208.000 (15 %) zusätzlich mit dem HIV infiziert (678.000 im Jahr 2000).^[55]

In den Jahren 2014/15 erklärten alle Mitgliedsstaaten der WHO und der Vereinten Nationen (UN) mit der Annahme der *End TB Strategy* der WHO und den *Zielen für nachhaltige Entwicklung* der UN die Absicht zu haben, die TB-Epidemie bis zum Jahr 2035 zu beenden.^[55] Zusätzlich wurden für das Jahr 2019 circa 140.000 Fälle von zoonotischer TB gemeldet, die hauptsächlich auf *M. bovis* zurückzuführen waren.^[55]

2.2.2 Infektionsverlauf, Diagnose und Chemotherapie

Bei der TB handelt es sich um eine bakterielle Infektionskrankheit die von Organismen des MTBK, primär von *M. tb.* verursacht wird. Das Pathogen befällt hauptsächlich die Lunge (pulmonale TB), kann aber auch andere Organe oder Gewebe wie die Lymphknoten, Knochen, Gelenke oder Hirnhaut (extrapulmonale TB) infizieren.^[58,59] Die Tuberkelbazillen werden aerogen über pathogenhaltiges Sekret, welches beim Niesen oder Husten von einem mit aktiver TB erkranktem Individuum ausgeworfen wird, übertragen (Abbildung 3). Nach der Inhalation des Sekrets gelangt das Pathogen in den tieferen Atemwegtrakt und kann dort in der Folge einer angeborenen oder erworbenen Immunreaktion eliminiert werden.^[56] Bleibt diese aus oder verläuft unvollständig, migriert das Pathogen in der Lunge zum interstitiellen Gewebe und infiziert dort primär die Alveolarmakrophagen. Um die infizierten Makrophagen lagern sich sukzessive Immunzellen an, in dem anwachsenden Granulom wird das Pathogen isoliert und der Patient entwickelt eine symptomlose, nicht-übertragbare latente TB-Infektion (LTBI). Im Granulom kann das *M. tb.* für mehrere Wochen bis hin zu Jahrzehnten überdauern. Aufgrund der in Kapitel 2.2.1 genannten Risikofaktoren kann es zu einer Immunschwäche des Wirts kommen, infolgedessen das Granulom kollabieren und die Tuberkelbazillen entweichen können. Diese können auf andere Organe oder Gewebe übergreifen und in den Blutkreislauf gelangen. Von diesem kann das Pathogen erneut in den Atemwegstrakt gelangen und über Husten oder Niesen auf einen neuen möglichen Wirt übertragen werden. Dieses Stadium der Krankheit wird als aktive TB bezeichnet und äußert sich symptomatisch mit Fieber, Fatigue, Appetitlosigkeit und Gewichtsverlust. Im Falle einer pulmonalen TB tritt anhaltender Husten bis hin zu blutigem Husten (Hämoptyse) im fortgeschrittenen Stadium auf.^[58] Eine unbehandelte TB-Erkrankung bei HIV-negativen dauert von Beginn bis zur Selbstheilung oder Tod ungefähr drei Jahre und ist bei 70 % der Fälle letal, wobei die Mortalität ab einem Alter von 50 Jahren zunimmt.^[60]

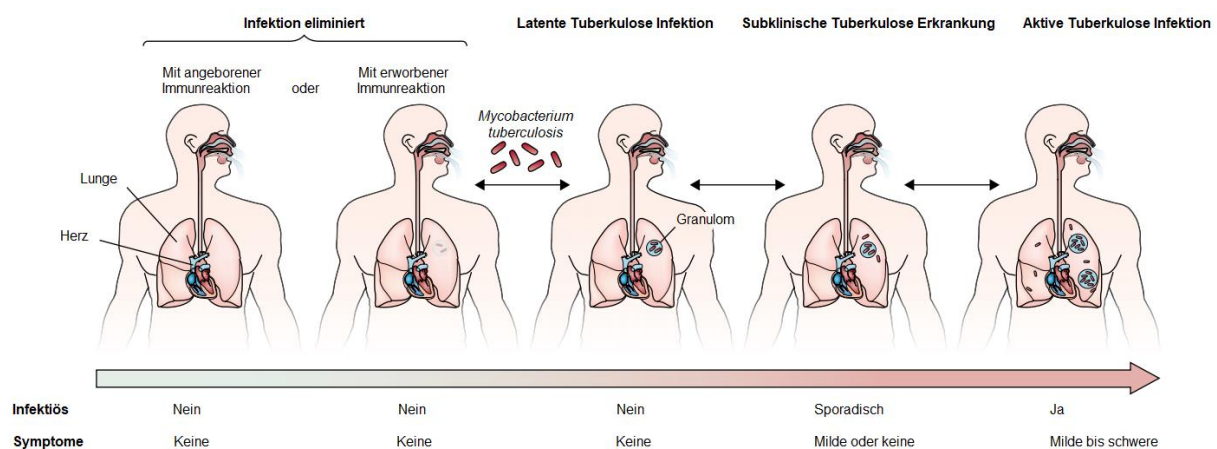


Abbildung 3: Infektion und Krankheitsverlauf einer pulmonalen TB-Erkrankung. Entnommen aus PAI *et al.*^[58]

Besteht der Verdacht einer TB-Erkrankung können mehrere diagnostische Methoden angewendet werden um eine LTBI, aktive TB oder Antituberkulotika-Resistenzen zu diagnostizieren.^[58]

Für die Diagnose einer asymptomatischen LTBI existieren zwei akzeptierte Standardmethoden, die jedoch begrenzt zuverlässig oder in deren Aussagekraft limitiert sind.^[58,61] Das Verfahren des Tuberkulin-Hauttests (THT) wird seit mehr als einhundert Jahren nach der MANTOUX-Methode durchgeführt. Bei diesem werden interdermal Tuberkulin-Einheiten injiziert und die verzögerte Typ Hypersensitivitätsreaktion gegenüber den mykobakteriellen Antigenen gemessen.^[58,61] Eine neuere Methode verwendet gereinigte Protein-Derivate, welche mittels Peptidextraktionen von *M. tb.* Filtraten gewonnen werden. Nachteilig für den THT können falschpositive Ergebnisse in der Folge einer vorangegangenen Immunisierung mit *M. bovis* BCG oder dem Kontakt mit NTM sein.^[62] Als zweite Methode steht der Interferon- γ -Freisetzungstest (IGRA) zur Verfügung. Bei diesem wird *in vitro* Blut des Probanden in Anwesenheit von spezifischen *M. tb.* Antigenen kultiviert und die Freisetzung von Interferon- γ durch die CD4⁺ T Zellen gemessen. Mit dem IGRA können falschpositive Ergebnisse in der Folge einer *M. bovis* BCG Immunisierung und dem Kontakt mit den meisten NTM vermieden werden.^[58]

Eine aktive TB-Erkrankung kann mit bildgebenden Verfahren wie der Thorax-Röntgenuntersuchungen und Positronen-Emissions-Tomographie Computertomographie (PET-CT) sowie Kultivierungsmethoden, mikroskopischer Untersuchung des Sputums und Molekultests diagnostiziert werden.^[58]

Um die effiziente Behandlung von multiresistente- (MDR) oder extensiv resistente- (XDR) TB zu gewährleisten und deren weitere Ausbreitung zu verhindern, ist die präventive Diagnostik zur Bestimmung von Antituberkulotika-resistenter TB erforderlich.^[63,64] Zu diesem Zwecke stehen zwei generelle Methoden zur Verfügung. Bei der phänotypischen Untersuchung werden Proben des Patienten in der Anwesenheit der entsprechenden Antituberkulotika kultiviert und das Wachstum der Mykobakterien kontrolliert. Zusätzlich können in einer auf Molekultest basierenden Methode, die genetische Information des Pathogens auf Mutationen, welche mit Antituberkulotika-Resistenzen assoziiert werden, untersucht werden.^[58]

Nach den Richtlinien der WHO zur Behandlung von TB-Erkrankungen sollen Patienten unterteilt werden in neue Patienten, welche noch nie oder kürzer als einen Monat Antituberkulotika eingenommen haben, und in vorherig behandelte Patienten, welche zuvor einen Monat oder länger Antituberkulotika eingenommen haben. Für die Behandlung von neuen TB-Patienten wird eine sechsmonatige Kombinationstherapie bestehend aus zwei

Phasen empfohlen. In den ersten zwei Monaten, der intensiven Behandlungsphase, sollen die Mittel der ersten Wahl Pyrazinamid (PZA), Isoniazid (INH), Ethambutol (EMB) und Rifampicin (RIF) täglich eingenommen werden. Daraufhin folgt die Stabilisierungsphase bei der über vier Monate hinweg INH und RIF mindestens dreimal in der Woche eingenommen werden sollte.^[65,66] Der Behandlungsfortschritt wird mit zu wiederholenden mikroskopischen Untersuchungen des Sputums und Thorax-Röntgen verfolgt. Mit der sechsmonatigen Standardtherapie können 85 % aller neuen TB-Erkrankungen erfolgreich behandelt werden und die Kosten belaufen sich auf 40 USD/Therapie pro Patient.^[58,67]

Bei Patienten, die eine erneute TB-Behandlung benötigen, ist die Wahrscheinlichkeit das sich Resistenzen gegen eines oder mehrere Mittel der ersten Wahl ausgebildet haben deutlich erhöht.^[66] *M. tb.*-Stämme die mindestens gegenüber RIF und INH resistent sind werden als MDR bezeichnet.^[68] Daher sollen im Rahmen der *End TB Strategy* der WHO alle TB-Patienten, bei denen der Verdacht einer MDR-TB begründet ist, vor oder mit dem Beginn der erneuten Behandlung auf die Sensitivität gegenüber den Antituberkulotika getestet werden. Die Ergebnisse der Molekultests sind in der Regel innerhalb von zwei Tagen ausgewertet, erfordern jedoch Ressourcen die in den am stärksten betroffenen Ländern nicht ausreichend zur Verfügung stehen. Bei den konventionellen phänotypischen Kultivierungsmethoden dauert es bis zur Feststellung des Resultats im flüssigen Medium wenige Wochen und im festen Medium bis zu Monaten. Bis das Ergebnis feststeht muss daher zunächst mit einer empirisch festgelegten MDR-TB Chemotherapie begonnen werden und nach der Feststellung der Ergebnisse angepasst werden. Daher ist die rechtzeitige Diagnose von MDR-TB essenziell, um eine möglichst effiziente Chemotherapie festzulegen und die weitere Ausbreitung innerhalb der jeweiligen Gemeinschaft zu verhindern. Die Chemotherapie der MDR-TB ist ein langsamer, schrittweiser Selektionsprozess, für den die WHO eine Kombination aus empirischen und individuellen Ansätzen empfiehlt.^[69] Zu diesem Zwecke wurden die verfügbaren Antituberkulotika in hierarchischer Reihenfolge entsprechend nach deren Effizienz, Toxizität und Wirkstoffklasse in fünf Gruppen unterteilt (Tabelle 1). In Gruppe eins befinden sich die Mittel der ersten Wahl, in den Gruppen zwei bis fünf sind die Mittel der zweiten Wahl oder Reservetherapeutika eingeordnet. Einige Antituberkulotika weisen innerhalb, seltener auch zwischen, der Wirkstoffklasse eine ausgeprägte Präferenz zur Entwicklung von Kreuzresistenzen auf. In der Folge von Mutationen des *M. tb.* entwickelt sich eine Resistenz gegenüber einem bestimmten Antituberkulotikum aus, welche auch zur Resistenzbildung gegenüber weiteren oder allen Arzneistoffen der entsprechenden Wirkstoffklasse führen können. Kreuzresistenzen werden häufig zwischen RIF und Rifabutin, innerhalb der injizierbaren Aminoglycosiden oder den Fluorchinolonen festgestellt.^[70]

Bei der Chemotherapie der MDR-TB empfiehlt die WHO die Verwendung von mindestens vier Antituberkulotika der Gruppen eins bis vier, darunter eines der injizierbaren Aminoglycoside

oder das Polypeptid Capreomycin. Der Einsatz von zwei oder mehreren Antituberkulotika einer Wirkstoffklasse, die zur Entwicklung von Kreuzresistenzen präferieren, soll vermieden werden. Das injizierbare Antituberkulotikum soll in der intensiven Behandlungsphase für mindestens sechs Monate und nachdem der Patient das erste Mal negativ getestet worden ist für weitere vier Monate angewendet werden. Während der intensiven Behandlungsphase ist die regelmäßige Kontrolle des Sputums und der Kultivierungsproben unerlässlich. Insgesamt dauert die Behandlung von MDR-TB mindestens 18 Monate oder bei chronischen Erkrankungen mit umfangreichen Lungenschäden auch bis zu 24 Monate. Gemäß den Empfehlungen der WHO sollen die Arzneistoffe der Gruppe fünf nicht für die routinemäßige Chemotherapie der MDR-TB verwendet werden, da deren Effizienz oder Toxizität in klinischen Studien noch nicht ausreichend evaluiert werden konnte. Ein Einsatz der Substanzen aus Gruppe fünf ist in Erwägung zu ziehen, wenn die Therapie einer TB-Erkrankung mit den Antituberkulotika der Gruppen eins bis vier nicht erfolgreich verläuft. Dies kann der Fall bei XDR-TB, *M. tb.*-Stämmen die sowohl gegenüber INH und RIF als auch den Fluorchinolonen und mindestens eines der injizierbaren Antituberkulotika resistent sind, sein (Tabelle 1).^[70]

Tabelle 1: Gruppen der Antituberkulotika zur Behandlung der (MDR/XDR)-TB. Adaptiert nach CAMINERO *et al.* und ergänzt.^[66,69,71,72]

Gruppe	Bezeichnung	Wirkstoff
1	Mittel der ersten Wahl	Isoniazid Rifampicin/Rifabutin Ethambutol Pyrazinamid
2	Injizierbare Antituberkulotika Aminoglycoside Polypeptid	Streptomycin Amikacin, Kanamycin Capreomycin
3	Fluorchinolone	Ofloxacin, Levofloxacin Moxifloxacin
4	Orale bakteriostatische Mittel der zweiten Wahl	Ethionamid, Protionamid Cycloserin, Terizidon <i>p</i> -Aminosalicylsäure
5	Substanzen mit nicht ausreichend bestätigter Effizienz und Toxizität	Delamanid/Pretomanid Bedaquilin Clofazimin Amoxicillin mit Clavulansäure Clarithromycin Linezolid, Thioacetazon Hochdosiertes Isoniazid

Die Mittel der ersten Wahl werden seit deren Entdeckung ab den 1950er INH (1952), PZA (1952), EMB (1960er) und RIF (1968) intensiv bei der Chemotherapie von aktiven TB-Erkrankungen eingesetzt.^[56,73–75] Im Laufe der Jahrzehnte haben sich global, begünstigt durch mangelhafte Gesundheitssysteme, dem unkontrollierten oder zu kurzen Einsatz der Antituberkulotika, diesen gegenüber Resistenzen entwickelt und verbreitet.^[76] Im Jahr 2019 entwickelte sich bei über einer halben Millionen Menschen eine Rifampicin-resistente-TB (RR-TB) aus, davon waren 78 % zusätzlich gegenüber einem weiteren Mittel der ersten Wahl, meistens gegenüber INH, resistent. Bei 3.3 % aller neuen und 17.7 % aller zuvor schon einmal behandelten TB-Neuerkrankungen lag eine MDR/RR-TB vor (Abbildung 4). In den Ländern der ehemaligen Sowjetunion liegt der Anteil der MDR/RR-TB bei zuvor einmal behandelten TB-Erkrankungen teilweise über 50 % (Belarus: 60 %; Russland: 71 %)^[55]. Der Anteil der Patienten mit einer MDR/RR-TB, die erfolgreich therapiert werden konnten lag bei 57 %, 15 % verstarben und bei 7 % scheiterte die aktuelle Chemotherapie. Die WHO sieht die globale Verbreitung von MDR- und XDR-TB als Gefahr für die öffentlichen Gesundheitssysteme an und appelliert eindringlich die Forschung an neuen Antituberkulotika-Klassen zu intensivieren, die Ausbreitung von MDR/XDR-TB einzudämmen und Patienten auf deren Antituberkulotika-Sensitivität zu testen.^[55,77]

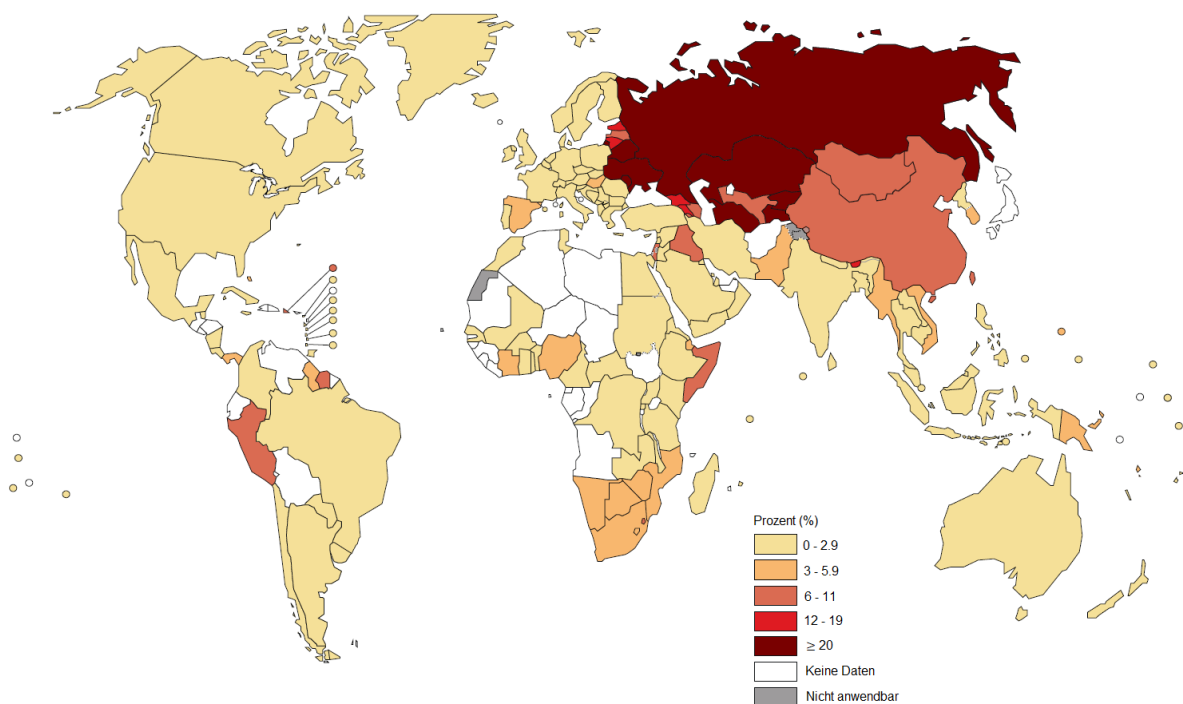
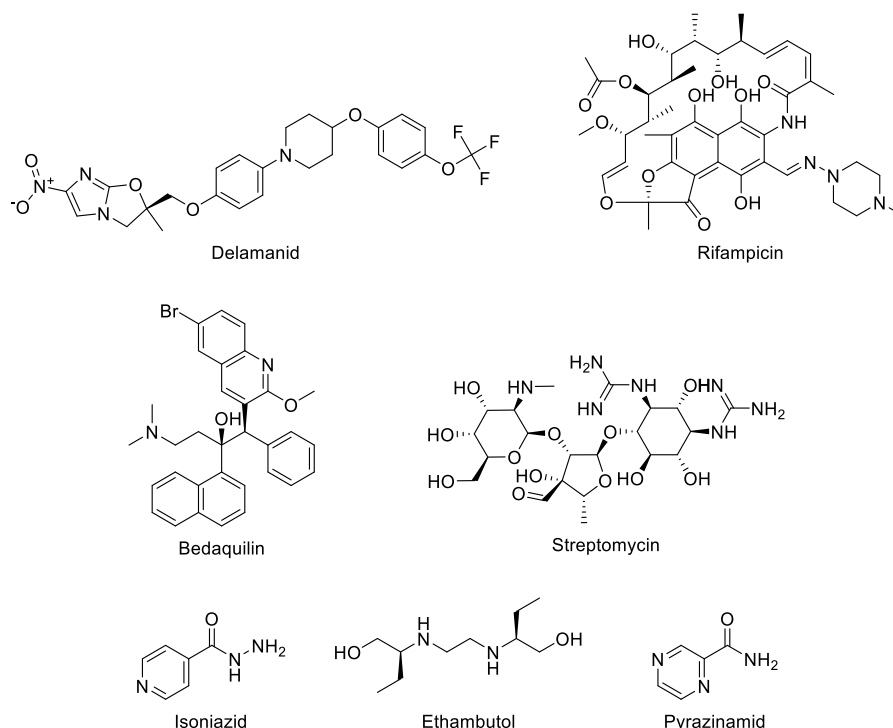


Abbildung 4: Globale Verbreitung von MDR/RR-TB in Prozent bei neuen TB-Erkrankungen. RR-TB ist ein Untertyp von MDR-TB. Entnommen aus *Global Tuberculosis Report 2020* der WHO.^[55]

Seit 2012 haben die Europäische Arzneimittel-Agentur (EMA) und die *Food and Drug Administration* (FDA) die Wirkstoffe Bedaquilin (BDQ), Delamanid (DMD) und Pretomanid

(PMD) für die Kombinationstherapie von MDR/XDR-TB, wenn keine Alternativen mehr zur Verfügung stehen, zugelassen. Diese verfügen über bisher nicht adressierte Wirkungsmechanismen, welche teilweise noch nicht vollständig aufgeklärt werden konnten, und weisen daher keine Kreuzresistenzen gegenüber anderen Mitteln der ersten oder zweiten Wahl auf. Somit handelt es sich bei diesen Arzneimitteln um die ersten neuen Antituberkulotika seit mehr als 40 Jahren (Schema 1).^[58,69,72,78]



Schema 1: LEWIS-Strukturen einiger ausgewählter antimykobakterieller Arzneistoffe.^[79,80]

Bis heute ist nur ein Vakzin zur Prävention einer TB-Erkrankung zugelassen. Dabei handelt es sich um die vor etwa hundert Jahren entwickelte *M. bovis* BCG Impfung.^[55] *M. bovis* BCG ist ein abgeschwächter Stamm des virulenten *M. bovis* und wurde *in vitro* mittels kontinuierlicher Subkultivierung über einen Zeitraum von mehr als dreizehn Jahren transformiert.^[81,82] Die *M. bovis* BCG -Stämme weisen natürliche Mutationen in essenziellen Virulenzfaktoren wie dem ESX-1, PDIM, oder PGL auf.^[82] Im Rahmen des Präventionsprogramms der WHO empfiehlt diese alle Neugeborenen und Kinder in Ländern mit einer hohen TB-Inzidenz oder bei weiteren Risikofaktoren nach der Geburt mit einer einzelnen Dosis des *M. bovis* BCG zu immunisieren.^[55] Das Vakzin schützt Säuglinge und Kinder, sowohl mit positiven als auch negativen THT, effektiv vor der Entwicklung einer frühen, aktiven TB-Erkrankung und bietet Schutz für zehn bis zwanzig Jahre.^[83] Bei Jugendlichen und Erwachsenen ist der Schutz des Vakzins vor der Entwicklung einer pulmonalen TB nicht ausreichend belegt, in klinischen Studien lag die Effektivität bei 0 bis 80 %. Die Gründe hierfür sind bislang nicht vollständig

geklärt, Ursachen hierfür könnten jedoch die unterschiedlichen *M. bovis* BCG -Stämme im Herstellungsprozess der Vakzine, Infektionen mit anderen Mykobakterien, ernährungsphysiologische oder genetische Unterschiede zwischen den Kohorten oder Variationen in den pathogenen *M. tb.*-Stämmen liegen.^[81–83]

2.3 Antibakterielle Wirkstoffziele

Seit dem Altertum verwendet die Menschheit natürliche Substanzen wie Myrrhe, Wein oder Honig um Infektionen von Verwundungen vorzubeugen.^[84] Damals noch ohne das Wissen, dass diese von Bakterien verursacht werden. In den 1670er Jahren entdeckte LEEUWENHOEK mit seiner Erfindung dem Lichtmikroskop die einzelligen Mikroorganismen, assoziierte diese aber nicht mit Krankheiten. Erst im Laufe des 19. Jahrhunderts demonstrierte der französische Wissenschaftler PASTEUR, dass spezifische Bakterienstämme für Prozesse wie die Fermentation verantwortlich sind. Der britische Chirurg LISTER übertrug die *Keimtheorie* in das Gebiet der Medizin und begann als Pionier seine chirurgischen Instrumente mit *Karbolsäure* (Phenol) zu sterilisieren, was zu einer drastischen Verbesserung der Überlebensrate nach chirurgischen Eingriffen führte.^[85]

In den 1910er Jahren verfasste EHRLICH das *Prinzip der Chemotherapie*. Mit diesem beschrieb er das chemische Substanzen bei einer Konzentration, die der Wirt toleriert, die Proliferation von Mikroorganismen hemmen können. Dieser Prozess basiert auf der *selektiven Toxizität* von chemischen Verbindungen die gegenüber dem Mikroorganismus eine höhere Toxizität als den Wirtszellen aufweisen. Beim *therapeutischen Index* wird die minimale effektive Dosis mit der maximalen vom Wirt verträglichen Dosis gegenübergestellt.^[85]

Die antibakteriellen Arzneimittel werden in Abhängigkeit von deren Wirkung als bakteriostatisch oder bakterizid klassifiziert. Die bakteriostatischen Wirkstoffe inhibieren das Zellwachstum und die Multiplikation des Mikroorganismus. Dadurch verschaffen diese dem Immunsystem des Wirts genug Zeit, um mit seinen eigenen Ressourcen das Pathogen eliminieren zu können. Wirkstoffe die aktiv die Mikroorganismen töten werden als *bakterizid* bezeichnet. Das 1928 von FLEMING entdeckte Penicillin ist ein Beispiel für ein toxisches Sekundärmetabolit eines Pilzes, welches in der Lage ist spezifische Bakterienstämme zu eliminieren.^[85]

Der Erfolg der antibakteriellen Wirkstoffe beruht auf der Tatsache das bakterielle und menschliche Zellen sich sowohl im Aufbau als auch in den Biosynthesewegen unterscheiden. Die antibakteriellen Therapeutika werden in fünf Wirkungsmechanismen eingeteilt (Abbildung 5):

- Inhibition des Zellmetabolismus
- Inhibition der Zellwandbiosynthese

- Inhibition der Proteinbiosynthese
- Inhibition der Nukleinsäure Transkription und Replikation
- Interaktion mit der Plasmamembran^[86,87]

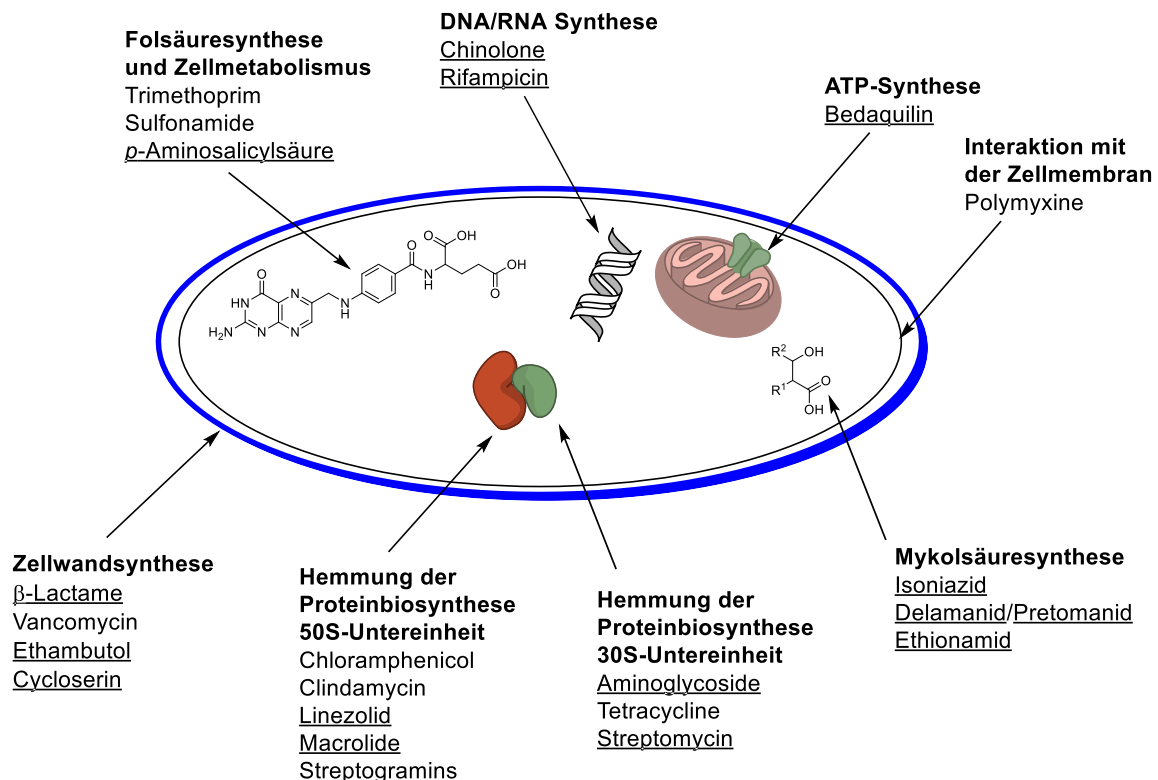


Abbildung 5: Die adressierten antibakteriellen und antimykobakteriellen Wirkstoffziele mit den entsprechenden Wirkstoffklassen. Antimykobakterielle Arzneistoffe sind mit einem Unterstrich gekennzeichnet. Adaptiert nach WRIGHT und ergänzt nach CHEESMAN *et al.*^[86,87]

2.3.1 Inhibition des Zellmetabolismus

Substanzen die analog zu den natürlichen Substraten des bakteriellen Metabolismus sind, können die metabolischen Enzyme kompetitiv hemmen und die Biosynthese von essenziellen Metaboliten des Pathogens blockieren. Aufgrund des molekularen Mechanismus werden diese Wirkstoffe als Antimetabolite definiert. Die kompetitive Hemmung der metabolischen Enzyme hat zur Folge, dass im zellulären Raum des Pathogens die Konzentration des natürlichen Substrats kontinuierlich zunimmt und den Antimetaboliten immer mehr verdrängt. Daraus resultiert das Antimetabolite lediglich einen bakteriostatischen Effekt ausüben und für einen gleichbleibenden therapeutischen Effekt deren Dosis stetig erhöht werden muss. Neben der kompetitiven Hemmung können Antimetabolite auch vom Enzym als Substrate umgesetzt werden und das daraus resultierende Produkt im nächsten Schritt des Biosynthesewegs als Antimetabolit agieren. Die bedeutendsten Vertreter der Antimetabolit-Antibiotika sind die Sulfonamide und das Trimethoprim, welche die Tetrahydrofolsäure-Biosynthese inhibieren.^[85]

D-Cycloserin (DCS) ist ein bakteriostatisches Mittel der zweiten Wahl, welches zur Behandlung der MDR- und XDR-TB eingesetzt werden kann.^[69] Bei DCS handelt es sich um ein Struktur analogon des D-Alanins,^[88] welches kompetitiv die D-Alanin Racemase und die D-Alanin:D-Alanin Ligase im Biosyntheseweg der Peptidoglycane hemmt.^[89] Als problematisch werden die psychiatrischen Eigenschaften, wie beispielsweise Toxizität gegenüber des Zentralnervensystems, Psychosen und Schwindel,^[68] von DCS eingestuft. Terizidon ist das *Prodrug* von DCS.^[69] Bei diesem sind zwei Moleküle DCS mit Terephthalaldehyd kondensiert.^[90]

Als Mittel der ersten Wahl wird unter anderem PZA eingesetzt um die Dauer einer TB-Chemotherapie von neun bis zwölf Monaten auf ungefähr sechs Monate zu verkürzen.^[91] PZA besitzt eine effektive sterilisierende Wirkung gegenüber nicht-replizierenden, persistierenden *M. tb.*, die von anderen Antituberkulotika der Mittel der ersten Wahl nicht eliminiert werden können.^[91,92] Dabei fungiert PZA als *Prodrug*, welches mittels passiver Diffusion durch die Zellhülle ins Cytoplasma gelangt und dort von den bakteriellen Enzymen Nicotinamidase beziehungsweise Pyrazinamidase zu Pyrazincarbonsäure (POS) hydrolysiert wird.^[91] Sowohl über passive Diffusion als auch aktivem Efflux gelangt POS aus der Zelle. Im extrazellulären, entzündeten, leicht saurem Gewebe wird POS partiell zu HPOS protoniert und diffundiert erneut rasch in das Bakterium. In Folge der Akkumulation der HPOS im Cytoplasma des *M. tb.*, sinkt der pH-Wert und die vitalen Enzyme werden inhibiert. Daher wirkt PZA nur im saurem Medium, die Wirkung wird zusätzlich durch eine niedrige Sauerstoffkonzentration verstärkt.^[93] Zusätzlich konnte an der mykobakteriellen Membran eine Verschiebung des Protonengradienten beobachtet werden, sowie die Hemmung des Membrantransports, Protein- und RNS-Biosynthese.^[91,92]

Das zur Klasse der Diarylchinolin gehörende BDQ wurde im beschleunigten Verfahren zur Behandlung der MDR-TB und XDR-TB durch die FDA im Jahr 2012 zugelassen.^[94,95] BDQ hemmt die Adenosintriphosphat (ATP) Synthese des *M. tb.* in dem es die Aktivität der F_1F_0 -ATP Synthase reduziert.^[94-97] Der genaue molekulare Wirkungsmechanismus von BDQ konnte bisher nicht vollständig aufgeklärt werden, jedoch gelten zwei direkte und ein indirekter Wirkmechanismus als allgemein anerkannt.^[95] Beim indirekten Mechanismus entkoppelt BDQ den Elektronentransport von der Elektronentransportkette bei der ATP Synthese durch die F_1F_0 -ATP Synthase.^[95] Die Energie des elektrochemischen Protonengradienten an der Membran wird genutzt, um Protonen durch die F_0 -Untereinheit vom periplasmatischen Raum in das Cytoplasma zu transportieren. Das daraus resultierende Drehmoment wird von der F_1 -Einheit genutzt um aus Adenosindiphosphat (ADP) und einem Molekül Phosphat das ATP zu generieren.^[97-99] Es ist beschrieben das BDQ an die c - und ϵ -Untereinheit binden kann und somit die Rotation des c -Rings stört, was zur Inhibition der ATP Synthese im katalytischen Zentrum führt.^[95] Die Hemmung der ATP Biosynthese durch BDQ ist für das ruhende, nicht-

replizierende *M. tb.* bakterizid.^[97] Nachteile von BDQ sind auftretende klinische Resistenzen^[100] und die sehr lange terminale Halbwertszeit von bis zu 164 Tagen,^[101] weshalb an einer neuen Generation der Wirkstoffklasse geforscht wird.^[96]

2.3.2 Inhibition der Zellwandbiosynthese

Bakterien sind einer großen Bandbreite von äußeren Umwelteinflüssen und fluktuierenden Veränderungen ausgesetzt. Um den physikalischen und chemischen Stress wie pH-Wert- oder Temperatur Veränderungen oder osmotischen Druck überleben zu können, verfügen Bakterien über eine Zellwand. Ohne eine funktionierende Zellwand würde in Folge des osmotischen Drucks Wasser in die Zelle gelangen, diese anschwellen und schließlich platzen (Lyse).^[85,102] Die Biosynthese der Zellwand ist ein komplexer Prozess von über 20 Reaktionen an dem circa 30 Enzyme beteiligt sind und sich vom Cytoplasma bis hin zur äußeren Membran erstreckt.^[85,103,104] Da humane Zellen über keine Zellwand verfügen, ist die Inhibition der Zellwandbiosynthese von Pathogenen ein ausgezeichnetes Ziel für die Entwicklung von antibakteriellen Wirkstoffen.^[85,104]

Die mykobakterielle Zellwand ist ein Heteropolymer, deren Struktur aus Peptid- und Zuckereinheiten (Peptidoglycane) besteht. In alternierender Reihenfolge bilden die Monomere *N*-Acetylmuraminsäure (NAM) und *N*-Acetylglucosamin (NAG), welche über eine β -1,4 glycosidische Bindung verknüpft sind, ein Zuckerrückgrat. Diese sind parallel zueinander angeordnet und mit am NAM-Zucker gebundenen Peptidketten vernetzt. Die Peptidketten bestehen aus einer Sequenz von fünf Aminosäuren L-Ala-D-Glu-*meso*-Diaminopimelinsäure (oder L-Lys)-D-Ala-D-Ala. Im abschließenden Schritt der Zellwandsynthese findet die Kreuzverknüpfung der Peptidketten durch die Transpeptidase, einem Serinprotease ähnlichem Enzym,^[85,105] statt. Bei diesem wird das D-Ala an vierter Position des Donor-Peptids mit der *meso*-Diaminopimelinsäure bzw. L-Lys an dritter Position des Akzeptor-Peptids verknüpft.^[102,104] Die Energie für diese Reaktion wird aus der Spaltung der D-Ala-D-Ala Bindung des Donor-Peptids generiert.^[103]

Zu den bedeutendsten Inhibitoren der Zellwandbiosynthese gehören die Vertreter der β -Lactam-Antibiotika, dazu zählen unter anderem die Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme.^[106] Die Konformation des β -Lactams imitiert den Übergangszustand des D-Ala-D-Ala Strukturelements der Peptidkette während der Verknüpfung durch die Transpeptidase. Dies hat zur Folge, dass im aktiven Zentrum der Transpeptidase die Hydroxygruppe des Serins nucleophil das β -Lactam angreift, den Ring öffnet und es zur irreversiblen Acylierung des essenziellen Enzym kommt.^[85,103,107]

In der Folge kommt es zur Inhibition der weiteren Verknüpfung der NAM-Pentapeptide und zum Verlust der strukturellen Integrität der Zellwand, welche in der Lyse und Zelltod des Pathogens resultiert.^[106]

Eine weitere Klasse von Inhibitoren der bakteriellen Zellwandbiosynthese sind die Vertreter der Glycopeptid-Antibiotika. Zu diesen gehört der Naturstoff Vancomycin, welcher 1956 aus dem Bakterium *Streptomyces orientalis* isoliert wurde und seitdem als Reserveantibiotikum bei ernstesten von Gram-positiven Bakterien hervorgerufenen Infektionen eingesetzt wird.^[108,109] Bei Vancomycin handelt es sich um ein verzweigtes trizyklisches glykosyliertes Peptid,^[109] welches über fünf Wasserstoffbrückenbindungen und favorisierende hydrophobische Wechselwirkung spezifisch an den Acyl-D-Alanyl-D-Alanin Terminus der NAM-Pentapeptide bindet. Dadurch kommt es zur Hemmung der Polymerisation der Peptidoglycane.^[110]

Bei der Entwicklung neuer Antituberkulotika ist die Inhibition der mykobakteriellen Zellwandbiosynthese ein vielversprechendes Ziel.^[111] Bisher wurden von den Zulassungsbehörden EMA und FDA die Wirkstoffe Protionamid, INH, EMB sowie DMD und PMD, welche die Biosynthese der Zellwand des *M. tb.* hemmen, zur Behandlung einer TB-Erkrankung zugelassen.^[112]

Seit 1952 wird INH als Mittel der ersten Wahl bei der Chemotherapie einer TB-Erkrankung eingesetzt, jedoch konnte bis heute der vollständige Wirkmechanismus nicht aufgeklärt werden.^[113] Das INH gelangt mittels passiver Diffusion in die Zelle^[113] und ist an sich nicht toxisch für das *M. tb.*^[114] Intrazellulär wird INH mittels Peroxidation durch das multifunktionelle Katalase-Peroxidase Enzym (KatG) zum reaktiven Isonicotinoylradikal und Stickstoffmonoxid umgesetzt. Stickstoffmonoxid ist in der Lage die metabolischen Enzyme des Mykobakteriums zu inhibieren und führt zu einer Verlangsamung des bakteriellen Stoffwechsels. Das Isonicotinoylradikal reagiert in einer MINISCI-Addition mit dem Nicotinamidadenindinukleotid (NAD⁺) oder Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADP⁺) zu den kovalenten Isonicotinacyl-NAD(P)H Addukten.^[114] Diese sind potente Inhibitoren verschiedener Enzyme, die in der Biosynthese von Zellwandlipiden oder Nukleinsäuren involviert sind.^[114-117] Das Isonicotinacyl-NADH Addukt inhibiert die Enoyl-Acyl-Träger-Proteins Reduktase InhA, welche die NADH abhängige Reduktion von Doppelbindungen an zweiter Position einer wachsenden Fettsäurekette katalysiert und hemmt dadurch die Biosynthese der für das Pathogen essenziellen Mykolsäuren.^[114,116-118] In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass die Isonicotinacyl-NAD(P)H Addukte zudem auch weitere Enzyme wie beispielsweise die NADPH-abhängige Dihydrofolatreduktase in der DNS-Synthese hemmen können.^[93]

EMB wird seit 1966 intensiv als Mittel der ersten Wahl bei der Chemotherapie einer TB-Erkrankungen eingesetzt. Der Wirkstoff übt gegenüber wachsenden Bakterien des *M. tb.* einen bakteriostatischen Effekt aus,^[93] welcher stark pleiotrop ist, indem dieser die Biosynthese der mykobakteriellen Zellwand hemmt. Das EMB inhibiert die drei Arabinosyltransferasen EmbA, EmbB und EmbC des *M. tb.* Die Enzyme EmbA und EmbB sind in der Biosynthese des Arabinogalactans, dem Hauptstrukturelement der mykobakteriellen Zellwand und ein wichtiger

Rezeptor für freie Mykolsäuren, involviert. EmbC katalysiert die Synthese des Arabinan-Fragments des LAMs, welches ein essenzielles Oberflächenmolekül des *M. tb.* ist und die Wirts-Pathogen Beziehung reguliert.^[119]

Der Wirkstoff DMD gehört zur Klasse der Dihydro-nitroimidazooxazole und wurde zur Behandlung von MDR-TB im November 2013 durch die EMA zugelassen.^[120] Bei diesem handelt es sich um ein *Prodrug*, welcher reduktiv durch die Deazaflavin- (Coenzym F₄₂₀) abhängige Nitroreduktase (Ddn) zum aktiven Wirkstoff metabolisiert wird.^[111] Dieser inhibiert die Biosynthese der mykobakteriellen Zellwandkomponenten Methoxy- und Keto-Mykolsäuren.^[121]

2.3.3 Inhibition der Proteinbiosynthese

Ribosome wandeln die codierte genetische Information der *messenger* RNS (mRNS) in die Polypeptidsequenz der Enzyme und Proteine einer Zelle um.^[122] Das bakterielle Ribosom 70S setzt sich aus zwei Untereinheiten, der kleinen 30S-Untereinheit und der großen 50S-Untereinheit, zusammen. Die kleine Untereinheit decodiert die genetische Information der mRNS und die große Untereinheit beherbergt das katalytische Zentrum der Peptidyltransferase. In diesem werden die Aminosäuren der Transfer-RNS (tRNS) auf die wachsende Polypeptid-Kette übertragen. Die tRNS verfügt über zwei funktionelle Enden, eines trägt die Aminosäure und das andere besitzt das Anticodon, welches das Codon der mRNS erkennt. Ribosome verfügen über drei tRNS Bindungsstellen: Die Aminoacyl- (A), Peptidyl- (P) und die Exit- (E) Seite.^[123] In lebenden Organismen sind die Ribosome eine der anspruchsvollsten und am stärksten konservierten makromolekularen Maschinen der Zelle.^[124] Dennoch gibt es strukturelle Unterschiede zwischen bakteriellen und eukaryotischen Ribosomen, daher ist es möglich mit Wirkstoffen selektiv die Funktion der bakteriellen Ribosome zu hemmen.^[125] Wichtige Klassen antibakterieller Wirkstoffe die Proteinbiosynthese-Inhibitoren darstellen sind die Makrolide, Oxazolidinone, Tetracycline und Aminoglycoside.^[126]

Die Oxazolidinone können gegen ein breites Spektrum von Gram-positiven Bakterien eingesetzt werden. Diese binden an die P-Seite der ribosomalen 50S-Untereinheit und inhibieren die Initiation der Proteinbiosynthese.^[127-129]

Tetracycline werden als Breitspektrumantibiotika sowohl gegen Gram-positive als auch Gram-negative Bakterien eingesetzt und weisen einen reversiblen bakteriostatischen Effekt auf. An der 30S-Untereinheit verhindern diese die Anlagerung der Aminoacyl-tRNS an den ribosomalen Akzeptor und somit das Wachstum der Polypeptidkette.^[123,130]

Als Makrolide werden Makrolacton-Glycosid-Antibiotika bezeichnet, welche in den 1950er als natürliche Sekundärmetaboliten der Familie Actinomycetaceae isoliert werden konnten. Die Makrolide bestehen aus einem makrocyclischen Lacton an dessen exponierten

Hydroxygruppen ein oder mehrere Desoxyzuckerreste gebunden sind.^[131] Makrolide binden reversibel an die ribosomale 50S-Untereinheit und verhindern die Verlängerung der entstehenden Polypeptidkette. Zusätzlich können diese den Zusammenbau der 50S-Untereinheit inhibieren.^[132] Die Vertreter der Makrolacton-Glycosid-Antibiotika üben einen bakteriostatischen Effekt aus und können gegen fast alle von Gram-positiven und auch einigen Gram-negativen Bakterien verursachten Infektionen eingesetzt werden.^[130]

Bei den Aminoglycosiden handelt es sich um eine Substanzklasse sehr potenter Breitspektrumantibiotika, die bei lebensbedrohlichen Infektionen eingesetzt werden.^[133] Die Aminoglycoside sind mit drei bis sechs Ammoniumgruppen funktionalisierte wasserlösliche Oligosaccharide^[134] und binden mit hoher Affinität an die A-Seite der 16S ribosomalen RNS der 30S-Untereinheit.^[135] Mit der einhergehenden Konformationsänderung an der A-Seite kommt es während der Translation zu Fehlübersetzungen der Codons. In der Folge werden inkorrekte Aminosäuren in die Polypeptidkette eingebaut und die aus der Translation resultierenden Proteine sowie Enzyme sind fehlerhaft. Dadurch kommt es im bakteriellen Organismus zu zellulären Schäden, welche die Lebensfähigkeit des Pathogens reduzieren. Zudem können einige Aminoglycoside die Verlängerung der Polypeptidkette beenden oder die Initiation der Proteinsynthese inhibieren. Aufgrund dieses molekularen Wirkmechanismus üben alle Aminoglycoside einen raschen bakteriziden Effekt aus.^[133,135,136] Das im Jahre 1944 entdeckte Streptomycin ist ein injizierbares Streptidin-Aminoglycosid und war das erste wirksame Antituberkulotikum der Geschichte.^[137] Zusätzlich wirkt Streptomycin gegen ein breites Spektrum an Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien.^[138] Streptomycin war zwischen 1952 und den 1980er Jahren ein essenzieller Arzneistoff der Erstlinientherapie bei einer TB-Erkrankung. Aufgrund der rapide ausbreitenden Resistenzen ist Streptomycin seitdem in Gruppe zwei als Reservetherapeutika klassifiziert (Kapitel 2.2.2).^[137] Die weiteren Aminoglycoside Kanamycin und Amikacin werden ebenfalls als Reservetherapeutika zur Behandlung der MDR-TB eingesetzt.^[139] Linezolid ist der erste Vertreter der Oxazolidinon-Antibiotika-Klasse^[140] und gehört seit dem Jahr 2000 zu den Substanzen der Gruppe fünf, welche zur Behandlung der MDR- und XDR-TB eingesetzt werden können, wenn keine Alternativen mehr verfügbar sind.^[69] Diese Wirkstoffklasse bindet an die ribosomale 50S-Untereinheit und verhindert die Bildung des Ribosomkomplexes.^[127,140–142] Linezolid wirkt bei pulmonaler TB bakterizid und weist keine Kreuzresistenzen mit anderen TB-Wirkstoffen auf.^[141,143]

2.3.4 Inhibition der Nukleinsäure Transkription und Replikation

Die synthetische Wirkstoffklasse der Chinolone und Fluorchinolone sind bakterizide Verbindungen, die gegen ein breites Spektrum von Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien eingesetzt werden können.^[144] Chinolone können sowohl an die Topoisomerase II

(DNS Gyrase) als auch an die Topoisomerase IV binden. Bei Gram-negativen Bakterien ist die Affinität für die DNS Gyrase und bei Gram-positiven für die Topoisomerase IV ausgeprägter.^[145] Die Chinolone inhibieren die Replikation und Transkription des bakteriellen Erbguts, in dem diese reversibel an das aktive Zentrum des kovalent verknüpften DNS-Enzym-Komplexes binden und diesen somit stabilisieren.^[144,145] Die Fluorchinolone *Moxifloxacin*, *Gatifloxacin* und *Levofloxacin* werden als Mittel der zweiten Wahl zur Chemotherapie von MDR-TB eingesetzt.^[146,147] Aufgrund der Abwesenheit der Topoisomerase IV im *M. tb.* adressieren diese die DNS Gyrase.^[148] Diese tetramere A2B2 Protein setzt sich aus den Untereinheiten A und B, welche von den Genen *gyrA* und *gyrB* codiert werden, zusammen. Die Untereinheit A vermittelt die Wiedervereinigung der Einzelstränge und die Untereinheit B beherbergt das aktive Zentrum für die Adenosintriphosphat-Hydrolyse.^[93]

Die Rifamycine wurden 1959 aus *Amycolatopsis mediterranei* isoliert und gehören zur Klasse der Ansamycin-Antibiotika.^[149] Bei diesen handelt es sich um makrocyclische Lactame deren aromatischer Kern über eine aliphatische Kette verbrückt ist.^[138] Rifamycine wirken bakterizid gegen ein breites Spektrum von Gram-positiven und im geringeren Maße auch bei Gram-negativen Bakterien,^[150] indem diese mit hoher Bindungsaffinität an die β -Untereinheit der bakteriellen DNS-abhängigen RNS-Polymerase RpoB binden und dadurch die Verlängerung der RNS physikalisch blockieren.^[93,149,151–155] Die DNS-abhängige RNS-Polymerase ist bei *Bakterien*, *Archaeen* und *Eukarya* ein evolutionär stark konserviert Enzym,^[156] jedoch verfügen eukaryotische RNS-Polymerasen nicht über die Bindungsstelle für Rifamycine.^[85,157] Das semisynthetische RIF ist oral verfügbar und wird seit 1968 zur chemotherapeutischen Behandlung bei TB eingesetzt. Aufgrund des ausgeprägten lipophilen Charakters kann RIF frei durch Gewebe, lebender Zellen oder Bakterien diffundieren und ist deswegen in der Lage intrazelluläre Pathogene wie das *M. tb.* zu adressieren.^[155,158]

Die Arzneistoffe DMD und PMD gehören zur Wirkstoffklasse der Nitroimidazol-Antibiotika und wirken bakterizid gegenüber einem breiten Spektrum von anaeroben sowie mikroaerophilen Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien, einschließlich der Mykobakterien.^[159,160] Bei den heterocyclischen Nitroverbindungen handelt es sich um *Prodrugs*, die zunächst über passive Diffusion in die bakterielle Zelle gelangen und dort durch die enzymatische Reduktion der Nitrogruppe mittels Nitroreduktasen bioaktiviert werden.^[161] Das freie zytotoxische Nitroso-Radikal inhibiert die DNS Synthese und induziert Einzel- und Doppelstrangbrüche in der DNS. Diese führen schließlich zur Degradation der DNS und zum Zelltod des Pathogens.^[159] In Gegenwart von Sauerstoff wird das freie Nitroso-Radikal schnell zur Mutterverbindung zurückoxidiert und dessen chemotherapeutische Wirkung bleibt aus.^[161]

2.3.5 Interaktion mit der Plasmamembran

Das Cytoplasma der bakteriellen Zelle wird von der Außenwelt durch eine schützende Doppellipidschicht, der Plasmamembran, abgegrenzt.^[162] Der Transport von Ionen und Metaboliten durch die Plasmamembran ist für den Organismus ein essenzieller und hochregulierter Prozess der durch spezifische Membranproteine vermittelt wird.^[85,162,163] Wirkstoffe, sogenannte Ionophore, können diesen Prozess stören und die unkontrollierte Bewegung von Ionen oder Metaboliten durch die Plasmamembran induzieren.^[163]

Valinomycin ist ein makrozyklisches Naturprodukt, welches von *Streptomyces*-Stämmen biosynthetisiert wird. Dieses setzt sich aus jeweils drei Molekülen L-Valin, D-Valin, L-Milchsäure und D-Hydroxyisovalerat zusammen, welche alternierend über Amid- oder Esterbindungen verknüpft sind. Die nach außenstehenden lipophilen Seitenketten interagieren mit der Doppellipidschicht der Plasmamembran und die nach innen angeordneten Carbonylsauerstoffe kreieren eine hydrophile Oberfläche mit der dehydratisierte Kaliumionen komplexiert werden können. Somit kann das Valinomycin Kaliumionen aus dem bakteriellen Cytoplasma komplexieren, diese durch die Doppellipidschicht transportieren und an die extrazelluläre Umgebung des Pathogens abgeben. Mit der daraus resultierenden Störung des ionischen Gleichgewichts wird der Zelltod des pathogen Organismus eingeleitet.^[85,163]

Die Polymyxine bestehen aus einem mehrfach kationischen Peptidring und einer Tripeptid-Seitenkette mit einem langkettigen Fettsäureschwanz. Diese werden den Lipopeptid-Antibiotika zugeordnet und wirken rasch bakterizid gegen zahlreiche Gram-negative Bakterienstämme. Aufgrund der Struktur können Polymyxine die Quervernetzung der Lipopolysaccharide mit den divalenten Kationen der äußeren Membran aufbrechen. Mit den einhergehenden physikochemischen Veränderungen in der äußeren Membran können Nukleoside, hydrophobe Moleküle und kleine Proteine aus der Zelle diffundieren.^[164]

Tabelle 2: Übersicht der in klinischer Anwendung befindlichen Naturstoff- und synthetischen Antibiotikaklassen, einschließlich semisynthetischer Antibiotika. Antituberkulostatika sind mit einem Unterstrich gekennzeichnet. Adaptiert nach WRIGHT und ergänzt.^[165]

Naturstoff	Antibiotikum	Biologisches Ziel
β-Lactame	Penicilline: <u>Amoxicillin</u> , Ampicillin Cephalosporine: Cephalexin Carbapeneme: <u>Imipenem</u> , <u>Meropenem</u> ^[69]	Peptidoglycansynthese: Transpeptidase
Glycopeptide	Vancomycin	Peptidoglycansynthese: Anbindung an Acyl -D-Ala-D-Ala

Macrolide	Erythromycin, <u>Clarithromycin</u> ^[69]	Ribosom: Blockade des Peptid-Ausgangstunnels der großen Untereinheit
Lincosamide	Clindamycin	Ribosom: Blockade des Peptid-Ausgangstunnels der großen Untereinheit
Aminoglycoside	Gentamicin, Tobramycin, <u>Kanamycin</u> , <u>Streptomycin</u> ^[68]	Ribosom: Beeinträchtigt die Übersetzung der Aminoacyl-tRNS Erkennung in der kleinen Untereinheit
Streptogramine ^[166]	Mixtur aus Typ A und B: Typ A: Pristinamycin Typ B: Etamycin	Ribosom: Inhibition des Peptidyl-Transfers, Blockade des Peptid-Ausgangstunnels der großen Untereinheit
Tetracycline	Doxycyclin, Minocyclin	Ribosom: blockiert Bindung der Aminoacyl-tRNS an die kleine Untereinheit
Rifamycine	<u>Rifampicin</u>	RNS Polymerase
Lipopeptide	Daptomycin	Zellmembran
Kationische Peptide	Polymyxin E	Zellmembran
Synthetische		
Sulfonamide	Sulfamethoxazol	<i>p</i> -Aminobenzoessäure-Synthese
Diaminopyrimidine	Trimethoprim	Dihydrofolatreduktase
Fluorchinolone	<u>Ciprofloxacin</u> , <u>Levofloxacin</u> , <u>Moxifloxacin</u> ^[69]	Topoisomerase II, Topoisomerase IV ^[148]
Oxazolidinone	<u>Linezolid</u> ^[69]	Ribosom: Peptidyl-Transfer-Center
Nitroimidazole	Metronidazole	Kovalente Modifikation verschiedener Ziele

2.4 Antibiotika-Resistenzen

Mit der Einführung des, im Jahr 1928 von SIR ALEXANDER FLEMING entdeckten, Penicillins in den 1940er Jahren konnten zum ersten Mal in der Menschheitsgeschichte effizient bakterielle Infektionen therapiert werden. Dies rettete zahllose Menschenleben und ermöglichte in anderen Fachgebieten der Medizin und Chirurgie bedeutende Fortschritte. Doch bereits in den 1950er wurden Resistenzen gegenüber Penicillin zu einem ernstem Problem und bedrohten den erreichten Fortschritt.^[84] Die Bedrohung durch die unkontrollierte Ausbreitung von Antibiotika-Resistenzen konnte mit der stetigen Entdeckung und Entwicklung von immer neuen Antibiotika-Klassen und -Derivaten eingedämmt werden. Kaum war ein neues

Antibiotikum zur Chemotherapie zugelassen, wurden in wenigen Jahren klinische Resistenzen erneut zum Problem.^[167] Seit den 1980er Jahren nimmt die Anzahl der neu zugelassenen Antibiotika kontinuierlich ab, wohingegen das Auftreten von neuen mono- und multiresistenten Pathogenen rapide zugenommen hat.^[168] Sollte es zu keiner Trendwende beim Einsatz der verfügbaren Antibiotika und bei der Entwicklung von neuen Antibiotika-Klassen kommen, so wird erwartet das im Jahre 2050 weltweit Millionen Menschen den Antibiotika-resistenten Pathogenen zum Opfer fallen und die Einflüsse auf die Weltwirtschaft gravierend sein könnten.^[169]

Bakterienstämme können von deren Natur aus gegenüber bestimmten antibakteriellen Wirkstoffklassen resistent sein. Diese intrinsische Resistenz kann das Resultat von strukturellen oder funktionellen Merkmalen, wie das Nichtvorhandensein eines Wirkstoffziels oder der verlangsamten Aufnahme des Wirkstoffs aufgrund von geringer Membranpermeabilität sein.^[170] Zusätzlich sind Bakterien in der Lage Resistenzen gegenüber spezifischen antibakteriellen Wirkstoffklassen durch Mutation der chromosomalen Gene zu entwickeln und mittels horizontalen Gentransfer anzueignen.^[171] Die verschiedenen Mechanismen zur Aneignung von Resistenzen werden in drei Hauptgruppen zusammengefasst: (I) Verringerung der Wirkstoffkonzentration im Bakterium aufgrund von reduzierter Membranpermeabilität oder aktivem Efflux; (II) Modifizierung des Wirkstoffziels in Folge genetischer Mutation oder posttranslationaler Modifikation; (III) Inaktivierung oder Modifizierung des Wirkstoffs durch Metabolismus.^[171]

Bei Bakterien handelt es sich um schnell-wachsende und exponentiell replizierende Organismen. Als Mutationen werden vererbliche Veränderungen in der genetischen Information eines Individuums bezeichnet, deren Auftreten spontan und zufällig sind. Diese sind weder an die Anwesenheit von antibakteriellen Substanzen oder schädlichen Umwelteinflüssen gebunden. Im Allgemeinen wird angenommen, dass die meisten spontanen Mutationen während des Wachstums bei der DNS-Replikation auftreten.^[172] Die aus der Mutation resultierende Modifikation in der Aminosäuresequenz kann die Struktur des entsprechenden Rezeptors oder Enzyms verändern und in dessen Folge zu einer Reduzierung der Bindungsaffinität zwischen Wirkstoff und Wirkstoffziel führen. Eine Einzelmutation in einem Wirkstoffziel codierenden Gen kann somit zu einer ausgeprägten Resistenz des bakteriellen Pathogens gegenüber spezifischen antibakteriellen Wirkstoffklassen und zum Verlust des therapeutischen Effekts führen.^[173]

Der horizontale Gentransfer (HGT) ermöglicht es dem bakteriellen Individuum neue genetische Informationen außerhalb seiner Spezies oder seines Stammes zu akquirieren, um sich an Veränderungen der äußeren Einflüsse anpassen zu können.^[174,175] Dies umfasst auch den Austausch von antibiotischen Resistenzgenen zwischen nicht verwandter Pathogene und trägt somit signifikant zur Verbreitung von Antibiotikaresistenzen bei.^[174] Der Austausch von

genetischen Informationen zwischen bakteriellen Zellen trägt wesentlich zu deren Evolution bei und geschieht über Konjugation, Transduktion von Bakteriophagen und der natürlichen Transformation von extrazellulärer DNS.^[175,176] Bei der Konjugation wird bei direktem Zellwandkontakt DNS durch einen Kanal von der Donor-Zelle in die Akzeptor-Zelle transferiert.^[176] In der Transduktion werden kleine Fragmente der genetischen Information durch einen bakteriellen Virus, den Bakteriophagen, von einer Zelle in die andere übertragen.^[177]

Die Transformation ist ein Prozess der durch die Empfängerzelle bestimmt wird, diese nimmt extrazelluläre DNS in die Zelle auf und rekombiniert diese in die eigene Erbinformation.^[174]

Mit Einführung der bis heute als Mittel der ersten Wahl eingesetzten INH (1952), PZA (1952), EMB (1960er) und RIF (1968) wurde eine Zeitenwende im Kampf gegen die TB eingeleitet.^{[56],[73],[74,75]} Eine Ausbildung von Resistenzen durch den Erwerb neuer Erbinformationen wie dem Plasmid-vermittelten HGT konnte bei Mykobakterien bislang nicht nachgewiesen werden.^[93,178] Beim *M. tb.* sind die Entwicklungen von Resistenzen gegenüber den einzelnen Antituberkulotika-Klassen hauptsächlich auf Modifikationen des Wirkstoffziels und die ausbleibende Bioaktivierung der entsprechenden *Produgs* zurückzuführen.^{[93],[179]}

Diese Entwicklung von Antituberkulotika-Resistenzen geschieht beim *M. tb.* in der Folge von natürlichen spontanen chromosomalen Mutationen die während des Replikationsprozesses mit einer niedrigen Frequenz von 10^{-6} bis 10^{-8} auftreten. Deswegen ist die Entwicklung von MDR- sowie XDR-TB das Resultat einer sequenziellen Akkumulation von Resistenzmutationen gegenüber individuellen Wirkstoffklassen sowie die spätere Transmission von MDR- und XDR-Stämmen des *M. tb.* von einem infizierten Wirt auf ein gesundes Individuum.^[93,180] Da diese Resistenzmutationen nicht miteinander verbunden sind, liegt die Wahrscheinlichkeit eine vollständige Resistenz gegenüber einer Chemotherapie bestehend aus drei verschiedenen, simultan eingenommenen Antituberkulotika zu entwickeln bei 10^{-18} bis 10^{-20} pro mykobakterieller Replikation. Daher ist die im Laufe der Jahrzehnte zunehmende Verbreitung von MDR- und XDR-TB auf menschliche Fehler beim Einsatz der Antituberkulotika zurückzuführen.^[93] Insbesondere der Einsatz eines der Antituberkulotika in einer Monotherapie als Folge von unterentwickelten Gesundheitssystemen, mangelhafter Versorgung mit Arzneimitteln, fehlerhaften Anweisungen von Ärzten und missachten der Therapiepläne von den Patienten tragen zur klinischen Verbreitung der Antituberkulotika-Resistenzen bei.^[67,93,181] Ab den 1990er wurde der Kampf gegen die Tuberkulose durch die zunehmende Verbreitung von MDR- und XDR-Stämmen des Pathogens erschwert.^[182] Mit der Einführung der Fluorchinolone und injizierbaren Aminoglycosid-Antibiotika konnte die RR- und MDR-TB zunächst effektiv therapiert werden, doch auch gegen diese entwickelten und verbreiteten sich zunehmend XDR-*M. tb.*-Stämme.^[69,76] Anfang der 2010er wurden von den Arzneimittelagenturen EMA und FDA mit BDQ und DMD für die Kombinationstherapie von

MDR-TB die ersten, auf neuen molekularen Wirkmechanismen basierenden, Antituberkulotika seit mehr als 40 Jahren zugelassen.^[183,184] Doch auch gegen diese haben sich Resistenzen ausgebildet und der Bedarf neuartiger Leitstrukturen zur Entwicklung neuer Wirkstoffe für die effektive und kürzere Chemotherapie von MDR- und XDR-TB ist ungebrochen.^[45,55]

Im Rahmen der *End TB Strategy* appelliert die WHO eindringlich neben der Entwicklung neuer TB-Vakzine und modernen diagnostischen Methoden auch die Forschung an neuen Wirkstoffen für die Chemotherapie zu intensivieren.^[55]

Die Erkenntnisse des enormen Fortschritts in der Gesamtgenomsequenzierung des *M. tb.* sowie einem immer besseren Verständnis für dessen Metabolismus und Aufbau der einzigartigen mykobakteriellen Zellwand können den Prozess der Entwicklung neuer Antituberkulotika-Klassen maßgeblich fördern.^[179]

2.4.1 Reduzierte Membranpermeabilität und aktiver Efflux

Bei Gram-positiven Bakterien besteht die Zellwand aus einer 20-80 nm dicken Lage von Peptidoglycanen,^[162] diese ist für antibakterielle Wirkstoffe in der Regel nahezu durchlässig.^[185] In Folge von Mutationen kann die Zellwanddicke zunehmen oder die Zusammensetzung der Komponenten sich verändern und die Permeabilität nimmt ab, welches zu Resistenzen gegenüber spezifischen Wirkstoffklassen führen kann.^[186] Die Hauptmechanismen, die bei Gram-positiven Bakterien zur Resistenzausbildung führen, sind Wirkstoffmodifikationen und Eliminierung, Veränderungen am Wirkstoffziel und aktiver Efflux.^[186,187]

Gram-negative Bakterien besitzen eine dünne Zellwand aus Peptidoglycan, die von einer charakteristischen äußeren Membran umgeben ist,^[162] welche als wichtige Permeabilitätsbarriere fungiert.^[188] Diese setzt sich aus einer asymmetrischen Doppellipidschicht zusammen, die innere Seite besteht aus Phospholipiden und die äußere aus Liposacchariden.^[162,189] Der lipophile Aufbau führt zu einer intrinsisch geringen Permeabilität gegenüber chemischen Substanzen^[189] und deren Überwindung stellt eine besondere Herausforderung bei der Entwicklung neuer potentieller antibakterieller Wirkstoffklassen dar.^[190] Abhängig von den physikochemischen Eigenschaften einer Substanz kann diese die äußere Membran über drei Wege überwinden. Hydrophile Substanzen können durch die wassergefüllten Porine und lipophile durch die Doppellipidschicht diffundieren. Zusätzlich können mehrfach kationisch geladene Moleküle wie Aminoglycoside die Aufnahme selber initiieren, indem diese die Wechselwirkungen zwischen den Lipopolysacchariden mit Mg^{2+} in der äußeren Membran aufbrechen.^[189,191] Mutationen in den Genen der Porine können deren Anzahl, Selektivität und Größe variieren und dadurch die Diffusionsrate des Wirkstoffs reduzieren.^[189,192] Die reduzierte äußere Membranpermeabilität führt in erster Konsequenz zu einer schwachen Resistenz, diese kann sich in Kombination mit aktivem Efflux deutlich ausprägen.^[189,193]

Die mykobakterielle Zellhülle besteht aus einer dicken Schicht lipophiler Mykolsäuren und sorgt für eine intrinsisch geringe Membranpermeabilität gegenüber antibakteriellen Wirkstoffen. Wie bei Gram-negativen Bakterien verfügen auch Mykobakterien über Porine, allerdings weniger zahlreich, was die Aufnahme von hydrophilen Substanzen nur in geringen Raten ermöglicht.^[186]

Bakterien können die zelluläre Akkumulation von toxischen Verbindungen verhindern in dem diese unter Aufwendung von Energie aktiv aus der Zelle transportiert werden.^[194]

Dieser effiziente Prozess wird als Efflux bezeichnet und von fünf Familien membranumspannender Efflux-Proteine ausgeführt.^[173]

Mit Hilfe von Ganzgenomsequenzierung konnten über 20 vermeintliche Efflux-Proteine des *M. tb.* identifiziert werden.^[195] Davon könnten einige bei der Resistenzbildung gegenüber den antimykobakteriellen Aminoglycosiden, Fluorchinolonen, Isoniazid, Rifampicin und Tetracycline involviert sein.^[196,197] Die Behandlung von intrazellulärer MDR-TB mit Efflux-Pumpen-Inhibitoren führte zur Aktivierung von Makrophagen und in Folge dessen zur verbesserten Eradikation des Pathogens.^[198] Neben der geringen Permeabilität der Zellwand des *M. tb.* fördert die Aktivität der Efflux-Pumpen und die verstärkte Expression derer Gene synergistisch die Entwicklung und Konsolidierung von resistenten Phänotypen.^[196,199–202]

2.4.2 Inaktivierung und Modifikation des Wirkstoffs

Bakterien können antibakterielle Wirkstoffe durch Enzym-katalysierte Reaktionen inaktivieren oder modifizieren.^[171] In Abhängigkeit von dem katalysierten Reaktionstyp werden die Enzyme in die Klassen Hydrolasen, Transferasen und Oxidoreduktasen unterteilt.^[203]

Mit der Inaktivierung oder Modifikation des Wirkstoffs nimmt dessen Bindungsaffinität zum Wirkstoffziel und somit der therapeutische Effekt ab, das Bakterium wird gegen den entsprechenden Wirkstoff resistent.^[194]

Diese Enzymklassen sind essenziell für den primären und intermediären Metabolismus des Bakteriums. Die Wirkstoff-modifizierenden Enzyme und ihre metabolischen Pendants weisen ausgeprägte Homologien in der Aminosäuresequenz, dreidimensionalen Struktur und im Katalysezyklus auf. Die metabolischen Enzyme könnten in Gegenwart von antibakteriellen Substanzen zu Wirkstoff-modifizierenden Enzymen mutiert sein und dem Organismus einen evolutionären Vorteil im Selektionsdruck verschaffen. Eine weitere Quelle für die genetische Information der Wirkstoff-modifizierenden Enzyme könnte der horizontale Gentransfer eines Organismus mit Antibiotika produzierenden Organismen sein, da Resistenz und Biosynthese als coevolutionärer Prozess betrachtet werden muss.^[204]

Hydrolasen können die in antibakteriellen Wirkstoffen wie den β -Lactamen und Makroliden vorkommenden Amide, Ester, Lactame und Lactone hydrolysieren.^[204] Mit dem daraus

resultierenden Verlust der strukturellen Integrität des Wirkstoffs, führt dieser zur Reduktion der antibakteriellen Wirkung und der entsprechende Organismus wird resistent.^[173,203,205]

Der bedeutendste Mechanismus, der zur Ausbildung einer β -Lactam-Antibiotika-Resistenz führt, ist die Expression von β -Lactamasen.^[85] Diese Enzyme sind homolog zu den Transpeptidasen und Penicillin-bindenden Proteinen, weshalb die β -Lactamasen wahrscheinlich in Folge von Mutationen aus diesen entstanden sind.^[85,206] Die β -Lactamasen werden nach deren Katalysemechanismus unterschieden, die Serin- β -Lactamasen öffnen das β -Lactam über den nukleophilen Angriff des Serins mit anschließender Hydrolyse des Esters. Bei den Metallo- β -Lactamasen erleichtert die Koordinierung des Carbonylsauerstoffs über den Cofaktor Zn^{2+} den nucleophilen Angriff von Wasser am β -Lactam und stabilisiert den dabei entstehenden anionischen, tetraedrischen Übergangszustand. Zusätzlich polarisiert der Cofaktor das nucleophil angreifende Wasser und verringert dessen Säurekonstante (pK_s).^[194,204,207]

Die Modifizierung von antibakteriellen Wirkstoffen durch Transferasen geschieht im Cytosol unter Aufwendung eines Coenzym und ATP. Transferasen binden kovalent funktionelle Gruppen wie Acyl, Glycosyl, Methyl, Nukleotide, Phosphat, Ribosyl oder Thiol an die Amin- oder Hydroxylfunktionalitäten des Wirkstoffs. Mit der daraus resultierenden Strukturänderung nimmt die Bindungsaffinität zwischen Wirkstoff und Wirkstoffziel ab und führt zu einem Verlust der inhibitorischen Aktivität.^[194,203,204]

Aminoglycosid-Antibiotika sind aufgrund der Molekülgröße, den nach außenstehenden Amino- und Hydroxylfunktionalitäten im hohen Maße für die Modifikation durch Aminoglycosid-modifizierende Enzyme (AME) disponiert. Die AME sind der Hauptgrund für die zunehmende globale Verbreitung von Aminoglycosid-Resistenzen und gehören überwiegend zu den Acyl-, Phospho- und Nukleotidyltransferasen.^[194,208] Der Transfer von funktionellen Gruppen auf die für die Bindung zum Wirkstoffziel essenziellen Amin- oder Hydroxylfunktionalitäten führt zur Resistenz.^[204] Bei Mykobakterien, speziell beim *M. tb.* tragen Aminoglycosid-modifizierende Enzyme nur im geringen Umfang zu schwachen Resistenzen gegenüber den entsprechenden Aminoglycosid-Antituberkulotika bei.^[209] So führt die Hochregulierung der Acetyltransferase *enhanced intracellular survival* (EIS) zur vermehrten Acetylierung der Aminogruppen des Aminoglycosids Kanamycin und somit zur Resistenzbildung.^[209,210]

Die bei *Prodrugs* erforderliche enzymatische Aktivierung im Bakterium kann in der Folge von Mutationen reduziert oder gänzlich verhindert werden.^[204] Eine stark ausgeprägte Resistenz gegenüber INH wird bei *M. tb.*-Stämmen beobachtet, welche in der Folge von Mutationen sowohl die Katalase- als auch Peroxidase-Enzyme des *katG* verloren haben. Bei *M. tb.*-Stämmen die zumindest noch Katalase-Aktivität aufweisen, resultiert dies in einer schwach ausgeprägten INH-Resistenz. Bis zu 95 % aller INH-resistenten klinischen Isolaten weisen die Mutation *KatG*(S315T), welche zum Verlust der enzymatischen Aktivität des Aktivators führt,

auf.^[211] Zusätzlich können Mutationen in der Promotorregion des *inhA* Operons zur Überexpression der InhA führen oder Mutationen im aktiven Zentrum der InhA die Bindungsaffinität zwischen dem Isonicotinacyl-NADH Addukt und der InhA reduzieren.^[93] Die Ausbildungen von Resistenzen des *M. tb.* gegenüber dem Prodrug PZA geschieht in der Folge von einem Verlust der Pyrazinamidase und Nicotinamidase Aktivität und der damit einhergehenden nicht stattfindenden Bioaktivierung.^[93]

Die Bioaktivierung des Prodrugs DMD wird durch nicht-synonyme Mutationen in fünf Genen, die der F₄₂₀-abhängigen Nitroreduktase (Ddn) angehören, reduziert. Zusätzlich wurden Mutationen in vier weiteren Genen *fbIA*, *fbIB*, *fbIC*, die essenziell für die Biosynthese des Coenzyms F₄₂₀ sind, und im *fgd1*, der Glucose-6-phosphat Dehydrogenase, deren Produkt für den Redox-Kreislauf des Coenzyms F₄₂₀ notwendig ist, in DMD-resistenten *M. tb.* identifiziert werden.^[205]

2.4.3 Modifikation des Wirkstoffziels

Mutationen in Wirkstoffziel codierenden Genen können rasch zu schwachen Resistenzen führen, wohingegen die Überlebensfähigkeit des Bakteriums nur wenig beeinflusst wird. In Folge von iterativen Mutationen im selben Gen können diese Resistenzen sukzessive verstärkt werden. Bereits geringe Modifikationen in der Aminosäuresequenz genügen, um die Proteinstruktur ausreichend zu verändern und führen dadurch zu einer möglichen Abschwächung der Bindungsaffinität und Aktivität des Wirkstoffs.

Exemplarisch hierfür sind die S-Adenosylmethionin-abhängigen Ribosom Methyltransferasen, welche die mono- und di-Methylierung des Adenins der 23S rRNS der großen Untereinheit katalysieren. Der daraus resultierende Wegfall als Wasserstoffbrücken-Donor und die sterische Veränderung in der Antibiotikum-Bindestelle führen zur Resistenzausbildung gegenüber drei strukturell verschiedenen Wirkstoffklassen, den Makroliden, Lincosamiden und Typ B Streptogramine.^[173]

Beim *M. tb.* entwickeln sich Resistenzen gegenüber RIF hauptsächlich in Folge von Punktmutationen und kurzen Deletions- oder Insertionsmutationen in dem Wirkstoffziel codierenden Gen *rpoB*, der β -Untereinheit der DNS-abhängigen RNS-Polymerase RpoB.^[180,212,213] Bei bis zu 95 % aller RIF-resistenten *M. tb.*-Stämmen sind diese Mutationen in der definierten 81-Basenpaaren Region lokalisiert, welche daher als RIF Resistenzbestimmende Region (RRDR) bezeichnet wird.^[214] Im allgemeinen resultieren diese Mutationen in einer ausgeprägten Resistenz gegenüber RIF und führen zu Kreuzresistenzen gegenüber allen weiteren Rifamycine. Jedoch wurden auch spezifische Mutationen in dieser Region beschrieben, welche zu einer schwachen Resistenz gegenüber RIF führen und keine ausgeprägten Kreuzresistenzen gegenüber anderen Rifamycine zur Folge haben.^[93] Bei etwa

5 % der klinischen RIF-resistenten *M. tb.*-Isolaten konnte die Resistenz auf Veränderungen bei den Efflux-Pumpen zurück geführt werden.^[214]

Ebenfalls beruht die Ausbildung von Resistenzen beim *M. tb.* gegenüber den Aminoglycosid-Antibiotika Streptomycin, Kanamycin und Amikacin auf den Modifikationen der Wirkstoffe in der Folge von Mutationen. So führen Mutationen im ribosomalen Protein S12 sowie in der 16S rRNS zu einer stark ausgeprägten Resistenz gegenüber Streptomycin. Weniger stark ausgeprägte Resistenzen gegenüber Streptomycin werden bei Mutationen des Gens *gidB*, der 7-Methylguanosin-Methyltransferase, beobachtet, welche spezifisch für die 16S rRNS ist.^[93,215] Bei Kanamycin und Amikacin sind ausgeprägte Resistenzen das Resultat von 16S rRNS Mutationen.^[93] In der Folge werden bei diesen drei Aminoglycosiden häufig Kreuzresistenzen beobachtet.^[216]

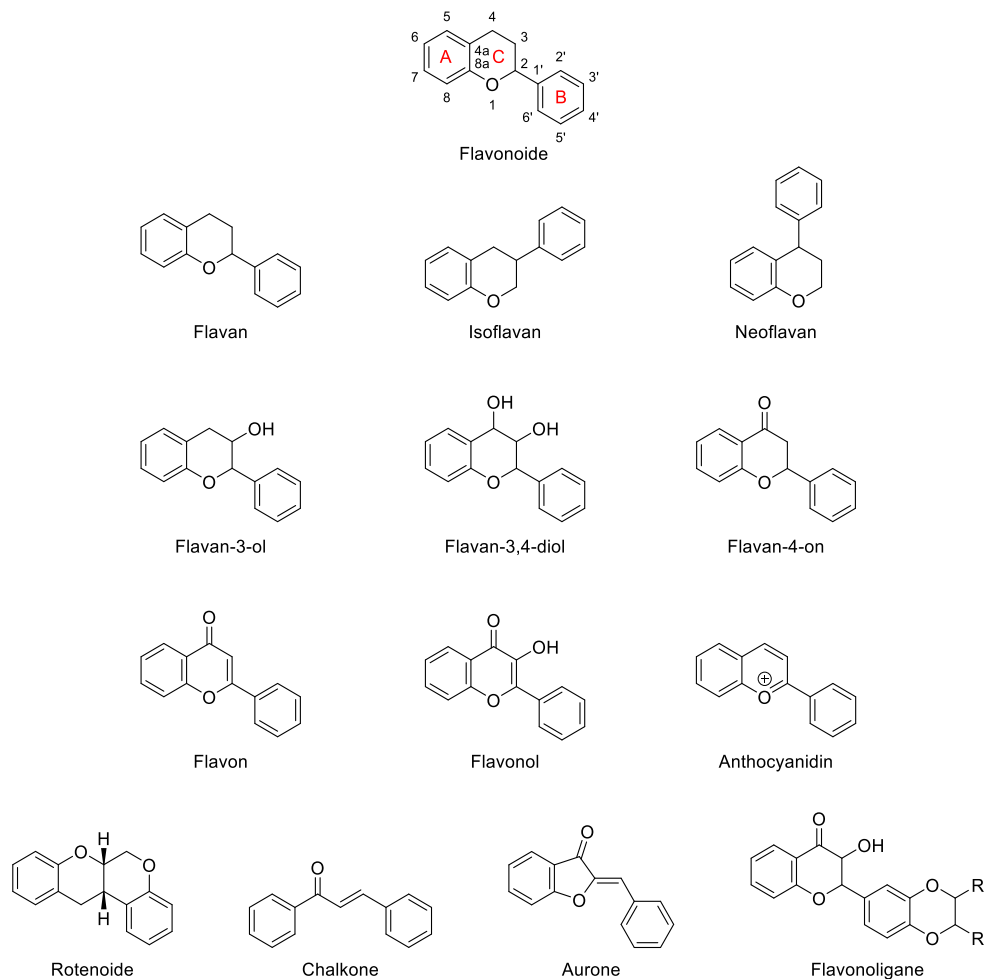
Mehr als 90 % der Fluorchinolonen-resistenten *M. tb.* weisen Mutationen in spezifischen Regionen der *gyrA* und *gyrB*, welche daher als Chinolonresistenz-bestimmende Region (QRDR) bezeichnet wird, auf.^[148] Austausch von einzelnen Aminosäuren in der Chinolonbindetasche (CBT) resultiert in Geometrieänderungen die zum Verlust von Bindungsaffinität und Stabilität des Chinolons in der CBT führen.^[173,217] Ausbildungen von Resistenzen gegenüber Fluorchinolonen beim *M. tb.* in der Folge von verstärktem Efflux oder DNS-Mimikry konnte nur im Labor, jedoch nicht bei klinischen Isolaten beobachtet werden.^[148] Neben der direkten Modifikation des Wirkstoffziels in Folge von Mutationen oder posttranslationale Modifikationen, können Resistenzen sich ebenfalls in der Folge von phänotypischen Veränderungen entwickeln.^[173] Das Glycopeptid-Antibiotikum Vancomycin bildet einen nicht-kovalenten Komplex mit dem Acyl-D-Alanyl-D-Alanin Terminus der wachsenden Peptidoglycan-Kette, während der bakteriellen Zellwandsynthese, aus. Der isostere Austausch zu Acyl-D-Alanyl-D-Lactat mit einem Ester, statt einem Amid, als Strukturelement, führt zum Verlust einer Wasserstoffbrückenbindung und erzeugt ebenfalls eine elektrostatische Repulsion zwischen Bindestelle und Wirkstoff, welche die Anbindung dessen verhindert. Um diesen Resistenzmechanismus auszubilden, benötigen Bakterien die Akquirierung von fünf neuen Genen.^[173,218]

2.5 Chlorflavonin (1)

2.5.1 Flavonoide

Bei der Entdeckung und Entwicklung von antibakteriellen sowie antimykobakteriellen Arzneistoffen spielten Naturstoffe seit jeher eine Schlüsselrolle. Diese Naturstoffe wurden in breit angelegten *Screenings* von Naturstoffbibliotheken identifiziert und dienten im Anschluss als Leitstruktur für die chemische Strukturoptimierung und Wirkstoffentwicklung.^[137]

Im Pflanzenreich sind Flavonoide allgegenwärtig und stellen nach den Alkaloiden die zweithäufigste Klasse von Sekundärmetaboliten dar.^[219,220] Diese erfüllen essenzielle physiologische und ökologische Funktionen im Organismus wie dem Schutz vor Ultraviolett-B-Strahlung, Herbivoren und Pathogenen, als Phytoalexinen und Signalmolekülen, Pigmente zur Attraktivitätssteigerung für Bestäuber sowie zur Regulation des Auxin-Transports und der Fruchtbarkeit.^[220–222] In wenigen Fällen wurde ebenfalls die Biosynthese und Biotransformation von Flavonoiden in endophytischen Pilzen beschrieben.^[223–225] Menschen und Tiere sind nicht der Biosynthese von Flavonoiden befähigt und müssen diese über die Nahrung aufnehmen.^[226] Als Flavonoide wird eine große Bandbreite von sowohl natürlichen als auch synthetischen Substanzen mit einem Phenyl-substituierten Propylbenzol $C_6-C_3-C_6$ Kohlenstoffgrundgerüst bezeichnet (Schema 2). Dazu gehören die Rotenoide, Flavonolignane, Chalkone und Aurone. Im eingeschränkten Sinne wird der Begriff Flavonoid nur für Substanzen mit einem $C_6-C_3-C_6$ Kohlenstoffgrundgerüst, welche ein Chroman oder Chromen beinhalten, verwendet. Gemäß der Empfehlung der *IUPAC* wird der der fusionierte Benzolring als A-Ring definiert und das Pyran oder 3,4-Dihydro-2*H*-pyran als C-Ring. Entsprechend der Position des Phenyl-Substituenten, dem B-Ring, am Chroman oder Chromen werden die Substanzen in die Klassen Flavonoide, Isoflavonoide und Neoflavonoide unterteilt. Die weitere Einordnung in Untergruppen geschieht nach der Oxidationsstufe sowie Sättigung des heterocyclischen Rings in Flavane, Flavanole, Flavanone, Flavone, Flavonole und Anthocyanidine.^[227,228]



Schema 2: Nomenklatur der Flavonoide gemäß der Empfehlung der IUPAC aus dem Jahr 2017. Adaptiert nach RAUTER *et al.*^[227]

Bislang wurden mehr als 8.000 verschiedene Flavonoide beschrieben,^[229] welche sich in der strukturellen Klasse, Substitutionsmuster und -grad der phenolischen Hydroxygruppen sowie deren Alkylierung oder Glycosylierung unterscheiden.^[230]

Die in Pflanzen präsenten Flavonoide liegen primär als hydrophile Glycoside vor. Bei diesen ist hauptsächlich die Hydroxygruppe in 3-Position, nur gelegentlich die an 7-Position, zumeist mit Glucose, seltener mit Galactose, Rhamnose oder Xylose glycosyliert.^[229] Die Hydrolyse der glycosidischen Bindung führt zum freien Flavonoid-Aglycon.^[231] Dahingegen können O-Substituenten, hauptsächlich Methyl-Ether oder Acetyl-Ester,^[220,229] und C-Alkylseitenketten am Kohlenstoffgrundgerüst wie beispielsweise Prenyl- oder Geranyl-Funktionalitäten die Lipophilie der Flavonoide erhöhen.^[232]

Flavonoide sind aufgrund deren gesundheitsfördernden Eigenschaften und in der Funktion als Antioxidationsmittel beim Menschen ein wichtiger Bestandteil einer gesunden Ernährung.^[233]

Diese können freie Radikale abfangen oder divalente Metallkationen, welche zur Generierung von freien Radikalen beitragen, komplexieren und dadurch Schäden an Biomolekülen verhindern.^{[231][234]} Einigen Flavonoiden konnte eine antibakterielle,^[235] antivirale,^[235]

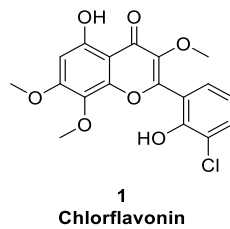
antiinflammatorische,^[236] anticancerogene,^[236] antiallergische,^[237] antidiabetische^[235] oder vasodilatorische^[233] Wirkung nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte gezeigt werden das Flavonoide die Enzymaktivität wie beispielsweise die der Cyclooxygenase-1 und Cyclooxygenase-2^[238] oder Lipoxygenase^[238] inhibieren können.^[234]

Das für Flavone charakteristische Strukturelement Chromon ist eine anerkannte *privilegierte Struktur*,^[239] welche in zahlreichen natürlichen und synthetischen Verbindungen mit pharmakologischen Aktivitäten im Bereich der neurodegenerativen und inflammatorischen Erkrankungen, Infektionskrankheiten, sowie Diabetes und Krebs vorkommt.^[239–241] Das Konzept der *privilegierten Struktur* entstammt aus dem Fachgebiet der medizinischen Chemie und dient der Entwicklung neuer pharmakologisch aktiver Verbindungen. Als *privilegierte Struktur* wird ein untergeordnetes Strukturelement mit vielseitigen Bindungseigenschaften,^[242] welches mit mehr als einem Rezeptor oder Enzym interagieren kann, bezeichnet.^[243,244] Bei diesem Strukturelement handelt es sich um ein molekulares Grundgerüst, welches über eine signifikante Größe verfügt und wesentlich zur Bindungsaffinität zum Wirkstoffziel beiträgt. Oftmals sind dies rigide Strukturen, die aus zwei bis drei fusionierten oder über Einfachbindungen verbrückten Ringsystemen bestehen.^[242] Die Identifikation von *privilegierten Strukturen* erfolgt hauptsächlich durch empirische Beobachtungen oder computergestützte Berechnungsmethoden.^[244] In Folge von iterativer, kombinatorischer Optimierungen können durch die Modifikation von funktionellen Gruppen oder der Einführung von Seitenketten neue aktive und selektive Wirkstoffkandidaten aus privilegierten Strukturen entwickelt werden.^[241,243,244]

2.5.2 Das natürliche Flavonoid Chlorflavonin (1)

Im Jahr 1969 wurde das natürliche Flavonoid Chlorflavonin (1) aus *Aspergillus candidus* Kulturen isoliert und dessen antimykotische Eigenschaft gegenüber einigen Schimmelpilzen wie zum Beispiel *Aspergillus amstelodami* und *Paecilomyces variotii* beschrieben.^[245] Der molekulare Mechanismus der zur antimykotischen Aktivität von Chlorflavonin führt wurde nicht veröffentlicht. Noch im selben Jahr gelang BIRD *et al.* mit Hilfe von chemischer Derivatisierung und spektroskopischen Methoden die Strukturaufklärung von Chlorflavonin (Schema 3).^[246] Außergewöhnlich für dieses natürliche Flavonoid ist dessen Chlorierung.^[247,248]

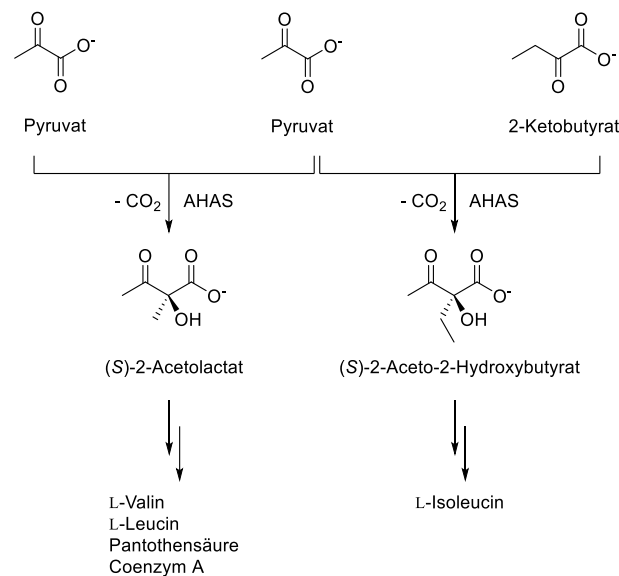
Des Weiteren publizierte YURCHENKO *et al.*, dass Chlorflavonin, wie auch weitere Sekundärmetaboliten des *Aspergillus candidus*, die Apoptose der humanen Prostatakarzinom Zelllinie 22Rv1 induzieren kann.^[249,250] Mit Hilfe von Fluoreszenz-Zytometrie konnte kein signifikanter Effekt von Chlorflavonin auf den Zellzyklus der 22Rv1 Zellen gefunden werden. Ein molekularer Mechanismus, welcher die induzierte Apoptose der Zellen erklären könnte, wurde nicht publiziert.^[249]



Schema 3: Von BIRD *et al.* publizierte LEWIS-Struktur von Chlorflavonin (**1**).^[246]

Chlorflavonin weist *in vitro* eine ausgeprägte wachstumsinhibierende Aktivität gegenüber dem *M. tb*-Stamm H37Rv mit einer minimalen Hemmkonzentration (MHK₉₀) von 1.56 µM auf, ohne dabei selbst in Konzentration von bis zu 100 µM zytotoxisch gegenüber den humanen Zelllinien MRC-5 und THP-1 zu sein. Zudem hemmt Chlorflavonin mit nahezu identischer Aktivität ebenfalls das Wachstum einiger klinischer XDR-*M. tb* Kulturen. In der Monotherapie wirkt Chlorflavonin bakteriostatisch. In der Kombination von Chlorflavonin mit INH oder DMD wird jeweils ein bakterizider Effekt beobachtet. Mit der Hilfe eines fluoreszierenden Reportergens konnte die intrazelluläre Aktivität von Chlorflavonin in mit *M. tb* infizierten Makrophagen demonstriert werden und war im Vergleich zu Streptomycin überlegen.^[251] Mit der Hilfe von Resistenz-vermittelten Mutationen, Gesamtgenomsequenzierung, Supplementations-Assays, *Molecular Docking* und enzymatischer Charakterisierung konnte nachgewiesen werden das Chlorflavonin spezifisch die katalytische Untereinheit IlvB1 der Acetohydroxysäure Synthase (AHAS) inhibiert. In der Folge kommt es *in vitro* beim *M. tb* zur Auxotrophie der verzweigtkettigen-Aminosäuren (BCAA) sowie der Pantothersäure und damit zur Wachstumsretardierung der Bakterienkulturen. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass Chlorflavonin in der Lage ist, in mit *M. tb* infizierten THP-1 Makrophagen zu gelangen und dort das intrazelluläre Wachstum des *M. tb* zu hemmen. Dies lässt darauf schließen, dass es *M. tb* nicht möglich ist die Inhibition der *de novo* Biosynthese der BCAA und Pantothersäure über die Aufnahme aus den humanen Wirtszellen zu kompensieren.^[251]

Es wird unterschieden zwischen den katabolischen Acetohydroxysäure Synthasen (CALS) und der anabolischen Acetohydroxysäure Synthasen (AHAS). Bei den AHAS handelt es sich um Thiamindiphosphat (ThDP) abhängige Enzyme, welche zur Pyruvat-Oxidase-ähnlichen Unterfamilie (EC 2.2.1.6, ehemals EC 4.1.3.18) gehören.^[252,253] Diese katalysieren die nicht-oxidative Decarboxylierung von α-Ketosäuren im gemeinsamen initialen Schritt des Biosynthesewegs der BCAA L-Isoleucin, L-Leucin und L-Valin, sowie die Vorstufe des Coenzym A und der Pantothersäure.^[254–257] Als Hauptreaktionen katalysiert die AHAS die Kondensation zweier Moleküle Pyruvat zu (S)-2-Acetylactat und die von Pyruvat mit 2-Ketobutyrat zu (S)-2-Aceto-2-hydroxybutyrat. In einer nachfolgenden enzymatischen Kaskade werden die beiden Vorstufen zu den BCAA, sowie zum Coenzym A und der Pantothersäure umgewandelt (Schema 4).^[253,258]



Schema 4: Die von der AHAS katalysierten Reaktionen, als gemeinsamer initialer Schritt der *de novo* Biosynthese der BCAA, des Coenzym A und der Pantothensäure.^[253,257,259,260]

Die AHAS setzen sich aus zwei verschiedenen Untereinheiten zusammen, einer kleinen regulatorischen Untereinheit (SSU) und einer großen katalytischen Untereinheit (LSU). Abhängig vom Organismus variieren die Zusammensetzung und Quartärstruktur der AHAS.^[261] Die SSU erfüllt zwei allosterische Funktionen der Aktivierung und Regulierung des Holoenzym in der Folge von Endprodukthemmung, zumeist und am ausgeprägtesten bei L-Valin.^[261] Die LSU verfügt über eine hochkonservierte Thiamindiphosphat Bindungsstelle mit einem divalenten Metallkation e.g. Mg²⁺, welches die Diphosphat-Gruppe des ThDP im aktiven Zentrum verankert.^[256,262] Zusätzlich verfügt die LSU in jedem aktiven Zentrum über ein Molekül des Coenzym Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD). Obwohl im Katalysezyklus keine Redoxreaktion involviert ist, ist dies für die katalytische Aktivität essenziell. Bis heute konnte die Funktion des FADs nicht vollständig aufgeklärt werden. Es wird angenommen, dass dieses für die strukturelle Integrität des Enzym verantwortlich ist oder die Protonierung des reaktiven C₂-Carbanions durch das protische Lösungsmittel verhindern könnte.^[253,256,261]

Die CALS besitzen ein Molekulargewicht von ungefähr 60 kDa und verfügen über keine regulatorische Untereinheit. Als Bestandteil der 2,3-Butandiol-Gärung sind die CALS im 2,3-Butandiol Operon codiert.^[263] Im Gegensatz zu den AHAS können die CALS nicht die Biosynthese von (S)-2-Aceto-2-hydroxybutyrat aus Pyruvat mit 2-Ketobutyrate katalysieren und benötigen für die enzymatische Aktivität kein FAD.^[253] Zudem wird deren enzymatische Aktivität durch die Anwesenheit von Acetat stimuliert. Das pH-Wert Optimum liegt bei 6.0 und die BCAA verursachen keine Rückkopplungshemmung.^[261]

Der Umstand, dass die AHAS sowohl in Algen, Archaeen, Bakterien, Pflanzen als auch Pilzen, jedoch nicht in Säugetieren vorkommt, macht diese zu einem attraktiven Ziel für die

Entwicklung neuer Antibiotika, Antimykotika und Herbiziden.^[258,264] Seit Mitte der 1970er werden AHAS-Inhibitoren kommerziell als potente und sichere Klasse von Herbiziden eingesetzt, da diese wenig bis gar nicht toxisch gegenüber Säugetieren sind.^[265,266] Die fünf Klassen von Herbiziden, welche die pflanzliche AHAS inhibieren, sind die Imidazolinone, Triazolopyrimidine, Pyrimidinyl-Benzoate, Sulfonylharnstoffe und Sulfonylamino-Carbonyl-Triazolinone (Abbildung 6).^[263]

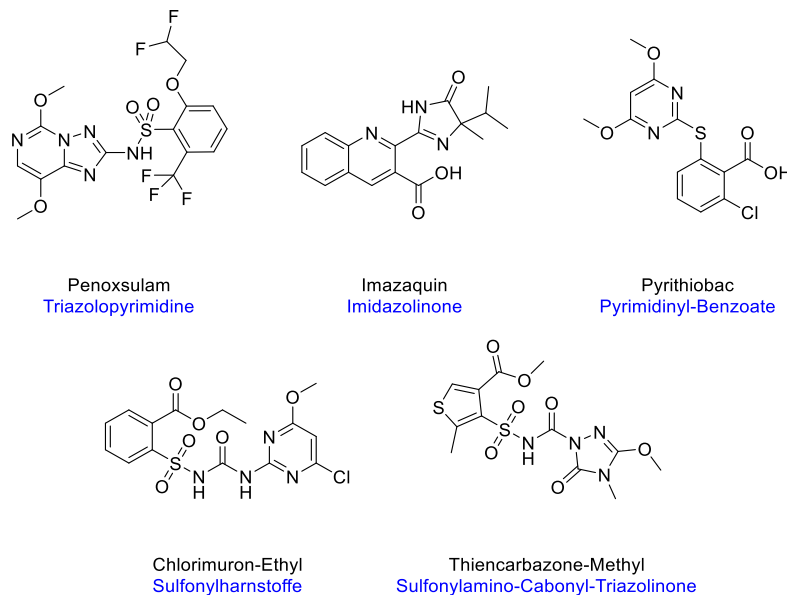


Abbildung 6: Die fünf Klassen von Herbiziden sowie ausgewählte Substanzen, welche die pflanzliche AHAS inhibieren, sind die Imidazolinone, Triazolopyrimidine, Pyrimidinyl-Benzoate, Sulfonylharnstoffe und Sulfonylamino-Carbonyl-Triazolinone.^[263,267]

Bisher war das Interesse spezifische AHAS-Inhibitoren als antibakterielle Wirkstoffe zu entwickeln gering, weil angenommen wurde, dass der infektiöse Organismus die inhibierte *de novo* Biosynthese der BCAA durch deren Aufnahme aus dem Wirtsmedium kompensieren könnte.^[252,266]

Im Rahmen der Entwicklung neuer TB-Vakzine konnte von McADAM *et al.* aufgezeigt werden das Leucin auxotrophe Mutanten des *M. bovis* BCG in Mäusen nicht in der Lage waren zu wachsen und das die Infektionen innerhalb von sieben Wochen aus der Lunge und der Milz eliminiert werden konnte.^[268] In einer Publikation von GULERIA *et al.* konnten Leucin und BCAA auxotrophe Mutanten des *M. bovis* BCG auf angereichertem Nährmedium wachsen, jedoch nicht auf Minimalmedium ohne Zugabe der entsprechenden Aminosäuren. Des Weiteren konnten diese Mutanten in immundefizienten Mäusen nicht wachsen und die Mykobakterien, bei einer kontinuierlichen Abnahme der Infektionslast, *in vivo* nicht länger als einen Zeitraum von 16 bis 32 Wochen überleben.^[269]

Weitere Forschungsergebnisse weisen daraufhin das BCAA auxotrophe Mutanten von intrazellulären Pathogenen, namentlich *Salmonella typhimurium*, *Burkholderia pseudomallei* und *Listeria monocytogenes*, in der Folge einer verringerten Verfügbarkeit der entsprechenden Aminosäuren *in vivo* eine abgeschwächte Virulenz aufweisen und potenzielle Vakzin-Kandidaten darstellen könnten.^[270] Zudem konnte BOIGEGRAIN *et al.* zeigen, dass die Herbizide der Sulfonylharnstoffe Chlorimuron-Ethyl und Metsulfuron-Methyl die AHAS des intrazellulären Pathogens *Brucella suis* inhibieren und dessen Multiplikation in humanen Makrophagen hemmen können.^[271]

Bei mit *M. tb.* infizierten Mäusen führte die Behandlung mit dem spezifischen AHAS-Inhibitor Sulfometuron-Methyl, aus der Klasse der Sulfonylharnstoffe, zu einer signifikanten Reduktion der Multiplikation des Pathogens in der Lunge.^[272]

Die Analyse der Genomsequenz des *M. tb.* ergab, dass die vier Gene *ilvB1*, *ilvB2*, *ilvG* und *ilvX* eine hohe Sequenzübereinstimmung mit der LSU und das Gen *ilvN* mit der SSU der AHAS aufweisen.^[256,273] Da diese im Genom des *M. tb.* auf mehrere Operone verteilt sind, lässt dies darauf schließen, dass diese während der Wachstumsphasen und unter variablen physiologischen Bedingungen unterschiedlich reguliert werden. Aufgrund einer erhöhten Expression der Gene *ilvB2* und *ilvG* während der stationären Wachstumsphase, in Anwesenheit eines Überschusses an Acetat, einer niedrigen Sauerstoffkonzentration und in infizierten Makrophagen wird angenommen, dass es sich bei diesen um katabolische Acetohydroxysäure Synthasen handelt.^[273] Das Gen *ilvB1* codiert die aktive AHAS, welches eine für AHAS typische enzymatische Aktivität aufweist und wird vom *M. tb.* hauptsächlich während der Wachstumsphase exprimiert.^[256,273] Die biologische Bedeutung des *ilvX* Gens ist bisher ungeklärt, dessen Isoenzym weist keine für AHAS typische enzymatische Aktivität auf und wird während der unterschiedlichen Wachstumsphasen nahezu unverändert exprimiert.^[273] In der Publikation von ZOHAR *et al.* konnte gezeigt werden, dass die exprimierten Proteine der Gene *ilvB* und *ilvN* des *M. avium* eine für AHAS typische enzymatische Aktivität aufweisen.^[274]

Bei *M. tb.* resultierte die Inaktivierung des *ilvB1* Gens in BCAA auxotrophen Mutanten, welche *in vitro* eine deutlich reduzierte Überlebensfähigkeit aufwiesen. Dieser Effekt konnte durch die Zugabe der BCAA zum Nährmedium konzentrationsabhängig kompensiert werden. Dahingegen konnten die Mutanten in Makrophagen, bei einer suboptimalen Konzentration der BCAA im Nährmedium, überleben und wiesen kein verlangsamtes Wachstum auf. Die Autoren AWASTHY *et al.* weisen darauf hin, dass dies an einer Akkumulation der BCAA in den Makrophagen liegen könnte oder der Möglichkeit, dass die BCAA über einen alternativen Biosyntheseweg hergestellt werden könnten.^[270] In einer darauffolgenden Publikation von

SINGH *et al.* wurde festgestellt, dass die in infizierten Makrophagen hochregulierte Transkription der Isoenzyme IlvB2 sowie IlvG die Inaktivierung des *ilvB1* Gens kompensieren und das Überleben des *M. tb.* ermöglichen könnten.^[273] Bei Infektionsmodellen in Mäusen nahm die Infektionslast der BCAA auxotrophen Mutanten über einen Zeitraum von vier Wochen kontinuierlich ab, wobei eine vollständige Eliminierung des Pathogens ausblieb. Zudem wiesen die BCAA auxotrophen Mutanten in Mäusen eine abgeschwächte Virulenz auf.^[270]

Zusammengefasst wiesen in diesen Studien sowohl die BCAA als auch Methionin, Prolin oder Tryptophan auxotrophen Mutanten des *M. tb.* nicht mehr das Vermögen auf im Wirt zu proliferieren.^[275-277] Daher kann angenommen werden, dass die Mutanten den Verlust der Biosynthese der auxotrophen Aminosäuren nicht adäquat durch die Aufnahme derer aus dem Wirtsmedium kompensieren können. Speziell bei den BCAA auxotrophen Mutanten können somit die Isoenzyme IlvB2, IlvG und IlvX *in vivo* nicht vollständig den Aktivitätsverlust der IlvB1 kompensieren oder nur unzureichende Mengen bereitstellen die dem Pathogen das Überleben, jedoch nicht das Wachsen ermöglichen.^[270]

Diese Ergebnisse legen nahe, dass der Biosyntheseweg der verzweigt-kettigen-Aminosäuren ein vielversprechendes und bislang unterschätztes Ziel für die Entwicklung einer neuen antimykobakteriellen Wirkstoffklasse darstellen könnte.^[256,273] Alle der bisher als Herbizid eingesetzten AHAS-Inhibitoren waren *in vitro* oder *in vivo* weniger effektiv als die Mittel der ersten Wahl INH und RIF. Daher ist die Darstellung potenterer AHAS-Inhibitoren für die Entwicklung einer neuen Generation von Antituberkulotika zur Behandlung von MDR- und XDR-TB unentbehrlich.^[266,278] Somit könnte die durch den Naturstoff Chlorflavonin erreichte Inhibition der aktiven AHAS IlvB1 eine nützliche Ergänzung der Mittel der ersten und zweiten Wahl sein, welche die Behandlungszeit verkürzen und die Entwicklung von Resistenzen unterdrücken könnte. Somit ist Chlorflavonin mit seiner antimykobakteriellen Aktivität *in vitro* und dem Vermögen das intrazelluläre Wachstum des *M. tb.* in infizierten humanen Makrophagen zu hemmen sowie einem sehr guten Selektivitätsindex [$IC_{50}(\text{Zytotoxizität})/MHK_{90}(\text{M. tb.}-\text{H37Rv})$] von $SI \geq 64$ eine vielversprechende Leitstruktur für die Entwicklung einer neuen Antituberkulotikum-Klasse.^[251]

CHOI *et al.* klonierten, überexprimierten, reinigten und charakterisierten die SSU und LSU der AHAS des *M. tb.* erstmalig. Für die SSU konnte ein Molekulargewicht von 20.4 kDa und für die LSU eines von 68.3 kDa gemessen werden. Das Holoenzym setzt sich zu gleichen Anteilen aus beiden Untereinheiten zusammen. Dessen gemessenes natives Gewicht ist größer als für das entsprechende Heterotetramer berechnet wurde. Dies wurde auf eine wahrscheinliche Oligomerisierung unter den experimentellen Bedingungen zurückgeführt. Es wird angenommen, dass die SSU die Oligomerisierung maßgeblich fördert, da diese eine

ausgeprägte Tendenz zur Aggregation aufweist. Die gereinigte LSU weist, im Vergleich zum Holoenzym, nur eine geringfügig reduzierte enzymatische Aktivität auf. Daher wird angenommen, dass die LSU über ein unabhängiges aktives Zentrum verfügt, welches auch in Abwesenheit der SSU stabil ist. Das pH-Wert Optimum für die enzymatische Aktivität des Holoenzym liegt bei 7.0. In einem Hochdurchsatz-*Screening* wurden AHAS-Inhibitoren der Klasse der Sulfonylharnstoffe und Imidazolinone, welche kommerziell als Herbizide eingesetzt werden und effektiv die AHAS von diversen Bakterien, Hefen und Pflanzen hemmen, auf deren inhibitorische Aktivität untersucht. Bei den Sulfonylharnstoffen wiesen einige Derivate, wie beispielsweise Pyrazosulfuron-Ethyl und Chlorimuron-Ethyl, bei einer Konzentration von 40 μM eine inhibitorische Aktivität von über 80 % auf, wohingegen die Vertreter der Imidazolinone keine inhibitorische Aktivität zeigten.^[256] Chlorflavonin weist gegenüber der LSU IlvB1 des *M. tb.* eine starke inhibitorische Aktivität als der als Herbizid eingesetzte spezifische AHAS-Inhibitor Pyrazosulfuron-Ethyl auf.^[251]

Der Bindungsmodus des Chlorflavonins mit dem potenziellen Ziel, der AHAS, wurde mit der computergestützten Methode *Molecular Docking* untersucht (Abbildung 7). Dem Umstand geschuldet, dass bisher keine Kristallstruktur der AHAS des *M. tb.* veröffentlicht wurde, wurde ein Homologiemodell mit verfügbaren Kristallstrukturen der AHAS Proteine von *Saccharomyces cerevisiae* und *Arabidopsis thaliana*, welche eine Sequenzidentität von 44 % und 45 % aufweisen, generiert. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass das Chlorflavonin mit dem aktiven Zentrum der AHAS interagiert und die Umsetzung der natürlichen Substrate verhindert. Der Chlor-Substituent des B-Rings füllt in dem Modell eine hydrophobe Seitentasche, welche von den lipophilen Seitenketten der Aminosäuren Leucin 65, Methionin 512 und Valin 513 gebildet wird, aus. Zudem interagiert die phenolische Hydroxygruppe des B-Rings über eine Wasserstoffbrückenbindung und Salzbrücke mit dem Lysin 197. Als weitere Wechselwirkungen konnten die Ausbildung einer π - π -Interaktion zwischen dem Phenylring mit Tryptophan 516, eine Kation- π -Interaktion von Arginin 318 mit dem Chromen-Grundgerüst sowie eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der phenolischen Hydroxygruppe des A-Rings mit dem Rückgrat von Phenylalanin 147 vorausgesagt werden. Bei den mit Chlorflavonin behandelten Kulturen des *M. tb.* bildeten sich mit einer Frequenz von 10^{-7} CFU Resistenzen aus und führten zu einer >16-fachen Verschiebung der MHK_{90} . Die Gesamtgenomsequenzierung der spontan resistenten Mutanten ergab, dass diese Einzelnukleotid-Polymorphismen, welche zu verschiedenen nicht-synonymen Mutationen im Gen *ilvB1* führten, aufwiesen. Diese Mutationen im oder in der Nähe des aktiven Zentrums resultieren in einem Austausch bestimmter Aminosäuren, i.e. Lysin 197, Glycin 62 und Alanin 63, welche die Enzym-Ligand-Wechselwirkung einschränken, ohne dabei die enzymatische Aktivität der IlvB1 signifikant zu beeinflussen.^[251]

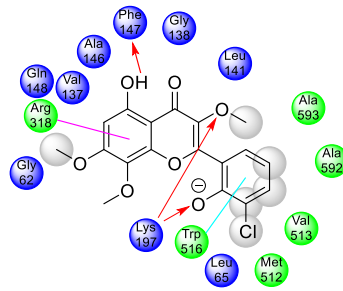


Abbildung 7: Mögliche Enzym-Ligand-Wechselwirkung des vermutlichen aktiven Zentrums eines Homologiemodells der katalytischen Untereinheit IlvB1 des *M. tb.*-Stamms H37Rv mit Chlorflavonin (**1**). Die Aminosäuren der Peptidkette A sind in Grün und die der Peptidkette B in Blau eingefärbt. Hydrophobe Wechselwirkungen zwischen dem Chlorflavonin und den lipophilen Aminosäureresten sind mit hellgrauen Kugeln illustriert. Die Wasserstoffbrückenbindungen und die Salzbrücke sind als rote Pfeile, die Kation- π -Interaktion als pinker Strich und die π - π -Interaktion als Strich in Cyan eingefärbt. Adaptiert nach REHBERG *et al.*^[251]

Zu den weiteren vorteilhaften Eigenschaften des Chlorflavonins gehört die Einhaltung aller der von LIPINSKI formulierten Bedingungen der *Rule of Five* für die Einschätzung der möglichen oralen Bioverfügbarkeit eines Wirkstoffkandidaten. So liegt das Molekulargewicht unterhalb von 500 g/mol (378.76 g/mol), die Anzahl der Wasserstoffbrücken-Donor beträgt zwei und die der Wasserstoffbrücken-Akzeptoren bei sieben. Der mittels computergestützter Berechnungen des nicht-kommerziellen, freizugänglichen Web-Services *SwissADME* prognostizierte *n*-Octanol/Wasser Verteilungskoeffizient ($\log P_{O/W}$) (iLOGP) beträgt 3.27.^[279,280] Als Ergänzung dieser empirischen Regeln stellten VEBER *et al.* fest, dass zusätzlich auch die Anzahl der frei rotierbaren Bindungen weniger als zehn betragen sollten. Chlorflavonin verfügt über vier rotierbare Bindungen und ist im Allgemeinen aufgrund des rigiden Chromon-Grundgerüst als vorwiegend starres Molekül einzuschätzen.^[281]

3 Zielsetzung

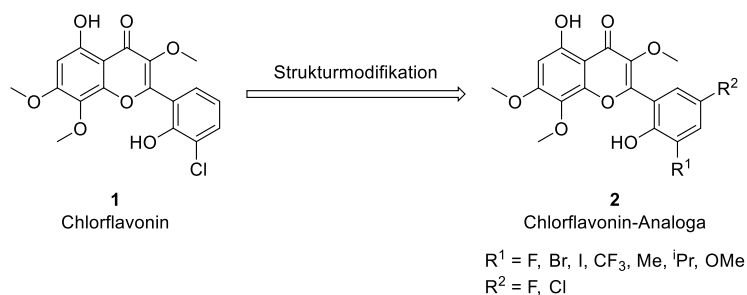
Die Errungenschaften bei der chemotherapeutischen Behandlung der Tuberkulose wurden in den vergangenen Jahrzehnten zunehmend durch die globale Ausbreitung von multiresistente- (MDR) und extensiv resistente- (XDR)-Tuberkulose konterkariert. Daher ist zum Erreichen der gesteckten Ziele der *End TB Strategy* der WHO die Erforschung und Optimierung neuer Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Antituberkulotika-Wirkstoffklassen ein wichtiger Aspekt.^[55,77]

3.1 Chlorflavonin (1)

Das natürliche Flavonoid Chlorflavonin (1) stellt mit dessen potenter antimykobakterieller *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv und verschiedenen XDR klinischen Isolaten des *M. tb.*, dem Vermögen das Wachstum des Pathogens in infizierten humanen Makrophagen und einem sehr guten Selektivitätsindex eine vielversprechende Leitstruktur für die Entwicklung eines antimykobakteriellen Wirkstoffkandidaten dar. Chlorflavonin inhibiert die mykobakterielle Acetohydroxysäure Synthase (AHAS) und führt somit zur Auxotrophie der verzweigtkettigen-Aminosäuren (BCAA) und des Coenzym A (Kapitel 2.5.2).^[251]

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit sollte zunächst eine neue, verkürzte und eine in Bezug auf die Gesamtausbeute effizientere Synthesestrategie entwickelt werden, um die Darstellung des Chlorflavonins (1) zu ermöglichen. Mit der Zugänglichkeit des Naturstoffs können unsere Kooperationspartner aus den Fachgebieten der Infektionsforschung, pharmazeutischen Biologie und klinischen Pharmazie relevante pharmakokinetische und pharmakodynamische Eigenschaften für die präklinische Wirkstoffforschung ermitteln.

Zusätzlich soll die zu entwickelnde Synthesestrategie die flexible Darstellung von Chlorflavonin-Analoga zur Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und Entwicklung des Pharmakophormodells der Leitstruktur sowie präklinischen Strukturoptimierung ermöglichen. Basierend auf den Ergebnissen der Publikation von REHBERG *et al.* sollte in erster Linie die Strukturmodifikation des B-Rings erfolgen. Der Chlor-Substituent erwies sich sowohl im phänotypischen Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay für die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität als auch im Enzymaktivitäts-Assay für die Inhibition der katalytischen Untereinheit IlvB1 der mykobakteriellen AHAS als wichtig (Schema 5).^[251]



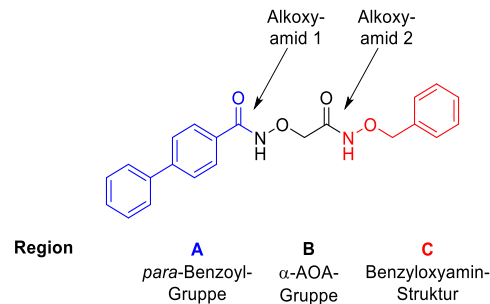
Schema 5: Geplante Strukturmodifikation des Naturstoffs Chlorflavonin (**1**) zur Evaluation der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen.

Diese Ergebnisse sollen im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung eingesetzt werden um die Leitstruktur in Bezug auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivität, Inhibition und Selektivität gegenüber den Isoenzymen der AHAS, physikochemischen Parametern und zur Modifikation der pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften zielorientiert zu verbessern. Im Weiteren kann die Darstellung des Naturstoffs Chlorflavonin die perspektivische Durchführung von Studien zur Bestimmung der *in vivo* Pharmakokinetik und der Evaluation in Infektionsmodellen ermöglichen.

3.2 Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur **KSK104 (3a)**

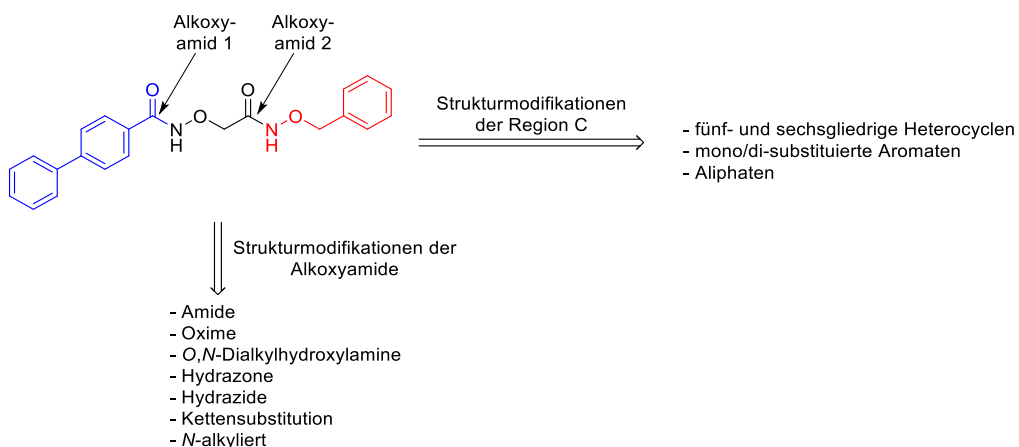
Im Rahmen eines breit angelegten *Screenings* wurde die interne Bibliothek synthetischer, strukturell diverser Verbindungen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. THOMAS KURZ in der Arbeitsgruppe unseres Kooperationspartners Prof. Dr. RAINER KALSCHEUER an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf am Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv untersucht. Bei dem phänotypischen Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay zeigte die Alkoxyamid-basierte Verbindung **KSK104 (3a)**, welche im Rahmen ihrer Promotion von Frau Dr. KATHARINA STENZEL dargestellt wurde, eine sehr gute antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv auf. In nachfolgenden Untersuchungen wurde festgestellt, dass die Verbindung **KSK104** ebenfalls eine intrazelluläre antimykobakterielle Aktivität in infizierten humanen Makrophagen und sehr gute antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten gegenüber verschiedenen extensiv resistenten klinischen Isolaten des *M. tb.* aufwies. In Kombination mit den etablierten Antituberkulotika INH, RIF, EMB und DMD übt **KSK104** additive Effekte auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten aus. Dabei ist **KSK104** selbst in hohen Konzentrationen von 100 μM nicht zytotoxisch gegenüber den humanen Zelllinien THP1, MRC-5 und HepG2 (Kapitel 4.2.1.2). Basierend auf diesen Ergebnissen ist die Alkoxyamid-basierte Verbindung **KSK104 (3a)** eine vielversprechende neue Leitstruktur für die Entwicklung eines antimykobakteriellen Wirkstoffs.

Zu Beginn der präklinischen Strukturoptimierung wurde die Leitstruktur *KSK104* (**3a**) in die drei Regionen A, B und C eingeteilt. Als Schlüsselstrukturelemente konnten für die Region A eine *para*-substituierte Benzoyl-Gruppe, für Region B die α -Aminooxycarbonsäure (α -AOA) und für die Region C das Benzyloxyamin identifiziert werden. Für die Beschreibung der nachfolgend durchgeführten Strukturmodifikationen sowie die Analyse der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen wurden die Alkoxyamid-Funktionalitäten als Alkoxyamid 1 und Alkoxyamid 2 bezeichnet (Schema 6).



Schema 6: Einteilung der LEWIS-Struktur der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur *KSK104* (**3a**) in die drei Regionen A (blau), B (schwarz) und C (rot).

Zuerst sollte die Strukturmodifikation der Alkoxyamid-Gruppen in Angriff genommen werden und diese durch ausgewählte funktionelle Gruppen ausgetauscht werden, um Rückschlüsse auf deren mögliche Bindungsrolle als Wasserstoffbrücken-Akzeptor bzw. -Donor bei einer Wechselwirkung mit der mykobakteriellen biomolekularen Zielstruktur zu erhalten. Im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung von *KSK104* sollte in der Region C gemäß dem Prinzip der Bioisosterie, der Austausch des nicht substituierten Benzenkerns durch fünf- und sechsgliedrige Heterocyclen sowie die Einführung elektronisch, chemisch und räumlich verschiedener Substituenten erfolgen (Schema 7).



Schema 7: Angedachte Strukturmodifikation der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur *KSK104* (**3a**).

Die Ergebnisse der Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen sollen in die gezielte Darstellung von chemischen Sonden einfließen, welche von unseren Kooperationspartnern eingesetzt werden können, um das Wirkstoffziel der Leitstruktur *KSK104* (**3a**) zu lokalisieren und identifizieren. Aus diesen Erkenntnissen könnten Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus gezogen werden.

Für die Untersuchung der *in vitro* und *in vivo* Pharmakokinetik der Leitstruktur *KSK104* durch unseren Kooperationspartner Dr. BJÖRN BURCKHARDT aus dem Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie sollte zunächst die chemische Stabilität von *KSK104* untersucht werden und ein Deuterium-markiertes Isotopomer der Leitstruktur als interner Standard für die Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung dargestellt werden.

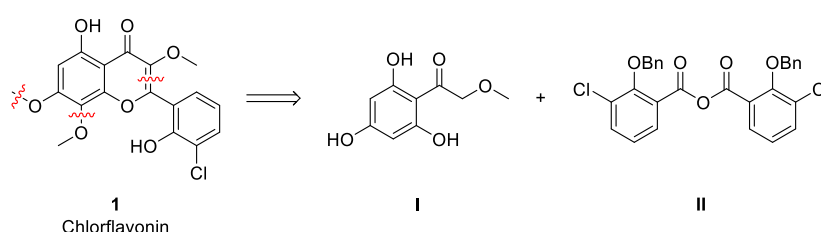
Zur Vorbereitung der angedachten Evaluation der *in vivo* Pharmakokinetik und darauffolgenden Untersuchung in *in vivo* Infektionsmodellen durch unseren Kooperationspartner Dr. CHRISTOPH HÖLSCHER am Forschungszentrum Borstel, LEIBNIZ Lungenzentrum im Programmbereich Infektionen, sollte für die Leitstruktur *KSK104* eine präklinische Formulierung gefunden werden, welche sowohl die perorale als auch intravenöse Applikation ermöglichen sollte.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Darstellung von Chlorflavonin (1) und Chlorflavonin-Analoga

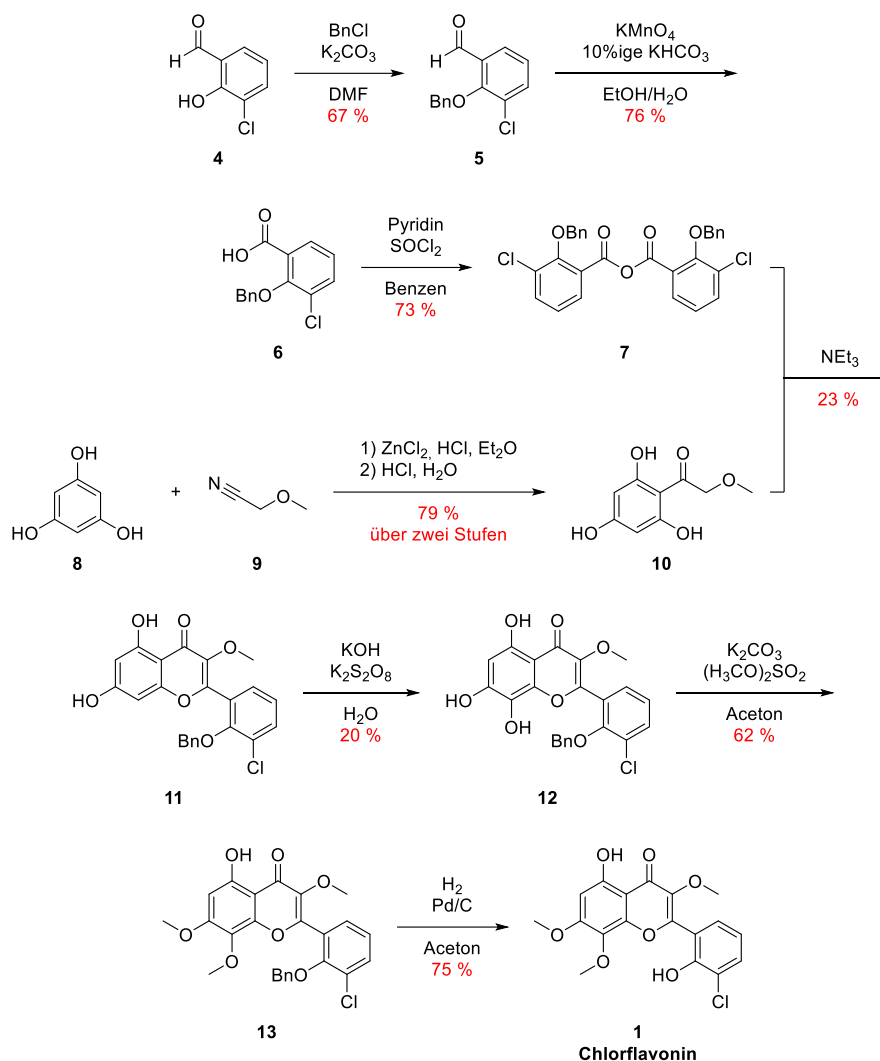
4.1.1 Kenntnisstand

Im Jahr 1980 wurde von BOGNÀR *et al.* die bislang einzige Synthese von Chlorflavonin (1) publiziert. Diese zerlegten Chlorflavonin (1) retrosynthetisch in die leicht zugänglichen Fragmente des ω -Methoxyphloracetophenons (I) und aromatischen Carbonsäureanhydrids II (Schema 8).^[282]



Schema 8: Retrosynthetische Zerlegung von Chlorflavonin (1) nach BOGNÀR *et al.*^[282]

Beginnend mit dem 3-Chlorsalicylaldehyd (4) wurde dessen phenolische Hydroxygruppe mit Benzylchlorid alkyliert und der Benzylether-geschützte Aldehyd 5 mit Kaliumpermanganat zur Carbonsäure 6 oxidiert. Im Anschluss folgte die Dehydratisierung von zwei Molekülen der Benzylether-geschützten Carbonsäure 6 zum aromatischen Carbonsäureanhydrid 7 über ein mit Thionylchlorid *in situ* generiertes Carbonsäurechlorid. Die Darstellung des zweiten Fragments, dem ω -Methoxyphloracetophenon (10), fand in der Publikation von BOGNÀR *et al.* keine Erwähnung. Im Allgemeinen kann dieses ausgehend von 1,3,5-Trihydroxybenzen (8) und 2-Methoxyacetonitril (9) über die über die zweistufige HOUBEN-HÖSCH-Reaktion in guten Ausbeuten dargestellt werden.^[283] Im Anschluss wurde das ω -Methoxyphloracetophenon (10) mit dem Benzylether-geschützten aromatischen Carbonsäureanhydrid 7 in einer ALLAN-ROBINSON-Kondensation zum 3-Methoxyflavon 11 umgesetzt. Gefolgt von der ELBS-Persulfat-Oxidation zum *para*-Diphenol 12, der selektiven Methylierung der freien phenolischen Hydroxygruppen in 7- und 8-Position sowie der abschließenden Palladium-katalysierten Hydrogenolyse der Benzylether-Schutzgruppe gelang die Umsetzung zum Chlorflavonin (1). Ausgehend von 3-Chlorsalicylaldehyd (4) betrug die Gesamtausbeute von Chlorflavonin (1) über sieben Stufen 0.8 % (Schema 9).^[282]



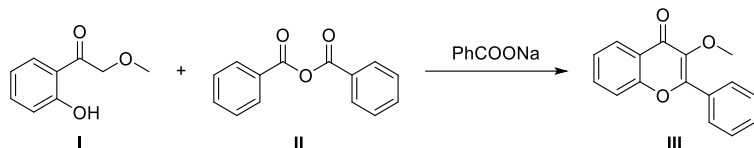
Schema 9: Darstellung von Chlorflavonin (**1**) nach BOGNÀR *et al.* über die ALLAN-ROBINSON-Kondensation des aromatischen Carbonsäureanhydrids **7** mit dem 2'-Hydroxyacetophenon **10**,^[282] sowie dessen Synthese nach URGAONKAR *et al.*^[283]

Bei der von BOGNÀR *et al.* entwickelten Synthesestrategie stellen insbesondere die Ausbeuten der Schlüsselschritte der ALLAN-ROBINSON-Kondensation (23 %) und ELBS-Persulfat-Oxidation (20 %) Engstellen dar,^[282] welche bei einem neuen Syntheseweg vermieden werden sollten. Neben der geringen Gesamtausbeute könnte bei dieser Synthesestrategie die erforderliche Menge der entsprechenden Aldehyde für die geplante Darstellung von Chlorflavonin-Derivaten zur Evaluation der Struktur-Aktivitäts-Beziehung (SAR) ein limitierender Faktor darstellen.

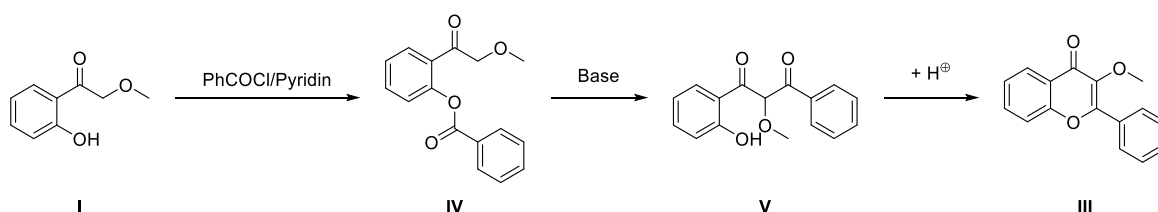
Für die Synthese des 3-Methoxyflavon-Grundgerüsts **III** bieten sich zunächst zwei Möglichkeiten an. Zum einen die direkte Darstellung ausgehend von dem entsprechenden 2'-Hydroxy-2-methoxyacetophenon (**I**) über die ALLAN-ROBINSON-Kondensation und die BAKER-VENKATARAMAN-Synthese oder zum anderen die zweistufige Variante über die

Synthese des Flavonols **VIII** mit der AUWERS-Synthese und die ALGAR-FLYNN-OYAMADA-(AFO)-Reaktion mit anschließender Methylierung (Schema 10).^[284]

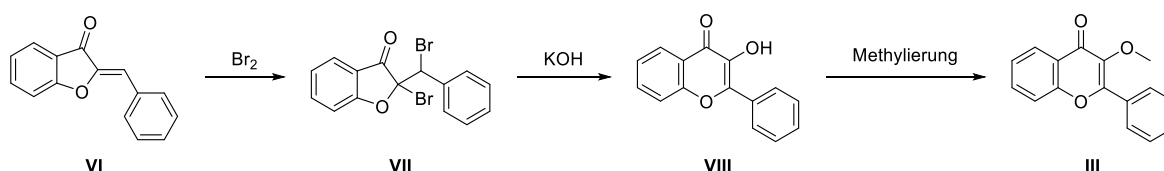
ALLAN-ROBINSON-Kondensation:



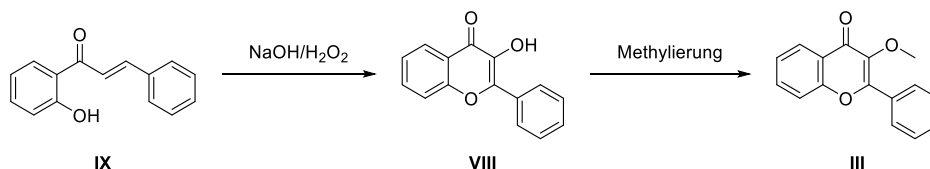
BAKER-VENKATARAMAN -Synthese:



AUWERS-Synthese:



ALGAR-FLYNN-OYAMADA -Reaktion:

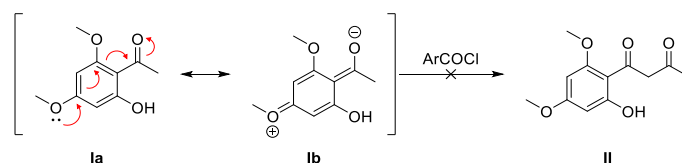


Schema 10: Möglichkeiten zur Darstellung des 3-Methoxyflavon-Grundgerüsts **III** über die ALLAN-ROBINSON-Kondensation und die BAKER-VENKATARAMAN-Synthese, sowie über die AUWERS-Synthese und die AFO-Reaktion zur Darstellung des Flavonols **VIII** mit anschließender Methylierung. Adaptiert nach KSHATRIYA *et al.*^[284]

Bei der ALLAN-ROBINSON-Kondensation können 2'-Hydroxyacetophenone **I** mit aromatischen Carbonsäureanhydrid **II** in Gegenwart des Alkalisalzes der entsprechenden Carbonsäure zum Flavon beziehungsweise 3-Methoxyflavon **III** umgesetzt werden. Alternativ können bei dieser Methode auch andere reaktive Carbonsäurederivate wie Carbonsäurechloride und als Base Pyridin oder Triethylamin verwendet werden.^[285,286]

Bei der zweistufigen BAKER-VENKATARAMAN-Synthese können α -Acyloxyketone **IV** über eine basenvermittelten Migration der aromatischen Acylgruppe vom Sauerstoff auf den sp^3 -Kohlenstoff, der BAKER-VENKATARAMAN-Umlagerung, zu β -Diketonen **V** reagieren.^[285] Im nächsten Schritt kann das β -Diketon **V** in Gegenwart einer BRÖNSTED- oder LEWIS-Säure

zum Flavon **III** umgesetzt werden. Diese Methode zur Darstellung von Flavonen ist jedoch in Bezug auf die möglichen Edukte limitiert. Substrate die in *para*-Position zum Acetylrest über einen Substituenten mit einem positiven mesomeren Effekt verfügen, werden aufgrund der mesomeren Stabilisierung **la-b** in Bezug auf die Enolat-Bildung deaktiviert. In der Folge ist die Reaktion zum β -Diketon maßgeblich erschwert (Schema 11).^[287]



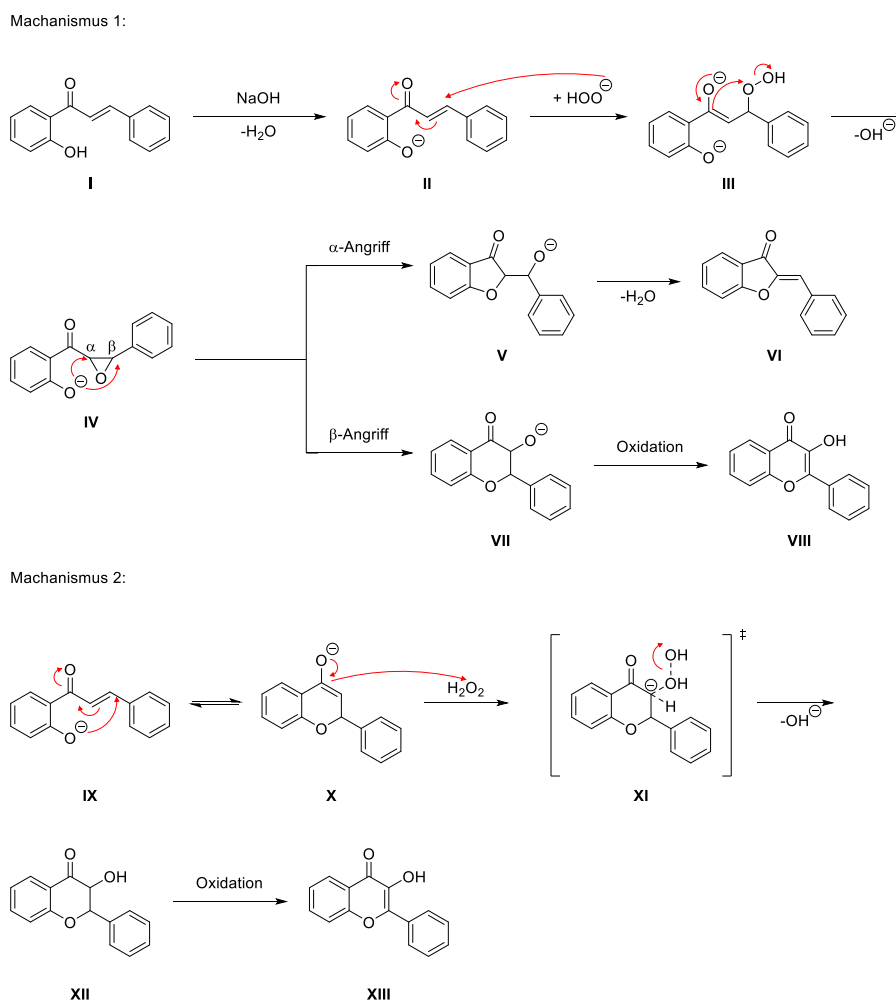
Schema 11: Substituenten mit einem positiven mesomeren Effekt in *para*-Position deaktivieren die Enolat-Bildung des Ketons und können nicht als Substrate in einer BAKER-VENKATARAMAN-Umlagerung zum β -Diketon umgesetzt werden. Adaptiert nach SNAPE *et al.*^[287]

Die AUWERS-Synthese ermöglicht die Darstellung von Flavonolen ausgehend von Auronen **VI**, welche über eine Basen- oder Säure-vermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation des entsprechenden 3-Coumaranon mit einem Aldehyd hergestellt werden können. Im ersten Schritt wird das Auron **VI** mit elementarem Brom bromiert und darauffolgend das generierte 1,2-Dibrom-Addukt **VII** in alkoholischer Kaliumhydroxid-Lösung erhitzt. Bei der ablaufenden Reaktionskaskade findet zunächst die Ringöffnung durch Dehydrohalogenierung und dann die ringerweiternde intramolekulare Substitution zum Flavonol **VIII** statt.^[284] Nachteilig bei der AUWERS-Synthese sind die Einflüsse der Substituenten beim eingesetzten 3-Coumaranon, *ortho*- und *para*-Substituenten begünstigen die Bildung des Flavonols und *meta*-Substituenten sind hinderlich.^[288]

Mit der AFO-Reaktion können 2'-Hydroxychalkone **IX** mit Wasserstoffperoxid in einer alkalischen Alkohol-Lösung zu Flavonolen **VIII** umgesetzt werden.

Der Reaktionsmechanismus der AFO-Reaktion wird in diversen Publikationen kontrovers diskutiert und konnte bis heute nicht vollständig aufgeklärt werden. Für die AFO-Reaktion werden zwei Reaktionsmechanismen vorgeschlagen (Schema 12). Gemäß der ersten Hypothese wird das 2'-Hydroxychalkon **I** unter den alkalischen Reaktionsbedingungen deprotoniert und reagiert mit dem Hydroperoxid-Anion zum Epoxid **IV**. Im Anschluss erfolgt die intramolekulare Cyclisierung durch den nukleophilen Angriff des Phenolats am Epoxid. Der Angriff am α -Kohlenstoff mit anschließender Dehydratisierung führt zum Auron **VI** und der Angriff am β -Kohlenstoff zum Flavanonol **VII**, welches unter den Reaktionsbedingungen zum Flavonol **VIII** oxidieren kann (Mechanismus 1). Basierend auf der Publikation von FERREIRA *et al.* liegen die Anionen des 2'-Hydroxychalkons **IX** und des Flavanons **X** im

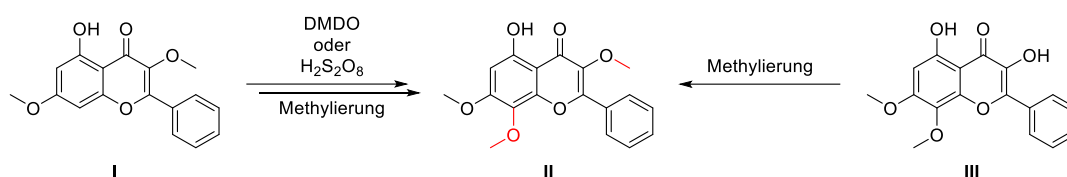
Gleichgewicht vor.^[289] Das Flavanon-Anion **X** reagiert mit Wasserstoffperoxid in einer elektrophilen Addition am C-3 Kohlenstoff zum Flavanonol **XII** (Mechanismus 2).^[290] Bei der AFO-Reaktion führt die Präsenz eines Alkoxy-Substituten in Position 6 zu einer Verschiebung der Produktzusammensetzung, so reagieren 6'-Alkoxy-2'-hydroxychalkone hauptsächlich zu den entsprechenden Auronen und die Bildung der Flavonole kann nur noch in Spuren nachgewiesen werden. Ohne die Anwesenheit eines Substituenten an Position 6 überwiegt die Bildung des Flavonols.^[285,290–292] Diese Beobachtung kann mit dem stark ausgeprägten elektronenschiebenden mesomeren Effekt der Alkoxy-Substituenten, welcher die Basenstärke des Anions **IV** erhöht, sowie durch die zunehmende sterische Hinderung erklärt werden. Als Resultat wird die für die β -Cyclisierung erforderliche Konformation benachteiligt und die der α -Cyclisierung bevorzugt eingenommen.^[290]



Schema 12: Zwei mögliche Reaktionsmechanismen der AFO-Reaktion. Adaptiert nach SERDIUK *et al.*^[290]

4.1.2 Erster Versuch der Darstellung von Chlorflavonin (1)

Bei der retrosynthetischen Analyse von Chlorflavonin (**1**) stellt dessen Substitutionsmuster eine besondere Herausforderung dar. Die Anzahl an Publikationen, in denen die Synthese von vergleichbar substituierten Flavonoiden **II** beschrieben werden, ist stark limitiert. Häufig werden diese semisynthetisch mittels Methylierung von natürlichen Flavonoiden **III** dargestellt^[293–296] oder durch die Oxidation von weniger substituierten Flavonoiden **I** mit Dimethyldioxiran (DMDO) oder der ELBS-Persulfat-Oxidation zugänglich gemacht (Schema 13).^[297,298]

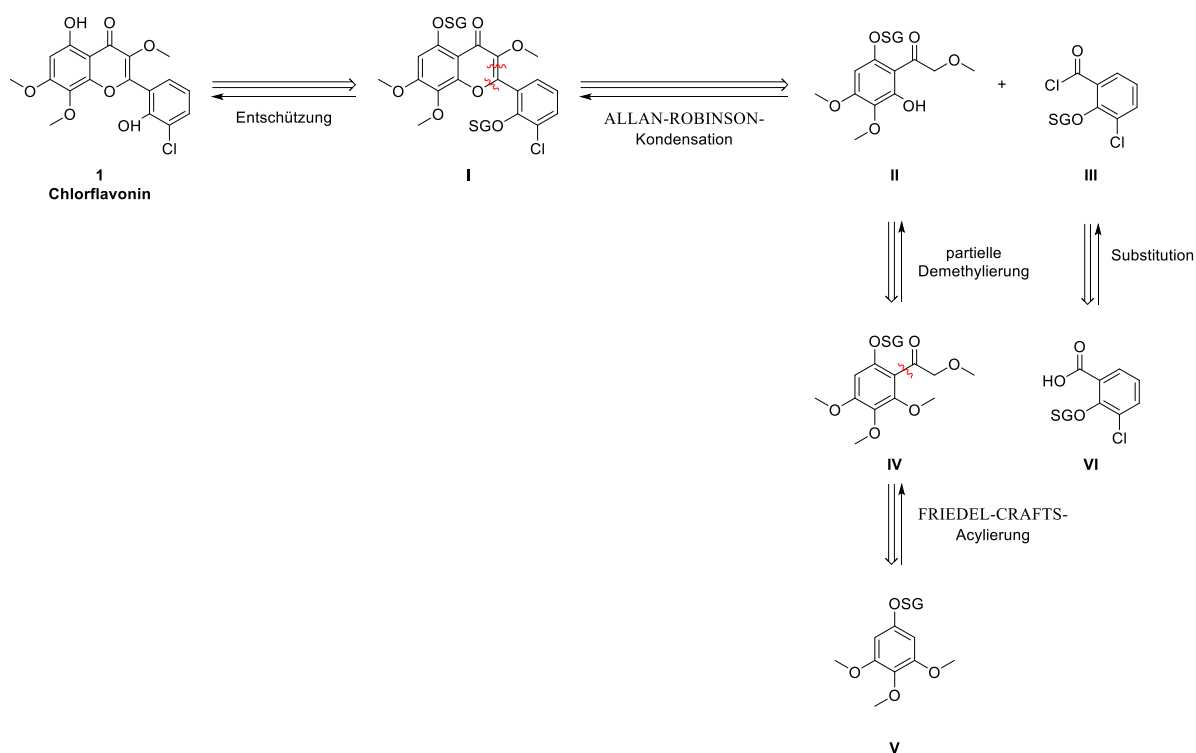


Schema 13: Darstellung von Flavonoiden **II** mit einem vergleichbaren Substitutionsmuster wie Chlorflavonin: (links) vollsynthetische Darstellung über die Oxidation von Flavonoiden **I** mit DMDO oder Peroxodischwefelsäure und anschließender Methylierung; (rechts) semisynthetische Darstellung über die Methylierung von natürlichen Flavonoiden **III**.^[293,297]

Bei der ELBS-Persulfat-Oxidation handelt es sich um die nucleophile Substitution eines Peroxid-Sauerstoffs des zweiwertigen Peroxodisulfat-Anions durch ein Phenolat oder dessen Tautomer. Als Reaktionsprodukt wird ein aromatisches Sulfat erhalten, welches im sauren zu dem entsprechenden Diphenol hydrolysiert werden kann. Die Oxidation findet bevorzugt in der *para*-Position statt und nur im geringen Umfang in der *ortho*-Position, zusätzlich kann auch das zweifach oxidierte Trihydroxyphenol als Produkt erhalten werden. Im Allgemeinen sind die publizierten Ausbeuten der ELBS-Persulfat-Oxidation gering bis moderat und beschränken sich hauptsächlich auf einfache, gut zugängliche Substrate.^[285,299]

Bei der ersten retrosynthetischen Analyse von Chlorflavonin (**1**) wurde in Betracht gezogen, ob sich die ELBS-Persulfat-Oxidation, ein Schlüsselschritt im Syntheseweg von BOGNÀR *et al.*, vermeiden ließe. Mit dem Einsatz des bereits vollständig substituierten 2'-Hydroxyacetophenons **II** als Substrat bei der ALLAN-ROBINSON-Kondensation könnte sowohl die ELBS-Persulfat-Oxidation als auch die anschließende notwendige selektive Methylierung des *para*-Diphenols umgangen werden. Jedoch wäre für einen regioselektiven Ringschluss bei ALLAN-ROBINSON-Kondensation die Einführung einer Schutzgruppe an die phenolische 6'-Hydroxygruppe notwendig. Hierfür könnte die gleiche Schutzgruppe (SG) wie für die phenolische Hydroxygruppe des B-Rings eingesetzt werden, sodass es möglich wäre beide in einem Syntheseschritt zu entfernen. Auch der Einsatz einer anderen Schutzgruppe

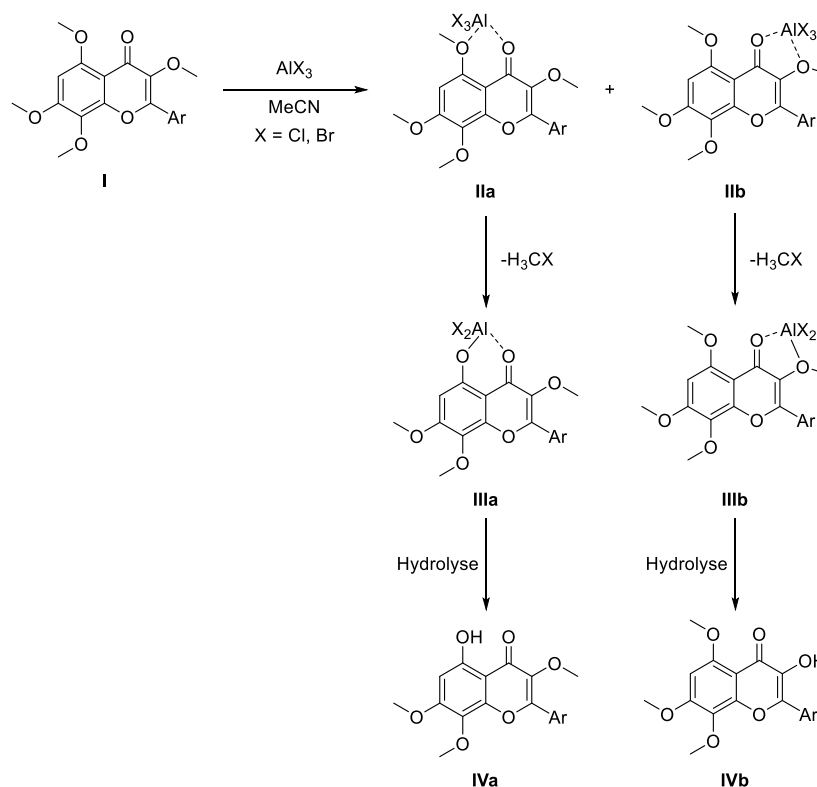
würde sich anbieten, um im nachfolgenden Verlauf der Darstellung von Chlorflavonin-Analoga sich die Möglichkeit der orthogonalen Abspaltung der Schutzgruppen offen zu halten. Aufgrund der vielseitigen Einführungsmöglichkeiten, ausgeprägten chemischen Stabilität gegenüber den Reaktionsbedingungen der geplanten Syntheseschritte und zahlreichen Abspaltungsmöglichkeiten wurden zunächst die Benzyl- und Methylether-Schutzgruppe ausgewählt.^[300] Im Weiteren könnte die Synthesestrategie von BOGNÀR *et al.* durch den Einsatz von Carbonsäurechloriden **III** als Substrate und Pyridin als Base in der ALLAN-ROBINSON-Kondensation, anstelle von aromatischen Carbonsäureanhydriden und dem Alkalisalz der Carbonsäure in Hinsicht auf die Atomökonomie verbessert werden (Schema 14).



Schema 14: Erste retrosynthetische Analyse von Chlorflavonin (**1**).

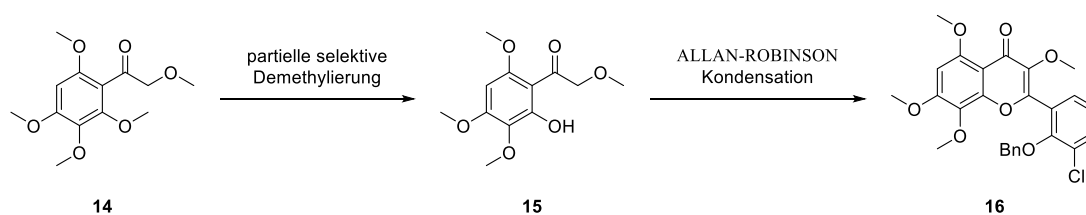
Nach intensiver Literaturrecherche wurde als Schutzgruppe für die phenolische Hydroxygruppe des A-Rings die Methylether-Funktionalität ausgewählt. Diese lässt sich bei milden Reaktionsbedingungen mit zahlreichen Methylierungsreagenzien einführen und ist gegenüber einer Vielzahl von Reagenzien und Reaktionsbedingungen inert. Aufgrund der *ortho*-Stellung zum koordinierenden Carbonylsauerstoffs des Chromon-Grundgerüsts, sollte die selektive partielle Entfernung der Methylether-Schutzgruppe mit LEWIS-Säuren möglich sein.^[300] Die selektive Demethylierung von 3,5-Dimethoxyflavon-Derivaten **I** wurde in Publikationen von HORIE *et al.* untersucht. Gemäß dieser Publikationen ist es mit Aluminiumbromid in Acetonitril bei Raumtemperatur möglich selektiv 5-Hydroxyflavone **IVa** in exzellenten Ausbeuten zu erhalten. Bei der Verwendung von Aluminiumchlorid als

Demethylierungsreagenz werden deutlich längere Reaktionszeiten und Siedetemperatur benötigt und daher ein Gemisch bestehend aus dem 5-Hydroxyflavon **IVa** (86 %) und 3-Hydroxyflavon **IVb** (14 %) erhalten (Schema 15).^[301,302]



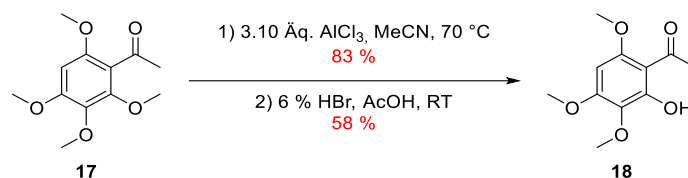
Schema 15: Mögliche Reaktionsmechanismen zur partiellen Demethylierung von 3,5-Dimethoxyflavon-Derivaten **I** mit Aluminiumchlorid oder Aluminiumbromid. Adaptiert nach HORIE *et al.*^[299]

In dieser geplanten Synthesestrategie stellt die selektive partielle Demethylierung des 2'-Methoxyacetophenon **14** den Schlüsselschritt dar. Mit dem Zugang zum 2'-Hydroxyacetophenon **15** könnte über die nachfolgende ALLAN-ROBINSON-Kondensation sowie abschließender Spaltung des Methylethers in 5-Position die effiziente und flexible Darstellung von Chlorflavonin und dessen Analoga zur Evaluation der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen ermöglicht werden (Schema 16).



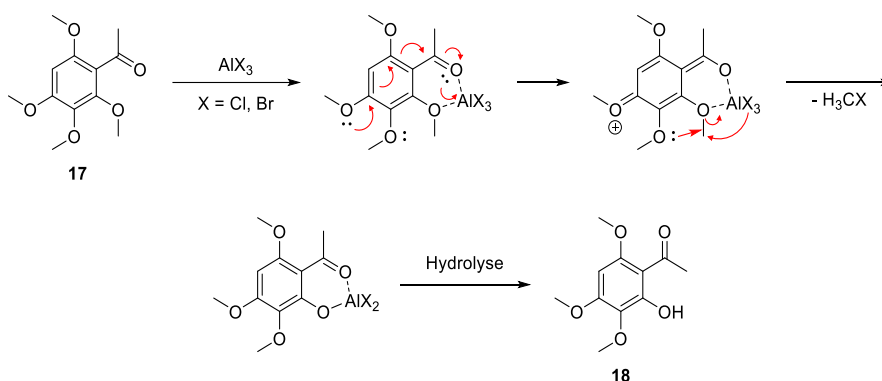
Schema 16: Die Schlüsselschritte der selektiven partiellen Demethylierung des 2'-Methoxyacetophenon **14** und ALLAN-ROBINSON Kondensation von **15** beim ersten Versuch der Darstellung von Chlorflavonin.

Die selektive partielle Demethylierung des Tetramethoxyacetophenons **17** wurde in verschiedenen Publikationen beschrieben und kann im Multigramm-Maßstab sowohl mit Bromwasserstoff in Essigsäure als auch mit Aluminiumchlorid in Acetonitril durchgeführt werden (Schema 17).^[303,304]



Schema 17: Selektive partielle Demethylierung des Tetramethoxyacetophenons **17** nach TSUKAYAMA *et al.* und GARDNER *et al.*^[303,304]

In Folge von elektrostatischer und sterischer Abstoßung durch benachbarte Substituenten in 3'-Position wird die Demethylierung der 2'-Methoxy-Gruppe deutlich beschleunigt. Dadurch kann die selektive partielle Demethylierung von 2',6'-Dimethoxyacetophenonen erreicht werden (Schema 18).^[305]



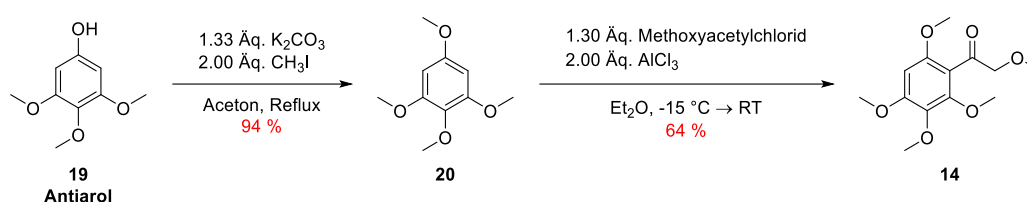
Schema 18: Möglicher Reaktionsmechanismus zur selektiven partiellen Demethylierung des Tetramethoxyacetophenons **17** mit Aluminiumchlorid oder Aluminiumbromid. Adaptiert nach KAWAMURA *et al.*^[305]

In den vergangenen Jahrzehnten wurden zahlreiche Publikationen zur selektiven Demethylierung von Arylmethylethern veröffentlicht. Deren Spaltung kann mittels nukleophilen, BRØNSTED- und LEWIS-Säure basierten Methoden erreicht werden. Die Spaltung von Arylmethylethern mit BRØNSTED-Säuren erfordern zumeist drastische Reaktionsbedingungen, welche in der Folge zur geringen Toleranz gegenüber verschiedenen funktionellen Gruppen und niedrigen Ausbeuten führen können.^[300,306]

Daher werden häufig die gängigen Bor- und Aluminiumhalogenide als LEWIS-Säuren eingesetzt. Dabei bestimmt die LEWIS-Acidität des Bor- bzw. Aluminium-Zentrums und die

Nukleophilie der Liganden die Reaktivität des Demethylierungsreagenz.^[307] Zudem kann durch die Anwesenheit von benachbarten koordinierenden funktionellen Gruppen eine Selektivität bei der Demethylierung erreicht werden. Bei dieser erfolgt zumeist die Spaltung des Arylmethylether in *ortho*-Stellung.

Ausgehend vom kommerziell erhältlichen Antiarol (**19**) wurde die freie phenolische Hydroxygruppe mit dem Alkylierungsreagenz Iodmethan methyliert. Im Anschluss wurde das erhaltende Tetramethoxybenzen **20** mit dem Elektrophil Methoxyacetylchlorid und der LEWIS-Säure Aluminiumchlorid in einer FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung zum 2'-Methoxyacetophenon **14** umgesetzt (Schema 19).



Schema 19: Darstellung des 2'-Methoxyacetophenon **14**.

Die Versuche zur selektiven partiellen Demethylierung des 2'-Methoxyacetophenon **14** wurden in kleinen Testansätzen von 30-50 mg mit den in zahlreichen Publikationen beschriebenen Reagenzien zur Demethylierung erprobt. In regelmäßigen Zeitintervallen wurde ein geringer Anteil des Reaktionsmediums entnommen, mögliche Reaktionsintermediate durch die Zugabe von 6 M Salzsäure-Lösung hydrolysiert und die organische Phase mittels HPLC untersucht (Tabelle 3).

Tabelle 3: Versuche zur selektiven partiellen Demethylierung der Verbindung **14**.

Eintrag	Reagenz [Äq.]	Additiv [Äq.]	Lsm.	Temp. [°C]	Zeit [h]	Ergebnis
1	1.5 BCl ₃	1.3 TBAI	CH ₂ Cl ₂	-30 → 0	6	Zersetzung
2	2.5 BCl ₃	2.5 TBAI	CH ₂ Cl ₂	-30 → 0	7	Zersetzung
3	1.0 BBr ₃	-	CH ₂ Cl ₂	-25 → RT	3	Zersetzung
4	2 x 1.0 BBr ₃	-	CH ₂ Cl ₂	-30	4	Spuren
5	2.0 BBr ₃	-	CH ₂ Cl ₂	-25	2	Gemisch
6	2 x 2.0 BBr ₃	-	CH ₂ Cl ₂	-78	1	Kein Umsatz

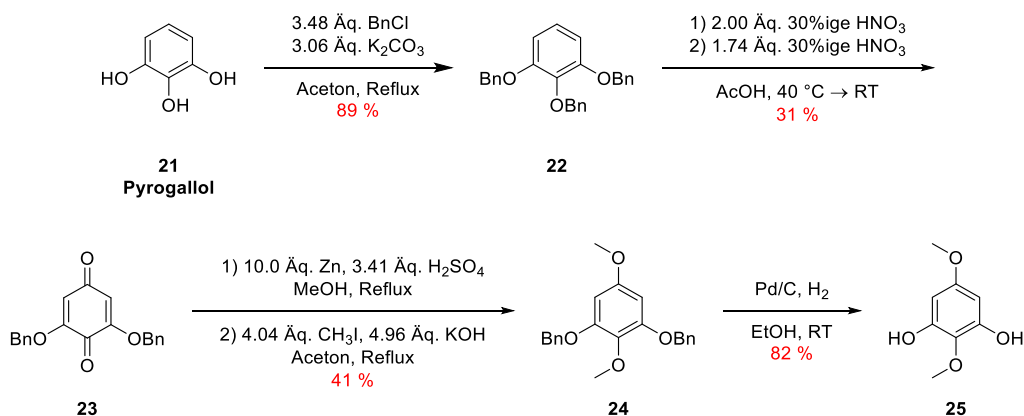
7	3 x 1.0 BBr ₃	-	CH ₂ Cl ₂	-78	7	Zersetzung
8	1.0 BBr ₃	0.1 TBAI	CH ₂ Cl ₂	-78	1	Kein Umsatz
9	6.4 AlCl ₃		MeCN	0 → 20	1	Kein Umsatz
10	8.0 AlCl ₃	-	MeCN	60	1	Kein Umsatz
11	4.4 AlBr ₃	-	MeCN	0 → 50	5	Kein Umsatz → Gemisch
12	4.4 AlBr ₃	-	MeCN	30	19	Gemisch
13	4.4 AlBr ₃	-	MeCN	50	23	Gemisch
14	4.4 AlBr ₃	0.1 TBAI	MeCN	50	23	Gemisch
15	3.0 LiCl ₃	-	DMF	160 ¹	1	Zersetzung
16	3.0 LiCl ₃	-	DMF	Reflux	24	Zersetzung
17	1.33 MgI ₂		THF	Reflux	3	Gemisch

¹ Im Mikrowellenreaktor bei einer Leistung von 150 W durchgeführt

Bei tiefen Temperaturen ist Bortrichlorid nicht reaktiv genug um isolierte Arylmethylether zu spalten, benachbarte Funktionalitäten mit koordinierenden Eigenschaften wie Carbonylgruppen können in Folge der Chelatisierung die Reaktivität deutlich erhöhen.^[307] BROOKS *et al.* beschrieben, dass die Kombination aus Bortrichlorid mit stöchiometrischen Mengen an Tetrabutylammoniumiodid (TBAI) bei tiefen Temperaturen zu einer schnellen quantitativen Demethylierung führt und Bortribromid überlegen ist. Zudem werden zahlreiche funktionelle Gruppen gegenüber dieser Reagenzienkombination als stabil beschrieben. Jedoch können Substrate mit LEWIS-basischen funktionellen Gruppen die einzusetzende Menge der Reagenzien erhöhen.^[308] Der Einsatz dieser Reaktionskombination führte zur Zersetzung des Substrats (Einträge 1 und 2). Im weiteren Verlauf wurde daher Bortribromid als Demethylierungsreagenz erprobt. Beim Aufwärmen lassen des Reaktionsansatzes wurde ab einer Temperatur von oberhalb 0 °C die Zersetzung des Edukts beobachtet (Eintrag 3). Dahingegen konnten bei tieferen Temperaturen kaum bis wenig Umsatz beobachtet werden, jedoch gelang es das gewünschte Produkt in Spuren für die spektroskopische Analyse zu erhalten (Einträge 4-6). Der Einsatz eines Überschusses an Bortribromid resultierte erneut in der Zersetzung (Eintrag 7) und der Versuch die Reaktivität des Reagenzes durch katalytische Mengen an TBAI zu erhöhen misslangen (Eintrag 8). In Anlehnung an die Publikation von HORIE *et al.* wurde die Demethylierung mit einem erheblichen Überschuss an Aluminiumchlorid bei Temperaturen zwischen 0 °C bis 60 °C erprobt, jedoch ohne, dass ein Reaktionsumsatz beobachtet werden konnte (Einträge 9 und 10). Beim Einsatz von Aluminiumbromid wurde unter Eiskühlung kein Umsatz ermittelt werden (Eintrag 11). In nachfolgenden Ansätzen konnte unabhängig von der Temperatur oder Zusatz von TBAI ausschließlich ein kompliziertes Substanzgemisch erhalten werden (Einträge 12-14).^[299] FANG *et al.* beschrieben die selektive partielle Demethylierung zahlreicher Arylmethylether mit

Lithiumchlorid in *N,N*-Dimethylformamid (DMF) unter Mikrowellenbestrahlung.^[309] Ebenfalls wurde von BERNARD *et al.* die Demethylierung mit Lithiumchlorid in DMF bei konventioneller Wärmezufuhr beschrieben.^[310] Jedoch konnte bei beiden Ansätzen die Zersetzung des Substrates beobachtet werden (Einträge 15 und 16).

Da alle Experimente zur selektiven partiellen Demethylierung entweder an mangelhafter Selektivität oder geringen Reaktionsumsätzen gescheitert waren, wurde als alternative Möglichkeit die Darstellung des symmetrischen 2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diols (**25**) erwogen. Ausgehend von Pyrogallol (**21**) erfolgte die Darstellung des 2,5-Dimethoxyresorcin **25** im Maßstab von 270 mmol über vier Stufen in Anlehnung an die Literaturvorschriften von TISDALE *et al.* und BAKER *et al.* (Schema 20).^[311,312]



Schema 20: Darstellung des 2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diols (**25**) in Anlehnung an die Literaturvorschriften von TISDALE *et al.* und BAKER *et al.*^[311,312]

Im ersten Schritt wurden die freien phenolischen Hydroxygruppen des Pyrogallols (**21**) durch die WILLIAMSON-Ethersynthese mit einem Überschuss an Benzylchlorid und Kaliumcarbonat als Base in Aceton geschützt. Die anorganischen Komponenten des Reaktionsgemischs wurden mittels Filtration entfernt, das Lösungsmittelvolumen unter vermindertem Druck reduziert und das dreifach Benzylether-geschützte Benzen **22** konnte durch die Präzipitation in *n*-Hexan erhalten werden. Im Anschluss erfolgte die Oxidation von **22** mit 30%iger Salpetersäure-Lösung in Eisessig zum 1,4-Benzochinon **23**. Der über Nacht ausgefallene Niederschlag wurde mittels Filtration separiert und mehrfach mit *n*-Hexan gewaschen. Bei der dünnschichtchromatographischen Analyse des Rohprodukts konnten zwei intensive Banden beobachtet werden, welche dem 1,4-Benzochinon **23** und dem in der Literatur beschriebenen Nebenprodukt 1,2,3-Tri(benzyloxy)-5-nitrobenzen zugeordnet werden konnten. Da im Filtrat mittels DC-Kontrolle noch erhebliche Mengen des nicht umgesetzten Edukts nachgewiesen werden konnte, wurde die Mutterlauge wie auch in der Literatur von BAKER *et al.* erneut durch die Zugabe von 30%iger Salpetersäure-Lösung oxidiert.^[312] Nach der erneuten Filtration des

Niederschlags wurden die Reaktionsprodukte mittels säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel getrennt.

Die darauffolgende Reduktion des 1,4-Benzochinons **23** wurde gemäß der Literaturvorschrift von TISDALE *et al.* mit elementarem Zinkpulver in ethanolischer Schwefelsäurelösung durchgeführt. Nach der wässrigen Aufarbeitung wurde das Rohprodukt ohne weitere Reinigungsschritte mit Methyljodid und Kaliumhydroxid als Base methyliert. Bei der Reaktionskontrolle mittels DC konnten zwei Substanzen mit nahezu identischen Retentionsfaktoren beobachtet werden, welche sich durch konventionelle säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel nicht separieren ließen. Die Analyse des ^1H -NMR-Spektrum der Mischfraktion ergab, dass es bei diesen Substanzen aus einem Gemisch von 1,4-Ethoxy- und Methoxy Regioisomere **26a** und **26b** im ungefähren Verhältnis von 1:1 handelte (Abbildung 8).

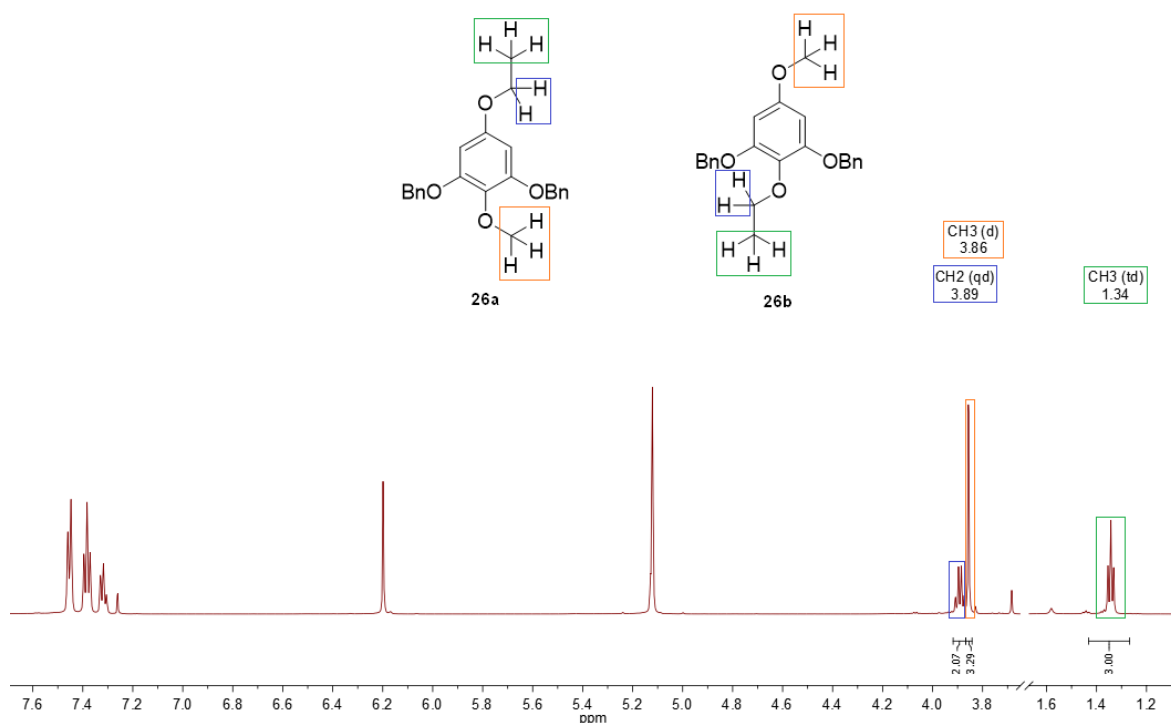
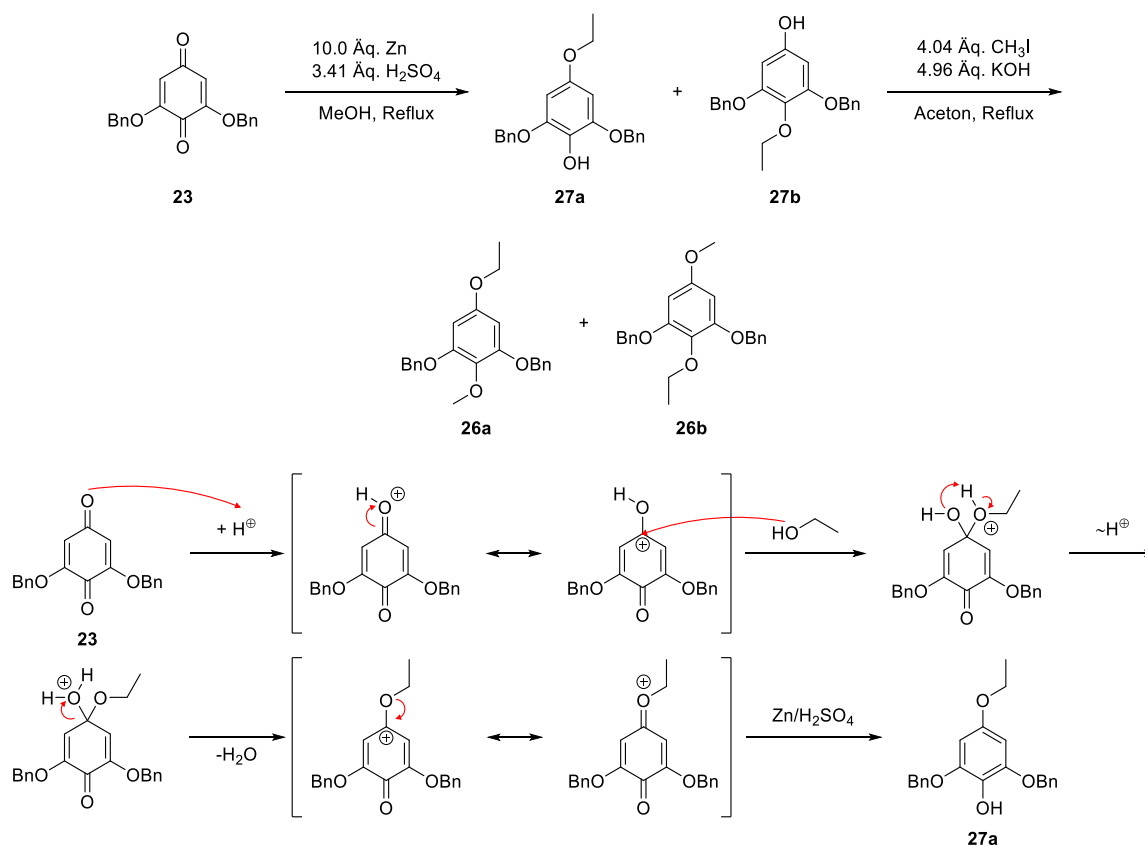


Abbildung 8: ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, CDCl_3) der erhaltenden Regioisomere **26a** und **26b** bei der Reduktion des 1,4-Benzochinons **23** mit elementarem Zink in ethanolischer Schwefelsäurelösung und anschließender Methylierung der phenolischen Hydroxygruppen mit Methyljodid.

Die Entstehung des Nebenprodukts lässt sich durch die nucleophile Addition des Lösungsmittels Ethanol an eine der beiden Carbonylgruppen des Substrats erklären. Zunächst kommt es unter den BRØNSTED-sauren Reaktionsbedingungen zur Protonierung des Carbonylsauerstoffs und dem anschließenden nucleophilen Angriff des Ethanols am Carbonylkohlenstoff. Das ausgebildete Hemiacetal wird durch die Redoxreaktion mit

elementarem Zink unter Austritt eines Wasser-Moleküls zum 4-Ethoxyphenol reduziert (Schema 21). Diese Reaktionsbedingungen finden in der Literatur auch Anwendung bei der selektiven Darstellung von 4-Alkoxyphenolen aus 1,4-Benzochinonen und dem entsprechenden Alkohol bei BRØNSTED-saurer Katalyse.^[313]

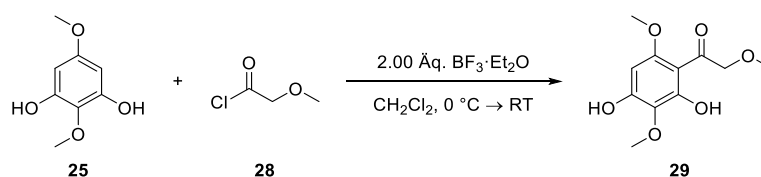


Schema 21: (Oben) Reduktion und Methylierung des 1,4-Benzochinons **23** nach der Arbeitsvorschrift von BAKER *et al.*^[312] (Unten) Möglicher Reaktionsmechanismus zur Entstehung der Ethoxyphenole **27a-b** bei der Reduktion des 1,4-Benzochinons **23** mit elementarem Zink in ethanolischer Schwefelsäurelösung.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde die Reduktion des 1,4-Benzochinons **23** mit elementarem Zink in einer methanolischen Schwefelsäurelösung durchgeführt. Die darauffolgende Methylierung des Rohprodukts führte mit einer Ausbeute von 41 % über zwei Stufen zum 1,4-Dimethoxybenzen **24**. Im Anschluss erfolgte die Palladium-katalysierte Hydrogenolyse der beiden Benzylether-Schutzgruppen zum freien 2,5-Dimethoxyresorcin **25**.

Analog zur Literaturvorschrift von WANG *et al.* wurde versucht die FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung des 2,5-Dimethoxyresorcin **25** mit Methoxyessigsäurechlorid (**28**) unter Einsatz von zwei Äquivalenten Bortrifluorid-diethyletherat als LEWIS-Säure durchzuführen.^[314] Bei der anschließenden Reaktionskontrolle mittels DC wurde eine komplexe Mixtur bestehend aus

verschiedenen nicht identifizierbaren Substanzen beobachtet, sodass dieser Ansatz verworfen wurde (Schema 22).



Schema 22: Versuche zur FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung des 2,5-Dimethoxyresorcin **23** mit Methoxyessigsäurechlorid (**26**) mit Bortrifluoridiethyletherat als LEWIS-Säure in Anlehnung an die Literaturvorschrift von WANG *et al.*^[314]

Daher wurden in mehreren Testreaktionen verschiedene (Übergangs)Metall-Chloride als LEWIS-Säuren erprobt und der jeweilige Reaktionsumsatz nach 24 Stunden mittels Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie (HPLC) bestimmt (Tabelle 4). Zur Berechnung des prozentualen Reaktionsumsatzes wurden die Integrale der Substanzsignale des HPLC-Chromatogramms berechnet und die Fläche unter der Kurve (A.U.C) des Edukts und des Produkts in Relation zueinander gesetzt (Formel 1).

$$\text{Reaktionsumsatz in \%} = \frac{[\text{A.U.C}(\text{Produkt})]}{[\text{A.U.C}(\text{Produkt})]+[\text{A.U.C}(\text{Edukt})]} \quad (1)$$

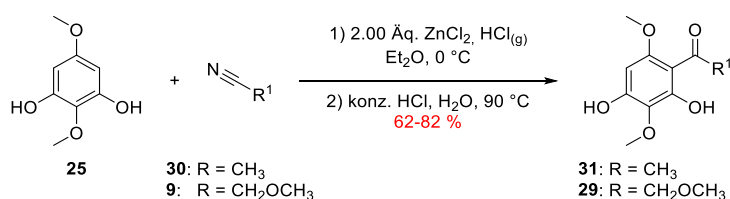
Basierend auf diesen Ergebnissen konnte festgestellt werden, dass mit zunehmender Acidität der LEWIS-Säuren der Reaktionsumsatz zunahm. Jedoch wurden bei allen Reaktionsansätzen zahlreiche Nebenprodukte detektiert, welche nicht vollständig mittels einfacher säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel entfernt werden konnten. Potenzielle Nebenreaktionen könnten beispielsweise die Acylierung der phenolischen Hydroxygruppen, die LEWIS-Säure-vermittelte Demethylierung der Methoxy-Substituenten oder die zweifache Acylierung des elektronenreichen Aromaten sein.

Tabelle 4: Ergebnisse zur FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung des 2,5-Dimethoxyresorcin **25** mit Methoxyessigsäurechlorid (**28**) unter Einsatz verschiedener LEWIS-Säuren.

Eintrag	LEWIS-Säure [Äq.]	Lsm.	Temp. [°C]	Zeit [h]	Ergebnis	Umsatz ¹ [%]
1	2.0 FeCl ₃	CH ₂ Cl ₂	0 → RT	24	Nebenprodukte	-

2	2.0 AlCl ₃	CH ₂ Cl ₂	0 → RT	24	Nebenprodukte	21
3	2.0 ZrCl ₄	CH ₂ Cl ₂	0 → RT	24	Nebenprodukte	33
4	2.0 TiCl ₄	CH ₂ Cl ₂	0 → RT	24	Nebenprodukte	85
¹ Reaktionsumsatz = [A.U.C(Produkt)]/([A.U.C(Produkt)]+[A.U.C(Edukt)])						

Daher wurde als Alternative zur FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung die zweistufige HOUBEN-HOESCH-Acylierung ausgewählt. Bei dieser elektrophilen aromatischen Substitution reagieren elektronenreiche aromatische Systeme in der Gegenwart von BRØNSTED- und LEWIS-Säuren mit Nitrilen zu Iminen, welche nachfolgend BRØNSTED-Säure-katalysiert zu den entsprechenden aromatischen Ketonen hydrolysiert werden können.^[285] Analog zur Literaturvorschrift von LÖWE *et al.* wurde 2,5-Dimethoxyresorcin **25** mit Acetonitril **30** oder 2-Methoxyacetonitril (**9**) in Gegenwart von Zink(II)-chlorid in mit trockenem Chlorwasserstoff gesättigtem Diethylether zur Reaktion gebracht. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde mittels Vakuumfiltration separiert, in Wasser aufgenommen, mit konzentrierter Salzsäure-Lösung versetzt und anschließend zum Rückfluss erhitzt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnten die aromatischen Ketone **29** und **31** in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten werden (Schema 23).



Schema 23: Darstellung der aromatischen Ketone **29** und **31** über die zweistufige HOUBEN-HOESCH-Acylierung in Anlehnung an die Literaturvorschrift von LÖWE *et al.*^[315]

Im Anschluss wurde die basenvermittelte CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation des Hydroxyacetophenons **29** mit dem MOM-geschützten Aldehyd **32a** erprobt (Tabelle 5).

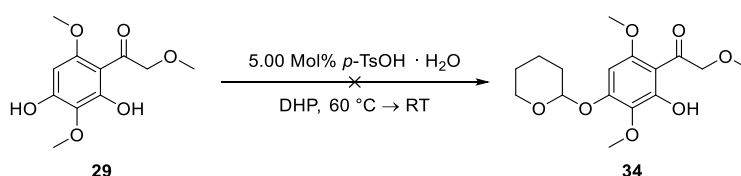
Tabelle 5: Experimentelle Details zur versuchten Darstellung der Chalkone **33a-b**.

<p> $\begin{array}{c} \text{29/31} + \text{32a/b} \xrightarrow[\text{siehe Tabelle}]{\text{Reaktionsbedingungen}} \text{33a/b/c} \\ \text{31: R}^1 = \text{CH}_3 \\ \text{29: R}^1 = \text{CH}_2\text{OCH}_3 \\ \text{32a: R}^2 = \text{MOM} \\ \text{32b: R}^2 = \text{Allyl} \\ \text{33a: R}^1 = \text{OCH}_3; \text{ R}^2 = \text{MOM} \\ \text{33b: R}^1 = \text{OCH}_3; \text{ R}^2 = \text{Allyl} \\ \text{33c: R}^1 = \text{H}; \text{ R}^2 = \text{MOM} \end{array}$ </p>							
Eintrag	Keton	Aldehyd	Base	Lsm.	Temp. [°C]	Zeit [h]	Ergebnis
1	29	32a	NaOH	EtOH	RT	24	Zersetzung

2	29	32a	LDA	THF	-78 → RT	24	Zersetzung
3	29	32a	NaH	THF	RT	24	Zersetzung
4	29	32b	<i>p</i> -TsOH	EtOH	RT → Reflux	24	Kein Umsatz
5	31	32a	NaOH	EtOH	0 → Reflux	24	Zersetzung

In Anlehnung an die Arbeitsvorschrift von ZHANG *et al.* wurden beide Substrate in Ethanol gelöst und tropfenweise mit einer wässrigen 5 M Natriumhydroxid-Lösung versetzt.^[316] Innerhalb von zwei Stunden schlug die Farbe der zuvor klaren hellgelben Lösung zu schwarz um. Nach 24 Stunden wurde bei der Reaktionskontrolle mittels DC neben einigen schwach ausgeprägten Banden mit unterschiedlichen Retentionsfaktoren eine intensive Bande auf der DC-Startlinie beobachtet (Tabelle 5, Eintrag 1). Diese Beobachtung könnte durch Oxidationsprozesse in Folge der Deprotonierung der phenolischen Hydroxygruppen und der Anwesenheit von Luftsauerstoff begründet werden.^[316] Um mögliche Oxidationsprozesse als Nebenreaktionen zu unterdrücken wurden die folgenden Experimente unter Ausschluss von Luftsauerstoff durchgeführt. Zudem wurden die starken Basen Lithiumdiisopropylamid und Natriumhydrid im Überschuss eingesetzt um eine irreversible Deprotonierung der *O-H*- und *C-H*-aciden Funktionalitäten zu erreichen (Einträge 2 und 3). Jedoch konnte bei den Reaktionskontrollen weder ein signifikanter noch ein selektiver Umsatz beobachtet werden. Alternativ zur basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation wird in der Literatur ebenfalls die Möglichkeit der BRØNSTED-Säure-katalysierten Variante beschrieben. Da die MOM-Schutzgruppe des Aldehyds nicht stabil gegenüber BRØNSTED-Säuren ist, wurde der Allylether-geschützte Aldehyd **32b** bei der Reaktion eingesetzt. In Anlehnung an die Literaturvorschrift von GALL *et al.* wurde die Darstellung des Chalkons **33b** mit katalytischen Mengen *para*-Toluolsulfonsäure in Ethanol durchgeführt.^[317] Nach 16 Stunden bei Raumtemperatur konnte bei der Reaktionskontrolle mittels DC kein Umsatz beobachtet werden. Daher wurde der Ansatz sukzessive erwärmt und die Reaktion weiterhin mittels DC überwacht. Nach weiteren acht Stunden konnten immer noch lediglich die Edukte detektiert werden, weshalb der Ansatz verworfen wurde (Eintrag 4). In diversen Publikationen wird die basenvermittelte Kondensation von ω -Methoxyacetophenon mit Aldehyden zu den entsprechenden Chalkonen beschrieben.^[318–320] Jedoch wäre es möglich, dass der Methoxy-Substituent des Acetophenons auf die basenvermittelte Enolatbildung im ersten Schritt des Reaktionsmechanismus der CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation einen nachteiligen Einfluss ausübt. Daher wurde versucht das Acetophenon **31** mit dem MOM-geschützten Aldehyd **32a** in ethanolischer Natriumhydroxid-Lösung zur Reaktion zu bringen. Bei der darauffolgenden Reaktionskontrolle konnte erneut ein komplexes Gemisch verschiedener Substanzen, welche auf die Zersetzung der Substrate hinwies, beobachtet werden (Eintrag 5).

Um die basenvermittelte CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation zwischen den aromatischen Ketonen **29** und **31** und den geschützten Aldehyden **32a-b** zu ermöglichen, wurde in Anlehnung an die Literaturvorschrift von LÖWE *et al.* versucht die phenolische Hydroxygruppe in 4-Position des 2,5-Dimethoxyresorcin **29** selektiv zu schützen. LÖWE *et al.* beschrieben die selektive Einführung der basenstabilen Tetrahydropyranylether (THP)-Schutzgruppe durch die BRØNSTED-Säure-katalysierte Acetalisierung des 2,5-Dimethoxyresorcin **29** in 3,4-Dihydro-2H-pyran (DHP) (Schema 24).^[300,315] Bei der zwischenzeitlichen Reaktionskontrolle mittels DC konnte eine komplexe Mischung verschiedener nicht identifizierter Substanzen beobachtet werden. Nach der wässrigen Aufarbeitung und anschließender säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnten zwei Hauptfraktionen erhalten werden, welche nur in geringen Mengen das THP-geschützte Acetophenon **34** beinhalten und zudem stark mit DHP kontaminiert waren. Aufgrund der sich abzeichnenden geringen Ausbeute bei dieser Reaktion wurde auf die weitere Reinigung des Rohprodukts verzichtet und der Ansatz verworfen.



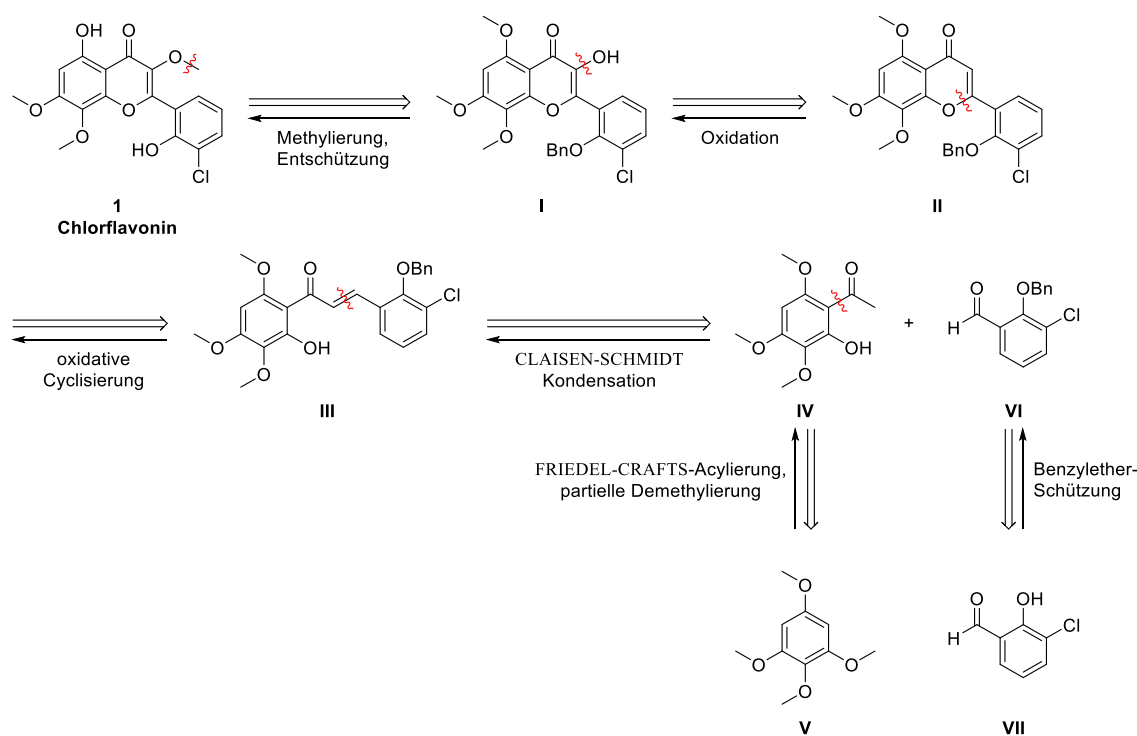
Schema 24: Versuchte Darstellung des selektiv THP-geschützten Acetophenons **34** in Anlehnung an die Literaturvorschrift von LÖWE *et al.*^[315]

In Folge der misslungenen Versuche zur Darstellung der Chalkone **33a-c** und der alternativen selektiven Einführung einer Schutzgruppe des 2,5-Dimethoxyresorcin **29** wurden diese Synthesestrategien verworfen.

4.1.3 Zweiter Versuch der Darstellung von Chlorflavonin (1)

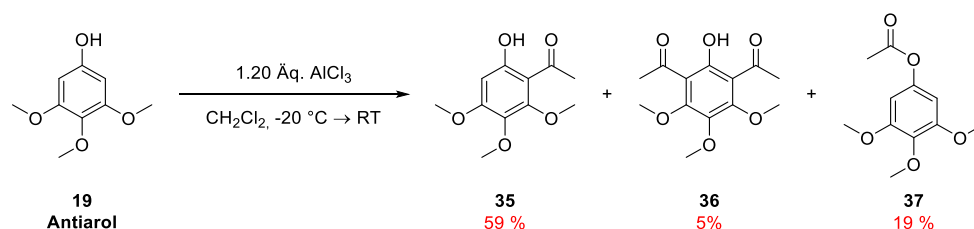
Bei der zweiten retrosynthetischen Zerlegung von Chlorflavonin (**1**) wurde in die Analyse einbezogen, dass aufgrund des Substitutionsmusters des A-Rings die direkte Darstellung des 3-Methoxyflavon-Grundgerüsts nicht möglich sein würde. Die Synthese des 2'-Hydroxyacetophenons **15** für die nachfolgende Umsetzung mit den entsprechenden Carbonsäurederivaten in der ALLAN-ROBINSON-Kondensation oder der BAKER-VENKATARAMAN-Synthese konnte, wie in Kapitel 4.1.2 beschrieben, nicht im ausreichenden Maßstab realisiert werden. Dahingegen konnte die zweistufige Darstellung des 3-Methoxyflavon-Grundgerüsts über die Synthese des Flavonols mit Hilfe der AFO-Reaktion oder der AUWERS-Synthese sowie dessen anschließender Methylierung wegen der Anwesenheit der Methoxy-Substituenten in 5- und 7-Position von vornherein ausgeschlossen werden (Kapitel 4.1.1).

Alternativ können Flavonole ebenfalls über die Oxidation des Kohlenstoffs in 3-Position von Flavonen dargestellt werden.^[321,322] Dementsprechend basiert die zweite retrosynthetische Zerlegung des Chlorflavonins (**1**) auf der Oxidation des Flavons **II** zum Flavonol **I** mit anschließender Methylierung. Abschließend soll die von HORIE *et al.* publizierte selektive Demethylierung des 5-Methoxy-Substituenten zur freien phenolischen Hydroxygruppe durchgeführt werden.^[299] Im vergangenen Jahrzehnt wurde eine ganze Reihe von Publikationen veröffentlicht in denen die Darstellung von Flavonen über die oxidative Cyclisierung von 2'-Hydroxychalkonen beschrieben wurde. Die in der Literatur eingesetzten Substrate wiesen eine umfangreiche Bandbreite von diversen Substituenten und verschiedenen Substitutionsmustern auf,^[323–327] sodass es möglich sein könnte das Flavon-Grundgerüst **II** über die oxidative Cyclisierung des 2'-Hydroxychalkons **III** herzustellen. Gängige Reagenzien für diese Reaktion sind Selendioxid,^[328] Natriumselenit,^[329] Iodchlorid^[326] oder Cer(IV)-sulfat Tetrahydrat.^[330] Jedoch wurden mittlerweile nachhaltige elegante Variationen dieser Methode veröffentlicht bei denen die Cyclisierung durch den Einsatz von katalytischen Mengen molekularem Iods^[331] oder Ammoniumiodids^[332] in Dimethylsulfoxid beschrieben wurde. Das 2'-Hydroxychalkon **III** könnte über eine basenvermittelte CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation ausgehend vom literaturbekannten 2'-Hydroxyacetophenon **IV** und dem Benzylether-geschützten Aldehyd **VI** dargestellt werden können (Schema 25).



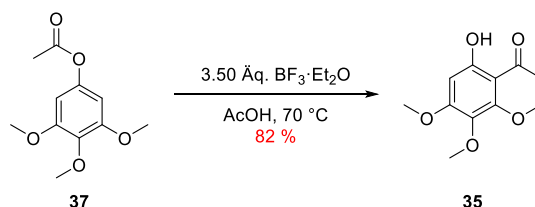
Schema 25: Zweite retrosynthetische Analyse von Chlorflavonin (**1**).

Im ersten Schritt wurde das kommerziell erhältliche Antiarol (**19**) in Anlehnung an die Vorschrift von ASAKAWA *et al.* mit Aluminiumchlorid als LEWIS-Säure und Acetylchlorid als Elektrophil in einer FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung umgesetzt. Nach der wässrigen Aufarbeitung mit anschließender säulenchromatographischer Trennung an Kieselgel konnten drei Fraktionen isoliert werden. Das gewünschte mono-acylierte Produkt **35** konnte mit 59 %, das di-acylierte Nebenprodukt **36** mit 5 % und das Produkt der Veresterung der phenolischen Hydroxygruppe **37** mit 19 % Ausbeute isoliert werden (Schema 26).^[333]



Schema 26: FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung von Antiarol (**19**) in Anlehnung an die Vorschrift von ASAKAWA *et al.* mit den drei isolierten Reaktionsprodukten **35**, **36** und **37**.^[333]

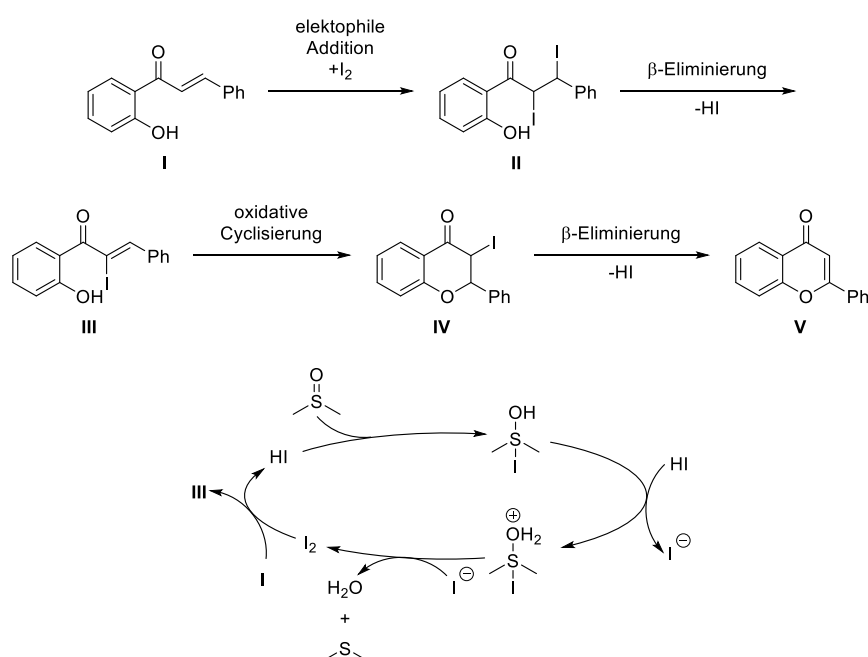
Der O-Acetyl-Ester **37** wurde nach einer Vorschrift von KUMAR *et al.* in einer FRIES-Umlagerung mit einem Überschuss der LEWIS-Säure Bortrifluorid-diethyletherat in Eisessig zum mono-acylierten Produkt **35** umgesetzt (Schema 27).



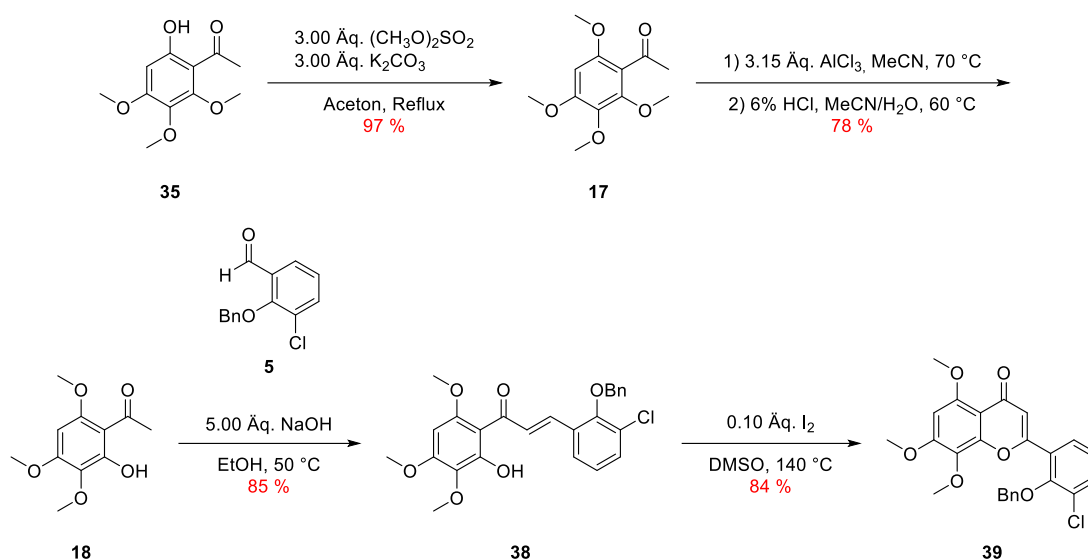
Schema 27: FRIES-Umlagerung des Acetyl-Esters **37** nach einer Vorschrift von KUMAR *et al.* zum mono-acylierten Produkt **35**.^[334]

Die erhaltenen Produktfraktionen des mono-acylierten Antiarols **35** der FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung und FRIES-Umlagerung wurden vereinigt. In Anlehnung an die Vorschrift von RIZZI wurde die phenolische Hydroxygruppe des mono-acylierten Antiarols **35** mit Dimethylsulfat und Kaliumcarbonat in Aceton O-methyliert.^[333] Das erhaltende 2,3,4,6-Tetramethoxyacetophenon (**17**) wurde nach einer Vorschrift von TSUKAYAMA *et al.* selektiv mit Aluminiumtrichlorid in Acetonitril zum partiell demethylierten 2'-Hydroxyacetophenon **18** umgesetzt.^[303] Dieses wurde mit dem Benzylether-geschützten 3-Chlorsalicylaldehyd (**5**), welcher in quantitativer Ausbeute aus der Umsetzung von 3-Chlorsalicylaldehyd (**4**) mit Benzylbromid erhalten werden konnte, in einer basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation in Ethanol bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht. Die Reaktionskontrolle mittels DC ergab, dass nach 16 Stunden kein vollständiger Umsatz erreicht

werden konnte. Deshalb wurde der Reaktionsansatz auf 50 °C erwärmt und für weitere 8 Stunden gerührt. Nachdem beide Edukte vollständig umgesetzt worden waren, konnte das Chalkon **38** nach der säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester erhalten werden. Jedoch war das isolierte Reaktionsprodukt geringfügig mit nicht identifizierbaren Verunreinigungen kontaminiert. Durch die Zugabe von 0.1 % Triethylamin zum Laufmittelgemisch konnte die Trennleistung bei der Säulenchromatographie signifikant verbessert werden. Das Chalkon **38** wurde nach einer Vorschrift von NAYAK *et al.* mit katalytischen Mengen elementarem Iods in Dimethylsulfoxid zum Flavon **39** umgesetzt.^[335] Bei dieser Reaktion handelt es sich um eine oxidative Cyclodehydrierung. Zunächst findet die elektrophile Addition des molekularen Iods an die Doppelbindung des Enons **I** statt mit anschließender β -Eliminierung des di-Iod-Addukts **II**, welche durch Wasserspuren im Lösungsmittel begünstigt wird, zu **III**. Daraufhin folgt die oxidative Cyclisierung zum 3-Iodflavanon **IV** sowie dessen β -Eliminierung zum Flavon **V**.^[332] Die während der Reaktion abgespaltenen zwei Äquivalente Iodwasserstoff werden mit dem Co-Oxidationsmittel Dimethylsulfoxid zurück zu elementarem Iod oxidiert (Schema 28).^[336]



Schema 28: (Oben) Möglicher Reaktionsmechanismus der oxidativen Cyclodehydrierung eines Chalkons **I** zum Flavon **V** mit elementarem Iod in Dimethylsulfoxid. (Unten) Regeneration des molekularen Iods durch die Redoxreaktion von Iodwasserstoff mit dem Co-Oxidationsmittel Dimethylsulfoxid. Adaptiert nach KULKARNI *et al.* und MASESANE.^[332,336]



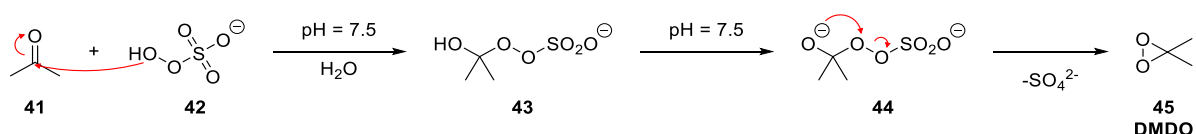
Schema 29: Darstellung des Flavons **39**.

Im Anschluss wurde versucht das Flavon **39** zum Flavonol **40** zu oxidieren (Tabelle 6).

Tabelle 6: Versuche zur Oxidation des Flavons **39** zum Flavonol **40**.

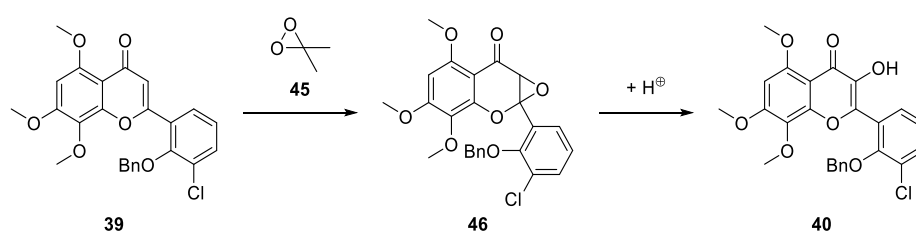
Eintrag	Lsm.	pH-Wert	Oxidationsmittel [Äq.]	Temp. [°C]	Zeit [h]	Ergebnis/ Ausbeute
1	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	7.3 Oxon [®]	0-5	16	Spuren DC
2	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	7.3 Oxon [®]	0-5	48	Spuren DC
3	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	14.6 Oxon [®]	0-5	16	Spuren DC
4	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	7.3 Oxon [®]	RT	16	Spuren DC
5	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	7-8	7.3 Oxon [®]	0-5	16	Spuren DC
6	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	7.3 Oxon [®] 0.1 TBAHS	0-5	16	Spuren DC
7	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	7.3 Oxon [®] 0.1 TBAB	0-5	16	Spuren DC
8	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (6:5)	8-9	7.3 Oxon [®] 0.1 18-Krone-6	0-5	16	Spuren DC
9	Aceton:CH ₂ Cl ₂ (2:1)	8-9	7.3 Oxon [®]	0-5	16	14 %
10	Toluol	-	4.98 TBHP 3.78 Triton B [®]	0 → RT	1	Kein Umsatz

NGUYEN *et al.* verwendeten in der Publikation *in situ* generiertes DMDO **45** um Polymethoxyflavone mit unterschiedlichen Substitutionsmustern zu den entsprechenden Flavonolen zu oxidieren.^[321] Hierfür wurde das Oxidationsmittel Oxon® **42** (Kaliummonopersulfat Tripelsalz) in einem Lösungsmittelgemisch aus Aceton **41** und Dichlormethan sowie einem Natriumhydrogencarbonat-Natriumbicarbonat-Puffersystem bei 0 bis 5 °C gerührt. Im wässrigen, leicht basischen Medium kommt es zunächst zur Anlagerung des Monopersulfat-Anions an Aceton unter Ausbildung des Addukts **43**, welches bereits ein starkes Oxidationsmittel ist, gefolgt von dessen Dekomposition zu DMDO **45** und Sulfat (Schema 30).^[337,338]



Schema 30: Postulierter Reaktionsmechanismus der *in situ* Generation von DMDO **45** mit Aceton **41** und Oxon® **42** in einem Puffersystem mit dem pH-Wert von 7.5. Adaptiert nach MURRAY.^[337]

Das *in situ* generierte DMDO wird in verschiedenen Publikationen als ausreichend reaktiv beschrieben um Flavone **39** mit diversen Substituenten und Substitutionsmustern mit guten bis sehr guten Ausbeuten in die entsprechenden Flavanon-Epoxide **46** oxidieren zu können.^[321,322,339–341] Die Flavanon-Epoxide **46** können nach der wässrigen Aufarbeitung und Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel durch die Zugabe von katalytischen Mengen einer BRØNSTED-Säure, zum Beispiel *para*-Toluolsulfonsäure, in einer Säure-induzierten Umlagerung zu Flavonolen **40** reagieren (Schema 31).^[321,322]



Schema 31: Versuchte Oxidation des Flavons **39** mit DMDO **45** zum Flavanon-Epoxid **46** und anschließender BRØNSTED-Säure-induzierter Umlagerung zum Flavonol **40**. Adaptiert nach ADAM *et al.* und NGUYEN *et al.*^[342]

Als essenziell für den Erfolg dieser Reaktion wird die Einstellung und Kontrolle des pH-Werts mit dem Natriumhydrogencarbonat-Natriumbicarbonat-Puffersystem beschrieben. Dieser sollte gemäß der Studien von NGUYEN *et al.* und VONGDETH *et al.* innerhalb von 8 bis 9 liegen und regelmäßig nachjustiert werden.^[321,322,339–341]

Als erstes wurde versucht gemäß den Vorschriften von NGUYEN *et al.* und VONGDETH *et al.* das Flavon **39** in einer zweistufigen Reaktionsführung zum Flavonol **40** zu oxidieren (Tabelle 6).^[321,340] Hierfür wurde das Flavon **39** in einem Lösungsmittelgemisch aus Aceton und Dichlormethan (6:5) mit einem Überschuss an Oxon[®] für 16 Stunden bei einer Temperatur von konstant unterhalb 5 °C gerührt. Währenddessen wurde der pH-Wert des Reaktionsmediums in regelmäßigen Abständen gemessen und durch die tropfenweise Zugabe des Puffersystems konstant im Bereich von 8 bis 9 gehalten. Bei der Reaktionskontrolle mittels DC konnte eine dominante Bande für das Edukt und drei schwächere Banden für verschiedene Substanzen beobachtet werden. Trotz des geringen Umsatzes wurde der Reaktionsansatz aufgearbeitet und die Säure-induzierte Umlagerung mit katalytischen Mengen an *para*-Toluolsulfonsäure durchgeführt. Bei der abschließenden Reaktionskontrolle mittels DC konnte erneut die dominante Bande des Edukts **38** sowie verschiedene schwach ausgeprägte Banden, deren Behandlung mit ethanolischer Eisen(III)chlorid-Lösung in die für (Poly)phenole, Flavonole und Flavonoide charakteristische blaue bis grüne Färbung resultierte, beobachtet werden (Tabelle 6, Eintrag 1).^[343]

Basierend auf dieser Beobachtung wurden weitere Testreaktionen in 50 mg Ansätzen durchgeführt, bei denen zunächst die Reaktionsdauer von 16 Stunden auf 48 Stunden verlängert, dann die Menge des Oxidationsmittel verdoppelt und die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt wurde. Keine der veränderten Reaktionsparameter führte zu einer beobachtbaren Steigerung des Umsatzes (Tabelle 6, Einträge 2-4).

Nach diesen Ergebnissen und der begrenzten Auswahl an Publikationen zur Oxidation von Flavonen mit *in situ* generiertem DMDO wurden ebenfalls die Reaktionsdurchführungen von Oxidationsprozessen anderer Substratklassen in die Literaturrecherche mit einbezogen. In einer Publikation von MURRAY wird beschrieben, dass bei allgemeinen Oxidationsreaktionen mit *in situ* generiertem DMDO der Reaktionsumsatz bei pH-Werten über 7.5 drastisch abnimmt.^[337] Daher wurde versucht die Reaktion in einem pH-Wert Intervall von 7 bis 8 stattfinden zu lassen, welches jedoch ebenfalls keine Auswirkung auf den beobachteten Umsatz der Oxidation hatte (Tabelle 6, Eintrag 5).

Die geringen Umsätze bei den bisherigen Optimierungsversuchen könnten auf Vermischungsprobleme der Reaktanden als Folge des zweiphasigen Lösungsmittelgemischs bestehen aus Dichlormethan und Aceton mit dem Natriumhydrogencarbonat-Natriumbicarbonat-Puffersystem zurückzuführen sein. Bei zahlreichen Oxidationsprozessen mit anorganischen Oxidationsmitteln werden daher dem zweiphasigen Reaktionsmedium Phasentransferkatalysatoren wie lipophile quartäre Ammoniumsalze oder makrozyklische Ether zugegeben. In weiteren Testreaktionen wurden daher die Zugabe von 10 Mol% der gängigen Phasentransferkatalysatoren Tetrabutylammoniumbromid (TBAB),

Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (TBAHS) und 18-Krone-6 erprobt.^[343,344] Jedoch konnte bei keiner dieser Testreaktionen eine Steigerung des Umsatzes beobachtet werden (Tabelle 6, Einträge 6-8).

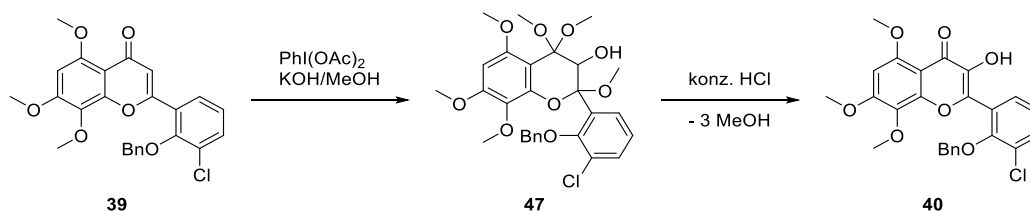
Da der Einsatz von Phasentransferkatalysatoren keine erkennbare Steigerung des Reaktionsumsatzes zur Folge hatte, wurde in einem neuen Experiment der Volumenanteil des Acetons erhöht, um eine bessere Durchmischung von wässriger und organischer Phase zu erreichen (Tabelle 6, Eintrag 9). Diesmal konnte bei der Reaktionskontrolle mittels DC eine intensivere ausgeprägte Bande für das zu erwartende Produkt beobachtet werden, nach der anschließenden wässrigen Aufarbeitung und BRØNSTED-Säure-induzierten Umlagerung konnte das Flavonol **40** mit 14 % Ausbeute erhalten werden.

Eine weitere Möglichkeit wurde von SZAMOSVÁRI *et al.* beschrieben, welche die Oxidation von Chromen-4-on-Derivaten zu 3-Hydroxychromen-4-onen mit wässriger *tert*-Butylhydroperoxid (TBHP)-Lösung in Toluol mit dem Phasentransferkatalysator Triton B® (Benzyltrimethylammoniumhydroxid) durchführten.^[345] Bei dem Versuch diese Reaktionsbedingungen auf die Problemstellung der Oxidation des Flavons **39** anzuwenden, konnte kein Umsatz beobachtet werden (Tabelle 6, Eintrag 10).

Unter besonderen Vorsichtsmaßnahmen kann DMDO auch als frisch destillierte, Stammlösung in Aceton hergestellt werden.^[346] In dieser Form findet es Anwendung beim effizienten und selektiven Sauerstofftransfer auf σ - und π -Bindungen sowie freien Elektronenpaaren.^[342,347] In einer Arbeit von ADAM *et al.* wurden Flavone mit elektronenziehenden Substituenten mit einer zuvor hergestellten DMDO-Stammlösung in Aceton zu den entsprechenden Flavanon-Epoxiden oxidiert. Dabei betragen die Reaktionszeiten zwischen 23-72 Stunden und erforderten die kontinuierliche Zugabe von zusätzlicher DMDO-Stammlösung.^[342] Erst in späteren Publikationen wurde die Möglichkeit beschrieben die *in situ* generierten Flavanon-Epoxide nach einer kurzen wässrigen Aufarbeitung und Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel durch die Zugabe von katalytischen Mengen einer BRØNSTED-Säure, zumeist *para*-Toluolsulfonsäure, in einer Säure-induzierten Umlagerung zu Flavonolen umzusetzen.^[322]

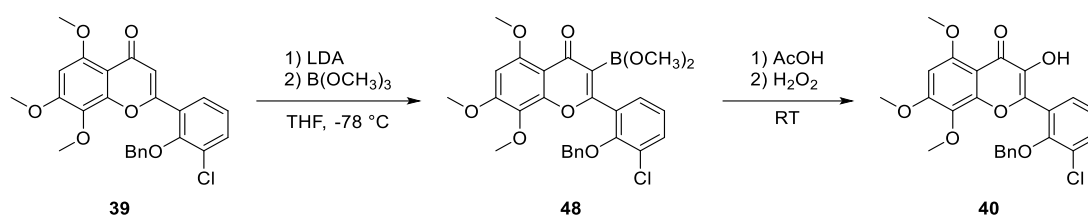
Aufgrund der riskanten Herstellungsweise einer DMDO-Stammlösung, der geringen Lagerfähigkeit von nur sieben Tagen und der möglichen Inkompatibilität mit verschiedenen funktionellen Gruppen bei der späteren Darstellung von Chlorflavonin-Derivaten wurde die Oxidation des Flavons **39** mit einer DMDO-Stammlösung als mögliche letzte Lösung in Betracht gezogen.^[348] Zudem konnte bereits bei der Umsetzung mit *in situ* generiertem DMDO eine starke Zersetzung des Edukts beobachtet werden, weswegen dieser Ansatz erstmal nicht weiter verfolgt wurde.

Eine alternative Möglichkeit Chromone sowie Flavone zu den entsprechenden 3-Hydroxychromone und 3-Hydroxyflavone zu oxidieren bietet die Verwendung von hypervalenten Organoiodverbindungen als Oxidationsmittel. In methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung kann das Flavon **39** in Gegenwart von Phenyliod(III)diacetat (PIDA) zum α -Hydroxy- β -methoxydimethylacetal **47** reagieren, welches durch BRØNSTED-Säure Hydrolyse zu drei Äquivalenten Methanol und Flavonol **40** umgesetzt werden kann (Schema 32). Nach einer Vorschrift von MORIARTY *et al.* wurde versucht das Flavon **39** mit Phenyliod(III)diacetat in methanolischer Kaliumhydroxid-Lösung sowie anschließender Hydrolyse mit konzentrierter Salzsäure-Lösung zum Flavonol **40** zu oxidieren. Nach 16 Stunden konnte jedoch kein Umsatz bei der dünnschichtchromatographischen Analyse der Reaktion beobachtet werden und der Ansatz wurde verworfen.



Schema 32: Möglicher Reaktionsmechanismus der Oxidation des Flavons **39** mit hypervalenten Organoiodverbindungen zum Acetal **47**, gefolgt von dessen BRØNSTED-Säure Hydrolyse zum Flavonol **40**. Adaptiert nach MORIARTY *et al.*^[349]

Als weitere Möglichkeit für diese Synthesestrategie wurde gemäß der Publikation von ADAMS *et al.* versucht den C-3 Kohlenstoff des Flavons **39** mit Lithiumdiisopropylamid (LDA) zu deprotonieren und die *in situ* generierte Organolithium-Verbindung mit Borsäuretrimethylester abzufangen. Im Folgenden sequenziellen Eintopfverfahren sollte der Boronsäuremethylester **48** mit einer BRØNSTED-Säure hydrolysiert und die freie Boronsäure mit Wasserstoffperoxid zum Flavonol **40** oxidiert werden (Schema 33).^[350] Bei diesem Verfahren konnte weder eine selektive noch signifikante Umsetzung des Edukts beobachtet werden. Bei der Reaktionskontrolle mittels DC wurde eine intensive Bande für das Edukt und verschiedene schwach ausgeprägte Banden für nicht weiter identifizierbare Reaktionsprodukte ermittelt. Daher wurde diese Synthesestrategie zur Darstellung von Chlorflavonin verworfen.



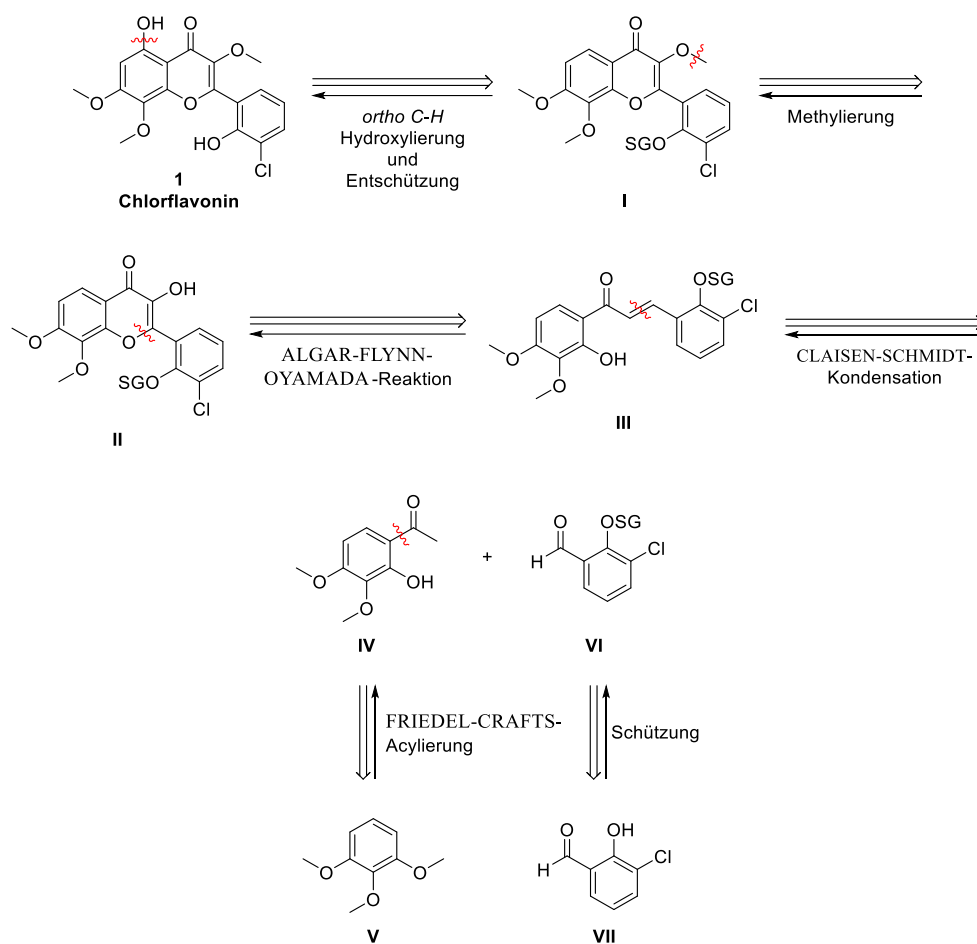
Schema 33: Versuch zur Oxidation des Flavons **39** über die Generierung des Boronsäureesters **48** mit anschließender Hydrolyse und Oxidation zum Flavonol **40** nach einer Vorschrift von ADAMS *et al.*^[350]

Aufgrund der nicht zufriedenstellenden Ausbeute des Flavonols **40** von 14 % wurde diese Synthesestrategie nicht weiterverfolgt und die dargestellten Zwischenstufen für die in Kapitel 4.1.8 beschriebene Entwicklung des Pharmakophormodells eingesetzt.

4.1.4 Methode zur Darstellung von Chlorflavonin (1)

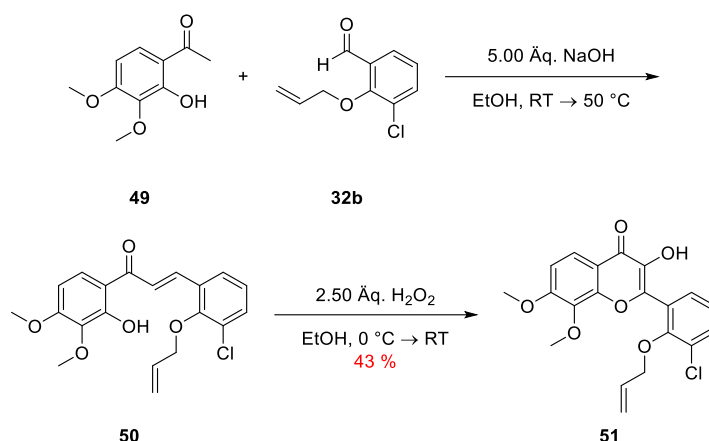
Bei den zwei zuvor versuchten Synthesewegen stellte der effektive Zugang zum 3-Methoxyflavon-Grundgerüsts **I** ein nicht im ausreichenden Maß gelöstes Problem dar. Dessen Synthese könnte ausgehend vom 2'-Hydroxychalkon **III** über die AFO-Reaktion sowie der anschließenden Methylierung des Flavonols **II** ermöglicht werden.

Bei der AFO-Reaktion führt die Anwesenheit eines Substituenten mit einem positiven mesomeren Effekt in 6-Position primär zur Ausbildung des entsprechenden Aurons (Kapitel 4.1.1). Daher ist es notwendig, die phenolische Hydroxygruppe des A-Rings nach der Durchführung der AFO-Reaktion einzuführen. Hierfür bietet sich neben der ELBS-Persulfat-Oxidation, deren begrenzte Anwendbarkeit in Kapitel 4.1.1 beschrieben wurde, auch die moderne Möglichkeit der Übergangsmetall-katalysierten *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung an (Schema 34).



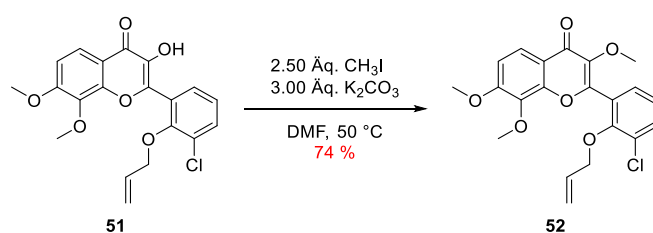
Schema 34: Dritte retrosynthetische Analyse von Chlorflavonin (1).

Im ersten Schritt dieser Sequenz wurde 3-Chlorosalicylaldehyd (4) mit Allylbromid und Kaliumcarbonat als Base mit einer exzellenten Ausbeute von 95 % geschützt. Anschließend wurde der Allylether-geschützte Aldehyd **32b** mit dem kommerziell erhältlichen 2'-Hydroxyacetophenon **49** in ethanolischer Kaliumhydroxid-Lösung bei Raumtemperatur zum Chalkon **50** umgesetzt. Mit fortschreitender Reaktionsdauer fiel das Chalkon **50** als gelber amorpher Feststoff aus. Da jedoch nach 16 Stunden noch beide Edukte als intensive Banden auf der DC-Platte nachgewiesen werden konnten, wurde der Ansatz auf 50 °C erwärmt und für weitere 8 Stunden gerührt. Nach dem Erreichen des vollständigen Umsatzes wurde die Reaktionslösung mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und vorsichtig eine 30%ige wässrige Wasserstoffperoxid-Lösung hinzugegeben. Innerhalb von wenigen Sekunden schlug die Farbe der Reaktionslösung von gelb nach braun um und verklumpte so stark, dass ein weiteres Rühren nicht mehr möglich war. Daher wurde die Suspension mit eiskaltem Ethanol verdünnt und die restliche Wasserstoffperoxid-Lösung hinzugegeben. Nach der wässrigen Aufarbeitung und der säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel konnte das Flavonol **51** mit einer Ausbeute von 43 % erhalten werden (Schema 35).



Schema 35: Darstellung des Flavonols **51** über die basenvermittelte CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation und anschließender AFO-Reaktion im sequenziellen Eintopf-Verfahren.

Im Anschluss wurde die freie Hydroxygruppe des Flavonols **51** mit Methyljodid in Gegenwart von Kaliumcarbonat als Base methyliert. Das 3-Methoxyflavon **52** konnte nach der wässrigen Aufarbeitung und Umkristallisation aus Ethanol mit einer Ausbeute von 74 % erhalten werden (Schema 36).

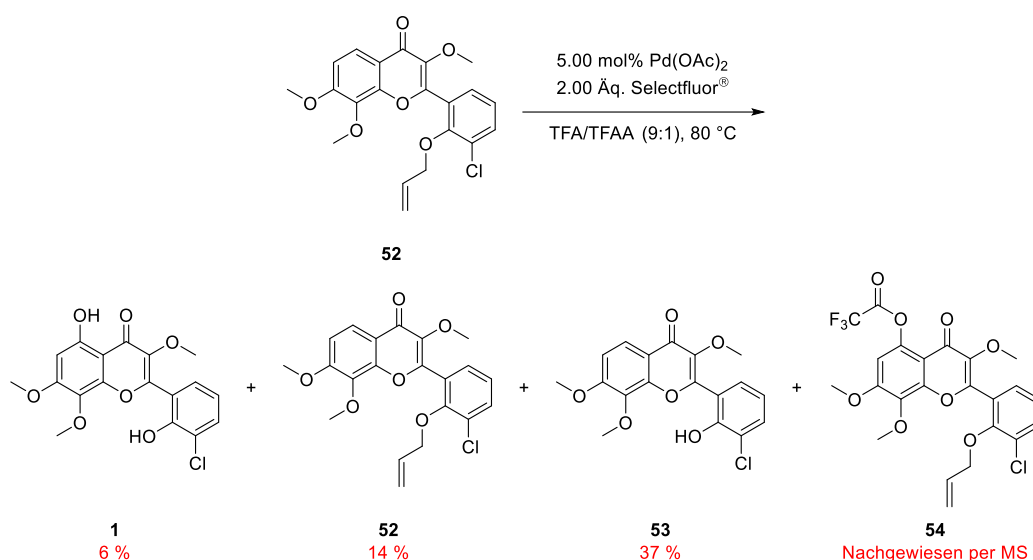


Schema 36: Methylierung des Flavonols **51** für die Darstellung des 3-Methoxyflavons **52**.

Die im Anschluss geplante *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung des 3-Methoxyflavons **52** wurde nach einer Literaturvorschrift von SHAN *et al.* mit Palladiumacetat als Katalysator und dem terminalen Oxidationsmittel *Selectfluor*[®] (1-Chlormethyl-4-fluor-1,4-diazonia bicyclo[2.2.2]octanebis(tetrafluorborat)) in einem Lösungsmittelgemisch aus Trifluoressigsäure und Trifluoressigsäureanhydrid (9:1 v/v) durchgeführt.^[351] Nach 16 Stunden konnten bei der Reaktionskontrolle mittels DC mehrere Banden beobachtet werden, welche bei der Behandlung mit ethanolischer Eisen(III)chlorid-Lösung die für (Poly)phenole charakteristische blaue bis grüne Färbung eingingen. Obwohl noch eine intensive Bande für das geschützte Edukt **52** beobachtet werden konnte, wurde beschlossen die Reaktion zu beenden und die Produkte zu identifizieren. Der Katalysator wurde über *Celite*[®] abfiltriert, das Lösungsmittelvolumen unter vermindertem Druck reduziert und die Reste an Trifluoressigsäure durch dreimaliges co-evaporieren mit Toluol entfernt. Das getrocknete Rohprodukt wurde säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt und es gelang drei saubere Fraktionen sowie eine Mischfraktion zu erhalten. Deren Analyse mittels

$^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ergab, dass es sich dabei um Chlorflavonin (**1**) (6 %), das Allylether-entschützte 3-Methoxyflavon **53** (37 %) und dem Edukt **52** (14 %) handelte. Die Analyse der Mischfraktion mittels ESI-MS-Spektrometrie konnten zwei Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse von $m/z = 515.1$ und 537.0 detektiert werden, welche den H^+ - und Na^+ -Kationen des Allylether-geschützten Chlorflavonin-Trifluoracetats **54** zugeordnet werden konnten.

Daher sollte bei nachfolgenden Reaktionsoptimierungen die Aufarbeitung des Rohprodukts verändert werden, um eine quantitative Hydrolyse des Chlorflavonin-Trifluoracetats **54** und der damit einhergehenden Verbesserung der Reaktionsausbeute zu gewährleisten (Schema 37).

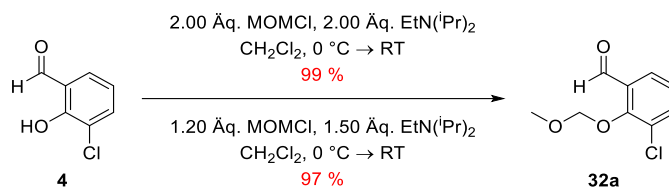


Schema 37: Versuch der Palladium-katalysierten *ortho*- $\text{C}(\text{sp}^2)$ -*H*-Hydroxylierung des 3-Methoxyflavons **52** in Anlehnung an eine Literaturvorschrift von SHAN *et al.*^[351]

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde in Betracht gezogen, dass der Wechsel der Schutzgruppe hin zu einer BRØNSTED-Säure labilen Funktionalität bei den Reaktionsbedingungen der *ortho*- $\text{C}(\text{sp}^2)$ -*H*-Hydroxylierung zu einer quantitativen Entschützung führen könnte. Somit könnte der Aufarbeitung der Trennungsprozess vereinfacht und die Ausbeute gesteigert werden. Daher wurde der Wechsel zur Methoxymethylether (MOM)-Schutzgruppe anvisiert. Diese wird sowohl unter den basischen Reaktionsbedingungen als auch in Gegenwart von Wasserstoffperoxid als stabil beschrieben und sollte sich leicht im sauren Medium der geplanten *ortho*- $\text{C}(\text{sp}^2)$ -*H*-Hydroxylierung entfernen lassen.^[300]

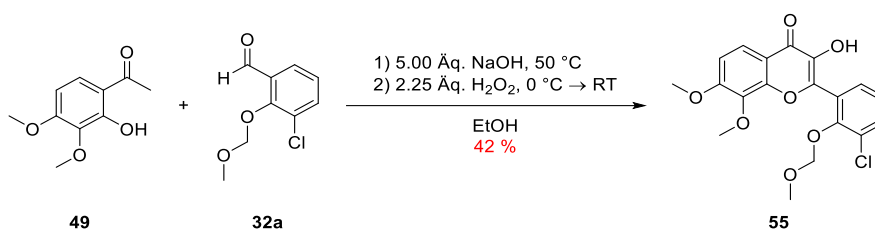
Der MOM-geschützte Aldehyd **32a** wurde nach einer Literaturvorschrift von OHNO *et al.* ausgehend von 3-Chlorsalicylaldehyd (**4**) und zwei Äquivalenten Methoxymethylchlorid mit Diisopropylethylamin (DIPEA) als Base in exzellenter Ausbeute erhalten.^[352] Da es sich bei

Methoxymethylchlorid um ein teures Reagenz handelt, wurden in nachfolgenden Ansätzen dessen Überschuss von 2.0 auf 1.2 Äquivalente reduziert, welches zu keiner nennenswerten Verminderung der Ausbeute (97 %) zur Folge hatte (Schema 38).



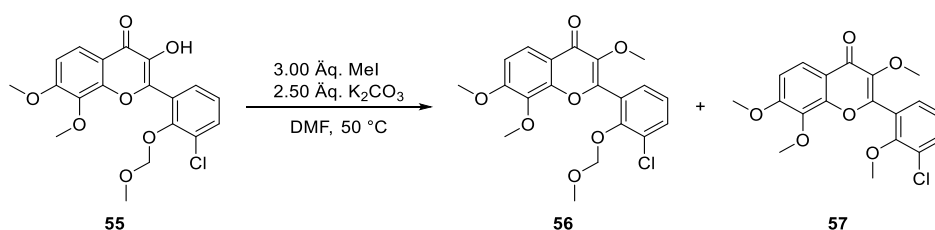
Schema 38. Darstellung des MOM-geschützten Aldehyds **32a** nach einer Literaturvorschrift von OHNO *et al.*^[352]

Der MOM-geschützte Aldehyd **32a** wurde mit 2'-Hydroxyacetophenon **49** über die basenvermittelte CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation und anschließender AFO-Reaktion im sequenziellen Eintopf-Verfahren zum Flavonol **55** umgesetzt (Schema 39).



Schema 39: Darstellung des Flavonols **55** über die basenvermittelte CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation und anschließender AFO-Reaktion im sequenziellen Eintopf-Verfahren.

Im Anschluss wurde, wie zuvor beim Allylether-geschützten Flavonol **51**, die Methylierung des MOM-geschützten Flavonols **55** unter den Standardreaktionsbedingungen mit einem Überschuss an Methyljodid und Kaliumcarbonat in DMF bei 50 °C durchgeführt (Schema 40).



Schema 40: Versuch der Methylierung des MOM-geschützten Flavonols **55** zum 3-Methoxyflavonol **56**.

Die hellgelbe Lösung des Flavonols **55** in DMF färbte sich durch die Zugabe der Base intensiv rot. Im Anschluss erfolgte die Zugabe des Methylierungsreagenz und die intensiv rote Reaktionslösung entfärbte sich innerhalb von einer Stunde. Bei der Überwachung des Reaktionsumsatzes mittels DC konnte die Entstehung einer dominanten und einer schwach ausgeprägten Bande mit sehr ähnlichen Retentionsfaktoren von 0.23 sowie 0.25

(*n*-Hexan/EtOAc 3:2) beobachtet werden. Nach wässriger Aufarbeitung wurde der Versuch unternommen die eng beieinander laufenden Reaktionsprodukte mittels Säulenchromatographie an Kieselgel zu trennen. Jedoch konnte keine signifikante Trennleistung erzielt werden. Daher wurde für die Charakterisierung der Reaktionsprodukte der Vor- und Nachlauf der Mischfraktion separat gesammelt und mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie analysiert. Die Auswertung der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wies daraufhin, dass es sich bei dem Hauptprodukt um das MOM-geschützte 3-Methoxyflavon **56** und bei dem Nebenprodukt um das zweifach methylierte 3-Methoxyflavon **57** handelt. Bei dem Nebenprodukt **57** war das charakteristische Singulett der Methylengruppe des MOM-Ethers bei einer chemischen Verschiebung von 5.01 ppm nicht mehr zu beobachten und dahingegen ein Singulett mit der der Intensität von drei Protonen bei $\delta = 3.81$ ppm zu identifizieren (Abbildung 9).

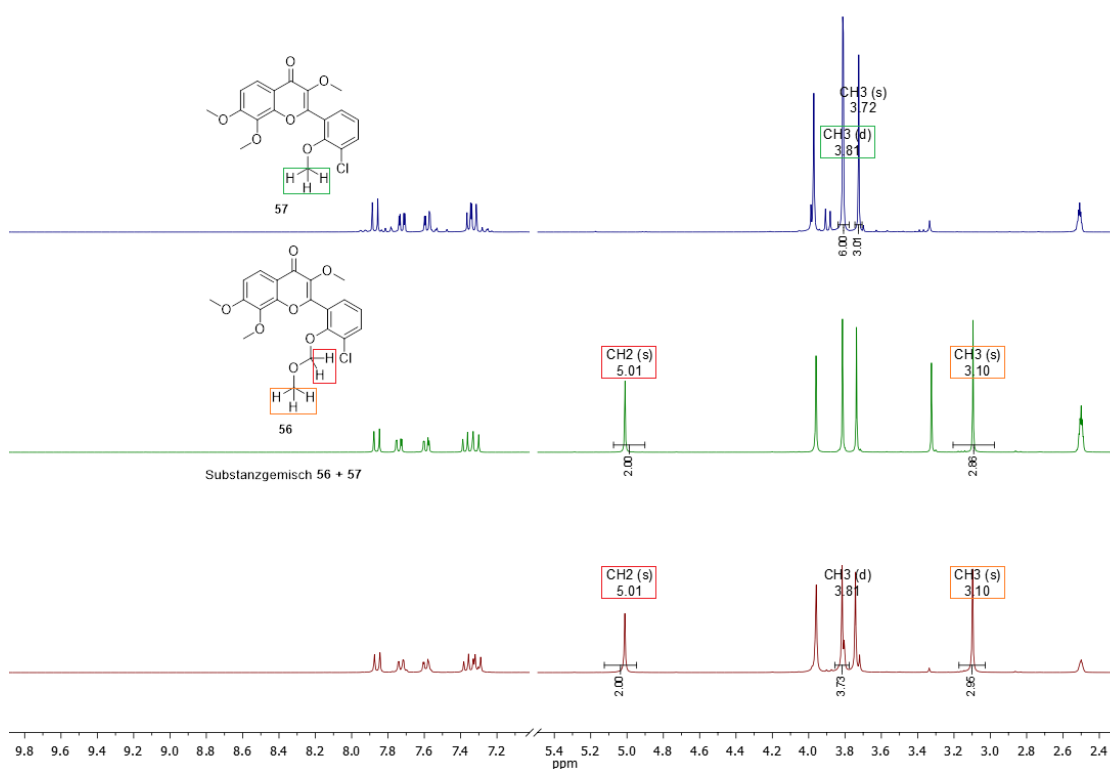


Abbildung 9: (Oben) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz, DMSO) des Nebenprodukts **57**; (Mitte) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz, DMSO) des MOM-geschützten 3-Methoxyflavons **56**; (Unten) $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (300 MHz, DMSO) des Rohprodukts der Methylierung des Flavonols **55**.

Aufgrund der sehr ähnlichen Retentionsfaktoren der beiden Verbindungen **56** und **57** war es nicht möglich diese mittels konventioneller Säulenchromatographie an Kieselgel zu separieren. Um dieses Problem bei der zukünftigen Darstellung von Chlorflavonin und dessen Analoga zu vermeiden, wurden weitere Experimente zur möglichst vollständigen und selektiven Methylierung des MOM-geschützten Flavonols **55** durchgeführt (Tabelle 7).

Tabelle 7. Versuche zur Methylierung des MOM-geschützten Flavonols **55**.

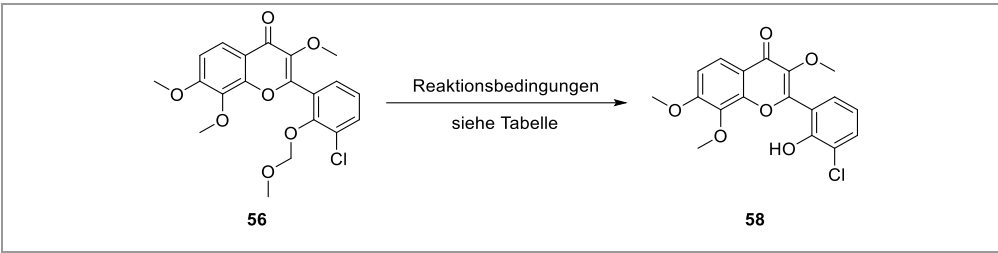
Eintrag	Reagenz [Äq.]	Base [Äq.]	Lsm.	Temp. [°C]	Zeit [h]	Ergebnis
1	1.50 (CH ₃ O) ₂ SO ₂	1.50 K ₂ CO ₃	Aceton	RT → 50	16	Gemisch
2	1.10 CH ₃ I	1.10 EtN(ⁱ Pr) ₂	CH ₂ Cl ₂	0 → RT	24	Kein Umsatz
3	2.50 CH ₃ I	3.00 K ₂ CO ₃	Aceton	RT → 50	8	Gemisch
4	1.50 CH ₃ I	2.50 K ₂ CO ₃	Aceton	RT → 50	8	Gemisch
5	1.50 CH ₃ I	2.25 Cs ₂ CO ₃	DMF	RT	1	Produkt

Nach einer Literaturvorschrift von MARIE *et al.* wurde versucht das Flavonol **55** mit einem Überschuss von 1.5 Äquivalenten Dimethylsulfat und Kaliumcarbonat in Aceton zu methylieren.^[353] Entgegen der Literaturvorschrift wurde die Reaktion zunächst bei Raumtemperatur und nicht unter Erhitzen zum Rückfluss durchgeführt, welches jedoch einen geringen Umsatz zur Folge hatte. Beim vorsichtigen Erwärmen des Reaktionsmediums wurde sowohl die deutliche Zunahme des Umsatzes als auch die Entstehung des Nebenprodukts **57** beobachtet (Eintrag 1). Danach wurde eine Kombination bestehend aus Methyljodid und Diisopropylethylamin in Dichlormethan erprobt, bei der jedoch gar kein Reaktionsumsatz beobachtet werden konnte (Eintrag 2). Nach einer Literaturvorschrift von JUVALE *et al.* wurde die Reagenzienkombination aus Methyljodid und Kaliumcarbonat in Aceton eingesetzt.^[331] Im Vergleich zur Literaturvorschrift (7 Äquivalente) wurde die Menge an Methyljodid reduziert und die der Base erhöht. Zunächst wurde versucht die Methylierung bei Raumtemperatur durchzuführen, welches jedoch zu keinem signifikanten Umsatz führte. Die Erhöhung der Temperatur führte schließlich wieder zur Entstehung des Nebenprodukts (Einträge 3-4). Basierend auf diesen Ergebnissen wurde daher der Einsatz von Cäsiumcarbonat als Base erprobt. Bei zahlreichen Alkylierungsreaktionen wurde berichtet, dass durch die Anwesenheit eines größeren Alkalimetall-Kations die Reaktionsrate und -ausbeute gesteigert werden konnte. In polaren, aprotischen Lösungsmitteln nimmt der Grad der Dissoziation, zwischen dem Alkalimetall-Kation und dem Anion des zu alkylierenden Substrats, mit zunehmenden Durchmesser des Kations zu und führt dadurch zu einer deutlichen Steigerung des Reaktivität.^[354] Für die weitere Optimierung wurde daher der Einsatz von DMF als Lösungsmittel und Cäsiumcarbonat als Base erprobt. Zusätzlich wurde die Menge des

eingesetzten Methylodids auf 1.5 Äquivalente reduziert. Schon bei Raumtemperatur konnte bereits innerhalb von wenigen Minuten eine deutliche Entfärbung des Reaktionsgemisches beobachtet und bei der Reaktionskontrolle mittels DC nach einer Stunde weder Edukt noch die Entstehung der Nebenkomponente beobachtet werden (Eintrag 5). Nach der säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel konnte das MOM-geschützte 3-Methoxyflavon **56** als zähe braune glasartige Substanz erhalten werden, welches mit einem hohen Anteil des Laufmittels Essigsäureethylester verunreinigt war. Der Anteil des Lösungsmittels konnte weder durch die langwierige Trocknung im Hochvakuum von bis zu sieben Tagen noch mittels Co-Evaporation mit niedrigsiedenden organischen Lösungsmitteln signifikant reduziert werden. Dieses Problem konnte bei der wiederholten Darstellung des MOM-geschützten 3-Methoxyflavons **56** durch den Einsatz des Laufmittelgemischs *n*-Hexan und Diethylether bei der Säulenchromatographie umgangen werden. Jedoch intensivierte sich mit abnehmendem Lösungsmittelgehalt der glasartige Charakter der Substanz und stellte bei den nachfolgenden Optimierungsstudien ein handwerkliches Problem dar, da diese vor jedem Einwiegen zunächst in der Wärme geschmolzen werden musste. Außerdem konnte bei der längerfristigen Lagerung bei einer Temperatur von unterhalb 7 °C und dem ständig zu wiederholenden Schmelzprozess eine zunehmende Zersetzung der Substanz bei der dünnschichtchromatographischen Analyse beobachtet werden. Daher wurde versucht die Substanz in diversen polaren und unpolaren Lösungsmitteln auszukristallisieren, jedoch konnte stets das Ausölen beobachtet werden. Im Anschluss wurde versucht die Substanz in organischen Lösungsmitteln zu lösen und durch die Zugabe von eiskaltem destilliertem Wasser auszukristallisieren. Der dabei ausgefallene Feststoff ging beim nachfolgenden Filtrationsprozess wieder in einen glasartigen Zustand über. Erst in späteren Versuchen gelang es durch das Lösen des Glases in warmen Methanol und langsamen abkühlen die Substanz auszukristallisieren, welches jedoch zu erheblichen Substanzverlusten führte.

Daher wurde in Betracht gezogen die MOM-Schutzgruppe zu entfernen, da der Überlegung nach das 3-Methoxyflavon **58** mit einer freien phenolischen Hydroxygruppe eher zur Kristallisation neigen sollte (Tabelle 8).

Tabelle 8: Versuche zur Entfernung der MOM-Schutzgruppe des 3-Methoxyflavons **56**.

						
Eintrag	Säure [Äq.]	Lsm.	Temp. [°C]	Zeit [h]	Ergebnis	Ausbeute [%]
1	10 TFA	CH ₂ Cl ₂	20	16	Zersetzung	56
2	10 TFA	CH ₂ Cl ₂	0 → 20	16	Zersetzung	Nicht isoliert
3	10 TFA	CH ₂ Cl ₂	20	16	Zersetzung	Nicht isoliert ¹
4	5.0 TFA	CH ₂ Cl ₂	20	16	Zersetzung	Nicht isoliert
5	2 M HCl	MeOH/THF (5:1)	0 → 50	8	Produkt	72
6	2 M HCl	MeOH/H ₂ O (1:1)	0 → 50	8	Produkt	79

¹ Unter Schutzgasatmosphäre durchgeführt

Zunächst wurde nach einer Literaturvorschrift von BANERJEE *et al.* versucht die MOM-Schutzgruppe mit 10 Äquivalenten Trifluoressigsäure in Dichlormethan bei Raumtemperatur zu entfernen.^[355] Bei dieser Reaktion wurde innerhalb von wenigen Minuten ein Farbumschlag von farblos zu schwarz beobachtet und bei der Reaktionskontrolle mittels DC konnten verschiedene Banden für nicht identifizierte Zersetzungsprodukte detektiert werden. Nach der wässrigen Aufarbeitung und säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel konnte das freie 3-Methoxyflavon **58** als weißer Feststoff mit einer moderaten Ausbeute von 56 % erhalten werden (Eintrag 1). Aufgrund dieses Ergebnisses wurden verschiedene Testreaktionen, mit dem Ziel die Entstehung der Zersetzungsprodukte zu vermeiden und die Ausbeute der Reaktion zu optimieren, durchgeführt. Weder durch die Zugabe der Trifluoressigsäure unter Eiskühlung noch die Reaktionsführung unter Ausschluss von Luftsauerstoff oder die Halbierung der Äquivalente an Trifluoressigsäure führte zu einer beobachtbaren Abnahme an Zersetzungsprodukten (Einträge 2-4). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde ein Wechsel der BRØNSTED-Säure erwogen und die Entfernung der MOM-Schutzgruppe analog zu einer Literaturvorschrift von SUN *et al.* durchgeführt.^[356] Das MOM-geschützte Flavon **56** wurde in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Tetrahydrofuran mit 2 M Salzsäure-Lösung versetzt und anschließend für 8 Stunden bei 50 °C zur Reaktion gebracht. Diesmal konnte bei der Reaktionskontrolle mittels DC ein nahezu vollständiger Reaktionsumsatz ohne die Entstehung der Zersetzungsprodukte beobachtet werden. Bei der darauffolgenden säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel war jedoch die Zugabe von Triethylamin notwendig um das entschützte 3-Methoxyflavon **58** sauber zu erhalten. Während des

Trennungsprozesses konnte eine zunehmende intensive Verfärbung des Säulenmaterials von orange bis später zu braun beobachtet werden, welches auf die wahrscheinliche Zersetzung des deprotonierten Produkts zurückzuführen sein könnte (Eintrag 5). Um die Aufarbeitung zu optimieren und nachfolgende Ausbeuteverluste beim Trennungsgang zu vermeiden, wurde die Entfernung der MOM-Schutzgruppe in einer Lösung zu gleichen Anteilen Methanol und 2 M Salzsäure-Lösung erprobt. Mit fortschreitender Reaktionsdauer fiel das entschützte 3-Methoxyflavon **58** als hellgelber Feststoff aus. Nachdem der vollständige Reaktionsansatz erreicht worden war, wurde das Reaktionsmedium mit eiskaltem Wasser verdünnt und über Nacht im Kühlschrank gelagert. Im Anschluss konnte das auskristallisierte Reaktionsprodukt mittels einfacher Vakuumfiltration erhalten werden (Eintrag 6).

Bei der Entfernung der MOM-Schutzgruppe konnte die Bildung von Nebenprodukten nicht beobachtet werden, daher war die Zugabe von Additiven um das reaktive Formaldehyd abzufangen nicht notwendig.^[357]

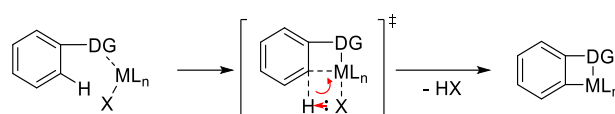
Nachdem es möglich war das entschützte 3-Methoxyflavon **58** in ausreichenden Mengen und einem praktischen Aggregatzustand darstellen zu können, konnte mit der Reaktionsoptimierung der *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung fortgeführt werden.

In den vergangenen Jahrzehnten rückte die Entwicklung von Methoden zur direkten Funktionalisierung nicht-aktivierter Kohlenstoff-Wasserstoff-(C-H)-Bindungen immer mehr ins Blickfeld der organischen Chemie.^[358] Mit diesen Methoden können die klassischen Synthesestrategien komplexer Agrochemikalien, Polymere und Wirkstoffe in Bezug auf deren Atom- und Schrittökonomie signifikant verbessert werden.^[359] Aufgrund der stabilen Natur der C(sp²)-H-Bindung (ca. 460 kJ/mol) benötigten diese Methoden jedoch hohe Temperaturen, starke Oxidationsmittel sowie starke Säuren oder Basen als Additive. Allerdings wurden insbesondere in den letzten zwei Jahrzehnten auf dem Gebiet der homogenen Katalyse bedeutende Fortschritte zur selektiven Funktionalisierung von C-H-Bindungen bei milden Reaktionsbedingungen, welche die Modifikation von komplexen Molekülen ermöglichen, errungen.^[358] Seit dem Jahr 2010 erschienen zahlreiche Publikationen, welche sich mit der Funktionalisierungen von unreaktiven C(sp²)-H-Bindungen in der Anwesenheit von verschiedenen dirigierende Gruppen (DG), beschäftigten.^[351,360–364]

Bei den späten, hochvalenten, elektronenarmen 4d- und 5d-Übergangsmetallen Pd^{II}, Rh^{III}, Ir^{III} und Ru^{II} erfolgt die Aktivierung der C-H-Bindung über die elektrophilen Reaktionswege der konzertierten Metallierung-Deprotonierung (CMD) oder elektrophilen aromatischen Substitution (S_EAr).^[358] Bei den frühen, elektronenarmen Übergangsmetallen kann zudem die C-H-Aktivierung über die σ -Bindungs-Metathese (σ BM) erfolgen.^[365,366] Wohingegen bei den

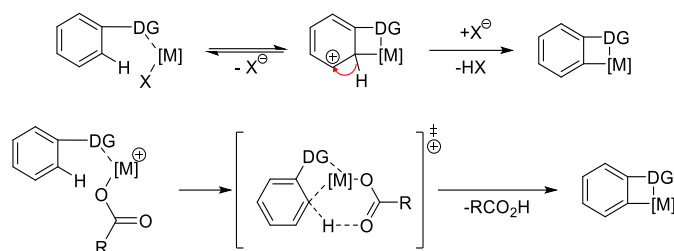
niedrigvalenten, elektronenreichen Übergangsmetallen Rh^I und Ir^I die $C-H$ -Bindungsaktivierung über die oxidative Addition geschieht.^[358]

Am Übergangsmetallzentrum koordinierte bidentate Carboxylat-Liganden können bei $C-H$ -Bindungsaktivierungen als Co-Katalysatoren fungieren in dem diese Übergangszustände stabilisieren oder als Base agieren.^[367] Aufgrund der räumlichen Nähe des Übergangsmetallzentrums zur $C-H$ -Bindung kommt es in einem konzertierten Prozess zur Carboxylat-vermittelten Deprotonierung des Substrats und zur Ausbildung der Kohlenstoff-Metall-Bindung.^[366] Währenddessen kommt es zu keiner Veränderung der Oxidationsstufe des Übergangsmetallzentrums (Schema 41).^[368]



Schema 41: Möglicher Reaktionsmechanismus der $C-H$ -Aktivierung *via* konzertierten Metallierung-Deprotonierung (CMD). Adaptiert nach GALLEGO *et al.*^[366]

Bei der $C-H$ -Aktivierung über den Reaktionsweg der S_EAr agiert das elektronenarme Übergangsmetallzentrum als LEWIS-Säure. Nach dessen Komplexierung durch die DG bildet sich als Resultat der Wechselwirkung des π -Elektronensystems mit dem Katalysator der reversible π -Komplex aus. Danach kommt es zur Ausbildung der *ortho*- $C(sp^2)$ -Metall-Bindung, dem WHELAND-Komplex bzw. σ -Arenium-Ion,^[369] ohne das sich dabei die Oxidationsstufe des Übergangsmetalls verändert. In der Folge wird die Acidität des vicinalen $C(sp^2)$ -Protons deutlich erhöht und kann während der Re-Aromatisierung des Substrats sowohl mit als auch ohne die Anwesenheit einer Base vereinfacht unter Freisetzung des Metallacyclus abgespalten werden.^[370] Wird dieser Prozess von einer Base aus der Koordinationssphäre des Übergangsmetallzentrums, bidentater Carboxylat-Liganden, vermittelt, so bezeichnet dies die Literatur als basen-assistierte intramolekulare Substitution von elektrophiler Art (BIES).^[366,367] Dieser verläuft über einen sechsgliedrigen Übergangszustand und wurde bei der $C-H$ -Aktivierung von elektronenreichen Substraten mit einer kationischen Ruthenium(II)-Katalysator-Spezies beobachtet (Schema 42).^[371]



Schema 42: (Oben) Möglicher Reaktionsmechanismus der *C-H*-Aktivierung *via* elektrophiler aromatischer Substitution (S_EAr). (Unten) Möglicher Reaktionsmechanismus der *C-H*-Aktivierung *via* basen-assistierte intramolekulare Substitution von elektrophiler Art (BIES). Adaptiert nach GALLEGO *et al.* und SHAN *et al.*^[366,371]

Als Folge des elektrophilen Reaktionsmechanismus der Aktivierung der *C-H*-Bindung mit den hochvalenten Übergangsmetallen ist es für die Reaktionsrate förderlich, wenn, dass Zentrum des homogenen Katalysators möglichst elektronenarm ist. Daher ist die Zugabe von Liganden mit einem starken σ -Donor-Charakter wie Phosphinen oder *N*-heterocyclischen Carbenen. Diese erhöhen die Elektronendichte am Übergangsmetallzentrum, für die *C-H*-Bindungsaktivierung mit hochvalenten Ruthenium(II)- und Palladium(II)-Katalysatoren nachteilig. Wohingegen bei der Zugabe des Additivs Trifluoressigsäure die *in situ* Generation der stark elektrophilen $M^I(TFA)^+$ Katalysator-Spezies beobachtet wird, welche in der signifikanten Erhöhung der Aktivitätsrate resultierte.^[358]

Die hochvalenten, elektronenarmen Pd^{II} - und Pd^{IV} -Intermediate neigen eher dazu mit elektrophilen Kupplungspartner zu reagieren.^[372]

Ruthenium-Katalysatoren sind aufgrund der möglichen Valenzzustände von Ru^0/Ru^{II} , Ru^{II}/Ru^{IV} und Ru^{II}/Ru^0 während des Katalysezykluses besonders vielseitige und reaktive Katalysatoren und eignen sich deshalb ebenfalls bei milden Reaktionsbedingungen.^[371] Mittels quantenmechanischer Dichtefunktionaltheorie-Berechnung konnte aufgezeigt werden, dass der Katalysemechanismus von Ruthenium(II)-Katalysatoren bei schwach koordinierenden Sauerstoff-haltigen DG bevorzugt über Ruthenium(IV)-Schlüsselintermediate verläuft.^[372] Des Weiteren konnte bei den hochvalenten, elektronenarmen Ru^{IV} und Pd^{IV} -Intermediaten schnelle reduktive Eliminierungen beobachtet werden.^[358]

Mit der Anwesenheit einer dirigierenden Gruppe (DG) im Substrat können Chemo- und Regioselektivität der *C-H*-Bindungsaktivierung gesteuert werden.^[358] Als DG werden Heterocyclen und funktionelle Gruppen bezeichnet deren Heteroatome, welche über freie Elektronenpaare verfügen und somit LEWIS-basische Eigenschaften aufweisen, Übergangsmetalle koordinieren können.^[373] In Folge der Komplexierung des Übergangsmetallzentrums durch die DG, welche somit als Ligand betrachtet werden kann,

kommt es zur effektiven Erhöhung der lokalen Konzentration einer spezifischen *C-H*-Bindung am katalytischen Zentrum.^[358] Als Folge der räumlichen Interaktion kommt es zur Aktivierung dieser *C-H*-Bindung, selbst wenn es sich bei dieser nicht um die reaktivste des Substrats handelt.^[366] Im Weiteren nimmt die DG durch die Komplexierung des Übergangsmetallzentrums Einfluss auf dessen Elektrophilie und trägt zur Stabilisation von metallcyclischen Intermediaten sowie Intermediaten mit hohen Oxidationsstufen während des Katalysemechanismus bei. Dadurch nimmt die DG direkten Einfluss auf die Rate der *C-H*-Dissoziation.^[358] Aufgrund der begrenzten Anzahl an freien Koordinierungsstellen am Zentrum des homogenen Katalysators konkurriert die DG mit stark bindenden Hilfssubstraten wie Liganden, Lösungsmittel oder Additiven.^[358]

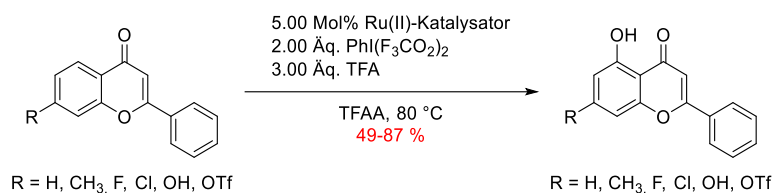
Mit der Hilfe von intermolekularen Konkurrenzreaktionen wurde die Stärke des dirigierenden Effekts von verschiedenen DG auf die Chemo- und Regioselektivität bei verschiedenen *C-H*-Bindungsfunktionalisierungen untersucht.^[373] Die Phosphor-, Schwefel- und Stickstoff-haltigen Heterocyclen und funktionelle Gruppen üben aufgrund der guten σ -Donor und π -Akzeptor Eigenschaften dieser Elemente einen starken dirigierenden Effekt aus.^[358] Dadurch fördern diese die Ausbildung von thermodynamisch stabilen fünf- und sechsgliedrigen Metallacyclen. Daher können diese stabilen Komplexe nur mit einer geringen Bandbreite an Elektrophilen und Nukleophilen zur Reaktion gebracht werden.^[372]

Die Sauerstoff-haltigen Heterocyclen und funktionellen Gruppen wie Ester, Carbonate, Amide und Ketone neigen aufgrund der schwachen σ -Donor und π -Akzeptor Eigenschaften des Sauerstoffs nur zur Ausbildung von weniger thermodynamisch stabilen Metallacyclen.^[372] Zudem ist die erreichbare Regio- und Chemo-selektivität von Sauerstoff-haltigen DG weniger stark ausgeprägt.^[373]

Jedoch kann die Stärke der dirigierenden Wirkung abhängig von der Acidität des Reaktionsmediums oder der elektronischen Eigenschaften der Liganden sein.^[373]

Für eine zufriedenstellende Effizienz und Wechselzahl bei der Übergangsmetall-katalysierten Aktivierung von *C-H*-Bindungen ist daher die optimale Einstellung der empfindlichen Reaktionsbedingungen entscheidend.^[358]

Die Ruthenium(II)-katalysierte selektive *ortho-C(sp²)-H*-Hydroxylierung von Flavonen wurde in einer Publikation von KIM *et al.* beschrieben, wobei sich die eingesetzten Substrate auf *mono*-substituierte 7-Flavone, Chromone sowie wenig substituierte B-Ring Flavone begrenzten (Schema 43).^[361]



Schema 43: Auszug der Substratbandbreite zur Ruthenium(II)-katalysierten selektiven *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung von Flavonen nach KIM *et al.* Adaptiert nach KIM *et al.*^[361]

YANG *et al.* publizierten die Ruthenium(II)-katalysierte *ortho*-Hydroxylierung aromatischer Ester. Über die Bestimmung des kinetischen Isotopeneffekts (KIE) ($k_H/k_D = 2.3$) konnte die Aktivierung der C-H-Bindung als geschwindigkeitsbestimmender Schritt ermittelt werden. Das beobachtete Reaktionsverhalten bei verschiedenen Substitutionsmustern mit elektronenziehenden- oder schiebenden Substituenten, Konkurrenzreaktionen und signifikant niedrigere Reaktivität von Ruthenium(II)-Katalysatoren mit starken σ -Donor-Liganden weist daraufhin, dass der Katalysezyklus vermutlich über ein C(sp²)-Ru^{IV}-O-Intermediat verläuft. Nach der abschließenden reduktiven Eliminierung kommt es zur Freisetzung des *ortho*-hydroxylierten Produkts und der aktiven Katalysator-Spezies Ru^{II}. Jedoch verweisen die Autoren auf die Möglichkeit, dass die reduktive Eliminierung des C(sp²)-Ru^{II}-O-Intermediats zum Produkt und Ru⁰, sowie anschließende Regeneration der aktiven Katalysator-Spezies durch das terminale Oxidationsmittel nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann. Im Weiteren konnte bei der Optimierung der Reaktionsbedingungen das Lösungsmittelgemisch Essigsäure- und -anhydrid als Alternative ausgeschlossen werden, da in diesem kein Umsatz beobachtet werden konnte.^[365]

In einer späteren Publikation beschrieben PADALA *et al.* die Ruthenium(II)-katalysierte *ortho*-C(sp²)-H-Bindungsfunktionalisierung von Benzamiden in Dichlorethan mit dem anorganischen Oxidationsmittel Ammoniumperoxodisulfat. Der publizierte Katalysezyklus verläuft über einen fünfgliedrigen Metallacyclus (Ruthenacyclus) mit darauffolgender reduktiven Eliminierung des C(sp²)-Ru^{II}-O-Intermediats und abschließender Regeneration der aktiven Katalysator-Spezies mittels Oxidation des Ru⁰ durch das terminale Oxidationsmittel.^[374]

In einer Arbeit von ACKERMANN *et al.* wird darauf hin gewiesen, dass die Metallierung der C-H-Bindung bei Ruthenium(II)-Carboxylat-Katalysatoren von reversibler Natur sein können.^[375] Somit kann die koordinative Insertion des Kupplungspartners in die C-Ru^{II}-Bindung oder die reduktive Eliminierung als geschwindigkeitsbestimmenden Schritt im Katalysezyklus nicht gänzlich ausgeschlossen werden.^[367]

In mehreren Experimenten zur *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung konnte nach dem Filtrieren über *Celite*[®] sowie anschließender säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel ein Gemisch bestehend aus dem Trifluoressigsäureester des Chlorflavonins **59** als Hauptprodukt und Chlorflavonin (**1**) als Nebenprodukt erhalten werden. Die Aufnahme von ¹H-NMR-Spektren des Produktgemischs zu unterschiedlichen Zeitpunkten zeigte, dass der Trifluoressigsäureester in Dimethylsulfoxid bereits bei Raumtemperatur quantitativ in das Chlorflavonin überführt wird (Abbildung 10).

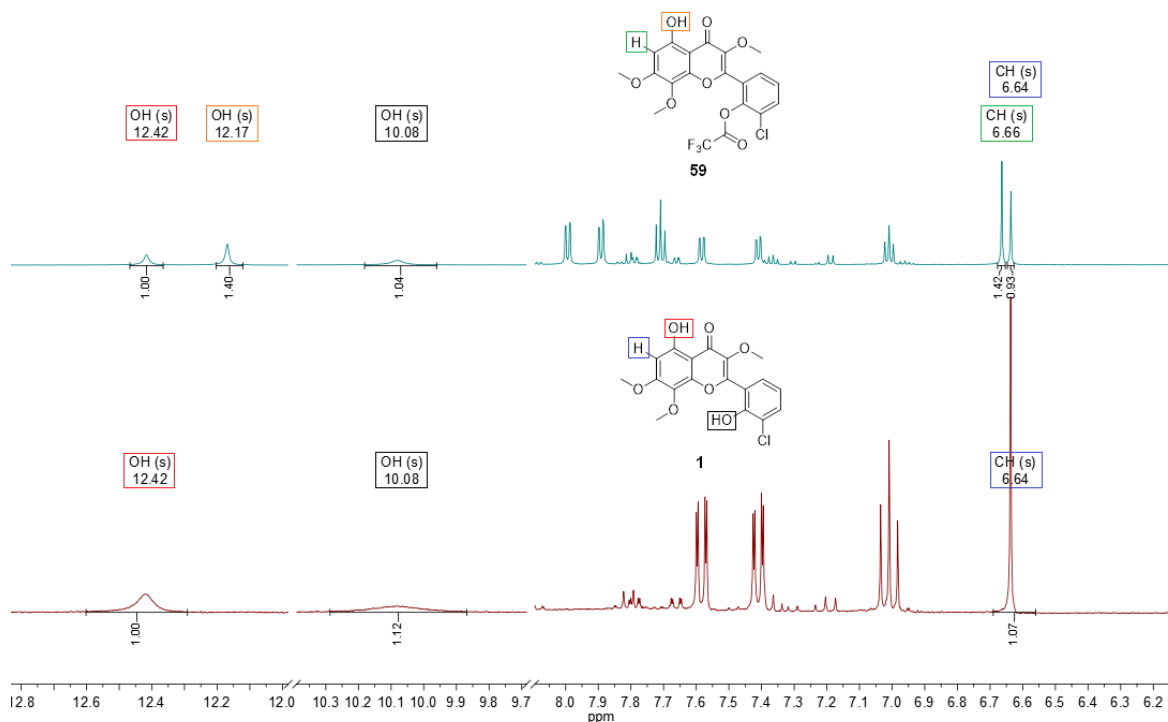


Abbildung 10: (Oben) ¹H-NMR-Spektrum in DMSO-*d*₆ des Gemischs bestehend aus Chlorflavonin (**1**) sowie dessen Trifluoressigsäureester **59**, zeitnah nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel aufgenommen. (Unten) ¹H-NMR-Spektrum in DMSO-*d*₆ derselben Probe, welche für 48 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen wurde.

Im Rahmen der Optimierung der *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung wurde daher ebenfalls die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes untersucht. In mehreren kleinen Testansätzen wurde die Freisetzung des erhaltenden Chlorflavonin-Trifluoressigsäureester-Gemisches in unterschiedlichen Lösungsmitteln mit BRÖNSTED-Säuren oder -Basen erprobt (Tabelle 9).

Tabelle 9: Versuche zur Hydrolyse des Chlorflavonin-Trifluoressigsäureesters **59**.

Eintrag	Additiv	Lsm.	Temp. [°C]	Ergebnis ¹
1	NaOH	MeOH	RT	Freisetzung + Nebenreaktionen
2	K ₂ CO ₃	MeOH	RT	Freisetzung + Nebenreaktionen
3	NaHCO ₃	Wasser/MeOH	0	Freisetzung + Nebenreaktionen
4	2 m HCl	MeOH	RT	Freisetzung
5	-	MeOH	RT	Freisetzung
6	-	MeOH	50	Freisetzung

¹ Reaktionskontrolle erfolgte mittels DC

Insbesondere unter BRØNSTED-basischen Bedingungen konnte ein schneller Farbumschlag von hellgelb über braun zu schwarz sowie bei der Reaktionskontrolle mittels DC ein brauner Fleck auf der Startlinie beobachtet werden (Einträge 1-3). Dahingegen konnte unter BRØNSTED-sauren Bedingungen (Eintrag 4) und auch ohne Additive die vollständige Freisetzung des Esters in Methanol erreicht werden (Eintrag 5). Im weiteren Verlauf der Arbeiten wurde festgestellt, dass das Lösen des Rohprodukts in Methanol gefolgt von der anschließenden langsamen Entfernung des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer bei einer Wasserbadtemperatur von 50 °C zu einem optimalen Ergebnis führte (Eintrag 6).

Für die Optimierung der *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung wurde der Reaktionsverlauf mittels DC und HPLC überwacht, im Anschluss wurde der Reaktionsansatz über *Celite*[®] abfiltriert, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt erneut mittels HPLC analysiert. Bei Ansätzen mit einem zufriedenstellenden Reaktionsumsatz und einer geringen Anzahl an Nebenprodukten wurde das Reaktionsprodukt mittels säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel in analytisch reiner Form erhalten. Aufgrund der niedrigen Siedetemperaturen von Trifluoressigsäure (TFA) und Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) wurden Reaktionen mit diesen Lösungsmitteln in einem verschlossenen druckdichten Glasrohr durchgeführt (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ergebnisse der Reaktionsoptimierung zur *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung des 3-Methoxyflavons **58**.

58 → 1
Chlorflavonin

Eintrag	Katalysator [Mol%]	Oxidationsmittel [Äq.]	1. Additiv [Äq.]	2. Additiv [Äq.]	Lösungsmittel	Temp. [°C]	Zeit [h]	Umsatz/ Ausbeute [%]
1	10 Pd(OAc) ₂	1.0 PhI(TFA) ₂	-	-	DCE	80	4	Spuren
2	5.0 Pd(TFA) ₂	1.2 PhI(TFA) ₂	-	-	DCE	80	8	Spuren
3	5.0 Pd(TFA) ₂	2.0 PhI(TFA) ₂	-	-	DCE	80	16	Zersetzung
4	5.0 Pd(TFA) ₂	1.2 PhI(TFA) ₂	-	-	9:1 TFA/TFAA	80	8	48
5	5.0 Pd(TFA) ₂	1.5 PhI(TFA) ₂	-	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	Zersetzung
6	5.0 Pd(TFA) ₂	2.0 KPS	-	-	TFA	80	16	Kein Umsatz
7	5.0 Pd(OAc) ₂	2.0 <i>Selectfluor</i> TM	-	-	9:1 TFA/TFAA	80	16	15
8	5.0 Pd(TFA) ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	-	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	43
9	7.5 Pd(TFA) ₂	2.0 <i>Selectfluor</i> TM	-	-	1:66 TFA/TFAA ¹	90	20	Zersetzung
10	2.5 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	1.5 Ag ₂ CO ₃	3.0 TFA/5.0 TFAA	DCE	80	16	Kein Umsatz
11	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	1.5 Ag ₂ CO ₃	3.0 TFA/5.0 TFAA	DCE	80	16	Spuren
12	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	0.2 Ag ₂ CO ₃	3.0 TFA/5.0 TFAA	DCE	80	16	Spuren ²
13	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.2 Oxon [®]	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	8	11
14	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.2 KPS	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	8	Spuren
15	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.0 PhI(TFA) ₂	1.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	32

Ergebnisse und Diskussion

16	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.2 PhI(TFA) ₂	0.2 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	44 ²
17	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 PhI(TFA) ₂	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	24	43
18	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	51 ³
19	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	52 ⁴
20	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.2 <i>Selectfluor</i> TM	1.2 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	6	36 ⁴
21	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	53
22	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	60	16	Kein Umsatz
23	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	24	72
24	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	100	16	52
25	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.2 <i>Selectfluor</i> TM	1.2 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	120	2	74
26	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.2 <i>Selectfluor</i> TM	1.2 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	36 ³
27	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	1.5 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	53
28	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.8 <i>Selectfluor</i> TM	1.8 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	41
29	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	2.0 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	61
30	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	1.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	54
31	10.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	1.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	60
32	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:1.8 TFA/TFAA ¹	80	16	20
33	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	16	48
34	5.0 [RuCl ₂ (<i>p</i> -Cymol)] ₂	1.1 <i>Selectfluor</i> TM	2.0 Ag ₂ CO ₃	-	1:132 TFA/TFAA ¹	80	16	50
35	2.5 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.2 APS	-	-	3:1 TFA/TFAA	80	16	Kein Umsatz
36	2.5 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.2 PhI(TFA) ₂	-	-	DCE	80	4	Kein Umsatz
37	2.5 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.2 PhI(OAc) ₂	-	-	DCE	80	4	Kein Umsatz
38	2.5 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.2 PhI(OAc) ₂	-	-	3:2 TFA/TFAA	80	4	Komplexes Gemisch
39	2.5 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.2 PhI(OAc) ₂	-	-	2:1 TFA/TFAA	80	4	Komplexes Gemisch
40	5.0 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.2 <i>Selectfluor</i> TM	-	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	6	54 ⁴

Ergebnisse und Diskussion

41	5.0 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	-	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	3	54
42	7.5 [Ru(MesCO ₂) ₂ (<i>p</i> -Cymol)]	1.5 <i>Selectfluor</i> TM	-	-	1:66 TFA/TFAA ¹	80	4	56

¹ 3.0 Äquivalente TFA; ² Preaktivierung des Katalysators; ³ SCHLENK-Technik, Reaktionsführung unter Schutzgas; ⁴ Kontinuierliche Zugabe des Oxidationsmittels

Zunächst wurde in Anlehnung an die Literaturvorschrift von CHOY *et al.* die *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung mit Palladium(II)-acetats Katalysator, einem Äquivalent der hypervalenten Organoiodverbindung (Bis(trifluoracetoxy)iod)benzen (PIFA) in 1,2-Dichlorethan (DCE) durchgeführt.^[364] Bei der Reaktionskontrolle mittels DC und HPLC konnte ein geringer Umsatz beobachtet werden und das Produkt Chlorflavonin (1) erhalten werden (Eintrag 1). Der Einsatz von Palladium(II)-trifluoacetat mit einem Überschuss an PIFA oder Verlängerung der Reaktionszeiten führte dahingegen zu einer Zunahme an Nebenprodukten (Einträge 2-3).

Insbesondere der Wechsel des Lösungsmittels von DCE zu einer Mischung aus TFA mit TFAA erwies sich als förderlich für eine Zunahme des Reaktionsumsatzes (Eintrag 4). Da jedoch die Entstehung mehrerer Nebenprodukte beobachtet werden konnte, wurde der Überschuss an TFA drastisch reduziert und in Anlehnung an die Arbeitsvorschrift von KIM *et al.* nur noch drei Äquivalente TFA und TFAA im Überschuss eingesetzt (Eintrag 5). Dies führte zwar zu einer Reduktion der Nebenprodukte, für die Isolation des Reaktionsprodukts war weiterhin der Einsatz der Umkehrphasenchromatographie an C-18 notwendig. Daher wurde der Einsatz des Oxidationsmittels *Selectfluor*TM erprobt, welches sowohl zu einer Verbesserung des Reaktionsumsatzes als auch zur weiteren Reduktion der Nebenprodukte führte (Einträge 7-8). Bei einer höheren Katalysatorbeladung und mehr Oxidationsmittel sowie höheren Reaktionstemperaturen wurde zunehmend die Zersetzung des Edukts beobachtet (Eintrag 9). Im nächsten Optimierungsschritt wurde statt eines Palladium(II)-Katalysators das Übergangsmetall Ruthenium eingesetzt und Dichloro-(*p*-cymol)-ruthenium(II) Dimer als Katalysator verwendet. In DCE mit additiven Mengen an TFA und TFAA konnte nahezu kein Reaktionsumsatz detektiert werden (Einträge 10-12), weshalb das das Lösungsmittelgemisch TFA mit TFAA als essenziell eingestuft wurde.

Zusätzlich hatte weder die zuvor durchgeführte Aktivierung des Katalysators mit dem Silber(I)-Additiv (Eintrag 16), noch die Anwendung der SCHLENK-Technik zum Ausschluss von Luftsauerstoff einen merklichen Einfluss auf die Reaktionsumsätze (Eintrag 18). Ebenfalls führte die sukzessive Zugabe von weiterem Oxidationsmittel nicht zu einer Steigerung des Umsatzes (Einträge 19-20).

Die Variation der Temperatur führte bei einer Erhöhung zwar zu gesteigerten Umsätzen, aber auch zur signifikanten Zunahme von Nebenprodukten (Einträge 24-25). Dahingegen konnte bei einer Reaktionstemperatur von 60 °C kein Umsatz beobachtet werden (Eintrag 22).

Zusätzlich konnten beim Einsatz von steigenden Überschüssen des Oxidationsmittels nur marginale Zunahmen beim Reaktionsumsatz erzielt werden, welche von der verstärkten Entstehung von Nebenprodukten begleitet wurden (Einträge 26-29). Ebenfalls hatte eine

Katalysatorbeladung von 10 Mol% ausschließlich minimale Auswirkungen auf den Umsatz (Eintrag 31). Im Weiteren konnte beobachtet werden, dass jegliche Verschiebung des Mischungsverhältnisses der Komponenten TFA und TFAA zu einer Reduzierung des Umsatzes führte (Einträge 32-35).

Beim dem Einsatz des definierten $[\text{Ru}(\text{MesCO}_2)_2(p\text{-Cymol})]$ als katalytische Spezies wurden bei der *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung ähnliche Tendenzen beobachtet (Einträge 35-42), aufgrund des signifikant höheren Einkaufspreises wurde daher der Katalysator $[\text{RuCl}_2(p\text{-Cymol})_2]$ ausgewählt gewählt.

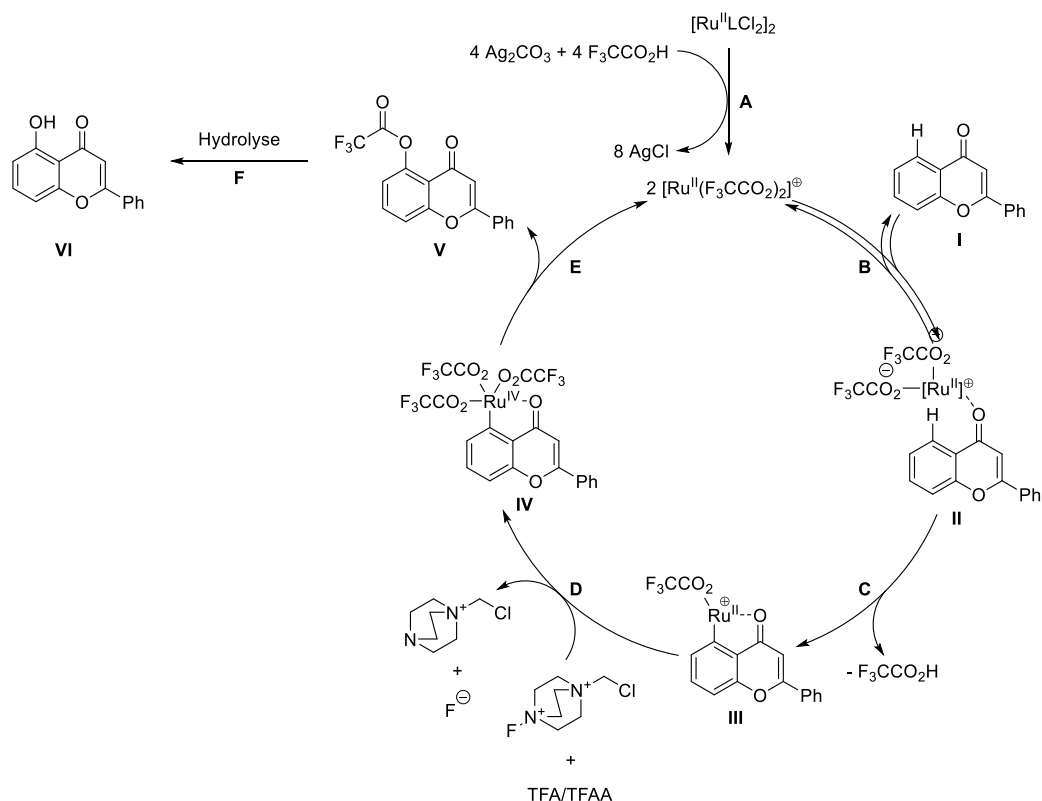
Beim Einsatz der anorganischen terminalen Oxidationsmittel Kaliumperoxodisulfat (KPS), Oxon[®] und Ammoniumperoxodisulfat (APS) wurde in allen Experimenten unabhängig vom Ruthenium(II)- oder Palladium(II)-Katalysatoren und Lösungsmittel sehr niedrige bis gar keine Reaktionsumsätze beobachtet (Einträge 6, 13-14 und 35). Die Ursache hierfür könnte an deren ungenügenden Löslichkeit in den eingesetzten organischen Lösungsmitteln liegen. Bei den hypervalenten Iodverbindungen PIDA und PIFA konnten im Allgemeinen geringere Umsätze und die zunehmende Bildung von schwer separierbaren Nebenprodukten beobachtet werden (Einträge 15-17 und 36-39).

Zusammenfassend war der Ruthenium(II)-Katalysator in Kombination mit einem Silber(I)-Additiv der Palladium(II)-Spezies deutlich überlegen. Mit dem Oxidationsmittel *Selectfluor*[™] und dem Lösungsmittelgemisch Trifluoressigsäure mit Trifluoressigsäureanhydrid in einem Verhältnis von 1:66 wurden sowohl die höchsten Reaktionsumsätze als auch die geringsten Nebenreaktionen beobachtet, sodass Chlorflavonin (**1**) in analytisch reiner Form erhalten werden konnte (Eintrag 23).

Beim Einsatz von Ruthenium(II)-Katalysatoren mit Chlorid-Liganden kann der Zusatz von stöchiometrischen Mengen eines Silberadditives die Reaktionsrate signifikant erhöhen. Silber(I)-Kationen weisen eine ausgeprägte Bindungsaffinität gegenüber Chlorid auf und sind in der Lage diese vom Übergangsmetallkatalysator zu abstrahieren. Daher sind diese essenziell für die Katalysatoraktivierung und -regenerierung. Zusätzlich wird in der Literatur die Möglichkeit der Silbersalze in der Funktion als LEWIS-Säure und Oxidationsmittel diskutiert. Als Additiv wird neben Silber(I)carbonat in diversen Publikationen ebenfalls Silberhexafluoroantimonat(V) eingesetzt, da dessen nicht-koordinierendes Anion die Ruthenium-Spezies stabilisieren kann. Jedoch weist dieses sowohl eine ausgeprägte Toxizität als auch Hydrolyseempfindlichkeit auf. Dessen Einsatz wurde daher ausschließlich als Mittel der letzten Wahl in Betracht gezogen.^[376,377]

In Schema 44 wird der mögliche Katalysezyklus der *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung eines Flavons **I** dargestellt. Im initialen Schritt des Katalysezykluses findet die Aktivierung des Präkatalysators Dichloro-(*p*-cymol)-ruthenium(II) Dimer statt. Das Silberadditiv abstrahiert dessen Chlorid-Ionen und generiert dadurch monomere kationische Ruthenium(II)-Spezies, welche zunächst von jeweils zwei Molekülen Trifluoressigsäure stabilisierend koordiniert werden (**A**).^[361] Daraufhin folgt die reversible Koordinierung des kationischen Ru^{II}-Katalysators am Carbonylsauerstoff des Flavonols **II** (**B**). Im Anschluss findet unter Abscheidung eines Moleküls Trifluoressigsäure die elektrophile *ortho*-Metallierung zur Ausbildung des fünfgliedrigen Ruthenacyclen-Intermediates **III** statt. Bei diesem Schlüsselschritt wird die Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindung gebrochen (**C**).^[376] Daraufhin erfolgt mit dem Oxidationsmittel *Selectfluor*[™] die Oxidation des C(sp²)-Ru^{II}-O-Intermediats **III** zum Ruthenium(IV)-Intermediat **IV** und dessen anschließende Koordinierung durch das Lösungsmittelgemisch Trifluoressigsäureanhydrid und Trifluoressigsäure (**D**). Des Weiteren wird die koordinative Insertion des Trifluoressigsäure in die Ruthenium-Kohlenstoff-Bindung^[376] und die abschließende reduktive Eliminierung zum 5-(Trifluoroacetyloxy)flavon **V** unter Regeneration der monomeren Ruthenium(II)-Katalysator Spezies beschrieben (**E**). Der Trifluoressigsäureester des Produkts **V** wird bei der wässrigen Aufarbeitung des Reaktionsansatzes zum 5-Hydroxyflavon **VI** hydrolysiert (**F**).^[361]

Ebenfalls möglich wäre die reduktive Eliminierung des C(sp²)-Ru^{II}-O-Intermediats **III**, welche die Freisetzung des funktionalisierten Produkts **V** und der Ru⁰-Spezies zur Folge hätte, sowie anschließender Regeneration der katalytisch aktiven Ru^{II}-Spezies durch die Oxidation mit dem terminalen Oxidationsmittel möglich.^[374]



Schema 44: Möglicher Katalysezyklus der *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung eines Flavons I mit dem Präkatalysator Dichloro-(*p*-Cymol)-ruthenium(II) Dimer und dem Oxidationsmittel *Selectfluor*TM in einem Lösungsmittelgemisch aus Trifluoressigsäureanhydrid und Trifluoressigsäure. Adaptiert nach KIM *et al.* und ergänzt nach MANIKANDAN *et al.*^[361,376,378,379]

Die erneute Oxidation des 5-(Trifluoracetyloxy)flavons V wird in Folge der Desaktivierung durch den ausgeprägten negativen induktiven Effekt des eingeführten Trifluoracetat-Substituenten verhindert und dadurch selektiv das Produkt der einfachen C-H-Funktionalisierung erhalten.^[363]

Die NMR-spektroskopischen Daten des dargestellten Chlorflavonins stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein (Abbildung 11; Abbildung 12).^[251]

Ergebnisse und Diskussion

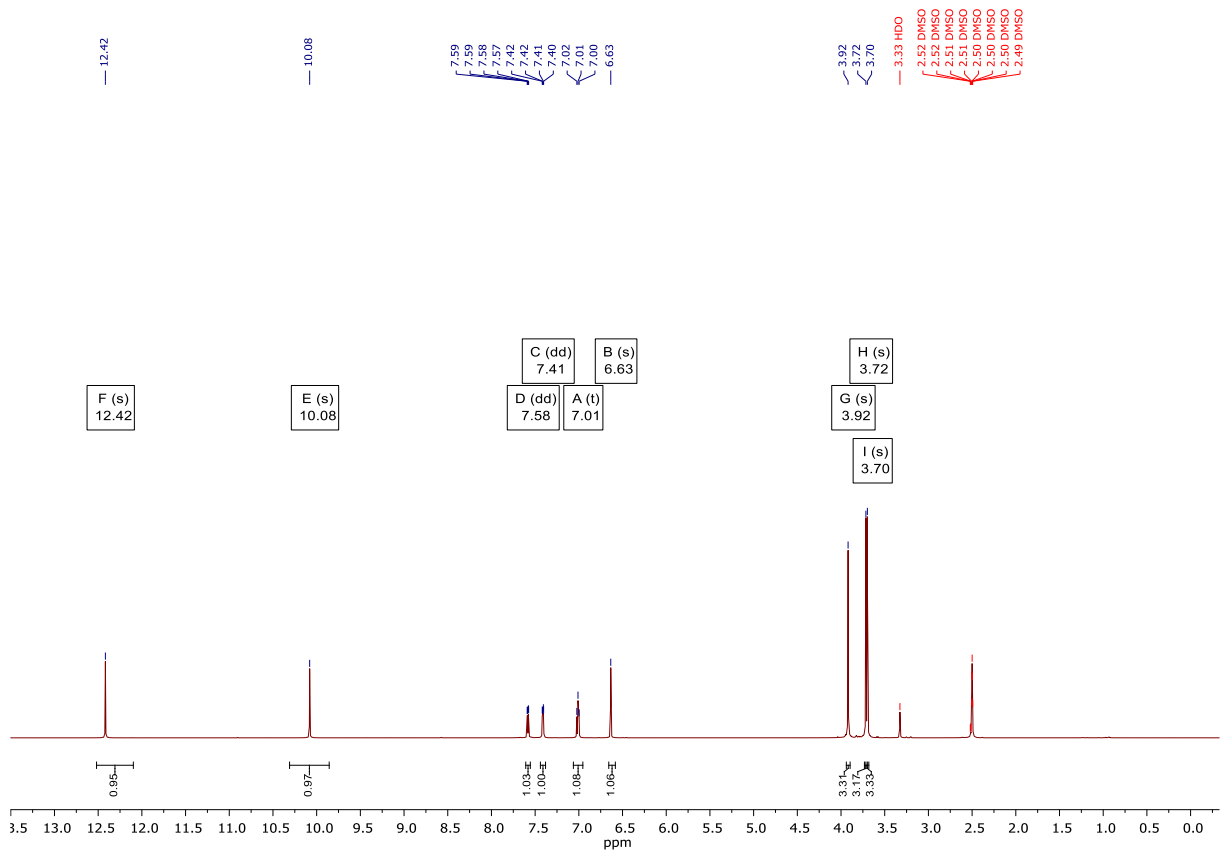


Abbildung 11: ^1H -NMR-Spektrum (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) von Chlorflavonin (1).

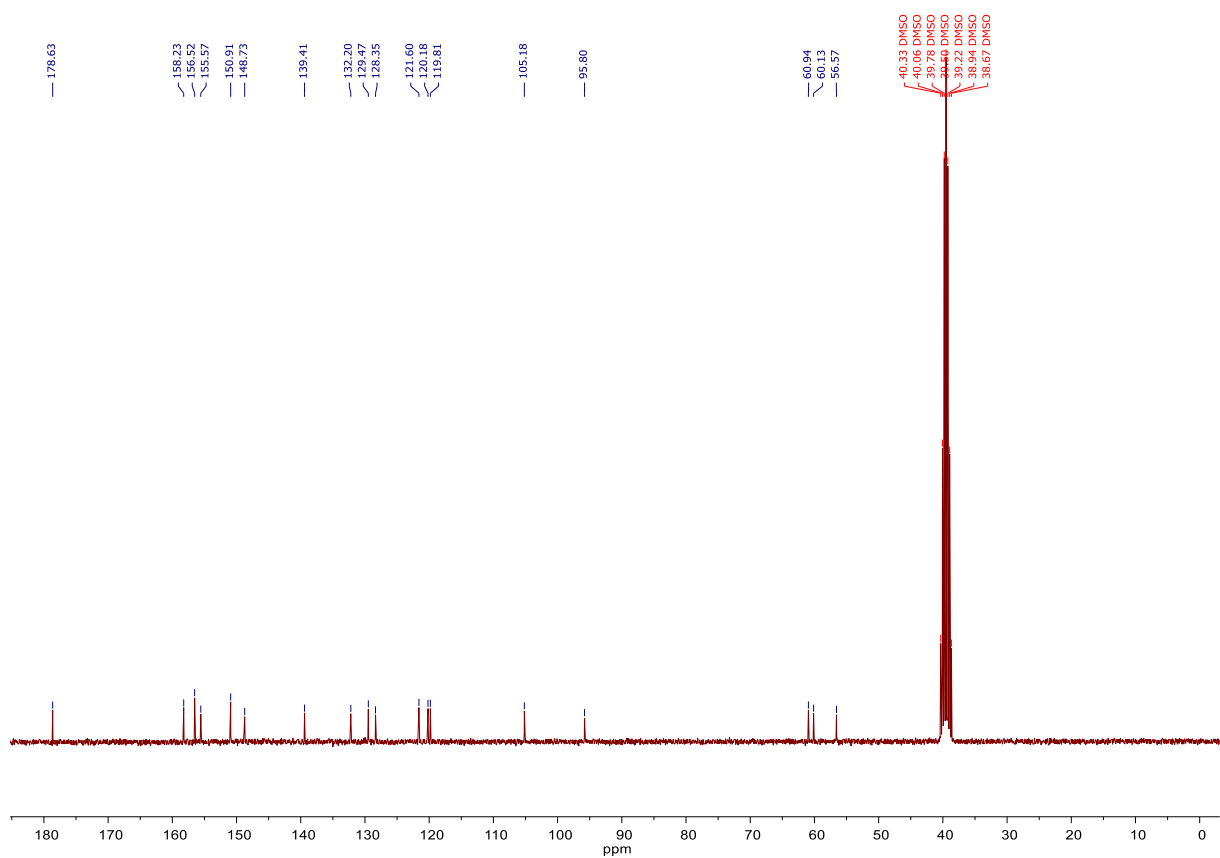


Abbildung 12: ^{13}C -NMR-Spektrum (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) von Chlorflavonin (1).

4.1.5 Untersuchung der Stabilität von Chlorflavonin (1)

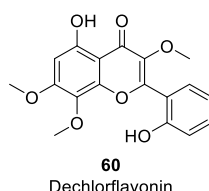
Die Stabilität der Substanz Chlorflavonin (1) wurde in Anlehnung an eine Arbeitsvorschrift von LEVEN *et al.* bei Raumtemperatur (ca. 20 °C) und den pH-Werten 2.0 und 7.4, welche die physiologischen Bedingungen des Magens und Blutkreislaufes simulieren sollten, untersucht.^[380]

Hierzu wurde 0.4 mg Chlorflavonin in 0.25 mL einer Formulierung bestehend aus Polysorbat Tween® 20 und Ethanol (7/3 v/v) gelöst und mit 1.75 mL einer Phosphatpuffer-Lösung des jeweiligen pH-Werts verdünnt. Die Chlorflavonin-Lösung wurde kontinuierlich auf einem Kreisschüttler bei ca. 20 °C geschüttelt und in Zeitabständen von 1, 3, 6, 24 und 48 Stunden mittels HPLC bei einer Absorptionswellenlänge von 254 nm analysiert. Die jeweiligen Phosphatpuffer-Kochsalzlösungen wurden nach den entsprechenden Herstellungsvorschriften des Ph. Eur. 10.1 präpariert.

Bei einer Raumtemperatur (ca. 20 °C) wurde über einen Zeitraum von 48 Stunden bei einem pH-Wert von 7.4 keine Zersetzung beobachtet, der Substanzgehalt betrug weiterhin >99 %. Bei saurem pH-Wert von 2.0 wurde ebenfalls keine Zersetzung beobachtet, der Substanzgehalt betrug weiterhin >99 %. Die Messungen wurden einfach durchgeführt und bei beiden Formulierungen konnte nach etwa 24 h eine sehr schwache Trübung beobachtet werden. Die Substanz ist somit unter den genannten physikalischen Bedingungen als stabil anzusehen, welches eine bedeutungsvolle Eigenschaft eines Wirkstoffkandidaten ist.

4.1.6 Strukturmodifikation von Chlorflavonin (1)

Neben Chlorflavonin (1) konnten REHBERG *et al.* ebenfalls das natürliche Flavonoid Dechlorflavonin (60) aus dem endophytischen Pilz *Mucor irregularis* isolieren (Schema 45).^[251]



Schema 45: LEWIS-Struktur des natürlichen Flavonoids Dechlorflavonin (60).^[251]

Im Gegensatz zu Chlorflavonin wies Dechlorflavonin keine antimykobakterielle *in vitro* Aktivität in zellbasierten Aktivitäts-Assays auf. Zusätzlich konnte im Enzym-Assay durch Dechlorflavonin nahezu keine Inhibition der enzymatischen Aktivität der katalytischen Untereinheit IlvB1 der mykobakteriellen Acetohydroxysäure Synthase gemessen werden. Mit Hilfe des generierten Homologiemodells der katalytischen Untereinheit IlvB1 des *M. tb.* wurde

mit der computergestützten Methode *Molecular Docking* die Enzym-Ligand-Wechselwirkungen vorausgesagt (Kapitel 2.5.2). Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Chlor-Substituent des B-Rings als lipophiler Appendix mit den Aminosäureseitenketten in einer hydrophoben Seitentasche des aktiven Zentrums interagiert. Zudem wird zwischen der phenolischen Hydroxygruppe des B-Rings und Lysin 197 eine Wasserstoffbrückenbindung und Salzbrücke beobachtet. Die Ergebnisse des Homologiemodells weisen darauf hin, dass der Chlor-Substituent des B-Rings für die Enzym-Ligand-Wechselwirkung zwischen der katalytischen Untereinheit IlvB1 mit Chlorflavonin und somit für dessen potente antimykobakterielle *in vitro* Aktivität eine wichtige Rolle spielt.^[251]

4.1.6.1 Die Bindungsrolle von Halogen-Substituenten in der medizinischen Chemie

Halogenalkane sind aufgrund der Eigenschaft von Chlor-, Brom- und Iod-Substituenten als gute Abgangsgruppen chemisch reaktiv und können von den nukleophilen Funktionalitäten der zahlreichen zellulären Makromoleküle substituiert werden. In der Folge kann es bei Wirkstoffkandidaten mit einer Halogenalkan-Einheit zu mangelnder Selektivität sowie ernsten Nebenwirkungen kommen. Bei der Entwicklung von alkylierenden Zytostatika für die Chemotherapie von Tumoren ist dieser Wirkungsmechanismus jedoch eine adäquate Strategie.^[381] Bei den weniger reaktiven Arylhalogeniden ist diese Problemstellung von geringerer Bedeutung. Der Halogen-Substituent übt auf das π -Elektronensystem des Aromaten einen negativen induktiven Effekt aus, welches zu einer Reduktion der Elektronendichte des aromatischen Systems führt.^[85] Dies kann sowohl die Bindungsaffinität des Aromaten zum biologischen Zielmolekül als auch die physikochemischen Eigenschaften weiterer Substituenten beeinflussen.^[85,382]

Die Halogen-Substituenten Chlor, Brom und Iod besitzen einen ausgeprägten hydrophoben Charakter und interagieren bevorzugt mit lipophilen Seitentaschen des biologischen Wirkstoffziels. Der lipophile Charakter von Halogen-Substituenten korreliert mit deren van-der-WAALS-(VdW) Radius und nimmt beginnend mit Fluor (1.47 Å) über Chlor (1.77 Å), Brom (1.92 Å) und Iod (2.06 Å) zu.^[383] Daher ist bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe die Einführung von Halogen-Substituenten in die Leitstruktur eine vielversprechende Methode um deren Lipophilie zu steigern und somit pharmakokinetische Eigenschaften wie die Membranpermeabilität zu variieren.^[384] Aufgrund der ähnlichen sterischen und elektronischen Eigenschaften können Chlor- und Brom-Substituten gemäß dem Prinzip der Bioisosterie gegeneinander ausgetauscht werden.^[385,386]

Arylhalogenide besitzen entlang der Kohlenstoff-Halogen-Bindungsachse eine anisotrope Ladungsverteilung mit einer negativen geladenen Region und einer positiv geladenen Region, dem sogenannten σ -Loch.^[387] Als Folge dieses Phänomens agieren die Halogen-Substituenten Chlor, Brom und Iod als LEWIS-Säuren und können mit LEWIS-Basen wie dem Carbonylsauerstoff des Peptidrückgrats biologischer Zielmoleküle wechselwirken. Die

Halogenbindung ist zumeist in einem Winkelmaß von 180° linear ausgerichtet, deren Bindungsenergie beträgt zwischen 5-18 kJ/mol und nimmt im Allgemeinen von Chlor über Brom bis Iod zu. Zusätzlich konnten weitere stabilisierende Interaktionen zwischen Halogen-Substituenten und biologischen Wirkstoffzielen wie die Ausbildung von schwach ausgeprägten Wasserstoffbrückenbindungen oder orthogonale multipolare Wechselwirkungen beobachtet werden.^[384] Halogen-Substituenten wurden in der Literatur als schwache Wasserstoffbrücken-Akzeptoren beschrieben. Das Vermögen als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren zu fungieren, steigt mit zunehmender Größe und der damit einhergehenden Polarisierbarkeit.^[381] Zusammenfassend ist die Rolle der Halogen-Substituenten aufgrund des lipophilen Charakters, sterischen Anspruchs und weiteren Wechselwirkungen nicht nur für die Enzym-Ligand-Wechselwirkung sondern auch für die Optimierung von pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften bei Leitstrukturen ein wichtiger Ansatzpunkt.^[384]

4.1.6.2 Geplante Strukturmodifikation von Chlorflavonin

Nachdem es gelungen war eine Synthesestrategie für den Naturstoff Chlorflavonin zu entwickeln und diese in Bezug auf deren Gesamtausbeute zu optimieren, sollte diese nun bei der Darstellung von Chlorflavonin-Analoga für die geplante Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und zur Verbesserung der biologischen Aktivität ihre Anwendung finden.

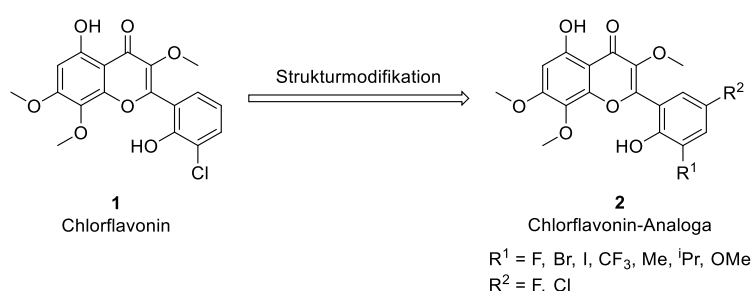
REHBERG *et al.* konnten zeigen, dass der Chlor-Substituent des B-Rings nach der Berechnung des erstellten Homologiemodells mit einer hydrophoben Seitentasche des mutmaßlichen aktiven Zentrums der AHAS wechselwirken könnte und zur potenten antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität des Chlorflavonins beiträgt.^[251] Daher sollte im ersten Schritt zur Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehung der isostere Austausch des Chlor-Substituenten erfolgen. An dieser Position sollten verschiedene Substituenten, welche sich in sterischen und elektronischen Eigenschaften unterscheiden, eingefügt werden. Ziel dieser Strukturmodifikation sollte die Optimierung der Enzym-Ligand-Wechselwirkung und eine damit einhergehende Verbesserung der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität der Leitstruktur sein. Im Weiteren könnten diese Ergebnisse Aufschluss auf das maximale tolerierbare Volumen oder den Einfluss der elektronischen Eigenschaften der Substituenten geben.

Hierfür waren zunächst die weiteren Halogene Fluor, Brom und Iod sowie im späteren Verlauf der Arbeit die mehratomigen Trifluormethyl-, Methyl, Isopropyl-, und Methoxy-Substituenten angedacht.

Ein weiterer Aspekt bei der Strukturmodifikation von Chlorflavonin könnte in der Rolle der phenolischen Hydroxygruppe des B-Rings für die Enzym-Ligand-Wechselwirkungen liegen. Mit der Einführung eines zusätzlichen Substituenten in *para*-Position, mit einem starken negativen induktiven Effekt, könnte deren Acidität erhöht werden und zu einer ausgeprägteren

elektrostatischen Wechselwirkung der Salzbrücke und Wasserstoffbrückenbindung mit Lysin 197 des aktiven Zentrums führen.^[382,388]

Hierfür eignet sich aufgrund der sehr hohen Elektronegativität und einem im Vergleich zum Wasserstoff ähnlichen VdW-Radius ein Fluor-Substituent.^[389] Zusätzlich könnte in dieser Position auch ein Chlor-Substituent eingefügt werden, welcher ebenfalls einen negativen induktiven Effekt ausübt, jedoch einen ausgeprägteren lipophilen Charakter aufweist. Dadurch könnte sowohl die Lipophilie der Leitstruktur für eine eventuell verbesserte Membranpermeabilität als auch die Interaktion mit den lipophilen Aminosäuren Alanin 593, Alanin 592, Methionin 512 und Valin 513, welche mit der Rückseite des B-Rings interagieren, erhöht werden (Schema 46).



Schema 46: Geplante Strukturmodifikation von Chlorflavonin (1) zur Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und Optimierung der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität.

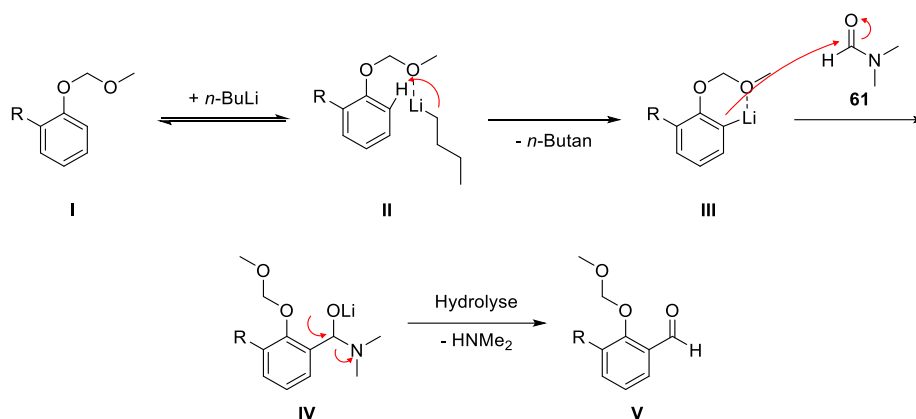
4.1.6.3 Darstellung der Chlorflavonin-Analoga

In 3-Position substituierte Salicylaldehyde können über zahlreiche verfügbare Methoden wie der REIMER-TIEMANN-, VILSMEIER-HAACK-, GATTERMANN-KOCH- und GATTERMANN-Reaktion aus den entsprechenden in 2-Position substituierten Phenolen hergestellt werden.^[285]

Jedoch zeichnen sich einige dieser Methoden durch harsche Reaktionsbedingungen, Einsatz toxischer Reagenzien wie beispielsweise Kohlenstoffmonoxid oder Cyanwasserstoff sowie einer niedrigen Regioselektivität und einem damit einhergehenden aufwendigen Trennungsprozess aus.^[390,391]

Eine elegante Methode zur regioselektiven Darstellung von in 3-Position substituierten Salicylaldehyden ermöglicht die dirigierende *ortho*-Metallierung (DoM) von MOM-geschützten Phenolen I. Bei der DoM kann die Problemstellung der regioselektiven Reaktionsführung der klassischen elektrophilen aromatischen Substitution durch die Anwesenheit einer starken *ortho*-dirigierenden Gruppe (DMG) weitgehend vermieden werden. Die DMGs sind Heteroatom-haltige Substituenten aromatischer Systeme, welche als LEWIS-Base fungieren und Lithium-Kationen von lithiumorganischen Verbindungen koordinieren können. Zu Beginn der Reaktion erfolgt die reversible Koordinierung des *n*-Butyllithiums an die MOM-

Schutzgruppe und es entsteht das LEWIS-Säure-Base-Addukt **II**.^[392] Als Folge der Koordinierung der sehr starken Alkylolithium-Base kommt es zur substantziellen Absenkung der Aktivierungsenergie und zur selektiven Deprotonierung des Aromaten in *ortho*-Position zur DMG.^[392,393] Die entstandene stark basische Aryllithium-Verbindung **III** kann mit zahlreichen Elektrophilen,^[392] wie zum Beispiel *N,N*-Dimethylformamid (**61**), abgefangen werden. Abschließend wird das gebildete Halbaminol **IV** durch die wässrige Aufarbeitung hydrolysiert und der MOM-geschützte Salicylaldehyd **V** freigesetzt (Schema 47).^[394]

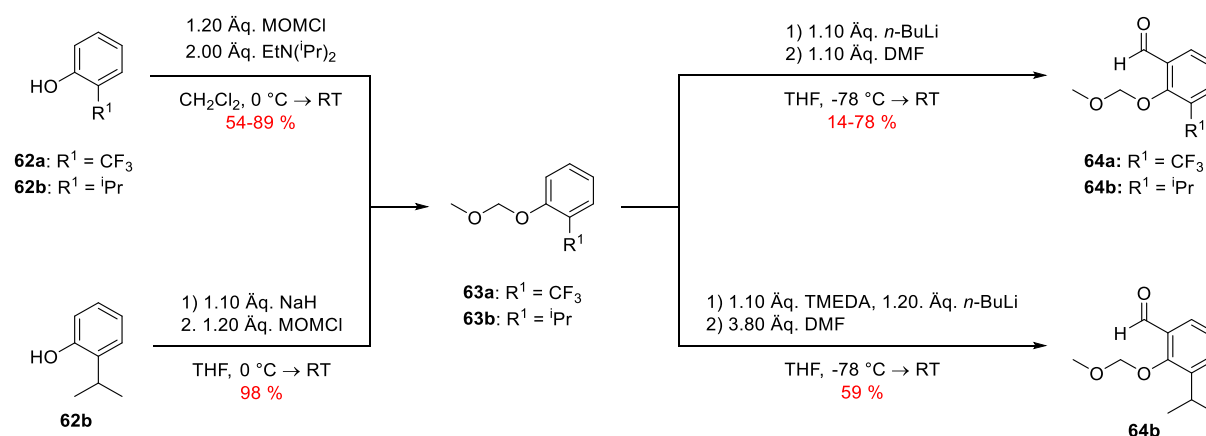


Schema 47: Möglicher Reaktionsmechanismus der DoM von MOM-geschützten Phenolen **I** zur Darstellung von Salicylaldehyd-Derivaten **V**. Adaptiert nach CLARK *et al.* und SNIIECKUS.^[392,394]

Zu den Eigenschaften einer optimalen DMG gehört das Vorhandensein einer guten Koordinationsstelle für die Lithium-Kationen und ein möglichst schwach ausgeprägter elektrophiler Charakter, um den nucleophilen Angriff des Alkylolithium-Reagenzes als Konkurrenzreaktion zu vermeiden. In der Folge von induktiven und sterischen Effekten beeinflusst die DMG die Aggregation und Komplexierung des Alkylolithium-Reagenzes und dadurch den Verlauf der DoM. Bei der Anwesenheit zweier DMGs liegt eine intramolekulare Konkurrenz für die Regioselektivität der DoM vor. Basierend auf empirischen Beobachtungen wurden zahlreiche funktionelle Gruppen nach der Stärke des dirigierenden Effekts in Tabellenwerken zusammengefasst und können in den entsprechenden Publikation nachgeschlagen werden. Die MOM-Schutzgruppe übt einen sehr starken dirigierenden Effekt aus und ist daher ausgesprochen gut geeignet für die regioselektive Darstellung von substituierten Salicylaldehyd-Derivaten mit Hilfe der DoM.^[392,395–397]

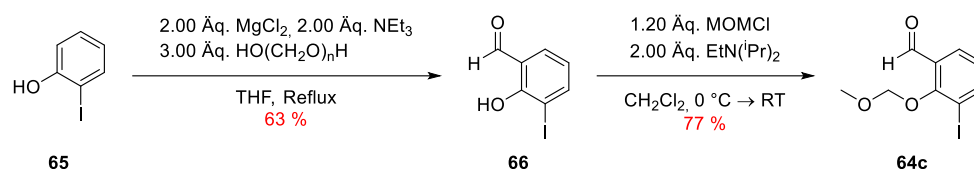
Für die Strukturmodifikation von Chlorflavonin wurden die erforderlichen in 3-Position substituierten Salicylaldehyde, sofern nicht kommerziell erhältlich, mittels dirigierender *ortho*-Metallierung (DoM) dargestellt. Die Einführung der MOM-Schutzgruppe an die phenolische Hydroxygruppe des 2-Isopropylphenols (**62b**) mit DIPEA als Base verlief unvollständig und nach 24 Stunden konnte bei der DC weiterhin die ausgeprägte Bande des Edukts beobachtet

werden. Nach der säulenchromatographischen Reinigung konnte das MOM-geschützte Produkt **63b** mit einer moderaten Ausbeute von 54 % erhalten werden und das nicht umgesetzte Edukt zurückgewonnen werden. Der geringe Reaktionsumsatz könnte auf die sterische Abschirmung der phenolischen Hydroxygruppe durch den benachbarten Isopropyl-Substituenten und dem Einsatz einer sterisch anspruchsvollen Base zurückzuführen sein. In einem zweiten Versuch wurde daher die deutlich stärkere und weniger sterisch anspruchsvolle Base Natriumhydrid in Tetrahydrofuran als Lösungsmittel eingesetzt. Die veränderte Reaktionsführung resultierte in einem vollständigen Reaktionsumsatz nach acht Stunden und das MOM-geschützte Produkt **63b** konnte mit einer exzellenten Ausbeute von 98 % erhalten werden. Die anschließende DoM des MOM-geschützten Phenols **63b** mit *n*-Butyllithium in Tetrahydrofuran verlief langsam und unvollständig, der MOM-geschützte Salicylaldehyd **64b** konnte nur mit einer mäßigen Ausbeute von 14 % erhalten werden. Eine mögliche Ursache für dieses Ergebnis könnte in dem natürlichen Verhalten von Alkyllithium-Spezies liegen, da diese mit Kohlenwasserstoffen und in Kohlenwasserstoff-Lösungsmitteln zur Ausbildung von wenig reaktiven hexameren Aggregaten neigen.^[392,397] Die Verwendung des basischen Lösungsmittels Tetrahydrofuran führt in der Folge einer Säure-Base-Reaktion zur Koordinierung des *n*-Butyllithiums und somit zur Solvatisierung der Aggregate. In Tetrahydrofuran liegt *n*-Butyllithium in einem Gleichgewicht von reaktiveren dimeren und tetrameren Aggregaten. Durch den weiteren Zusatz stöchiometrischer Mengen zweiwertiger Liganden wie *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin (TMEDA) kann die verstärkte Dissoziation der Aggregate und somit die Basizität der Alkyllithium-Spezies signifikant gesteigert werden.^[392] In einem zweiten Versuch wurde daher die DoM des MOM-geschützten Phenols **63b** mit dem Zusatz von 1.1 Äquivalenten TMEDA, welches in einer signifikanten Steigerung des Reaktionsumsatzes und der isolierten Ausbeute (59 %) resultierte, durchgeführt (Schema 48).



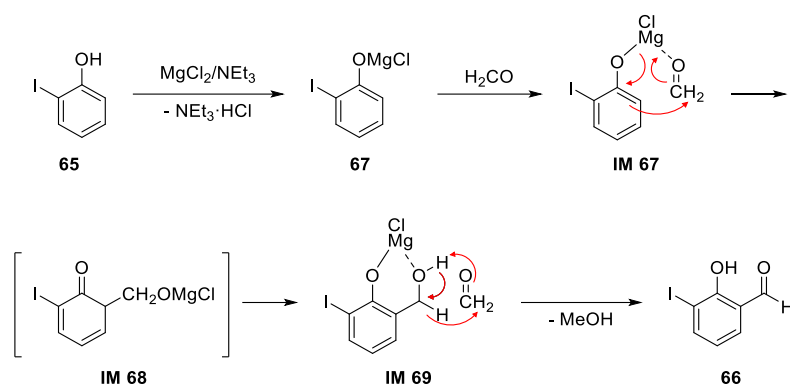
Schema 48: Darstellung MOM-geschützter Salicylaldehyde **64a-b** über die DoM von in 2-Position substituiertes MOM-geschützter Phenole **63a-b**.

Die Darstellung des 3-Iodsalicylaldehyds (**66**) ausgehend von dem kommerziell erhältlichen 2-Iodphenol (**65**) über die DoM ist aufgrund des zu erwartenden Lithium-Halogen-Austauschs als bevorzugte Konkurrenzreaktion keine Möglichkeit.^[398] Eine Alternative für die Synthese des 3-Iodsalicylaldehyds (**66**) bietet die von BRADY *et al.* beschriebene regioselektive *ortho*-Formylierung des 2-Iodphenols (**65**) mit Magnesiumchlorid, Triethylamin und Paraformaldehyd.^[399] Nach wässriger Aufarbeitung sowie säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel konnte 3-Iodsalicylaldehyd (**66**) als mäßig verunreinigte Substanz erhalten werden. Durch die nachfolgende Umkristallisation aus *n*-Hexan konnte das Produkt in analytisch reiner Form isoliert werden. Im Anschluss erfolgte über die Standardprozedur die Einführung der MOM-Schutzgruppe an die freie phenolische Hydroxygruppe zur Darstellung des MOM-geschützten 3-Iodsalicylaldehyd **64c** mit einer guten Ausbeute (Schema 49).



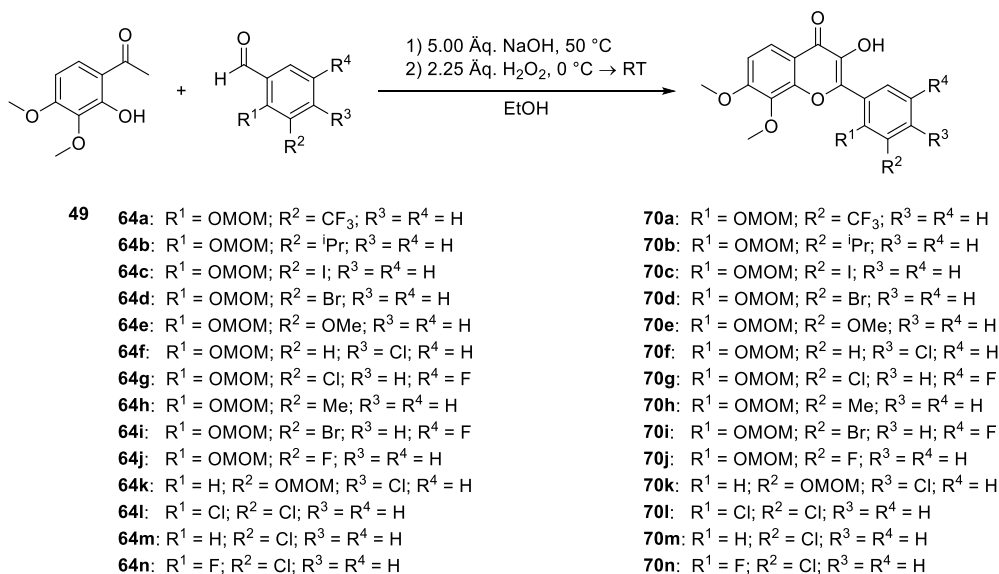
Schema 49: Regioselektive *ortho*-Formylierung des 2-Iodphenols (**65**) nach einer Arbeitsvorschrift von BRADY *et al.* und anschließende Umsetzung zum MOM-geschützten 3-Iodsalicylaldehyd **64c**.^[399]

Die regioselektive *ortho*-Formylierung von 2-Iodphenol (**65**) wird mittels Deprotonierung der aciden phenolischen Hydroxygruppe durch den Basenzusatz und der darauffolgenden Koordinierung des Magnesiumchlorids an das Phenolat initiiert. Im Weiteren findet die Komplexbildung zwischen dem Carbonylsauerstoffs des Formaldehyds, welches durch die temperaturabhängige Depolymerisation des Paraformaldehyds freigesetzt wird, und dem Phenolat-Magnesium-Addukt **66** statt. Daraufhin findet der nucleophile Angriff des elektronenreichen aromatischen π -Elektronensystems am aktivierten Carbonylkohlenstoff des Formaldehyds unter Ausbildung des Cyclohexadienon-Intermediat **IM 68** statt. Dieses reagiert weiter zum primären Produkt, dem Magnesiumsalz des Salicylalkohol **IM 69**. Bei der nachfolgenden Redoxreaktion zwischen dem Salicylalkohol **IM 69** und einem weiteren Molekül Formaldehyd kommt es zur Bildung des Salicylaldehyds **65** und Methanol. Die Regioselektivität bei dieser Reaktion wird durch die Komplexbildung des Phenolats und des Formaldehyds am divalenten Magnesium-Kation erzielt (Schema 50).^[400]



Schema 50: Möglicher Reaktionsmechanismus der regioselektiven *ortho*-Formylierung von 2-Iodphenol (**65**) mit Magnesiumchlorid und Paraformaldehyd. Adaptiert nach HOFSLØKKEN *et al.*^[401]

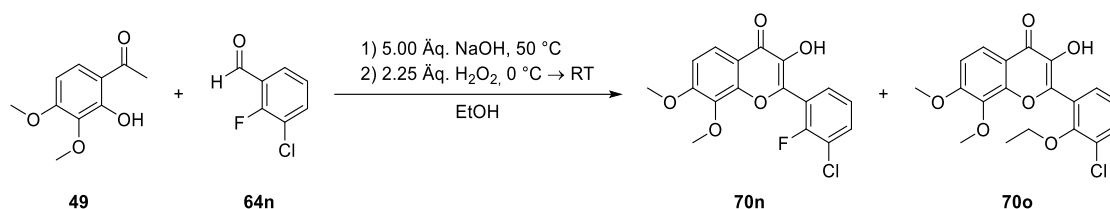
Die dargestellten MOM-geschützten Aldehyde **64a-c** sowie die kommerziell erhältlichen Aldehyde **64d-n** wurden im Anschluss mit 2'-Hydroxyacetophenon **49** in der basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation mit anschließender AFO-Reaktion im optimierten sequenziellen Eintopfverfahren zu den Flavonolen **70a-n** umgesetzt. Diese konnte nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel in mäßigen bis moderaten Ausbeuten, teilweise im Multigramm-Maßstab, erhalten werden (Schema 51).



Schema 51: Darstellung der Flavonole **70a-n**.

Bei der Umsetzung von 3-Chlor-2-fluorbenzaldehyd (**64n**) im sequenziellen Eintopfverfahren wurde ein Produktgemisch zweier Substanzen erhalten, welche aufgrund von nahezu identischer Retentionsfaktoren nicht mittels säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel getrennt werden konnten. Ebenfalls konnte das Produktgemisch nicht mittels Umkristallisation aus diversen Lösungsmitteln und Lösungsmittelgemischen wie Ethanol, *n*-Hexan/Essigsäureethylester oder *n*-Hexan/Chloroform separiert werden. Im ¹H-NMR-Spektrum des Produktgemischs konnte ein Triplett bei der chemischen Verschiebung von

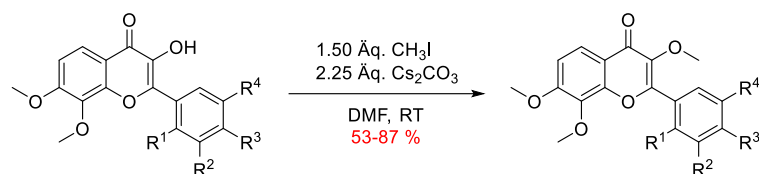
1.11 ppm mit dem Integral von drei Wasserstoffprotonen und ein Quartett bei 4.00 ppm mit einem Integral von zwei Wasserstoffprotonen beobachtet werden. Dies weist darauf hin, dass bei der Reaktion neben dem Fluor-substituierten Flavonol **70n** auch das Ethoxy-Derivat **70o** durch die nucleophile aromatische Substitution des Fluor-Substituenten durch Ethanolat gebildet wurde (Schema 52).



Schema 52: Das erhaltene Produktgemisch **70n-o** bei der basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation mit anschließender AFO-Reaktion von **49** mit **64n** im sequenziellen Eintopfverfahren in Ethanol.

Da das Produktgemisch weder durch die säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel noch mittels Umkristallisation getrennt werden konnte, wurde dieser Reaktionsansatz verworfen. Die Entstehung des Ethoxy-Flavonols **70o** könnte möglicherweise durch den Einsatz einer sterisch anspruchsvollen Base in einem aprotischen Lösungsmittel weitgehend unterdrückt werden. Da bei den weiteren Fluor-substituierten Aldehyden **64m**, **64i** und **64k** die nucleophile aromatische Substitution des Fluors als Nebenreaktion während der basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation mit anschließender AFO-Reaktion im sequenziellen Eintopfverfahren nicht beobachtet werden konnte, wurden die Reaktionsbedingungen jedoch nicht verändert.

Im Anschluss erfolgte die Methylierung der Flavonole **70a-m** mit dem Methylierungsreagenz Methyljodid und Cäsiumcarbonat als Base in *N,N*-Dimethylformamid mit guten bis sehr guten Ausbeuten. Bei der Darstellung des 3-Methoxyflavons **71j** lag die isolierte Ausbeute mit 53 % unterhalb des Durchschnitts, welches vermutlich auf Verunreinigung des Edukts aus dem vorherigen Schritt zurückzuführen war (Schema 53).

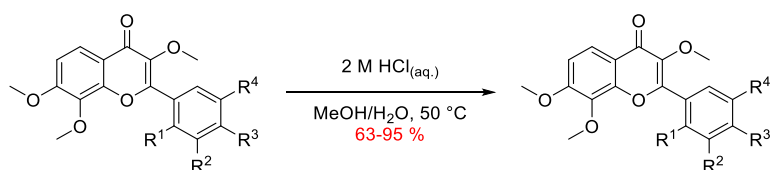


70a: R¹ = OMOM; R² = CF₃; R³ = R⁴ = H
70b: R¹ = OMOM; R² = ⁱPr; R³ = R⁴ = H
70c: R¹ = OMOM; R² = I; R³ = R⁴ = H
70d: R¹ = OMOM; R² = Br; R³ = R⁴ = H
70e: R¹ = OMOM; R² = OMe; R³ = R⁴ = H
70f: R¹ = OMOM; R² = H; R³ = Cl; R⁴ = H
70g: R¹ = OMOM; R² = Cl; R³ = H; R⁴ = F
70h: R¹ = OMOM; R² = Me; R³ = R⁴ = H
70i: R¹ = OMOM; R² = Br; R³ = H; R⁴ = F
70j: R¹ = OMOM; R² = F; R³ = R⁴ = H
70k: R¹ = H; R² = OMOM; R³ = Cl; R⁴ = H
70l: R¹ = Cl; R² = Cl; R³ = R⁴ = H
70m: R¹ = H; R² = Cl; R³ = R⁴ = H

71a: R¹ = OMOM; R² = CF₃; R³ = R⁴ = H
71b: R¹ = OMOM; R² = ⁱPr; R³ = R⁴ = H
71c: R¹ = OMOM; R² = I; R³ = R⁴ = H
71d: R¹ = OMOM; R² = Br; R³ = R⁴ = H
71e: R¹ = OMOM; R² = OMe; R³ = R⁴ = H
71f: R¹ = OMOM; R² = H; R³ = Cl; R⁴ = H
71g: R¹ = OMOM; R² = Cl; R³ = H; R⁴ = F
71h: R¹ = OMOM; R² = Me; R³ = R⁴ = H
71i: R¹ = OMOM; R² = Br; R³ = H; R⁴ = F
71j: R¹ = OMOM; R² = F; R³ = R⁴ = H
71k: R¹ = H; R² = OMOM; R³ = Cl; R⁴ = H
71l: R¹ = Cl; R² = Cl; R³ = R⁴ = H
71m: R¹ = H; R² = Cl; R³ = R⁴ = H

Schema 53: Darstellung der 3-Methoxyflavone **71a-m**.

Anschließend erfolgte die Acidolyse der MOM-Schutzgruppe der 3-Methoxyflavone **71a-k** mit 2 m Salzsäure-Lösung in Methanol bei einer Temperatur von 50 °C (Schema 54). Im Verlaufe der Reaktionen präzipitierten die Reaktionsprodukte als zumeist gelbe, amorphe Feststoffe. Der Umsatz der Reaktion wurde mittels DC fortlaufend verfolgt und nachdem die Ausgangssubstanz nicht mehr beobachtet werden konnte wurde der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur abkühlen gelassen. Die Suspension wurde durch die Zugabe von eiskaltem destilliertem Wasser verdünnt, über Nacht bei 7 °C stehen gelassen und die ausgefallenen Reaktionsprodukte **72a-k** abfiltriert. Die Produkte wurde wiederholt mit eiskaltem destilliertem Wasser gewaschen und unter Hochvakuum bei Raumtemperatur vollständig getrocknet.



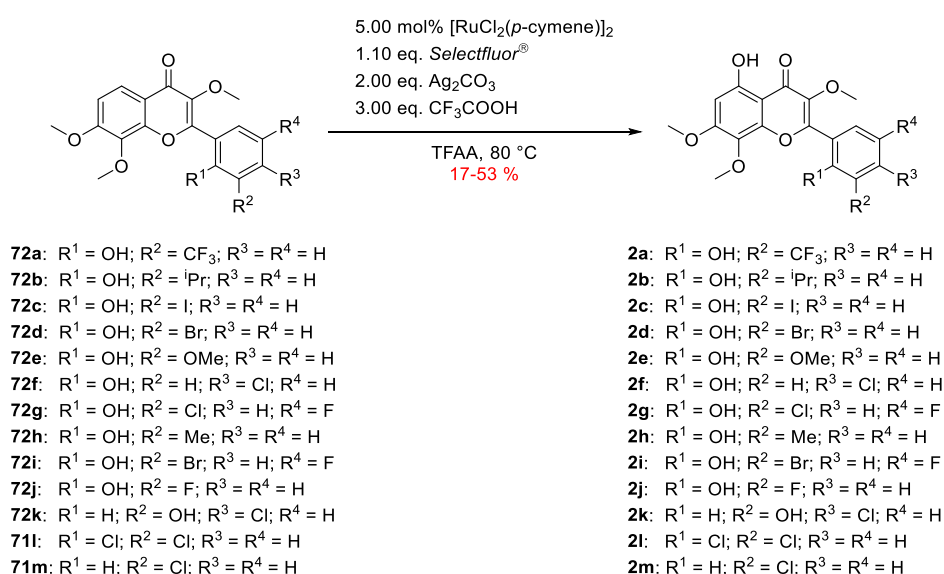
71a: R¹ = OMOM; R² = CF₃; R³ = R⁴ = H
71b: R¹ = OMOM; R² = ⁱPr; R³ = R⁴ = H
71c: R¹ = OMOM; R² = I; R³ = R⁴ = H
71d: R¹ = OMOM; R² = Br; R³ = R⁴ = H
71e: R¹ = OMOM; R² = OMe; R³ = R⁴ = H
71f: R¹ = OMOM; R² = H; R³ = Cl; R⁴ = H
71g: R¹ = OMOM; R² = Cl; R³ = H; R⁴ = F
71h: R¹ = OMOM; R² = Me; R³ = R⁴ = H
71i: R¹ = OMOM; R² = Br; R³ = H; R⁴ = F
71j: R¹ = OMOM; R² = F; R³ = R⁴ = H
71k: R¹ = H; R² = OMOM; R³ = Cl; R⁴ = H

72a: R¹ = OH; R² = CF₃; R³ = R⁴ = H
72b: R¹ = OH; R² = ⁱPr; R³ = R⁴ = H
72c: R¹ = OH; R² = I; R³ = R⁴ = H
72d: R¹ = OH; R² = Br; R³ = R⁴ = H
72e: R¹ = OH; R² = OMe; R³ = R⁴ = H
72f: R¹ = OH; R² = H; R³ = Cl; R⁴ = H
72g: R¹ = OH; R² = Cl; R³ = H; R⁴ = F
72h: R¹ = OH; R² = Me; R³ = R⁴ = H
72i: R¹ = OH; R² = Br; R³ = H; R⁴ = F
72j: R¹ = OH; R² = F; R³ = R⁴ = H
72k: R¹ = H; R² = OH; R³ = Cl; R⁴ = H

Schema 54: Acidolyse der MOM-entschützten Flavone **71a-k**.

Im letzten Schritt dieser Synthesestrategie wurde die Ruthenium-katalysierte *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung der 3-Methoxyflavone **71l-m/72a-k** unter den zuvor optimierten Reaktionsbedingungen aus Kapitel 4.1.4 durchgeführt (Schema 55). Der Ruthenium-

Katalysator wurde über *Celite*[®] abfiltriert, das Rohprodukt mittels säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel vorgereinigt und nach anschließender Umkristallisation aus Methanol konnten die Chlorflavonin-Analoga **2a-m** erhalten werden. Der Reinheitsgrad der Chlorflavonin-Analoga **2a-m** wurde mittels HPLC bestimmt und erfüllte den Anforderungen für die geplanten biologischen Untersuchungen von >95.0 %. Ausgenommen hiervon ist das Isopropyl-Analogon **2b**, welches mit einem Reinheitsgrad von 91.0 % erhalten werden konnte. Weder durch wiederholte Umkristallisation aus diversen Lösungsmitteln (Methanol, Ethanol, *n*-Hexan/Ethanol, *n*-Hexan/Essigsäureethylester) noch mittels Umkehrphasenchromatographie an C-18 Säulenmaterial konnte eine Verbesserung des Reinheitsgrads erreicht werden.



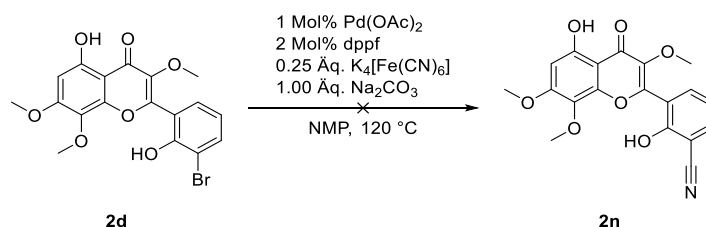
Schema 55: Darstellung der Chlorflavonin-Analoga **2a-m**.

Der isostere Austausch von funktionellen Gruppen einer Leitstruktur ist eine der fundamentalen Methoden in der Entwicklung neuer Wirkstoffkandidaten.^[402] Mit Hilfe des isosteren Austauschs können die physikochemischen Parameter wie räumliche Anordnung, Größe, Polarisierbarkeit, Ladungsverteilung und Lipophilie der Leitstruktur rational verändert werden um Einfluss auf deren Potenz, Selektivität oder pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften zu nehmen.^[382,403] In der Literatur wird zwischen den klassischen Isosteren und den nicht-klassischen Isosteren unterschieden. Als klassische Isostere werden einfache Strukturelemente bestehend aus ein bis drei Atomen, funktionellen Gruppen oder Ringen mit ähnlichem sterischem und elektronischem Anspruch bezeichnet. Dahingegen umfasst das Prinzip der nicht-klassischen Isosteren ebenfalls funktionelle Gruppen, welche sich elektronisch oder sterisch voneinander unterscheiden, jedoch ähnliche physikochemischen Eigenschaften aufweisen.^[85,403] Das Prinzip der Bioisosterie umfasst

Substituenten sowie funktionelle Gruppen der klassischen und nicht-klassischen Isostere mit vergleichbarer biologischer Aktivität.^[85]

In der Literatur wird die Cyanogruppe als nicht-klassisches Isoster der aromatischen Chlor-, Brom- und Iod-Substituenten beschrieben.^[404] Die Cyanogruppe imitiert die Polarisation der aromatischen Halogen-Substituenten, wohingegen diese jedoch kleiner als Brom- und Iod-Substituenten ist.^[405] In diversen präklinischen Strukturoptimierungen führte der Austausch von aromatischen Halogen-Substituenten durch die Cyanogruppe zu einer Verbesserung der pharmakokinetischen Eigenschaften der Aufnahme, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung (ADME) und biologischen Aktivität der Leitstruktur.^[402,405,406] Bei der Entwicklung von Fadrozol Hydrochlorid, (Afema[®] Fa. Novartis) eines der ersten nicht-steroidalen Aromatase-Inhibitoren zur Behandlung von östrogenabhängigen Erkrankungen wie Brustkrebs, führte der bioisostere Austausch des Brom-Substituenten durch die Cyanogruppe zu einer verbesserten inhibitorischen Aktivität.^[405,407] Im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung kann der bioisostere Austausch eines Brom-Substituenten durch die Cyanogruppe für die Optimierung der physikochemischen und pharmakokinetischen Eigenschaften eingesetzt werden.^[402] Zudem konnte mittels Kristallstrukturanalyse gezeigt werden, dass die aromatische Cyanogruppe einer Leitstruktur die hydrophobe Seitentasche des biologischen Rezeptors adressieren konnte.^[406] Bei der ADME-dirigierten Entwicklung eines nicht-nukleosidischen Reverse-Transkriptase-Inhibitors der neuen Generation führte der bioisostere Austausch von zwei Arylchloriden durch die Cyanogruppe zu einer signifikanten Reduktion der Lipophilie und verbesserten Halbwertszeit in humanen Lebermikrosomen.^[405,408] Im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung von Chlorflavonin wurde daher der bioisostere Austausch des Halogen-Substituenten des B-Rings durch die Cyanogruppe angestrebt. Eine Möglichkeit zur Darstellung aromatischer Nitrile bietet die ROSENMUND-von BRAUN-Reaktion bei der Arylhalogenide mit Kupfer(I)-cyanid umgesetzt werden. Diese erfordert jedoch harsche Reaktionsbedingungen und findet daher nur im begrenzten Umfang Anwendung in der Modifikation von komplexen Leitstrukturen.^[409,410] In den vergangenen Jahrzehnten wurden modernere Methoden der Übergangsmetall-katalysierten Cyanierung von Arylhalogeniden publiziert.^[409] Ausgehend von dem Brom-Analogon **2d** könnte mittels Palladium-katalysierter Cyanierung versucht werden das Nitril-Analogon **2n** herzustellen. Ein problematischer Aspekt bei der Cyanierung ist die Wahl der Cyanidquelle. Die gängigen Alkalicyanide, Zinkcyanid oder Trimethylsilylcyanid sind entweder hoch toxisch oder äußerst effektive Katalysatorgifte. SCHAREINA *et al.* publizierten ein Verfahren zur Cyanierung von Arylbromiden mit wasserfreiem Kaliumhexacyanidoferrat(II) als Cyanidquelle, dem Katalysator Palladium(II)-acetat, 1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen (dppf) als Chelatligand und wasserfreiem Natriumcarbonat in absolutem 1-Methylpyrrolidin-2-on (NMP) (Schema 56). Ab

einer Temperatur von 120 °C kommt es in NMP zur langsamen Freisetzung der Cyanid-Ionen des Kaliumhexacyanidoferrats(II), sodass die Vergiftung des Katalysators vermieden werden kann.^[411] Das wasserfreie Kaliumhexacyanidoferrat(II) wurde mittels Trocknung von fein gemahlenem Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat bei 80 °C unter Hochvakuum für 24 Stunden erhalten. Die Reaktion wurde unter Verwendung der SCHLENK-Technik bei striktem Ausschluss von Feuchtigkeit und Luftsauerstoff unter Argon-Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Bei den fortlaufenden Reaktionskontrollen mittels DC konnte die zunehmende Zersetzung des Startmaterials beobachtet werden. Nach 24 Stunden wurde die Reaktion abgebrochen, wässrig aufgearbeitet und das Rohprodukt mittels APCI-MS analysiert. Jedoch konnte kein Masse-zu-Ladungs-Verhältnis des angestrebten Nitril-Analogons **2n** beobachtet werden und der Ansatz wurde verworfen. Aufgrund der fortgeschrittenen Zeit konnte dieses Projekt nicht weiterverfolgt werden.



Schema 56: Versuchte Darstellung des Nitril-Analogons **2n** in Anlehnung an die Literaturvorschrift von SCHAREINA *et al.*^[411]

4.1.7 Bestimmung der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten der Chlorflavonin-Analoga

Alle der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Chlorflavonin-Analoga wurden von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. RAINER KALSCHUEER an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf am Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv untersucht.

Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen der dargestellten Chlorflavonin-Analoga wurde mit einem Mikrobouillonverdünnungs-Assay (engl.: *microbroth dilution assays*) entsprechend der *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) Richtlinien von ANNA-LENE KIFFE-DELF M. Sc. durchgeführt.^[412] Die zweifache Reihenverdünnung der Substanzen wurden in einer sterilen 96-Kavitäten U-Boden Polystyrolplatte ausgehend von einer Konzentration von 100 µM im Wachstumsmedium vorbereitet. Eine Zellsuspension mit 10⁶ CFU/mL wurde präpariert und davon jeweils 50 µL in jede Kavität hinzugefügt. DMSO wurde als Wachstumskontrolle hinzugegeben und RIF wurde als positive Kontrolle eingesetzt. Nach fünf Tagen Inkubation, wurden 10 µL von einer 100 µg/mL Resazurin-Lösung in jede Kavität hinzugegeben und vorsichtig vermischt. Die Platten wurden für weitere 24 Stunden bei

Raumtemperatur inkubiert und durch die Zugabe von 100 μL einer 10%igen wässrigen Formaldehyd-Lösung pro Kavität inaktiviert. Nach 30 Minuten Inkubation mit der Formaldehyd-Lösung, wurde das Wachstum mit einem Plattenausleser (Fa. *TECAN*) bei einer Anregungswellenlänge von 535 nm und einer Emissionswellenlänge bei 590 nm quantifiziert. Das relative Wachstum wurde in Bezug auf die Wachstumskontrolle berechnet. Die Experimente wurden jeweils dreifach durchgeführt.

Das Resazurin ist ein nicht-fluoreszierender Redoxindikator der frei durch die mykobakterielle Zellmembran diffundieren kann.^[413] In der Zelle wird dieser durch NAD(P)H-abhängige Oxidoreduktasen des Mitochondriums und Cytosols zum fluoreszierenden Resorufin reduziert. Somit erfolgt dieser Prozess ausschließlich in Mykobakterien mit aktivem Metabolismus. Mit der darauffolgenden Bestimmung der Fluoreszenzemission des Resorufins kann die Zellviabilität ermittelt werden (Abbildung 13).^[414]

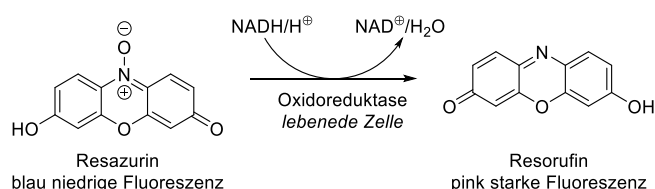
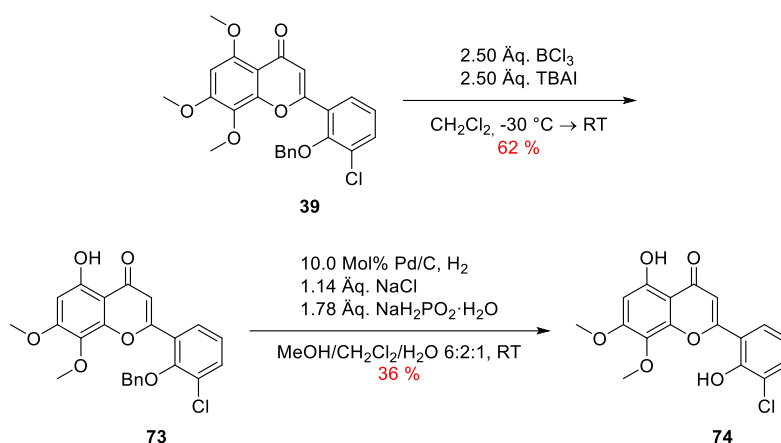


Abbildung 13: Prinzip des zellulären NAD(P)H-abhängigen Resazurin Oxidoreduktase Assays zur Bestimmung der Zellviabilität. Adaptiert nach RISS *et al.*^[413]

4.1.8 Antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der dargestellten Chlorflavonin-Analoga

Die Identifizierung und Entwicklung des Pharmakophormodells ist eine bewährte Strategie in der präklinischen Wirkstoffentwicklung und dient der Erstellung einer dreidimensionalen Anordnung von funktionellen Gruppen, welche für die biologische Aktivität einer Leitstruktur wichtig sind. Hierfür ist die Darstellung von zahlreichen strukturell diversen Analoga der Leitstruktur in verschiedenen iterativen Optimierungszyklen sowie die anschließende Auswertung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen erforderlich.^[384]

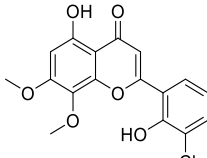
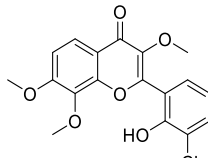
Das im Kapitel 4.1.3 dargestellte Flavon **39** wurde eingesetzt, um den Einfluss des 3'-Methoxy-Substituenten auf die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur zu untersuchen. Zunächst wurde **39** mit Bortrichlorid und TBAI zum 5-Hydroxyflavon **73** umgesetzt. Im Anschluss wurde dessen Benzylether-Schutzgruppe mittels Palladium-katalysierter Hydrogenolyse entfernt, um das Flavon **74** zugänglich zu machen. Um die in der Literatur beschriebene Dehydrohalogenierung während der Hydrogenolyse zu reduzieren wurde diese im leicht aciden Medium und in der Anwesenheit einer Chlorid-Quelle durchgeführt (Schema 57).^[415]



Schema 57: Darstellung des Flavons **74**.

Bei den nachfolgenden Untersuchungen der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten zeigte sich, dass beide Analoga signifikant reduzierte Aktivitäten aufwiesen. Jedoch wurde das Fehlen des 3'-Methoxy-Substituenten am C-Ring des Wirkstoffs **74** deutlich besser toleriert als der Wegfall der phenolischen Hydroxygruppe am A-Ring des Analogons **53** (Tabelle 11).

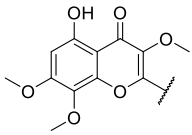
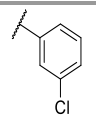
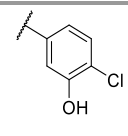
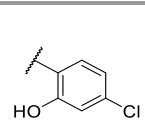
Tabelle 11: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der dargestellten Chlorflavonin-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

LEWIS-Struktur	 74	 53
MHK₉₀ [µM]	6.25	25
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 µM		

Die biologischen Testungen der Regioisomere des Chlorflavonins **2f/k** ergab, dass das natürliche Substitutionsmuster des B-Rings mit den 2-Hydroxy-3-Chlor-Substituenten für die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur wichtig ist. Zudem ist die Anwesenheit der phenolischen Hydroxygruppe im Analogon **2m**, voraussichtlich in deren Rolle als Wasserstoffbrückenbindung-Donor und acide Funktionalität, aufgrund der Befähigung zur Ausbildung von Salzbrücken, für die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität von großer Bedeutung. Basierend auf diesen Resultaten und gestützt vom erstellten Homologiemodell der berechneten möglichen Enzym-Ligand-Wechselwirkungen zwischen Chlorflavonin und der mykobakteriellen AHAS kann daraus geschlossen werden, dass nach bisherigem

Kenntnisstand die Substituenten in 2- und 3-Position für die Interaktion mit den Strukturelementen des angenommenen aktiven Zentrums bevorzugt sind (Tabelle 12).

Tabelle 12: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK_{90}) der dargestellten Chlorflavonin-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

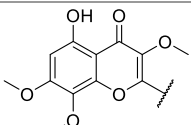
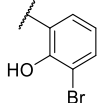
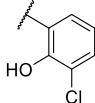
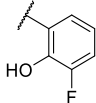
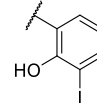
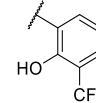
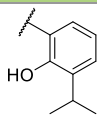
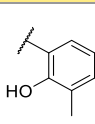
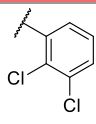
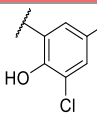
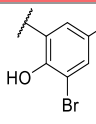
			
LEWIS-Struktur	 2m	 2k	 2f
MHK_{90} [μM]	100	100	100
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM			

Als Folge dieser Ergebnisse wurde bei der weiteren Strukturmodifikation das natürliche Substitutionsmuster beibehalten. Bei der Variation des Chlor-Substituenten führte der bioisostere Austausch zum lipophileren und voluminöseren Brom-Analogon **2d** ($MHK_{90} = 0.78 \mu M$) zu einer Verbesserung der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität. Dahingegen konnten beim kleineren, härter polarisierten Fluor-Derivat **2j** sowie dem voluminöseren Iod-Analogon **2c** jeweils der Verlust der biologischen Aktivität ($MHK_{90} = >100 \mu M$) im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay beobachtet werden. Die verbesserte antimykobakterielle *in vitro* Aktivität des Brom-Analogons **2d** könnte die Folge einer gesteigerten Interaktion des Brom-Substituenten mit der im Homologiemodell vorausgesagten hydrophoben Seitentasche des aktiven Zentrums der AHAS sein. Im Gegensatz dazu könnte der Fluor-Substituent diese nicht ausfüllen und der Iod-Substituent aufgrund dessen VdW-Radius beziehungsweise Volumen bereits zu groß sein, somit könnten bei beiden Analoga wichtige Komponenten der Enzym-Ligand-Wechselwirkung wegfallen. Im Weiteren führten die Substituenten Trifluormethyl (**2a**), Isopropyl (**2b**) und Methyl (**2h**) in 3-Position des B-Rings zum Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität der Analoga im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay. Mit einem VdW-Radius von 2.00 \AA ist der Methyl-Substituent in dessen sterischem Anspruch vergleichbar mit dem Brom-Substituenten (1.92 \AA).^[416] Daher könnte der Verlust der biologischen Aktivität auf die elektronischen Eigenschaften der Substituenten zurückzuführen sein. Die Halogen-Substituenten weisen in Abhängigkeit von deren Elektronegativität einen unterschiedlich stark ausgeprägten negativen induktiven Effekt auf, welcher zu einer Reduktion der Elektronendichte im aromatischen System führt, wohingegen der Alkyl-Substituent einen schwach ausgeprägten positiven induktiven Effekt aufweist.

Der Trifluormethyl-Substituent ist mit einem VdW-Radius von 2.7 Å ähnlich groß wie der Isopropyl-Substituent. Beide weisen jedoch signifikant unterschiedliche Volumina auf (CF_3 : 42.5 Å³; ⁱPr: 56.2 Å³), welche auf die unterschiedlichen Geometrien der Substituenten zurückzuführen sind.^[417] Die Trifluormethyl-Gruppe verhält sich als harte Kugel, welche um die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungsachse symmetrisch ist.^[418]

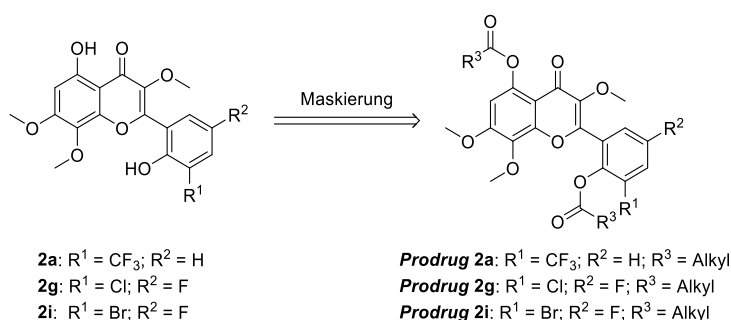
Die Einführung des Fluor-Substituenten in 5-Position des B-Rings führte beim Chlor-**2g** und Brom-Analogon **2i** zu einem Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität. Als Gründe hierfür könnte sterische oder elektronische Abstoßung des Fluor-Substituenten gegenüber dem Wirkstoffziel sein. Eine weitere Möglichkeit läge im Verhalten der Analoga im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay. Aufgrund des negativen induktiven Effekts des Fluor-Substituenten ist anzunehmen, dass der pK_S-Wert der phenolischen Hydroxygruppe signifikant erhöht ist. In der Folge könnten die Chlorflavonin-Analoga aufgrund des pH-Werts von 6.6 ± 0.2 im eingesetzten Zellmedium (Middlebrook 7H9 Bouillon Basis) überwiegend dissoziiert als Phenolate vorliegen.^[419] Dies kann zu einer Reduktion der Permeabilität durch die mykobakterielle Zellwand der Chlorflavonin-Analoga **2g/i** führen und die Wirkstoffkonzentration in den Mykobakterien signifikant reduzieren (Tabelle 13).

Tabelle 13: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der dargestellten Chlorflavonin-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

					
LEWIS-Struktur	 2d	 1	 2j	 2c	 2a
MHK₉₀ [μM]	0.78	1.56	100	100	100
LEWIS-Struktur	 2b	 2h	 2l	 2g	 2i
MHK₉₀ [μM]	100	100	100	100	100
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM					

Bei den biologischen Evaluationen der Chlorflavonin-Analoga **2a-m** im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay gilt zu beachten, dass die Reduktion oder der Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität das Resultat verschiedener Faktoren wie eine verringerte Membranpermeabilität, zunehmende Metabolisierung durch verschiedene Enzyme der

Mykobakterien oder reduzierte Wechselwirkung mit dem aktiven Zentrum der katalytischen Untereinheit IlvB1 der AHAS sein kann. Deshalb sollten die dargestellten Chlorflavonin-Analoga auf deren inhibitorische Aktivität gegenüber der katalytischen Untereinheit IlvB1 der AHAS des *M. tb.* in einem Enzymaktivitäts-Assay untersucht werden. Mit den daraus erzielten Daten können Rückschlüsse erhalten werden, ob die Reduktion oder der jeweilige Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität der Chlorflavonin-Analoga auf Effekte im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay oder auf eine reduzierte Inhibition der katalytischen Untereinheit IlvB1 der mykobakteriellen AHAS zurückzuführen sind. Im Falle einer weiterhin vorhanden inhibitorischen Aktivität gegenüber der katalytischen Untereinheit IlvB1, könnten die fluorierten Chlorflavonin-Analoga **2a/g/i** in Phenolester-*Prodrugs* umgewandelt werden. Dadurch könnten spezifische physikochemische Eigenschaften, wie die erhöhte Acidität der phenolischen Hydroxygruppe des B-Rings und die dadurch zunehmende Dissoziation, als Ester-Funktionalität maskiert werden. In Folge der erhöhten Lipophilie könnten die *Prodrugs* besser durch die mykobakterielle Zellwand permeieren, im Organismus mittels Esterasen bioaktiviert werden und der freie Wirkstoff die enzymatische Aktivität der AHAS inhibieren (Schema 58).

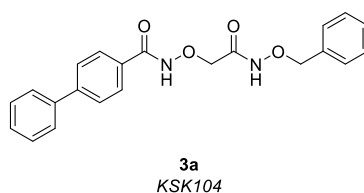


Schema 58: Mögliche Maskierung der *O-H*-aciden phenolischen Hydroxygruppen der fluorierten Analoga **2a/g/i** mittels Acylierung zu einem lipophilen, nicht dissoziierbaren Phenolester-*Prodrug*.

4.2 Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur *KSK104* (**3a**)

4.2.1 Antimykobakterielle Eigenschaften der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur *KSK104* (**3a**)

Die interne Bibliothek synthetischer, chemisch und strukturell diverser Verbindungen der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. THOMAS KURZ wurde in der Arbeitsgruppe unseres Kooperationspartners Prof. Dr. RAINER KALSCHEUER an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf am Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv untersucht. Bei dem phänotypischen Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay konnte eine Verbindungsklasse aus der Promotionsarbeit von Frau Dr. KATHARINA STENZEL identifiziert werden, welche eine ausgeprägte antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv aufwies. Besonders *KSK104* (**3a**) erreichte mit einer beachtlichen minimalen Hemmkonzentration, bei der das mykobakterielle Wachstum um 90 % reduziert wird (MHK₉₀), von 0.096 µM die Aufmerksamkeit (Schema 59). Somit weist *KSK104* (**3a**) gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv eine potentere antimykobakterielle *in vitro* Aktivität als das etablierte Antituberkulotikum RIF (MHK₉₀ = 0.19 µM) auf.^[420]



Schema 59: LEWIS-Struktur von *KSK104* (**3a**).^[420]

Bei den nachfolgenden Untersuchungen konnte selbst in den höchsten getesteten Konzentrationen von 100 µM kein zytotoxischer Effekt von *KSK104* gegenüber den humanen Zelllinien THP1, MRC-5 und HepG2 beobachtet werden. Somit konnte bei *KSK104* ein exzellenter Selektivitätsindex [$IC_{50}(\text{Zytotoxizität})/\text{MHK}_{90}(\text{M. tb.}-\text{H37Rv})$] von SI >100 ermittelt werden. *KSK104* übt in den ersten zehn Tagen einen starken bakteriziden Effekt aus und führt zu einer 2.5-log Reduktion der Lebensfähigkeit der Mykobakterien. Im Anschluss konnte keine Wiederaufnahme des Wachstums beobachtet werden und die Anzahl der Mykobakterien verhielt sich statisch. In Kombination mit INH, RIF, EMB und DMD konnten additive Effekte bei der Reduktion der mykobakteriellen Lebensfähigkeit bis hin zum Detektionsminimum (10² CFU/mL) beobachtet werden. Im Weiteren konnte bei der Behandlung mehrerer klinischer XDR-*M. tb.* Isolate (KwaZulu-Natal, Südafrika) mit *KSK104* ein stark ausgeprägter wachstumshemmender Effekt bei niedrigen mikromolaren Konzentrationen beobachtet werden. Zusätzlich ist *KSK104* in der Lage sowohl das Wachstum der Mykobakterien in den infizierten humanen Makrophagen THP-1 signifikant zu verlangsamen als auch die bakterielle

Last deutlich zu reduzieren. In diesen Experimenten war *KSK104*, selbst bei niedrigeren Konzentrationen, bedeutend wirksamer als RIF und Streptomycin.

Dahingegen konnte bei den eng verwandten Mykobakterien *M. bovis* BCG, *M. smegmatis*, *M. marinum* und *M. abscessus* sowie diversen nosokomialen Pathogenen *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* keine antimykobakterielle *in vitro* Aktivität beobachtet werden. Zudem wurde keine antibakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber diversen anderen Gram-positiven und -negativen Bakterien beobachtet, somit weist der Wirkstoff *KSK104* eine hohe Selektivität gegenüber *M. tb.* auf.

Im gelierten Nährmedium konnten gegenüber dem Wirkstoff *KSK104* spontan resistente *M. tb.*-Mutanten mit einer niedrigen Frequenz von ungefähr 10^{-8} CFU erhalten werden. Diese resultierte in einer ausgeprägten Resistenz gegenüber *KSK104* mit einer 32-fachen Verschiebung der MHK_{90} . Mit Hilfe der Gesamtgenomsequenzierung von fünf unabhängigen, spontan *KSK104*-resistenten *M. tb.*-Mutanten konnten verschiedene Einzelnukleotid-Polymorphismen im Gen *Rv0552*, welche sowohl zum Austausch von Aminosäuren als auch zur Leserasterverschiebung führen können, festgestellt werden. Das Gen *Rv0552* codiert ein Protein dessen Funktion bislang nicht bekannt ist. Basierend auf dessen Aminosäuresequenz wurde eine Amidohydrolase-Aktivität prognostiziert. Diese Proteinfamilie wird mit der enzymatisch katalysierten Hydrolyse von Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen, weniger mit der von Peptidbindungen, assoziiert.^[421] Daher ist anzunehmen, dass die Mutationen im Gen *Rv0552* zur Ausbildung des resistenten Phänotyps von *M. tb.* führen. Mit Hilfe von genetischen Experimenten konnte gezeigt werden, dass das Gen *Rv0552* nicht-essenziell für das *in vitro* Wachstum des *M. tb.* ist.^[422] Daher sind die antimykobakteriellen Eigenschaften der Leitstruktur *KSK104* wahrscheinlich nicht die Folge der direkten Inhibition der hypothetischen Amidohydrolase.

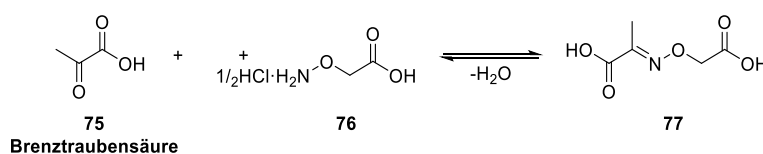
Basierend auf diesen Ergebnissen formulierte die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. RAINER KALSCHEUER zwei potenzielle Wirkungsmechanismen, welche die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität von *KSK104* erklären können. Erstens, bei *KSK104* handelt es sich um die aktive Wirkform und die natürliche Amidohydrolase des Gens *Rv0522* kann diese nicht metabolisieren. Als Folge der Mutationen verändert sich die Substratspezifität des Enzyms, welches anschließend in der Lage ist den Wirkstoff mittels Hydrolyse zu inaktivieren. Zweitens, *KSK104* fungiert als *Prodrug*, welches durch die intrazelluläre Hydrolyse von einer oder beiden Alkoxyamid-Funktionalitäten durch die Amidohydrolase in die aktive Wirkform überführt wird. Die Mutationen im Gen *Rv0522* führen zu einer modifizierten Substratspezifität und

infolgedessen kann das Enzym die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur *KSK104* nicht mehr in die aktive Wirkform überführen.

Damit ist *KSK104* aufgrund der sehr guten antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv und einigen XDR-TB klinischen Isolaten sowie der intrazellulären antimykobakteriellen Aktivität in infizierten humanen Makrophagen eine vielversprechende neue Leitstruktur für die Entwicklung einer neuartigen Antituberkulotikum-Klasse zur Ergänzung der Chemotherapie bei MDR- und XDR-TB. Weitere vorteilhafte Eigenschaften liegen in der nicht beobachtbaren Zytotoxizität gegenüber diversen humanen Zelllinien selbst in hohen Konzentrationen, einer niedrigen Resistenzfrequenz und der Einhaltung aller der von LIPINSKI aufgestellten Bedingungen der *Rule of Five*. So beträgt das Molekulargewicht von *KSK104* 376.41 g/mol. Im Weiteren verfügt *KSK104* über vier Wasserstoffbrücken-Akzeptoren und zwei Wasserstoffbrücken-Donoren. Der mit Hilfe des freizugänglichen Web-Services *SwissADME* berechnete *n*-Octanol/Wasser Verteilungskoeffizient ($\log P_{OW}$) (iLOGP) liegt bei 2.31.^[279,280]

4.2.1.1 Kenntnisstand der antimykobakteriellen Eigenschaften von α -Aminooxycarbonsäure-Derivaten

Bereits in den 1940er Jahren wurde bei hohen Konzentrationen die bakteriostatische Wirkung von (Aminoxy)essigsäure Hemihydrochlorid (**76**) gegenüber zahlreichen Gram-positiven und -negativen Bakterien, einschließlich *M. tb.*, beschrieben. Damals wurde vermutet, dass **76** ein metabolischer Inhibitor sein könnte, welcher intrazellulär mit α -Ketocarbonsäuren, wie dem Schlüsselintermediat des zellulären Metabolismus Brenztraubensäure, zum Ketoxim **77** kondensiert (Schema 60).^[423]

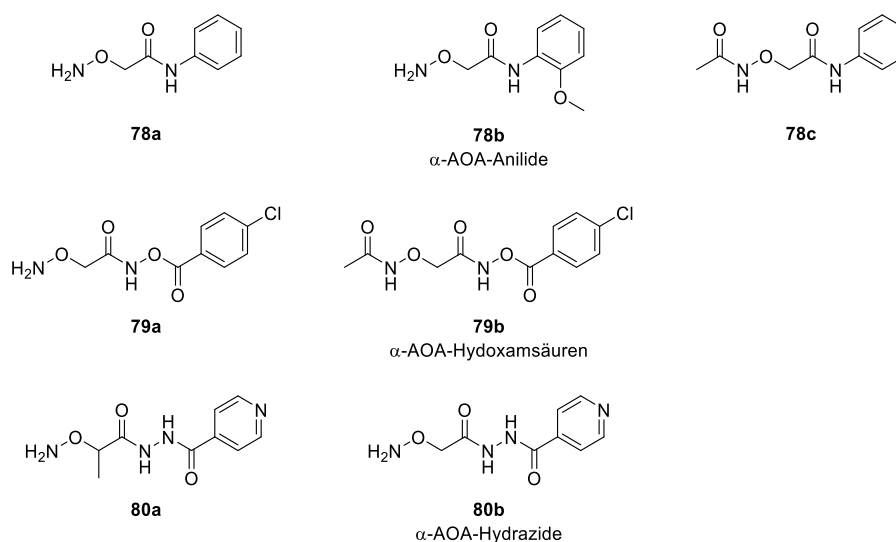


Schema 60: Im Jahr 1948 postulierter Wirkungsmechanismus der antibakteriellen Aktivität von (Aminoxy)essigsäure Hemihydrochlorid (**76**) gegenüber zahlreichen Gram-positiven und -negativen Bakterien. Adaptiert nach FAVOUR *et al.*^[423]

Im Jahr 1960 beschrieben McHALE *et al.* die Darstellung und die schwach ausgeprägten antibakteriellen Eigenschaften von α -Aminooxycarbonsäuren (α -AOA) und α -AOA-Hydraziden, wobei sich die organischen Reste auf aliphatische Kohlenstoffketten (C₂-C₁₈) begrenzten.^[424] Nachfolgend beschrieben TESTA *et al.* die Synthese von α -AOA als Analoga der natürlichen α -Aminosäuren, welche wachstumshemmende Eigenschaften

gegenüber *M. tb.*, jedoch nicht bei anderen Bakterien aufwiesen ohne dabei auf einen Wirkungsmechanismus oder -ziel der entsprechenden Substanzgruppen zu verweisen.^[425]

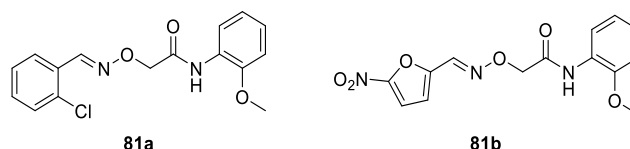
Aufbauend auf diesen Publikationen dokumentierten KISFALUDY *et al.* die Darstellung und antimykobakteriellen Eigenschaften von nahezu hundert sowohl optisch aktiven als auch inaktiven α -AOA-Hydrazid-, α -AOA-Anilid- und α -AOA-Hydroxamsäure-Derivaten. Dabei wies die aktivste Substanz **80b**, eine Chimäre bestehend aus INH und (Aminoxy)essigsäure, *in vitro* eine Wachstumsinhibition von 0.07 μ g/mL (0.33 μ M) auf. Im Weiteren wurde die Substanz **80b** in einem dreimonatigen Infektionsmodell bei Meerschweinchen sowie weißen Mäusen erprobt. Dabei inhibierte die Substanz in einem dreimonatigen Experiment die Etablierung einer *M. tb.* Infektion. Zusätzlich konnte in einem Akutexperiment nur eine geringe Toxizität festgestellt werden (Schema 61).^[423]



Schema 61: Ausgewählte Vertreter der α -AOA-Amide **78a-c**, α -AOA-Hydroxamsäuren **79a-b** und α -AOA-Hydrazide **80a-b** von KISFALUDY *et al.* dargestellten Substanzen mit antimykobakterieller Aktivität.^[423]

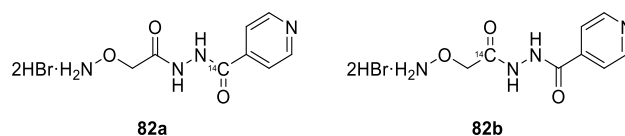
In einer im Jahr 1971 offengelegten Patentvorschrift meldeten KISFALUDY *et al.* die Darstellung von zahlreichen α -AOA-Hydroxamsäure-Derivaten, deren Salze und optisch aktiven Isomere mit sowohl antimykobakterielle *in vitro* als auch *in vivo* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv an.^[426]

Nachfolgend, wurde im Jahr 1974 eine weitere Patentschrift und im Jahr 1979 deren Berichtigung zur Synthese von Aldoximen und Ketoximen substituierter α -AOA-Anilid-Derivate sowie die Beschreibung derer antimykobakteriellen Eigenschaften gegenüber *M. tb.*, *M. tb.*-Streptomycin-resistent, *M. tb.*-INH-resistent und *M. kansasii* offengelegt (Schema 62).^[427]



Schema 62: Ausgewählte Substanzen der Aldoxim- und Ketoxim-substituierten α -AOA-Anilid-Derivaten aus der Patentschrift von KISFALUDY *et al.*^[427]

In einer weiteren Publikation aus dem Jahr 1977 verweisen KOLTAI und KISFALUDY *et al.* auf die antimykobakterielle *in vitro* sowie *in vivo* Aktivitäten des *N*-(2-(Aminooxy)acetyl)isonicotinohydrazid Dihydrobromids (**80b**) und beschreiben die Darstellung von zwei ¹⁴C-markierten Isotopomeren **82a-b** für geplante pharmakokinetische und metabolische Untersuchungen (Schema 63).^[428]

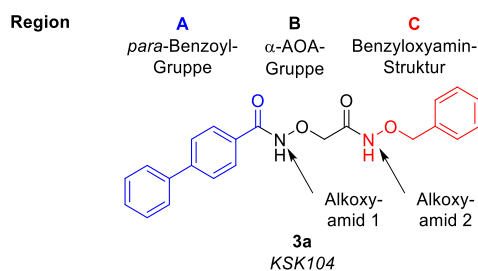


Schema 63: Die ¹⁴C-markierten Isotopomere des *N*-(2-(Aminooxy)acetyl)isonicotinohydrazid Dihydrobromids (**82a-b**) für die pharmakokinetischen und metabolischen Studien. Adaptiert nach KOLTAI und KISFALUDY *et al.*^[428]

Trotz intensiver Literaturrecherche konnten die Ergebnisse dieser Studien nicht ermittelt werden und die Spur dieser Substanzgruppe als potenzielle antimykobakterielle Wirkstoffklasse verlor sich. Zudem wurden für die Substanzgruppen der α -AOA-Hydrazid-, α -AOA-Anilid-, α -AOA-Hydroxamsäure-Derivate weder ein möglicher Wirkungsmechanismus noch eine potentielle biomolekulare Zielstruktur diskutiert oder diese mit Hilfe von biologischen Untersuchungen belegt.^[423,426,427]

4.2.1.2 Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur KSK104 (**3a**)

Im Rahmen der Evaluation der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und für die anstehende präklinische Strukturoptimierung wurde die Leitstruktur KSK104 (**3a**) in die drei Regionen A, B und C unterteilt. Die Regionen A und C setzten sich aus der lipophilen *para*-Phenylbenzoyl-Gruppe (Region A) und dem Benzyloxyamin-Strukturelement (Region C), welche durch die kurze verbrückende Einheit der Region B miteinander verbunden sind, zusammen. Daher kann die Leitstruktur als *para*-Phenylbenzoyl-Derivat des 2-(Aminooxy)-*N*-(benzyloxy)acetamids angesehen werden. Für eine vereinfachte Differenzierung der beiden Alkoxyamide werden diese mit 1 und 2 gekennzeichnet (Schema 64).

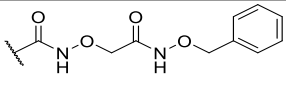
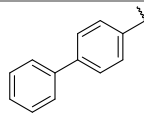
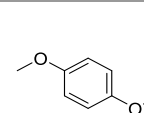
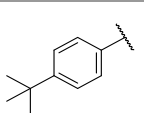
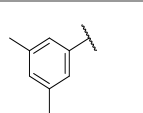
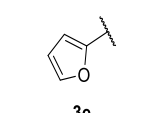
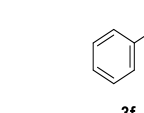
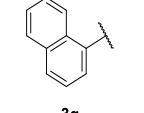
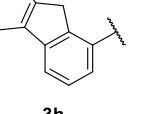


Schema 64: Einteilung der LEWIS-Struktur der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur *KSK104* (**3a**) in die drei Regionen A (blau), B (schwarz) und C (rot).

Zunächst sollte die Strukturmodifikation der Alkoxyamid-Funktionalitäten 1 und 2 in Angriff genommen werden und diese durch verschiedene funktionelle Gruppen ausgetauscht werden, um Rückschlüsse auf deren mögliche Bindungsrolle bei einer Wechselwirkung mit der mykobakteriellen molekularen Zielstruktur zu erhalten. Die freien Elektronenpaare des Carbonyl- und *N*-Alkylsauerstoffs können als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren fungieren, wohingegen der Alkoxyamid-Stickstoff sowohl mit dessen Proton als Wasserstoffbrücken-Donor als auch mit dem freien Elektronenpaar als schwacher Wasserstoffbrücken-Akzeptor mit dem Wirkstoffziel interagieren könnte. In der Literatur wurde beschrieben, dass die Anwesenheit des *N*-Alkoxy-Strukturelements zu einer zusätzlichen Polarisierung der Stickstoff-Wasserstoff-Bindung des Amids führen kann. Dies kann die Erhöhung der *N-H*-Acidität und eine mögliche Verbesserung der Eigenschaft als Wasserstoffbrücken-Donor bewirken.^[422]

Im Rahmen der Promotion von Frau Dr. KATHARINA STENZEL wurden weitere *KSK104*-Analoge dargestellt, welche ebenfalls auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten gegenüber *M. tb.* untersucht wurden. Die Analyse der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen weist darauf hin, dass für die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität in der Region A eine *para*-substituierte Benzoyl-Gruppe (**3a-c**) bevorzugt ist. Dahingegen kann beim Furan-Analogon **3e**, einem nicht-substituierten Benzoyl- **3f** und 3,5-Dimethylbenzoyl-Analogon **3d** oder anellierten Aromaten (**3g-h**) in der Region A eine drastische Reduktion bis hin zum vollständigen Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität beobachtet werden (Tabelle 14).

Tabelle 14: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der von Frau Dr. KATHARINA STENZEL dargestellten Alkoxyamid-basierten Verbindungen **3a-h**.

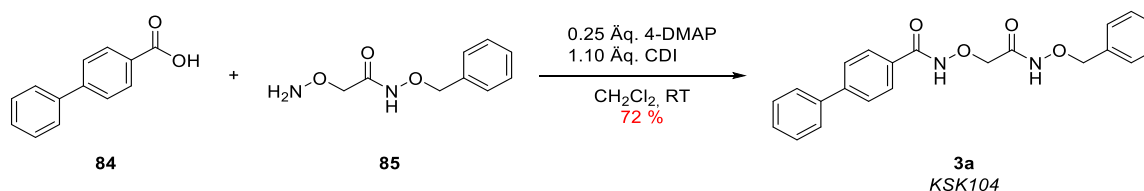
				
LEWIS-Struktur	 3a	 3b	 3c	 3d
MHK₉₀ [μM]	0.096	0.78	0.78	6.25
LEWIS-Struktur	 3e	 3f	 3g	 3h
MHK₉₀ [μM]	12.5	25	100	100

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde zur Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zunächst die Derivatisierung der beiden Alkoxyamide **1** und **2** und im Anschluss die Derivatisierung des Benzyloxyamin-Strukturelements der Region C vorgenommen.

4.2.2 Strukturmodifikation der Alkoxyamid-Funktionalitäten **1** und **2**

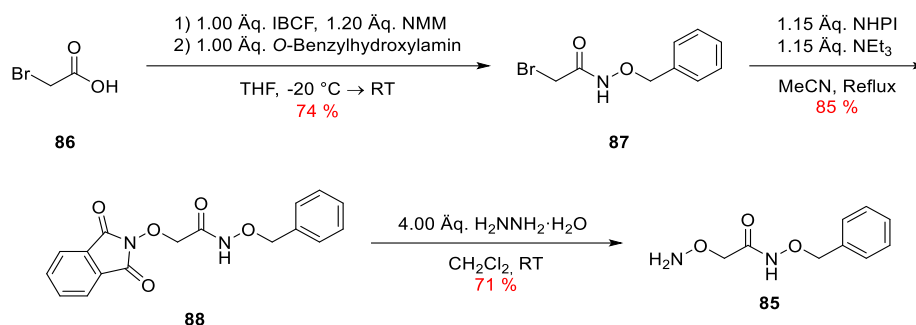
4.2.2.1 Vorarbeiten

Im Rahmen Ihrer Dissertation stellte Frau Dr. KATHARINA STENZEL die Verbindung *KSK104* (**3a**) über die Aktivierung der 4-Biphenylcarbonsäure (**84**) mit dem Peptidkupplungsreagenz 1,1'-Carbonyldiimidazol (CDI) und dem nucleophilen Katalysator 4-(Dimethylamino)pyridin (4-DMAP) mit nachfolgender Umsetzung mit dem Hydroxylamin **85** her (Schema 65).^[420]

**Schema 65:** Darstellung von *KSK104* (**3a**) nach der Arbeitsvorschrift von STENZEL.^[420]

Analog zur Arbeitsvorschrift von STENZEL wurde das Hydroxylamin **85** über drei Schritte mit einer Gesamtausbeute von 45 % dargestellt. Ausgehend von Bromessigsäure (**86**) wurde mittels Chlorameisensäureisobutylester (IBCF) und *N*-Methylmorpholin (NMM) *in situ* ein gemischtes Anhydrid generiert, welches durch die Zugabe von *O*-Benzyloxyamin in das

Alkoxyamid **87** überführt wurde. Im Anschluss erfolgte die nucleophile Substitution des α -Bromids **87** mit *N*-Hydroxyphthalimid (NHPI) zum Phthaloyl-geschützten Hydroxylamin **88** sowie dessen Hydrazinolyse mit Hydrazin Monohydrat zum freien Hydroxylamin **85** (Schema 66).^[420]



Schema 66: Darstellung des Hydroxylamins **85** nach der Arbeitsvorschrift von STENZEL.^[420]

Bei der Hydrazinolyse des Phthaloyl-geschützten Hydroxylamins **88** konnte das freie *O*-substituierte Hydroxylamin **85** nur in verunreinigter Form und mit mäßiger Ausbeute erhalten werden. Für die geplante Darstellung der *KSK104*-Analoge sollte **85** jedoch als Schlüsselintermediat dienen und daher dessen Synthese sowie Reinigung zunächst optimiert werden. Bei der Hydrazinolyse des Phthaloyl-geschützten Hydroxylamins **88** entsteht im äquimolaren Verhältnis das cyclische Phthalhydrazid **89** als Nebenkomponente. Dieses ist in Dichlormethan nur im sehr geringen Umfang löslich, präzipitiert im Laufe der Reaktion und kann mittels einfacherer Vakuumfiltration abfiltriert werden. Bei der dünnschichtchromatographischen Kontrolle des Filtrats konnte neben dem freien Hydroxylamin **85** zusätzlich noch das cyclischen Phthalhydrazid **89** und weitere nicht identifizierte Substanzen beobachtet werden. Um die Darstellung des Hydroxylamins **85** in Bezug auf die erreichbare Ausbeute und Reinheit zu verbessern, wurde die Freisetzung mit verschiedenen Reagenzien- und Lösungsmittelkombinationen untersucht (Tabelle 15).

Tabelle 15: Versuche zur Optimierung der Freisetzung des Hydroxylamins **85**.

Eintrag	Reagenz [Äq.]	Lsm.	Temp. [°C]	Ergebnis
1	1.60 CH ₃ NHNH ₂	CH ₂ Cl ₂	-10 → 10	Produkt und Nebenprodukt
2	1.60 CH ₃ NHNH ₂	THF	-10 → 10	Produkt und Nebenprodukt
3	1.60 CH ₃ NHNH ₂	EtOH	-10 → 10	Produkt und Nebenprodukt

4	4.00 H ₂ NNH ₂ ·H ₂ O	MeOH/CH ₂ Cl ₂ (1:1)	RT	Verunreinigt
5	4.00 H ₂ NNH ₂ ·H ₂ O	THF	RT	Verunreinigt
6	4.00 H ₂ NNH ₂ ·H ₂ O	THF	0	Geringfügig verunreinigt
7	4.00 H ₂ NNH ₂	THF	RT	Verunreinigt
8	-	Monoethanolamin	RT	Zersetzung

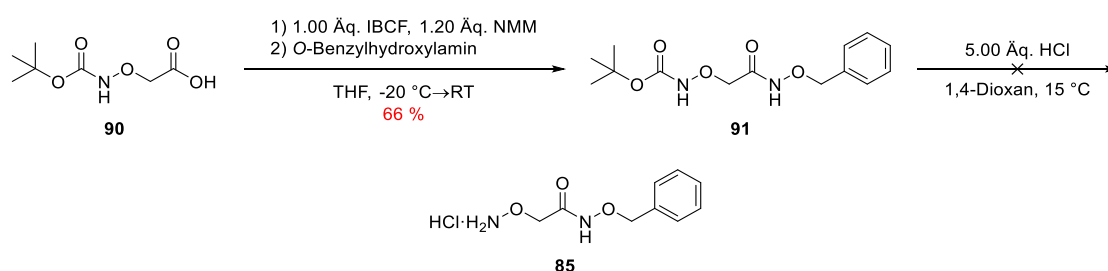
Bei der Umsetzung des Phthaloyl-geschützten Hydroxylamins **88** mit Methylhydrazin konnte das entstandene Nebenprodukt nicht vollständig über die Vakuumfiltration abfiltriert werden. Im Filtrat sowie im erhaltenden Rohprodukt fiel im Laufe der Zeit das noch enthaltende Nebenprodukt kontinuierlich aus (Tabelle 15, Eintrag 1). Dies könnte auf die mäßige Löslichkeit des cyclischen *N*-Methylphthalhydrazid in Dichlormethan zurückzuführen sein, weshalb die Reaktion in anderen Lösungsmitteln erneut durchgeführt wurde, ohne dass bei diesen eine verbesserte Abtrennung des Nebenprodukts erreicht wurde (Einträge 2 und 3). Daher wurde die Freisetzung erneut mit Hydrazin Monohydrat in Tetrahydrofuran sowie einmal in einem Lösungsmittelgemisch bestehend aus Methanol und Dichlormethan erprobt. Bei den Reinheitskontrollen mittels DC konnten weniger und zudem schwächer ausgeprägte Banden für die Nebenprodukte beobachtet werden (Einträge 4 und 5). Eine weitere Verbesserung der Selektivität konnte durch die Reaktionsführung bei 0 °C erzielt werden (Eintrag 6). Im Weiteren wurde versucht die Freisetzung unter Ausschluss von Wasser durchzuführen um die mögliche Hydrolyse des Reaktionsprodukts sowie etwaige Löslichkeitsvermittlung des Nebenprodukts zu reduzieren. Dies resultierte jedoch in einem moderat verunreinigten Reaktionsprodukt (Eintrag 7). Mit Monoethanolamin als Nucleophil konnten bei der Reaktionskontrolle mittels DC zahlreiche Banden nicht identifizierbarer Substanzen beobachtet werden, weshalb dieser Ansatz verworfen wurde (Eintrag 8).

Nachdem es gelungen war mit den optimierten Reaktionsbedingungen sowohl die Anzahl als auch die prozentuale Menge an Nebenprodukten zu reduzieren, wurde die Verbesserung des Reinigungsprozesses in Angriff genommen. Alle Versuche das Hydroxylamin **85** mittels Umkristallisation aus diversen Lösungsmitteln und -gemischen in analytisch reiner Form zu erhalten misslangen, zumeist kam es zum ausölen der Substanz. Bei der Reinheitskontrolle mittels DC wurde die zunehmende Zersetzung des Reaktionsprodukt beobachtet, welches auf eine thermische Instabilität hinwies. Der Versuch das Hydroxylamin **85** mittels saurer oder basischer nasschemischer Aufarbeitung nach dem Prinzip des STASS-OTTO-Trennungsgangs von Nebenprodukten zu separieren, führte aufgrund von dessen moderater Wasserlöslichkeit zu erheblichen Substanzverlusten. Darüber hinaus wurde versucht die Verunreinigungen über die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel zu entfernen, jedoch wurde nach der Chromatographie mehr Fraktionen erhalten als vorher im Rohprodukt

beobachtet werden konnten. Dies ist auf die wahrscheinliche Zersetzung des Hydroxylamins **85** an dem schwach sauren Kieselgel zurückzuführen.

Aus diesem Grund wurde versucht den Reinigungsprozess möglichst unter milderen Bedingungen durchzuführen. Durch das wiederholte Reduzieren des Lösungsmittelvolumens des Filtrats mit nachfolgender kühler Lagerung konnte sukzessive verbliebendes Nebenprodukt zur Präzipitation gebracht werden. Im Anschluss wurde der viskose Rückstand mittels Verreibens in *n*-Hexan zur Kristallisation gebracht, nach der Vakuumfiltration konnte das Hydroxylamins **85** in analytisch reiner Form und ausreichenden Mengen erhalten werden.

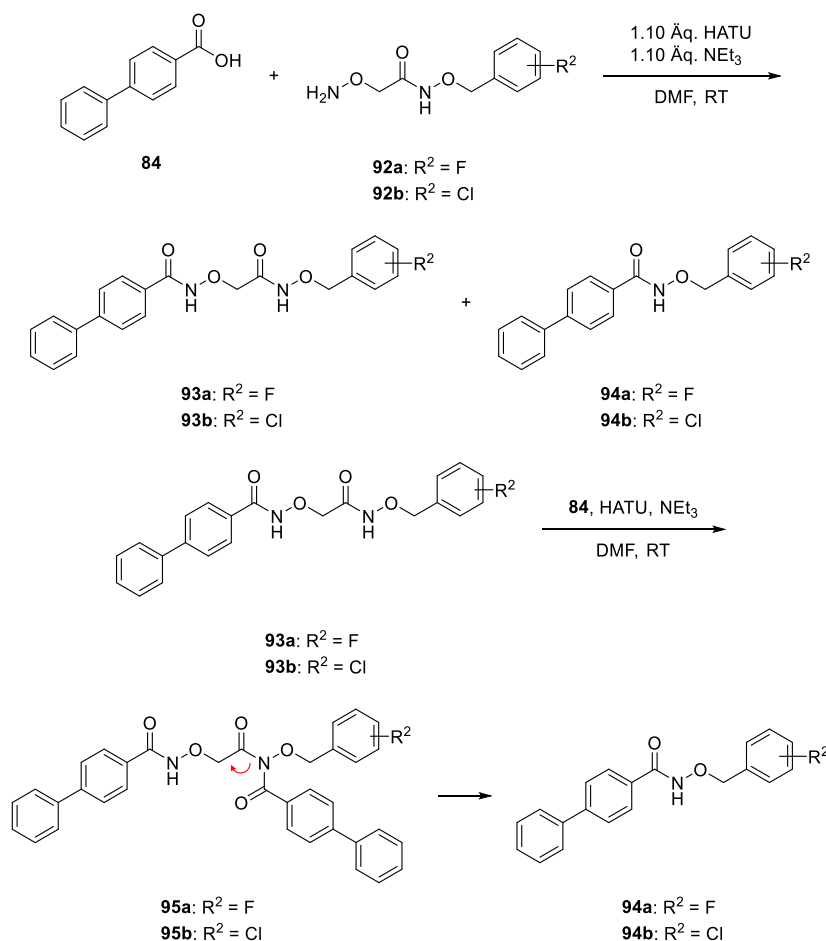
Parallel zur Optimierung des Trennungsprozesses wurde eine alternative Möglichkeit der Darstellung des Hydroxylamins **85** erarbeitet. Bei dieser Synthesestrategie wurde die Boc-geschützte-(Aminoxy)essigsäure **90** mit *O*-Benzylhydroxylamin zum Boc-geschützten Hydroxylamins **91** umgesetzt. Die Aktivierung der Carbonsäure erfolgte mit dem Einsatz von IBCF und NMM. Im Anschluss wurde versucht die Boc-Schutzgruppe acidolytisch unter wasserfreien Reaktionsbedingungen mit 4 m Salzsäure in 1,4-Dioxan zu entfernen. Zu Beginn der Reaktion konnte die Gasentwicklung des freigesetzten Kohlenstoffdioxid und die Trübung des Reaktionsmediums in Folge der Hydrochlorid-Bildung beobachtet werden. Bei dem Versuch das ausgefallene Reaktionsprodukt **85** mittels Vakuumfiltration zu isolieren, konnten nur geringe Mengen von diesem erhalten werden. Die Analyse des Reaktionsprodukts mittels HPLC sowie ¹H-NMR-Spektroskopie ergab, dass es sich bei diesem um ein Substanzgemisch verschiedener Zersetzungsprodukte handelte und daher der Ansatz verworfen wurde (Schema 67).



Schema 67: Versuchte Darstellung des Hydroxylamin Hydrochlorids **85**.

Bei der anschließenden Aktivierung der 4-Biphenylcarbonsäure (**84**) mit dem Peptidkupplungsreagenz *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) zur Umsetzung mit den Hydroxylaminen **92a-b** unter BRØNSTED-basischen Reaktionsbedingungen wurde die Entstehung der Nebenprodukte **94a-b** beobachtet. Diese könnten unter den BRØNSTED-basischen Reaktionsbedingungen als Folge der *N*-Überacylierung der Alkoxyamid-Gruppe mit nachfolgender Umlagerung entstehen. Aufgrund des zumeist ähnlichen Retentionsverhaltens bei der säulenchromatographischen

Trennung waren nachfolgend weitere Reinigungsschritte wie zu wiederholende Umkristallisation oder Umkehrphasenchromatographie an C-18 notwendig, welche zu einer Reduktion der Ausbeuten führten (Schema 68).

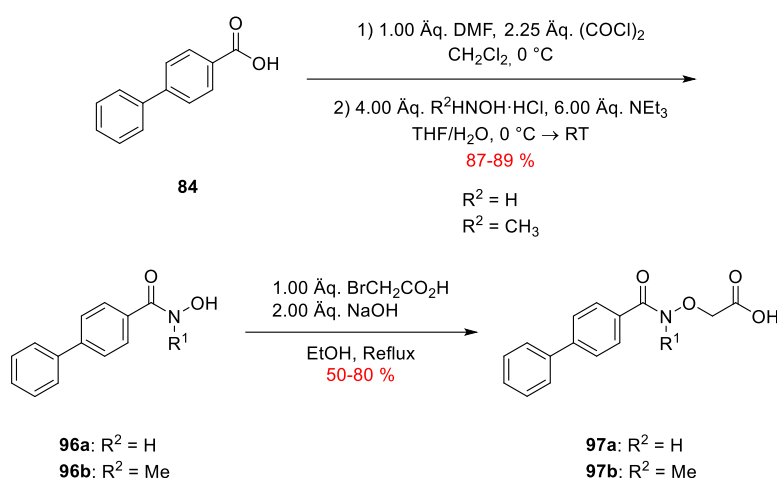


Schema 68: (Oben) Erhaltende Reaktionsprodukte **93a-b** und **94a-b** bei der Aktivierung der 4-Biphenylcarbonsäure (**84**) mit dem Peptidkupplungsreagenz HATU unter BRÖNSTED-basischen Reaktionsbedingungen mit den Hydroxylaminen **92a-b**. (Unten) Möglicher Reaktionsmechanismus zur *N*-Überacylierung mit nachfolgender Umlagerung zur Entstehung der Nebenprodukte **94a-b**.

4.2.2.2 Darstellung von *N*-alkylierten-KSK104-Analoga

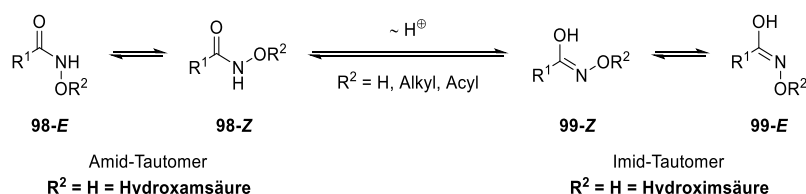
In der Publikation von MAREK *et al.* wurde beschrieben, dass die Anwesenheit des *N*-Alkoxy-Strukturelements zu einer zusätzlichen Polarisierung der Stickstoff-Wasserstoffbindung führt und somit den Wasserstoffbrücken-Donor Charakter der Amid-Funktionalität verstärkt.^[422] Die gezielte Darstellung von KSK104-Analoga mit *N*-alkylierten Alkoxyamid-Strukturelementen könnte Rückschlüsse auf die möglichen Wechselwirkungen der Leitstruktur mit der biomolekularen Zielstruktur des Mykobakteriums zulassen. Zudem kann die Alkylierung der *N*-Alkoxy-Strukturelemente die Lipophilie der Leitstruktur erhöhen und somit die Membranpermeabilität verbessern.

Im Multigramm-Maßstab wurde ausgehend von der 4-Biphenylcarbonsäure (**84**) mit stöchiometrischen Mengen an Oxalylchlorid und DMF *in situ* ein Carbonsäurechlorid generiert, welches anschließend durch die Zugabe von Hydroxylamin Hydrochlorid bzw. *N*-Methylhydroxylamin Hydrochlorid und Triethylamin als Basenzusatz abgefangen wurde. Die Biphenylhydroxamsäuren **96a-b** konnten nach der Umkristallisation in sehr guten Ausbeuten von 87-89 % erhalten werden. Daraufhin wurde die *O*-*H*-Funktionalität der Hydroxamsäuren analog zur Literaturvorschrift von McHALE *et al.* mit Bromessigsäure in der Gegenwart von Natriumhydroxid als Base alkyliert. Die entsprechenden Carbonsäuren **97a-b** konnten nach anschließender Umkristallisation mit guten Ausbeuten erhalten werden (Schema 69).^[424]



Schema 69: Darstellung der Carbonsäuren **97a-b**.

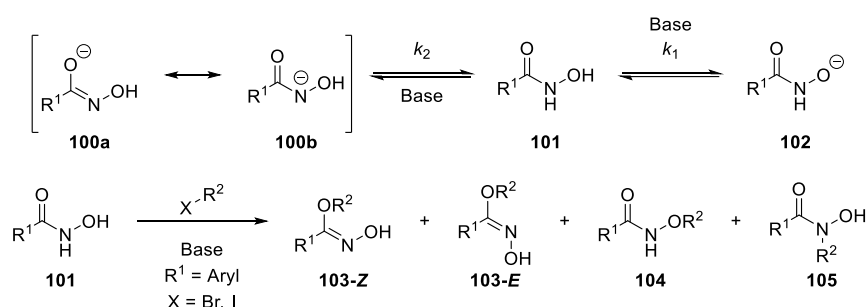
Hydroxamsäuren sowie deren *O*-Alkyl- und *O*-Acyl-Derivate liegen in einem tautomeren Gleichgewicht zweier isomerer Strukturen, der Hydroxamsäure (Amid-Tautomer) und der Hydroximsäure (Imid-Tautomer), vor.^[429–431] In verschiedenen Publikationen werden diese ebenfalls als Keto- und Enol-, Iminol- oder Oxim-Diol-Tautomere bezeichnet.^[431–433] Jeweils beide tautomere Strukturen liegen in einem dynamischen chemischen Gleichgewicht von *E*- und *Z*-Konfigurationsisomeren vor, deren Verteilung Konzentrations-, Temperatur-, pH-Wert-, Lösungsmittel- und Substituenten-abhängig ist (Schema 70).^[430,431,434]



Schema 70: Tautomeres Gleichgewicht von Hydroxamsäure- und Hydroximsäure-Derivaten. Adaptiert nach GARCÍA *et al.* und ARTEMENKO *et al.*^[429,430]

Hydroxamsäuren weisen eine schwache bis mittlere Säurestärke ($pK_s \sim 8.0-9.0$) auf, welche in Abhängigkeit von Substituenteneinflüssen variieren kann. In der Folge einer BRØNSTED-

Säure-Base-Reaktion bilden Hydroxamsäuren anionische Hydroxamate aus.^[434] Die Alkylierung von Alkalimetall-Hydroxamaten wurde in zahlreichen Publikationen untersucht, bei aliphatischen Hydroxamsäuren wird fast ausschließlich die O-Alkylierung und bei aromatischen Hydroxamsäuren im geringen Umfang ebenfalls die N-Alkylierung beobachtet.^[435] Im Weiteren kann als Konsequenz der Amid-Imid-Tautomerie der Carbonylsauerstoff alkyliert werden. Somit können bei der einfachen Alkylierung von aromatischen Hydroxamsäuren vier mögliche Produkte entstehen, das O-alkylierte, N-alkylierte und das jeweilige E- und Z-Konfigurationsisomer des O-Alkylhydroximats. Außerdem können die jeweiligen zweifach alkylierten Produkte gebildet werden. Die Produktverteilung lässt sich durch das verwendete Lösungsmittel, Base, Reaktionsbedingungen sowie mit dem Verhältnis von Substrat und Alkylierungsreagenz beeinflussen (Schema 71).^[436] Die vorwiegende Alkylierung des Hydroxylamin-Sauerstoffs ist auf den α -Effekt zurückzuführen,^[434] dieser resultiert aus der Anwesenheit von benachbarten Heteroatomen mit freien Elektronenpaaren. In Folge der Orbitalüberlappung und der damit einhergehenden elektrostatischen Repulsion wird die α -Nucleophilie des Sauerstoffs gesteigert.^[437]



Schema 71: (Oben) BRØNSTED-Säure-Base-Reaktion von Hydroxamsäuren zu anionischen Hydroxamaten. (Unten) Mögliche Produkte der einfachen Alkylierung von aromatischen Hydroxamsäuren. Adaptiert nach BAUER *et al.*^[434] und JOHNSEN *et al.*^[436]

Die zweifache Alkylierung der Hydroxamsäure konnte über die Integrale der entsprechenden Protonensignalen des ^1H -NMR-Spektrums ausgeschlossen werden. Um die Position der Alkylierung identifizieren zu können wurde das zweidimensionale heteronukleare ^1H - ^{15}N -HSQC NMR-Experiment durchgeführt. Mit dieser Methode lässt sich der wenig empfindliche ^{15}N -Kern mit signifikant verkürzten Messzeiten NMR-spektroskopisch untersuchen. Bei dieser inversen Messmethode wird der magnetische Impuls vom Proton *via* $^1J(^1\text{H}, ^{15}\text{N})$ auf den Stickstoff-Kern des (Alkoxy)amids transferiert. In der Folge wird die heteronukleare Kohärenz erzeugt die anschließend zurück auf das Proton transferiert wird (Spin-Echo) und detektiert werden kann. Dies bedeutet, dass bei dieser Messmethode die (Alkoxy)amid-Protonen ausschließlich mit den direkt gebundenen ^{15}N -Kernen korrelieren.^[438] Die Kopplung des ^{15}N -Kerns mit dessen Proton führt zu einem Kreuzsignal {12.07 ppm, 185.19 ppm}, welches darauf hinweist, dass der Alkoxyamid-Stickstoff nicht alkyliert wurde (Abbildung 14).

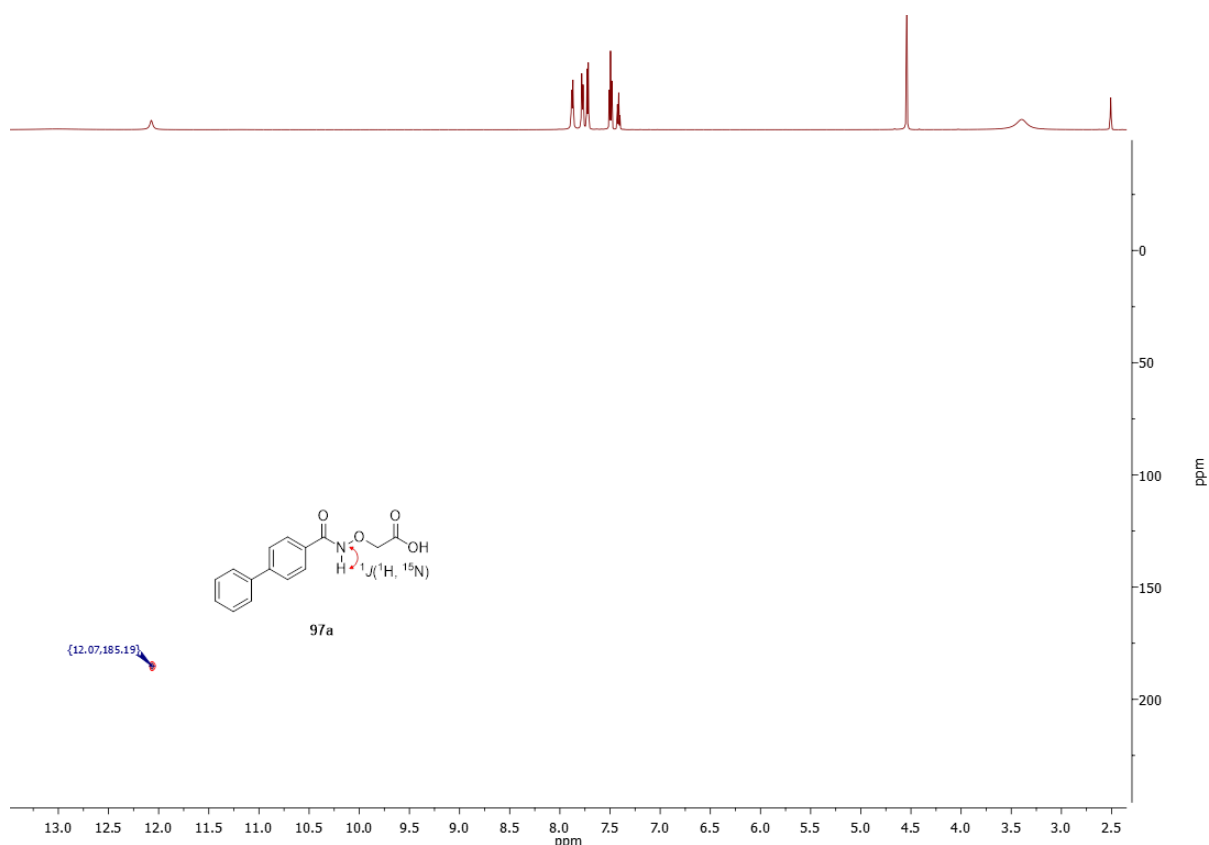
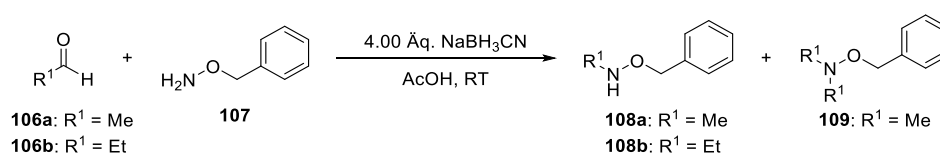


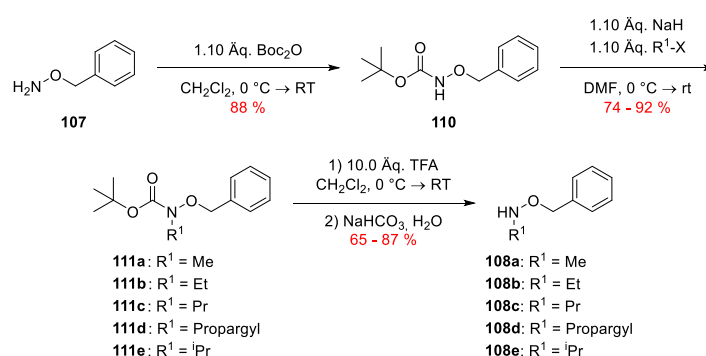
Abbildung 14: Ausschnitt aus dem ^1H - ^{15}N -HSQC-Spektrum (^1H -NMR: 600 MHz; ^{15}N -NMR: 61 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) der *O*-alkylierten 4-Biphenylhydroxamsäure **97a**.

Zunächst wurde versucht die mono-*N*-alkylierten-*O*-Benzylhydroxylamine **108a-b** analog zur reduktiven Aminierung im Eintopfverfahren über die Kondensation des Hydroxylamins mit der entsprechenden Carbonylverbindung und anschließender Reduktion darzustellen. Ausgehend von *O*-Benzylhydroxylamin (**107**) und den entsprechenden Aldehyden **106a-b** wurden die *in situ* generierten Oxime mit dem Reduktionsmittel Natriumcyanoborhydrid unter BRØNSTED-sauren Bedingungen reduziert. Bei der jeweiligen Umsetzung mit Acetaldehyd (**106a**) oder Propionaldehyd (**106b**) konnten zwar nahezu quantitative Reaktionsumsätze erreicht werden, jedoch wurde nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel stark verunreinigte Produkte erhalten. Zudem wurden bei der Umsetzung mit Acetaldehyd in nennenswerten Mengen das di-*N*-alkylierte *O*-Benzylhydroxylamin **109** erhalten (Schema 72).



Schema 72: Versuchte Darstellung der mono-*N*-alkylierten-*O*-Benzylhydroxylamine **108a-b** über die analoge reduktive Aminierung von *O*-Benzylhydroxylamin (**107**) mit Acetaldehyd (**106a**) oder Propionaldehyd (**106b**).

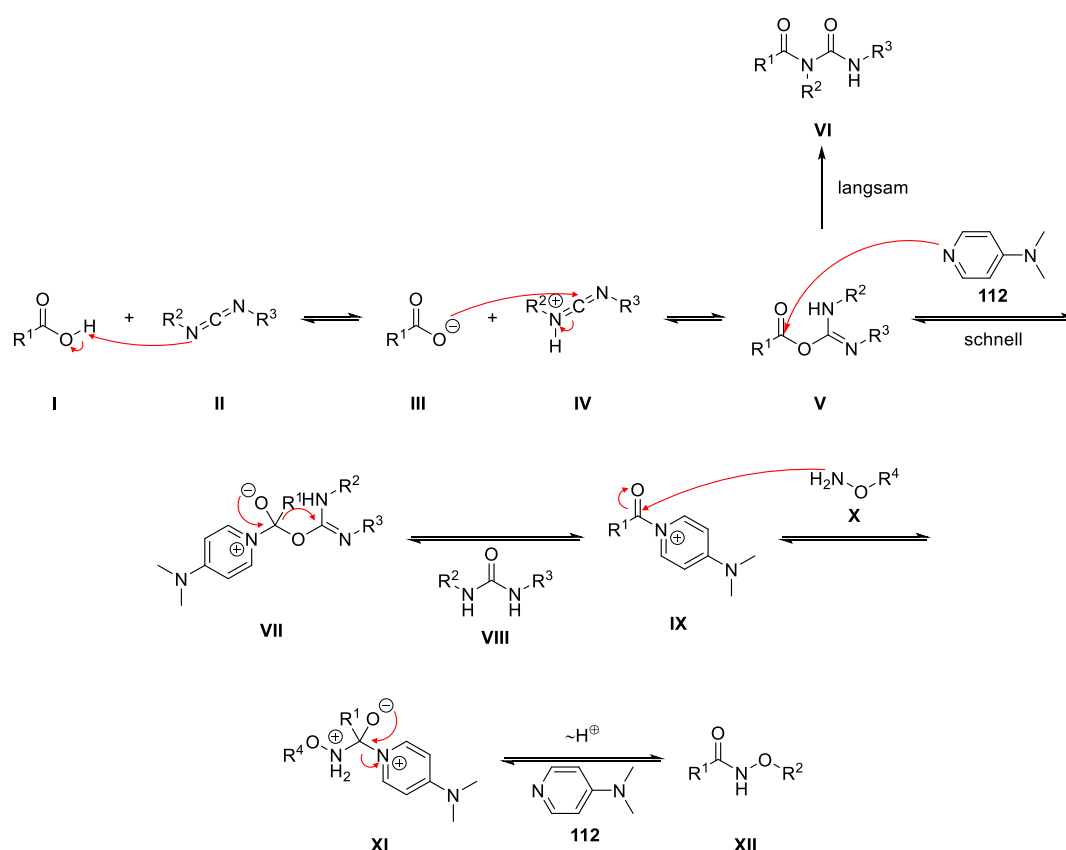
Daher wurden diese Ansätze verworfen und die Darstellung der mono-*N*-alkylierten-*O*-Benzylhydroxylamine **108a-b** über die Alkylierung von *N*-geschützten-*O*-Benzylhydroxylaminen geplant. Für die selektive Darstellung von mono *N*-alkylierten *O*-Benzylhydroxylaminen war es zunächst erforderlich den Stickstoff der Hydroxylamin-Funktionalität mit einer Schutzgruppe zu versehen. Hierfür wurde die *tert*-Butyloxycarbonyl (Boc)-Schutzgruppe ausgewählt, da diese einfach einzuführen ist, unter den basischen Bedingungen der *N*-Alkylierung stabil ist und anschließend im sauren Reaktionsmedium entfernt werden kann.^[300] Analog zur Literaturvorschrift von BRANDÈS *et al.* wurde die Boc-Schutzgruppe durch die Umsetzung von *O*-Benzylhydroxylamin (**107**) mit Di-*tert*-butyldicarbonat ohne die Anwesenheit einer Base eingeführt.^[439] Anschließend wurde das *N*-Boc-geschützte *O*-Benzylhydroxylamin **110** mit Natriumhydrid in DMF deprotoniert und durch die Zugabe des entsprechenden Brom- oder Iodalkans alkyliert. Die Entfernung der Boc-Schutzgruppe erfolgte acidolytisch mit 10 Äquivalenten Trifluoressigsäure in Dichlormethan. Die einfach *N*-alkylierten *O*-Benzylhydroxylamine **108a-e** konnten nach wässriger Aufarbeitung mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung sowie anschließender säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel in guten bis sehr guten Ausbeuten erhalten werden (Schema 73).



Schema 73: Darstellung der einfach *N*-alkylierten *O*-Benzylhydroxylamine **108a-e**.

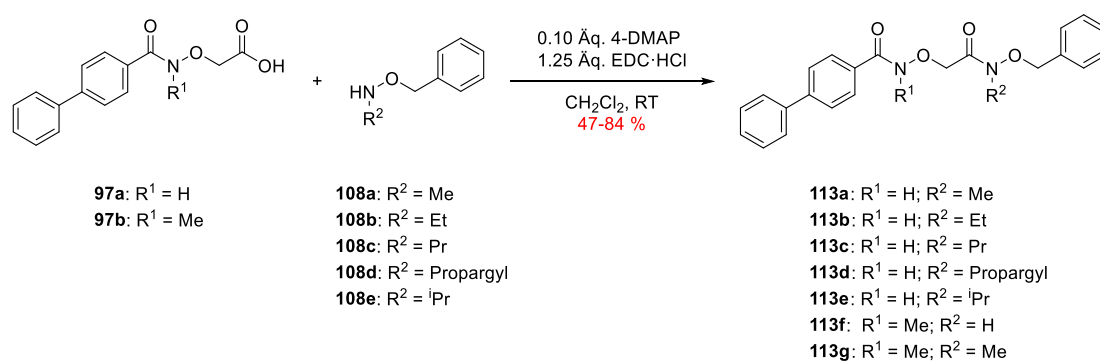
Alkoxyamide können über die Reaktion von aktivierten Carbonsäure-Derivaten mit den entsprechenden Hydroxylaminen dargestellt werden. Eine Möglichkeit zur Aktivierung von Carbonsäuren bietet die Methode der STEGLICH-artigen Veresterung. Bei dieser wird die Carbonsäure mit einem Peptidkupplungsreagenz und der Anwesenheit eines nucleophilen Katalysators zu einem Aktivester umgesetzt. Aufgrund der beobachteten Nebenreaktion mit HATU unter BRØNSTED-basischen Reaktionsbedingungen (Kapitel 4.2.2.1) wurden die weiteren Aktivierungen von Carbonsäuren hauptsächlich mit dem Peptidkupplungsreagenz 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid Hydrochlorid (EDC·HCl) und 4-DMAP (**112**) im BRØNSTED-sauren Medium durchgeführt. Zu Beginn der Aktivierung findet zwischen der Carbonsäure **I** und dem Carbodiimid **II** eine BRØNSTED-Säure-Base-Reaktion statt. Anschließend addiert das Carboxylat **III** nucleophil an den Kohlenstoff des Carbodiimid-

Kationen **IV** unter Ausbildung des *O*-Acylharnstoffs **V**. In Abhängigkeit von der Nucleophilie des Kupplungspartners kann dieser in einem langsamen irreversiblen Prozess über die Migration der Acyl-Gruppe vom Sauerstoff auf den Stickstoff zum unerwünschten Harnstoff-Nebenprodukt **VI** reagieren. Bei der Anwesenheit von guten Nucleophilen oder einem nucleophilen Katalysator wie 4-DMAP (**112**) findet deren reversibler, schneller Angriff am Carbonylkohlenstoff des Aktivesters **V** statt. Das entstandene *N*-Acyl-Pyridinium-Intermediat **VII** reagiert anschließend mit dem eigentlichen Kupplungspartner, dem Hydroxylamin **X**, unter Ausbildung des Alkoxyamids **XII** und dem regeneriertem nucleophilen Katalysator 4-DMAP (Schema 74).^[440]



Schema 74: Mechanismus zur Darstellung von Alkoxyamiden **XII** durch die Kupplung von Carbonsäuren **I** mit Hydroxylaminen **X** unter den Bedingungen der STEGLICH-Veresterung mit einem Carbodiimid **II**. Adaptiert nach LUTJEN *et al.*^[440]

Daraufhin wurden die Carbonsäuren **97a-b** mit EDC·HCl sowie 4-DMAP aktiviert und diese anschließend mit den mono-*N*-alkylierten *O*-Benzylhydroxylaminen **108a-e** umgesetzt. Nach 16 Stunden bei Raumtemperatur wurde bei der Aufarbeitung nicht umgesetzte Carbonsäure mit wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und im Anschluss die basischen Verunreinigungen mit wässriger 10%iger Zitronensäure-Lösung ausgewaschen. Die *N*-alkylierten *KSK104*-Analoge **113a-g** konnten mittels Umkristallisation oder säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel mit der für die biologische Evaluation erforderlichen Reinheit von >95 % erhalten werden (Schema 75).

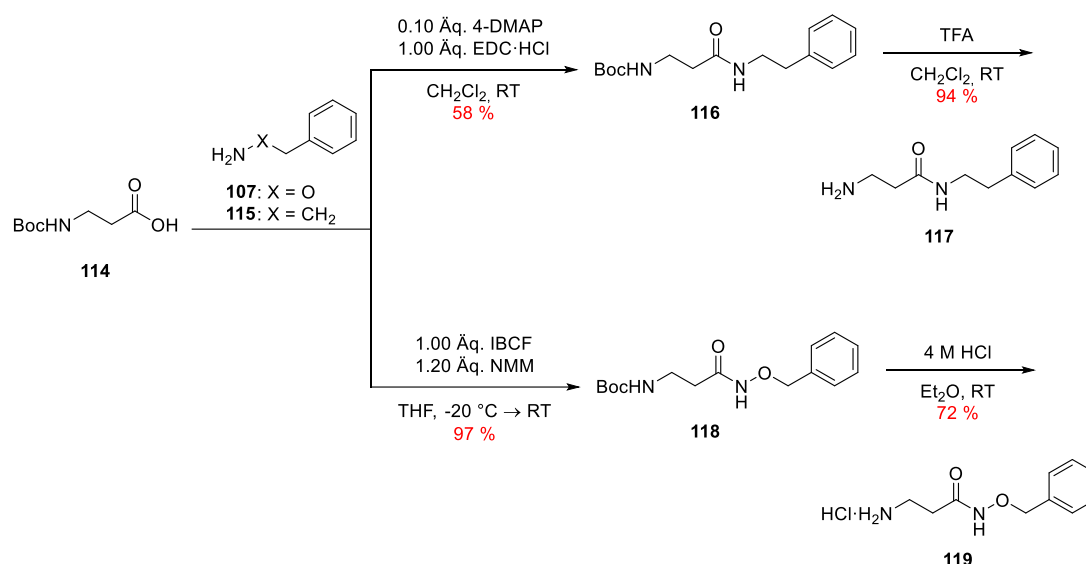


Schema 75: Darstellung der *N*-alkylierten *KSK104*-Analoge **113a-g**.

4.2.2.3 Darstellung von *KSK104*-Amid-Analoga

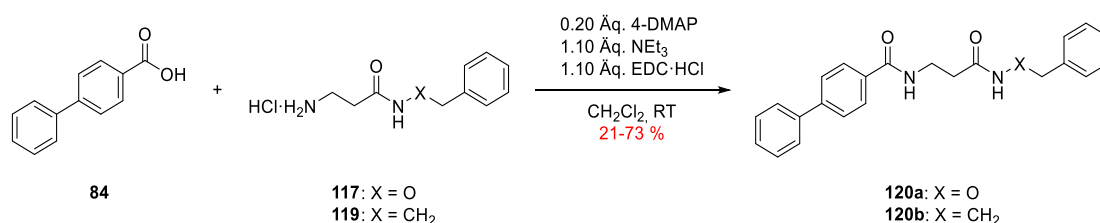
Um den Einfluss der Alkoxyamid-Strukturelemente auf die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur zu untersuchen, wurde zunächst geplant *KSK104*-Amid-Analoga zu synthetisieren bei denen jeweils eines der beiden sowie beide Alkoxyamid-Gruppen durch Amid-Funktionalitäten ersetzt werden sollen. Dadurch könnten Rückschlüsse auf die Bedeutung der Sauerstoffe als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren oder durch deren negativen induktiven Effekt auf die Polarisierung der Stickstoff-Wasserstoffbindung erhalten werden.

Ausgehend vom kommerziell erhältlichen Boc-geschützten- β -Alanin **114** wurde mit IBCF und NMM *in situ* das gemischte Anhydrid generiert und mit *O*-Benzylhydroxylamin (**107**) umgesetzt. Das erhaltende Boc-geschützte-Amin **118** wurde anschließend mit 4 M Salzsäure in 1,4-Dioxan umgesetzt, um die Boc-Schutzgruppe acidolytisch zu entfernen. Im Laufe der Reaktion fiel das entschützte Amin **119** als Hydrochlorid aus und konnte mittels Vakuumfiltration in analytisch reiner Form erhalten werden (Schema 76). Das entsprechende Amid-Derivat **117** wurde auf gleichem Wege über die Kupplung von Boc-geschützten- β -Alanin **114** mit Phenylethylamin (**115**) dargestellt.



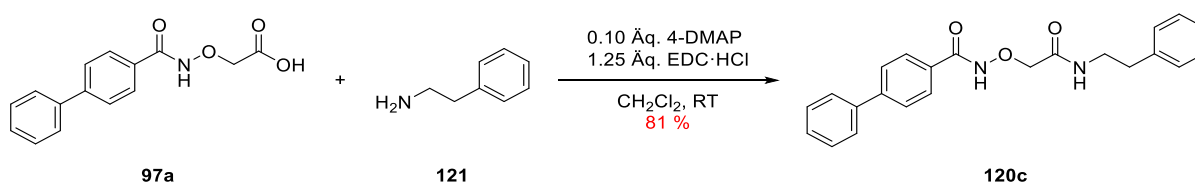
Schema 76: Darstellung der β -Amine **117** und **119**.

Im nächsten Schritt wurde die Carbonsäure **84** mit den konformen Aminen **117** und **119** unter Einsatz von EDC·HCl und 4-DMAP zu den korrespondierenden *KSK104*-Amid-Analoga **120a-b** umgesetzt (Schema 77).



Schema 77: Darstellung der *KSK104*-Amid-Analoga **120a-b**.

Das *KSK104*-Amid-Analogon **120c** wurde über die Aktivierung der Carbonsäure **97a** mit EDC·HCl sowie 4-DMAP und der Umsetzung mit Phenylethylamin (**121**) dargestellt (Schema 78).



Schema 78: Darstellung des *KSK104*-Amid-Analogons **120c**.

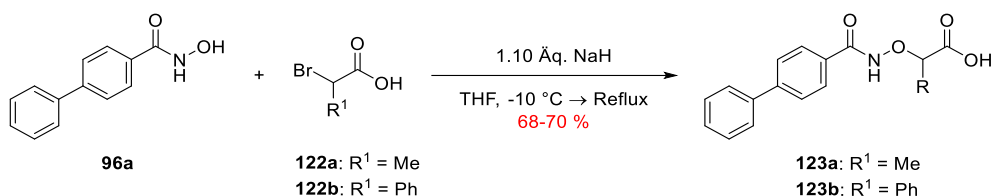
4.2.2.4 Darstellung von kettensubstituierten *KSK104*-Analoga

Bei der Entwicklung von Pantothersäureamid-Analoga für die Chemotherapie der Malaria bestand das Problem der mangelnden metabolischen Stabilität eines vielversprechenden Wirkstoffkandidaten aufgrund dessen Biotransformation durch die Hydrolase Pantetheinase. Die Einführung einer Kettenverzweigung durch einen Methyl-Substituenten in räumlicher Nähe

zur Amid-Funktionalität resultierte in der signifikanten Verlangsamung der enzymatisch katalysierten Hydrolyse.^[441]

Zunächst sollte die Einführung der wenig sterisch anspruchsvollen Methyl-Gruppe die Erkenntnis bringen, wie ein Substituent in dieser Position die Struktur-Aktivitäts-Beziehung in Folge einer möglichen veränderten Wechselwirkung mit der mykobakteriellen molekularen Zielstruktur beeinflussen kann. Im Weiteren sollte erprobt werden, ob zwei kleine Substituenten oder die sterisch anspruchsvolle Phenyl-Gruppe im tolerierbaren Bereich liegen. Die Erkenntnisse könnten bei der nachfolgenden präklinischen Strukturoptimierung verwendet werden, um gezielt Einfluss auf etwaige pharmakologische Eigenschaften der Leitstruktur zu nehmen.

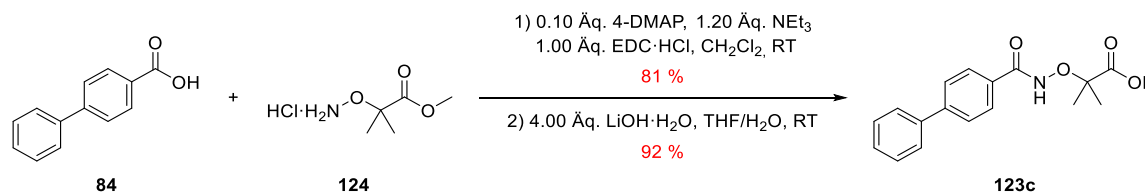
Beginnend wurde versucht die Alkylierung der Hydroxamsäure **96a** mit den α -substituierten Bromessigsäuren **122a-b** analog zur Literaturvorschrift von McHALE *et al.* mit Natriumhydroxid in Ethanol durchzuführen.^[424] Bei den Reaktionskontrollen mittels DC konnten jedoch komplexe Mixturen verschiedener nicht identifizierter Produkte beobachtet werden. Daher wurden diese Ansätze ohne weitere Aufarbeitung verworfen und in Anlehnung an die Arbeitsvorschrift von DIEDRICH *et al.* zunächst die Hydroxamsäure **96a** mit der stärkeren Base Natriumhydrid in THF irreversibel deprotoniert und anschließend mit den α -substituierten Bromessigsäuren **122a-b** umgesetzt. Mit dieser Prozedur gelang es die kettensubstituierten Carbonsäuren **123a-b** mit guten Ausbeuten in analytisch reiner Form zu erhalten (Schema 79).^[442]



Schema 79: Darstellung der kettensubstituierten Carbonsäuren **123a-b**.

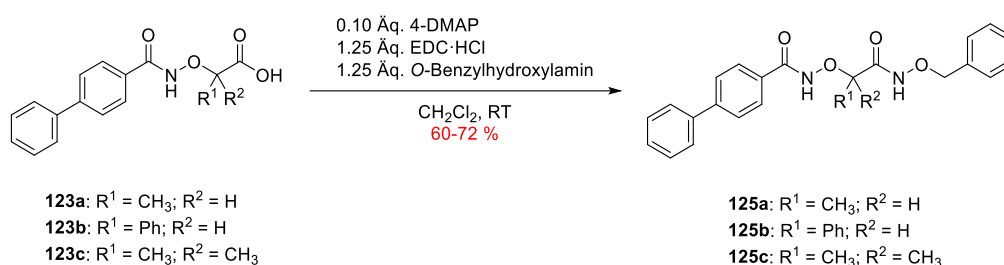
Dahingegen konnte die selektive Alkylierung des Hydroxylamin-Sauerstoffs der Hydroxamsäure **96a** mit α -Bromisobuttersäure weder nach der Literaturvorschrift von McHALE *et al.* noch mit der von DIEDRICH *et al.* erzielt werden.^[424,442] Bei beiden Prozeduren wurde jeweils eine komplizierte Mischung verschiedener nicht identifizierter Produkte erhalten, welche daher nicht weiter verfolgt wurden. Das beobachtete Substanzgemisch ist wahrscheinlich auf das natürliche Reaktionsverhalten von tertiären α -Carbonylhalogeniden bei der nucleophilen Substitution am gesättigten Kohlenstoff-Atom zurückzuführen. Nebenbei könnte ebenfalls die basenvermittelte β -Eliminierung eine bedeutende Nebenreaktion unter diesen Reaktionsbedingungen sein.

Als alternative Möglichkeit wurde über die zweistufige analoge GABRIEL-Synthese das Aminoxyisobuttersäuremethylester Hydrochlorid (**124**) dargestellt und anschließend mit der 4-Biphenylcarbonsäure (**84**) über die Aktivierung mit EDC·HCl und 4-DMAP zum Alkoxyamid umgesetzt. Nachfolgend wurde der Methylester über die alkalische Esterhydrolyse mit Lithiumhydroxid Monohydrat in einem Lösungsmittelgemisch aus THF und Wasser in die korrespondierende Carbonsäure **123c** umgewandelt (Schema 80).



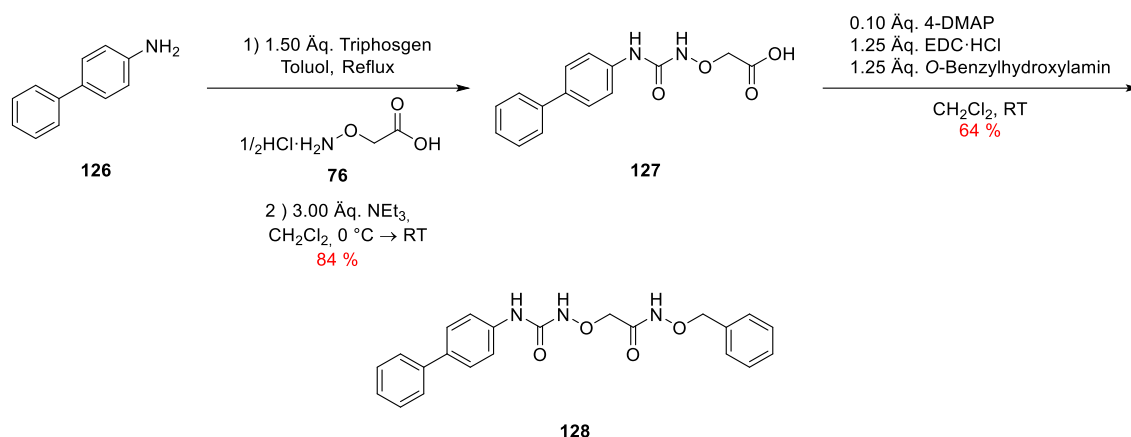
Schema 80: Darstellung der Carbonyl- α -Dimethylcarbonsäure **123c**.

Im Anschluss erfolgte die Darstellung kettensubstituierter *KSK104*-Analoga **125a-c** über die Aktivierung der Carbonsäuren **123a-c** mit EDC·HCl und 4-DMAP in Gegenwart von *O*-Benzylhydroxylamin (Schema 81).



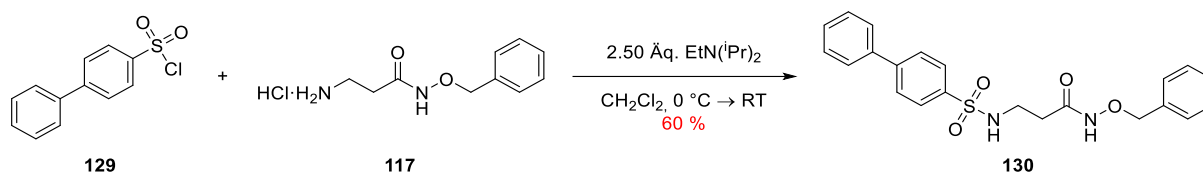
Schema 81: Darstellung der kettensubstituierten *KSK104*-Analoga **125a-c**.

Ausgehend vom kommerziell erhältlichen 4-Aminobiphenyl (**126**) wurde nach einer Patentvorschrift von CHESWORTH *et al.* mit Triphosgen in Toluol *in situ* das korrespondierende Isocyanat generiert.^[443] Im Anschluss wurde durch die Zugabe von (Aminoxy)essigsäure Hemihydrochlorid (**76**) und Triethylamin als Basenzusatz über eine nucleophile Additionsreaktion der Alkoxyharnstoff **127** zugänglich gemacht. Abschließend wurde die Carbonsäure **127** mit *O*-Benzylhydroxylamin mittels EDC·HCl und 4-DMAP unter den Bedingungen der STEGLICH-artigen Veresterung zum Alkoxyharnstoff-Analoga **128** umgesetzt (Schema 82).



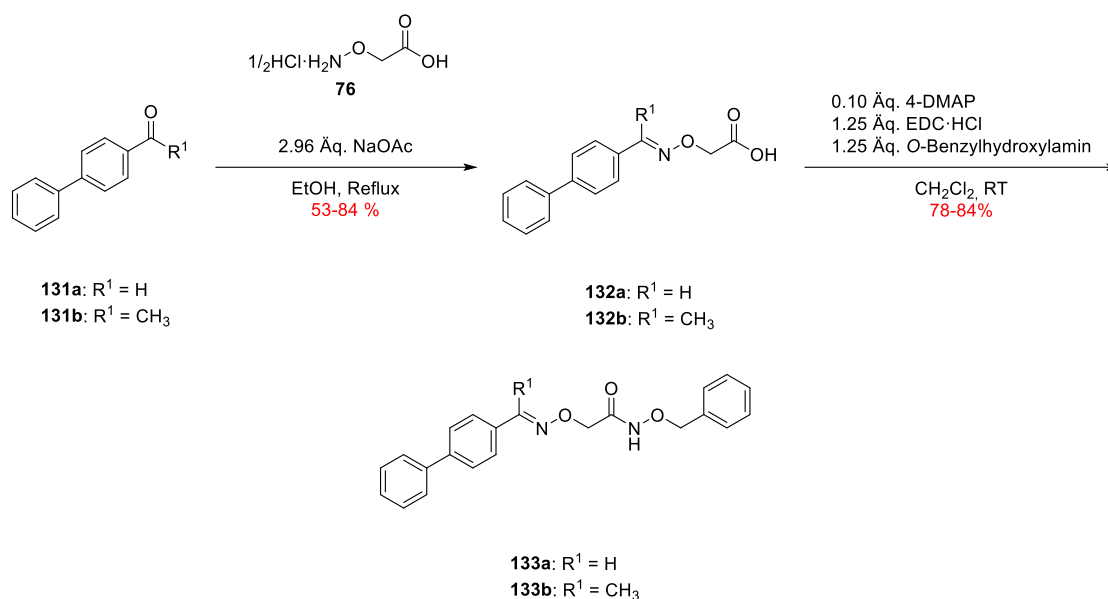
Schema 82: Darstellung des Alkoxyharnstoff-Analogons **128**.

Die funktionelle Gruppe der Sulfonamide wird in der Literatur als *N-H-acide* ($pK_s \sim 4.0-8.0$) beschrieben, welche zudem sowohl als Wasserstoffbrücken-Donor als auch Akzeptor agieren kann. Zudem ist diese in zahlreichen und verschiedenen Arzneistoffklassen vertreten.^[420] Das Sulfonsäureamid-Analogon **130** konnte über Umsetzung des kommerziell erhältlichen 4-Biphenylsulfonsäurechlorids (**129**) mit dem β -Amin Hydrochlorid **117** in Gegenwart der HÜNIG-Base dargestellt werden (Schema 83).



Schema 83: Darstellung des Sulfonsäureamid-Analogons **130**.

Analog zur Literaturvorschrift von van DIJK *et al.* wurden das Aldoxim **132a** und das Ketoxim **132b** über die Kondensation der entsprechenden Carbonylverbindung **131a-b** mit dem (Aminoxy)essigsäure Hemihydrochlorid (**76**) und Natriumacetat als Basenzusatz in Ethanol dargestellt.^[444] Die Oxime **132a-b** konnte nach anschließender Umkristallisation in moderater bis guter Ausbeute erhalten werden. Danach erfolgte die Aktivierung der Carbonsäuren **132a-b** unter den Bedingungen der STEGLICH-artigen Veresterung sowie die Umsetzung der Aktivester mit O-Benzylhydroxylamin zu den korrespondierenden Aldoxim- und Ketoxim-Analoga **133a-b** (Schema 84).

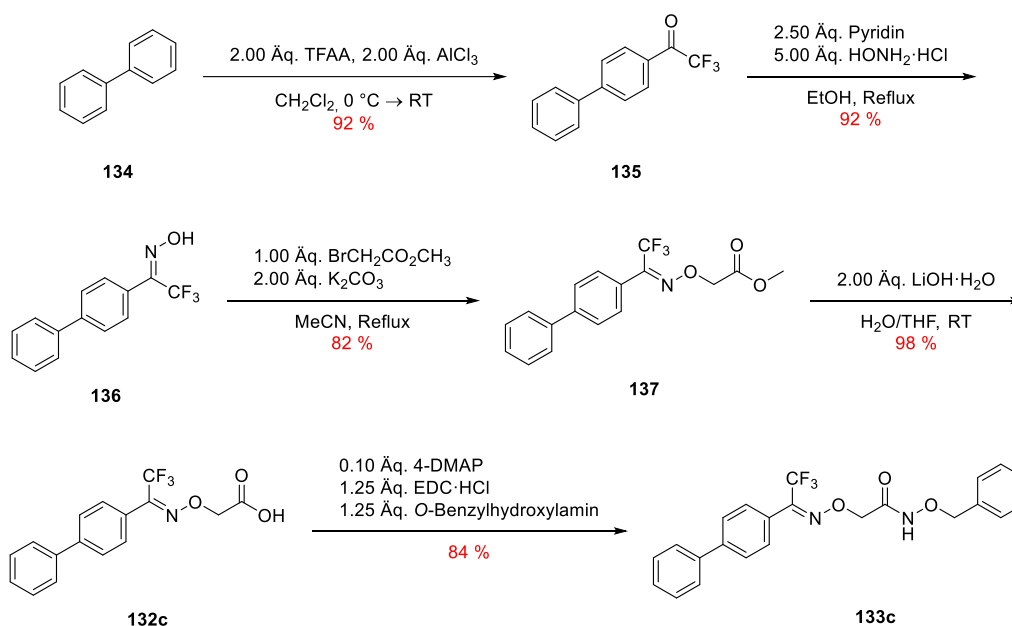


Schema 84: Darstellung der *KSK104*-Aldoxim/Ketoxim-Analoga **133a-b**.

In der Literatur wird das Strukturelement des Trifluorethylamins als Amid-Isoster beschrieben, welches die Stabilität der Leitstruktur gegenüber der von Proteasen katalysierten Hydrolyse erhöht. Zudem kann die Trifluormethylgruppe als schwacher Wasserstoffbrücken-Akzeptor fungieren.^[418] Daher wurde geplant das Trifluormethylketoxim-Analogon **133c** dazustellen.

Nach der Literaturvorschrift von WANG *et al.* wurde 4'-Phenyl-Trifluoressigsäure **135** über die FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung von Biphenyl (**134**) mit Trifluoressigsäureanhydrid und der LEWIS-Säure Aluminiumchlorid im Multigramm-Maßstab zugänglich gemacht.^[445] Bei der nachfolgenden Kondensation des Trifluoressigsäure **135** mit dem (Aminooxy)essigsäure Hemihydrochlorid (**76**) konnte bei der Reaktionskontrolle mittels DC nach 5 Stunden noch die intensive Bande des Ausgangsmaterials detektiert werden. Daher wurde die Reaktionszeit kontinuierlich auf 8 Stunden, 16 Stunden und 24 Stunden verlängert sowie jeweils zusätzliche 0.5 Äquivalente des Hydroxylamins **76** hinzugegeben. Dies führte jedoch nicht zu einer zu beobachtbaren Steigerung des Reaktionsumsatzes. Nach der wässrigen Aufarbeitung und säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel konnte eine Hauptfraktion erhalten werden. Die Analyse des ^1H -NMR-Spektrums zeigte, dass es sich bei dieser um ein Gemisch zweier Substanzen mit nahezu identischen Anteilen handelte. Dies kann auf die Bildung der *E*- und *Z*-Konfigurationsisomere zurückzuführen sein. Ebenfalls konnte im ^{19}F -NMR-Spektrum zwei Singulets mit fast identischen Intensitäten bei den chemischen Verschiebungen von -61.4 ppm und -65.1 ppm beobachtet werden, welche auf ein Gemisch von *E*- und *Z*-Konfigurationsisomere schließen lassen. Die Gesamtausbeute betrug lediglich 18 % und die Fraktion war mit erheblichen Anteilen der (Aminooxy)essigsäure **76** kontaminiert. Als alternative Möglichkeit wurde daher zunächst in Anlehnung an die Literaturvorschrift von PROTASOVA *et al.* das Trifluoressigsäure **135** mit

einem Überschuss an Hydroxylamin Hydrochlorid sowie Pyridin umgesetzt.^[445] Dies ermöglichte den Zugang zum analytisch reinen Trifluormethyloxim **136** in einer exzellenten Ausbeute von 92 %. Im Anschluss erfolgte über zwei separate Syntheseschritte die O-Alkylierung des Trifluormethyloxims **137** mit Bromessigsäuremethylester und die nachfolgende alkalische Hydrolyse des Methylesters zur Carbonsäure **132c**. Diese wurde über die Methode der STEGLICH-Veresterung mit EDC·HCl sowie 4-DMAP aktiviert und mit O-Benzylhydroxylamin zum Trifluormethyloxim-Analogon **133c** umgesetzt (Schema 85).



Schema 85: Darstellung des KSK104-Trifluormethyloxim-Analogons **133c**.

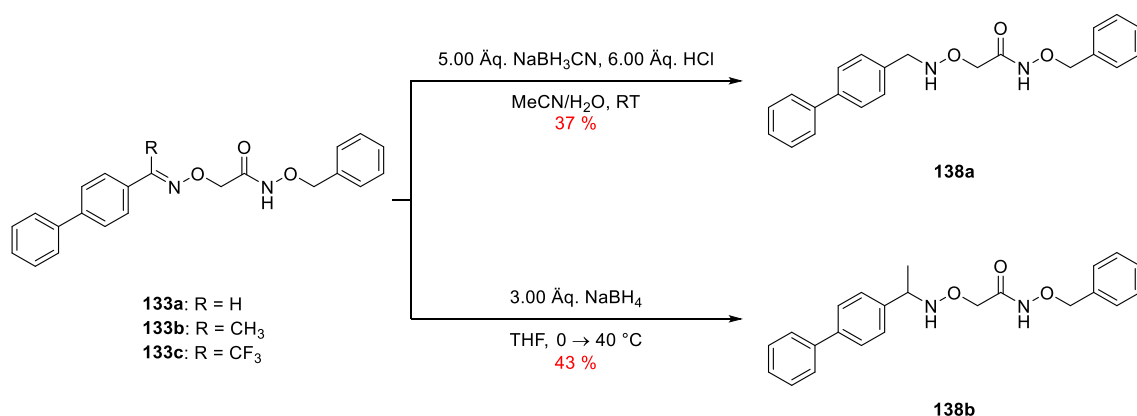
Im nächsten Schritt sollte die Reduktion der Oxim-Ether-Analoga **133a-c** erfolgen um die korrespondierenden *O,N*-Dialkylhydroxylamine **138a-c** darzustellen. Grundsätzlich können Oxim-Ether durch zahlreiche Methoden wie der katalytischen Hydrierung über Platin(IV)-oxid oder Platin sowie mit den Reduktionsmitteln aus den Verbindungsklassen der Borhydride, Pyridin-Boran-Komplexe, Hydrosilane und Hydrostannane zu *O,N*-Dialkylhydroxylaminen reduziert werden.^[446] Die Übergangsmetall-katalysierte Hydrierung ist aufgrund der anwesenden *O*-Benzyl-geschützten Hydroxamsäure jedoch nicht das Mittel der ersten Wahl, da bei dieser die Hydrogenolyse dieses Strukturelements zu befürchten wäre.^[300] Daher wurde die Reduktion der dargestellten Oxime mit Hydrostannanen und den gängigen anorganischen Borhydriden erprobt (Tabelle 16).

Tabelle 16: Reduktion der Aldoxim-, Ketoxim- und Trifluormethyloxim-Analoga **133a-c**.

Eintrag	Substrat	Red. [Äq.]	Additiv [Äq.]	Lsm.	Temp. [°C]	Ergebnis/ Ausbeute [%]
1	133a	2.0 Bu ₃ SnH	1.0 BF ₃ ·Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂	RT	Gemisch
2	133a	1.5 NaBH ₄	6.0 3 M HCl	MeCN	RT	Zersetzung
3	133a	2.5 NaBH ₃ CN	6.0 3 M HCl	MeCN/H ₂ O (5:1)	RT	37
4	133b	4.0 NaBH ₃ CN	-	AcOH	RT→50	Kaum Umsatz
5	133b	10.0 NaBH ₃ CN	15.0 4 M HCl	MeOH	RT	Zersetzung
6	133b	2.0 DIBAL-H	-	CH ₂ Cl ₂	-10→RT	Zersetzung
7	133b	2x 1.5 NaBH ₄	1.0 BF ₃ ·Et ₂ O	MeOH/THF 1:1	0→RT	Zersetzung
8	133b	2x 2.0 NaBH ₄	-	EtOH	0→RT	Kaum Umsatz
9	133b	2x 1.5 NaBH ₄	-	THF	0→40	43
10	133c	2.0 NaBH ₄	-	THF/MeOH	RT	Zersetzung

Zunächst wurde versucht das Aldoxim **133a** mit Tributylzinnhydrid in Gegenwart einer LEWIS-Säure zu reduzieren. Dabei konnte jedoch nur ein Substanzgemisch bestehend aus dem Edukt, Produkt und einem nicht-identifizierbaren Nebenprodukt erhalten werden. Dieses konnte nicht mittels säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel getrennt werden (Tabelle 16, Eintrag 1). Bei der Reduktion mit Natriumborhydrid wurde die Zersetzung des Substrats beobachtet (Eintrag 2). Deshalb wurde das weniger reaktive Reduktionsmittel Natriumcyanoborhydrid unter BRØNSTED-sauren Bedingungen eingesetzt, schließlich konnte das *O,N*-Dialkylhydroxylamin **138a** mit moderater Ausbeute erhalten werden (Eintrag 3). Dahingegen konnte bei der Reduktion des Ketoxims **133b** unter diesen Reaktionsbedingungen entweder kaum Umsatz oder die Zersetzung des Substrats beobachtet werden (Einträge 4 und 5). Zur Zersetzung des Substrats kam es auch bei der Behandlung mit dem signifikant reaktiveren Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAL-H) (Eintrag 6) sowie der Kombination aus Natriumborhydrid mit einer LEWIS-Säure (Eintrag 7). Die Reduktion in einem protischen Lösungsmittel führte zu einem geringen Reaktionsumsatz (Eintrag 8). Durch den Einsatz eines aprotischen Lösungsmittel mit anschließender BRØNSTED-sauren Aufarbeitung konnte das *O,N*-Dialkylhydroxylamin **138b** mit moderater Ausbeute erhalten werden (Eintrag 9). Dahingegen scheiterten alle Experimente zur Reduktion und Reinigung des Trifluormethyloxim-Ethers an entweder zu geringen Umsätzen, bei harscheren Bedingungen

an Nebenreaktionen oder an möglichen Stabilitätsproblemen während der Aufarbeitung (Eintrag 9).

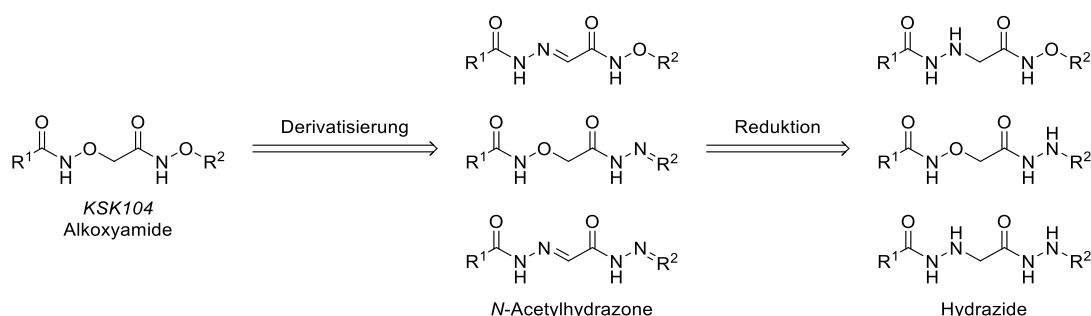


Schema 86: Darstellung der *O,N*-Dialkylhydroxylamin-KSK104-Analoga **138a-b**.

Aufgrund der ähnlichen Retentionsfaktoren der Substrate und dem jeweiligen Reduktionsprodukt, bedurfte es der mehrmaligen säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel sowie anschließender Umkristallisation um die *O,N*-Dialkylhydroxylamin-KSK104-Analoga **138a-b** in analytisch reiner Form zu erhalten. Die Versuche den Reinigungsprozess mittels Umkehrphasenchromatographie an C-18 Säulenmaterial zu vereinfachen misslangen, da bei dieser die Zersetzung der Produkte erfolgte.

4.2.2.5 Versuchte Darstellung von KSK104-*N*-Acetylhydrazon- und -Hydrazid-Analoga

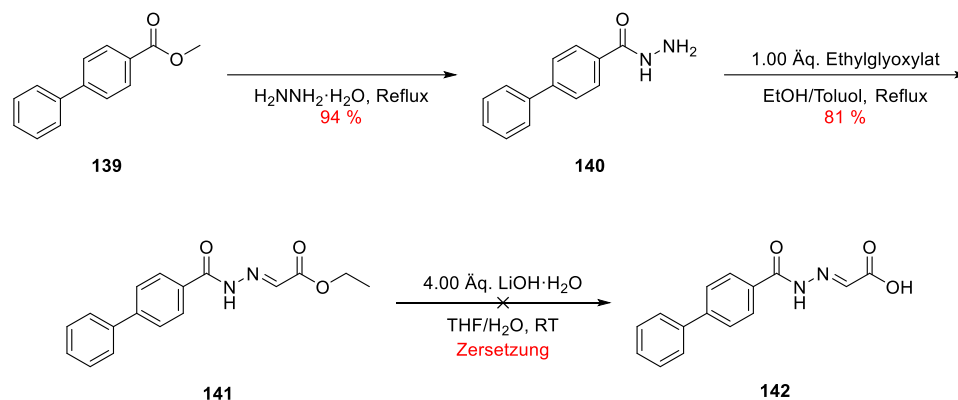
In der Publikation von KISFALUDY *et al.* wurde die antimykobakterielle Aktivität von α -AOA-Hydraziden beschrieben,^[423] daher war im Weiteren der Austausch der einzelnen Alkoxyamid-Funktionalitäten durch das *N*-Acetylhydrazon-Strukturelement, sowie der entsprechenden reduzierten Hydrazide geplant (Schema 87).



Schema 87: Geplante Derivatisierung der Alkoxyamid-Funktionalität hin zu *N*-Acetylhydrazon- und Hydrazid-Derivate.

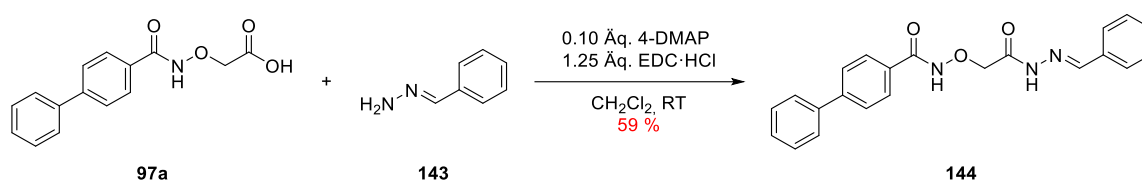
Ausgehend von dem Methylester **139** wurde dieser mittels Erhitzens in einer Hydrazin Monohydrat-Lösung in das Hydrazid **140** überführt, welches anschließend mit Ethylglyoxylat zum Hydrazon-Kondensationsprodukt **141** umgesetzt wurde. Daraufhin wurde

versucht den Ethylester **141** mit Lithiumhydroxid in die Carbonsäure **142** zu überführen. Jedoch wurde unter den wässrig alkalischen Reaktionsbedingungen die zunehmende Zersetzung des Substrats beobachtet (Schema 88). Diese könnte auf die Hydrolyse des Hydrazon-Strukturmotivs zurückzuführen sein, weshalb die Versuche zur Einführung der *N*-Acetylhydrazon-Funktionalität in der Region B hintenangestellt wurden.



Schema 88: Versuchte Darstellung des *KSK104-N*-Acetylhydrazon-Analogons.

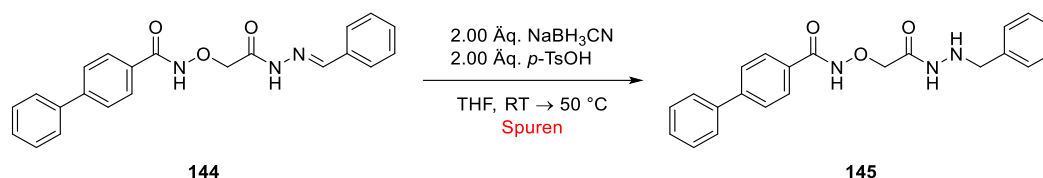
Im Anschluss wurde die *O*-Benzyl-substituierte Alkoxyamid-Funktionalität von *KSK104* zum *N*-Acetylhydrazon derivatisiert. Die Carbonsäure **97a** wurde mit EDC·HCl sowie 4-DMAP aktiviert und mit Benzylidenhydrazin (**143**), welches nach einer Vorschrift von WITSCHER *et al.* über die Kondensation von Benzaldehyd mit Hydrazin Monohydrat hergestellt wurde,^[447] umgesetzt (Schema 89).



Schema 89: Darstellung des *KSK104-N*-Acetylhydrazon-Analogons **144**.

Nachfolgend sollte das *N*-Acetylhydrazon-Strukturelement von **144** zum Hydrazid **145** reduziert werden. Zu Beginn wurde die Reduktion mit äquimolaren Mengen an Natriumcyanoborhydrid unter BRØNSTED-sauren Reaktionsbedingungen bei Raumtemperatur erprobt. Nach acht Stunden zeigte sich bei der Reaktionskontrolle mittels DC die selektive Entstehung einer schwachen Produktbande mit einem geringeren Retentionsverhalten, welches wie zuvor bei der Reduktion der Oxime auf das gewünschte Produkt schließen ließ. Daher wurde sowohl vom Reduktionsmittel als auch von der BRØNSTED-Säure ein zusätzliches Äquivalent hinzugesetzt und die Reaktionstemperatur auf 50 °C erhöht. Nach weiteren acht Stunden konnte bei der Reaktionskontrolle zwar eine signifikant ausgeprägtere Produktbande, aber auch die Entstehung mehrerer Nebenprodukte

beobachtet werden, weshalb die Reaktion beendet wurde (Schema 90). Nach der säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel konnten zwei Hauptfraktionen erhalten werden. Deren Analyse mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie wies daraufhin, dass es sich bei der ersten um das eingesetzte Substrat **144** und bei der zweiten um das gewünschte Reaktionsprodukt **145** handelte. Das Hydrazid **145** konnte anhand der charakteristischen Signale der drei tieffeldverschobenen Protonen der Stickstoffe nachgewiesen werden, jedoch enthielt die Fraktion mäßige Verunreinigungen, weshalb weitere Trennungsmethoden angewandt wurden. Bei der Umkristallisation aus dem Lösungsmittelgemisch n-Hexan und Essigsäureethylester konnte eine Zersetzung des Produkts beobachtet werden, dasselbe wurde auch bei der als alternative Möglichkeit herangezogenen Umkehrphasenchromatographie an C-18 Säulenmaterial beobachtet.



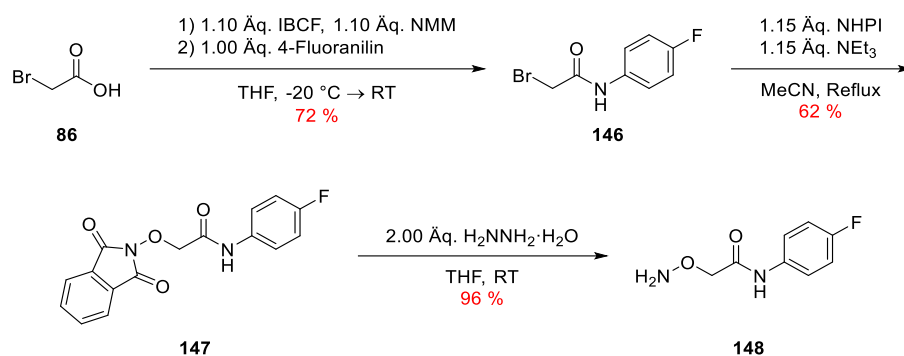
Schema 90: Reduktion des *N*-Acetylhydrazon-Strukturelements von **145**.

Aufgrund der mangelhaften Stabilität und nicht mehr vorhandenen antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität wurden weitere Versuche zur Darstellung der *KSK104-N*-Acetylhydrazon- und -Hydrazid-Analoga eingestellt.

4.2.3 Darstellung der Region C *KSK104*-Analoga

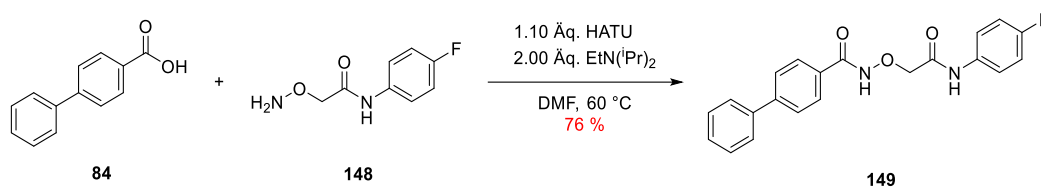
4.2.3.1 Darstellung der Region C Anilid-, Benzhydrazid-, *O*-Phenylhydroxylamin- und Phenylhydrazin-*KSK104*-Analoga

In der Publikation von KISFALUDY *et al.* wurden α -AOA-Anilid-Derivate als potente antimykobakterielle Wirkstoffe beschrieben.^[423] Daher wurde die Darstellung eines *KSK104*-Anilid-Analogons in Angriff genommen. Ausgehend von Bromessigsäure (**86**) wurde diese über die Methode des *in situ* generierten gemischten Anhydrid aktiviert und mit *para*-Fluoranilin zum α -Bromanilid **146** umgesetzt. Im Anschluss erfolgte die nucleophile Substitution mit NHPI und die Hydrazinolyse der Phthaloyl-Schutzgruppe zur Freisetzung des α -AOA-Anilids **148** (Schema 91).



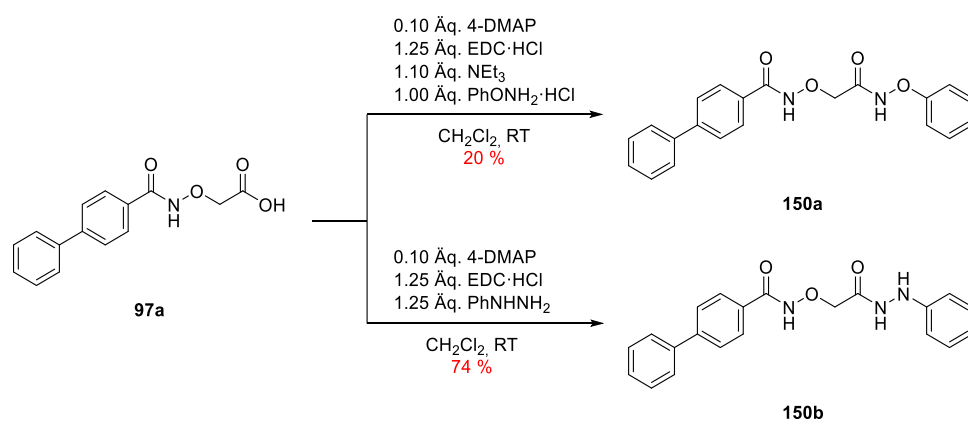
Schema 91: Darstellung des α -AOA-Anilids **148**.

Daraufhin wurden das α -AOA-Anilid **147** und die Carbonsäure **84** mit Hilfe des Peptidkupplungsreagens HATU zum *KSK104*-Anilid-Analogon **149** umgesetzt (Schema 92).



Schema 92: Darstellung des *para*-Fluoranilid-*KSK104*-Analogons **149**.

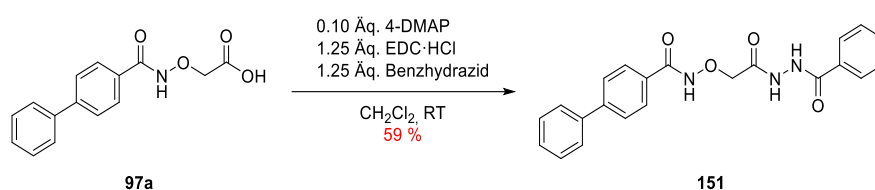
Für die weitere Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen war angedacht das Benzylxyamin-Strukturelement von *KSK104* durch eine Phenylxyamin- beziehungsweise Phenylhydrazin-Funktionalität zu ersetzen. Mit diesen Analoga könnte sowohl der Einfluss von aromatischen Substituenten am Alkoxyamid bzw. Hydrazid als auch die Kontraktion der Leitstruktur untersucht werden. Zu diesem Zwecke wurde die Carbonsäure **97a** mit *O*-Phenylhydroxylamin Hydrochlorid bzw. Phenylhydrazin mittels der Aktivierung durch EDC·HCl und 4-DMAP zu den verkürzten *KSK104*-Analoga **150a-b** umgesetzt (Schema 93).



Schema 93: Darstellung der *O*-Phenyl-Alkoxyamid- und Phenylhydrazid-*KSK104*-Analoga **150a-b**.

In den Publikationen und offengelegten Patentschriften von KISFALUDY *et al.* waren die α -AOA-Hydrazid-Derivate geringfügig aktiver als die anderen α -AOA-Substanzklassen. Daher

wurde ausgehend von der Carbonsäure **97a** und dem kommerziell erhältlichen Benzhydrazid das korrespondierende Analogon **151** synthetisiert (Schema 94).



Schema 94: Darstellung des Benzhydrazid-KSK104-Analogons **151**.

4.2.3.2 Strukturmodifikation der Region C

Ein bedeutender Aspekt für die präklinischen Strukturoptimierung der Leitstruktur *KSK104* ist die ausführliche Evaluation der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen für die sukzessive Verbesserung der antimykobakteriellen Eigenschaften. Zu diesem Zwecke sollte eine möglichst umfangreiche Substanzbibliothek von *KSK104*-Analoga dargestellt werden, welche in der Region C Struktur motive mit verschiedenen elektronischen und strukturellen Eigenschaften aufweisen. Das Strukturelement des nicht-substituierten Benzenkerns kann aufgrund der physikochemischen Eigenschaften eine geringe Wasserlöslichkeit oder nachteilige pharmakokinetische Eigenschaften wie beispielsweise ein unvorteilhaftes metabolisches Profil der Leitstruktur zur Folge haben.^[448,449] Zudem kann die Substitution des Benzens eine zusätzliche Wechselwirkung mit der biomolekularen Zielstruktur des Mykobakteriums ermöglichen sowie zu einer verbesserten metabolischen Stabilität und Wasserlöslichkeit führen. Die Derivatisierung des Benzens mit anschließender Evaluation der SAR könnte Erkenntnisse liefern, die bei der präklinischen Optimierung der Leitstruktur genutzt werden kann, um deren pharmakokinetisches und pharmakodynamisches Profil zu verbessern.

Zudem ist die Einführung der fünf- und sechsgliedrigen Heterozyklen Thiophen, Thiazol, Pyridin sowie derer Derivate, als auch substituierter Heterocyclen geplant. Das Thiophen ist ein fünfgliedriger elektronenreicher Heterozyklus mit einem schwachen Dipolmoment.^[450] In der Literatur gilt dieser aufgrund seiner vergleichbaren strukturellen und elektronischen Eigenschaften als klassischer Bioisoster des Benzens. Dabei stellt das Schwefelatom das Ringäquivalent der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung dar.^[451] Zahlreiche Publikationen wurden veröffentlicht, bei denen der bioisostere Austausch eines Benzens von biologisch aktiven Leitstrukturen durch ein Thiophen eine verbesserte biologische Aktivität oder vorteilhaftere pharmakokinetische Eigenschaften zur Folge hatten.^[450,452,453] Im Weiteren ist die Derivatisierung des Thiophens durch die Einführung des elektronenziehenden Chlor-Substituenten und in die Überführung zum stickstoffhaltigen Thiazol geplant, um Rückschlüsse auf die Veränderung der elektronischen Eigenschaften und Polarität zu erlangen. Pyridin ist der zweithäufigste stickstoffhaltige Heterocyclen in den von der FDA zugelassen

Wirkstoffen^[454] und ist zudem in zahlreichen essenziellen Sekundärmetaboliten wie Vitamin B₆ und dem Coenzym NAD vertreten ist. Aufgrund dessen schwach basischen Eigenschaft kann dieses Strukturelement in Abhängigkeit des pH-Werts zur verbesserten Wasserlöslichkeit des Wirkstoffs beitragen.^[455]

Im Weiteren sollte, der nicht-substituierte Benzenkern des Benzyloxyamids mit elektronenziehenden und elektronenschiebenden Substituenten derivatisiert werden, um den Einfluss der Elektronendichte des aromatischen Systems auf die wachstumsinhibierende Aktivität zu untersuchen. Außerdem ist geplant die Position der Substituenten zu variieren, um zusätzliche Erkenntnisse über den möglichen Einfluss von sterischen oder hydrophobischen Wechselwirkungen zum möglichen Wirkstoffziel zu erlangen.

Im Anschluss ist die Synthese von einzelnen zyklischen sowie offenkettigen aliphatischen Analoga angedacht. Bei einer vergleichbaren sterischen Raumfüllung könnten diese Rückschlüsse auf die Präsenz des π -Elektronensystems auf die Aktivität zulassen.

Zudem soll die Darstellung von Analoga mit unterschiedlichen Kettenlängen den Einfluss von Kontraktion beziehungsweise Verlängerung der Leitstruktur untersucht werden. Die Variation der Moleküllänge könnte zu einer verbesserten Wechselwirkung der einzelnen Regionen der Leitstruktur mit den funktionellen Gruppen des Wirkstoffziels führen.

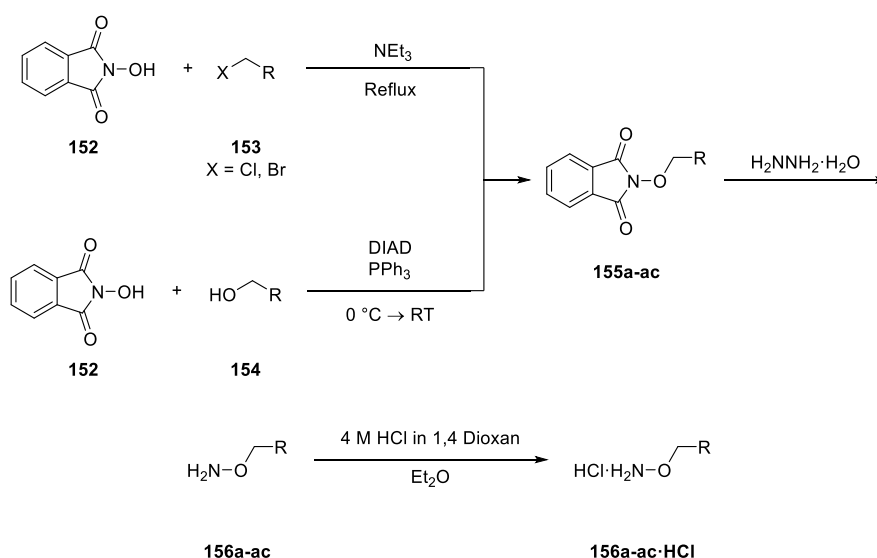
4.2.3.3 Darstellung der benötigten Hydroxylamine

Die zur Derivatisierung der Region C benötigten Hydroxylamine wurden über eine der GABRIEL-Synthese ähnlichen zweistufigen Synthesestrategie dargestellt. Eine Möglichkeit zur Darstellung der Phthaloyl-geschützten Hydroxylamine **155** bietet die nucleophile Substitution von Benzyl- und Alkylhalogeniden mit NHPI **152**. Analog zur Literaturvorschrift von PFLIEGER *et al.* wurde NHPI **152** in Acetonitril suspendiert und mit Triethylamin versetzt. Als Folge der Deprotonierung der aciden *N*-Hydroxygruppe des NHPI ($pK_s = 6.3$ bei 25 °C)^[456] verfärbte sich die Suspension intensiv rot.^[457] Nach der Zugabe des entsprechenden Benzyl- oder Alkylhalogenids **153** wurde das Reaktionsgemisch bis zur vollständigen Umsetzung zum Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsumsatz wurde mittels DC verfolgt und es konnte eine kontinuierliche Entfärbung des Reaktionsgemischs beobachtet werden. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur konnte das ausgefallene Reaktionsprodukt mittels Vakuumfiltration oder lösen in Essigsäureethylester und anschließendem erschöpfendem Waschen der organischen Phase mit wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung in analytisch reiner Form erhalten werden.^[457]

Alternativ konnten unter den getesteten Bedingungen weitere Phthaloyl-geschützte Hydroxylamine **155** nur über die MITSUNOBU-Reaktion von den entsprechenden

Benzylalkoholen **154** mit NHPI dargestellt werden. Analog zur Literaturvorschrift von ALANINE *et al.* wurde der Benzylalkohol **154**, NHPI und Triphenylphosphin in Dichlormethan vorgelegt. Unter Eiskühlung wurde Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) hinzugegeben und das Reaktionsgemisch bis zur vollständigen Umsetzung bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck konnten die Phthaloyl-geschützten Hydroxylamine **155** mittels Umkristallisation des Rohprodukts aus Ethanol in analytisch reiner Form erhalten werden.^[456]

Die Phthaloyl-geschützten Hydroxylamine **155a-ac** wurden anschließend über die ING-MANKSE-Hydrazinolyse mit Hydrazin Monohydrat freigesetzt.^[456] Analog zur Literaturvorschrift von PFLIEGER *et al.* wurde die Freisetzung aufgrund der geringen Löslichkeit der Nebenkomponente, dem cyclischen Phthalhydrazid, in Dichlormethan durchgeführt.^[457] Nach der vollständigen Umsetzung konnte die Nebenkomponente mittels Vakuumfiltration abfiltriert werden. Anschließend wurden die Hydroxylamine durch die Zugabe von 4 M Salzsäure in 1,4-Dioxan als Hydrochloride präzipitiert und mittels Vakuumfiltration abfiltriert (Schema 95).

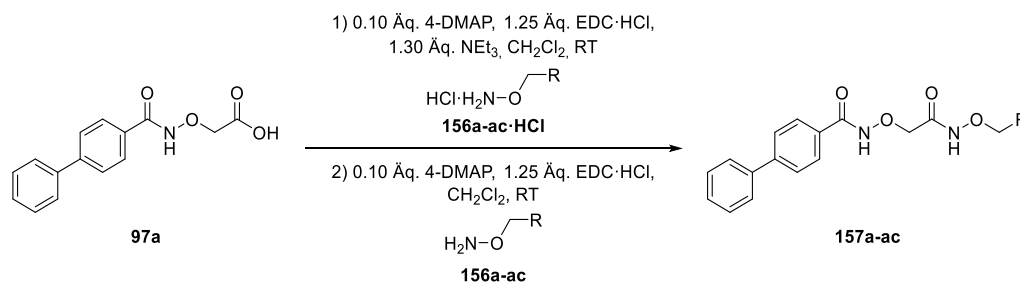


Schema 95: Darstellung von Hydroxylaminen **156a-ac** und Hydroxylamin Hydrochloriden **156a-ac·HCl** über die analoge zweistufige GABRIEL-Synthese.

4.2.3.4 Darstellung der Region C KSK104-Analoga

Die Aktivierung der Carbonsäure **97a** erfolgte mit EDC·HCl und 4-DMAP unter den Bedingungen der STEGLICH-artigen Veresterung. Die aktivierte Carbonsäure wurde anschließend mit den Hydroxylamin Hydrochloriden **156a-ac·HCl** und Triethylamin als Basenzusatz oder den freien Hydroxylaminen **156a-ac** umgesetzt. Nach 16 Stunden bei Raumtemperatur wurde bei der Aufarbeitung nicht umgesetzte Carbonsäure **97a** mit wässriger

Natriumhydrogencarbonat-Lösung und die basischen Verunreinigungen mit wässriger 10%iger Zitronensäure-Lösung ausgewaschen. Die in Region C modifizierten *KSK104*-Derivate **157a-ac** konnten mittels Umkristallisation oder säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel mit der für die biologische Evaluation erforderlichen Reinheit von >95 % erhalten werden (Schema 96).



Schema 96: Darstellung der Region C *KSK104*-Analoga **157a-ac**.

Bei der Analyse der ¹³C-NMR-Spektren von zahlreichen Region C *KSK104*-Analoga wurde festgestellt, dass bei elektronenziehenden Substituenten, exemplarisch 3,4-Difluorbenzyl- **157q**, das Signal eines *N*-Alkoxyamid-Kohlenstoffs nur wenig ausgeprägt sowie stark verbreitet war (Abbildung 15).

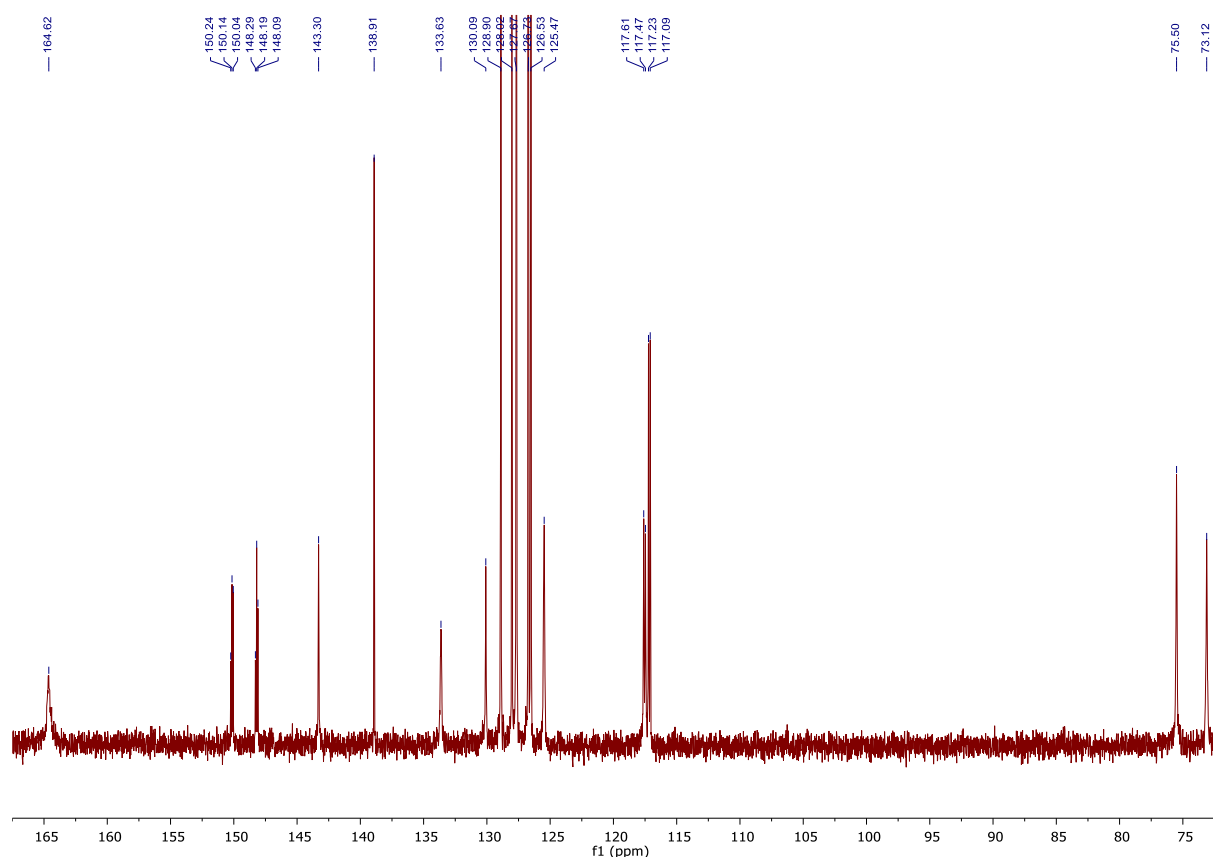


Abbildung 15: Ausschnitt des ¹³C-NMR-Spektrum (126 MHz, DMSO-*d*₆) des 3,4-Difluor-substituierten-*KSK104*-Analogons **157q**.

Selbst bei Substanzmengen von 50 mg und längeren Messzeiten von bis zu 4096 Scans konnte keine signifikant verbesserte Auflösung erzielt werden.

Zur eindeutigen Strukturauflösung wurden daher als ergänzende Analysemethoden die hochauflösende Massenspektrometrie sowie die Infrarot-Spektroskopie (IR) herangezogen. Das gefundene Masse-zu-Ladungs-Verhältnis stimmt mit dem berechneten von **157q** überein. Zudem konnten die charakteristischen Absorptionsbanden der *N*-Alkoxyamid-Carbonyl-Valenzschwingungen bei 1672 cm^{-1} und 1645 cm^{-1} sowie die breite Stickstoff-Wasserstoff-Valenzschwingung bei 3210 cm^{-1} beobachtet werden (Abbildung 16). Die Wellenzahlen der beobachteten Absorptionsbanden stimmen mit den in der Literatur angegebenen für vergleichbare Strukturelemente überein.^[458]

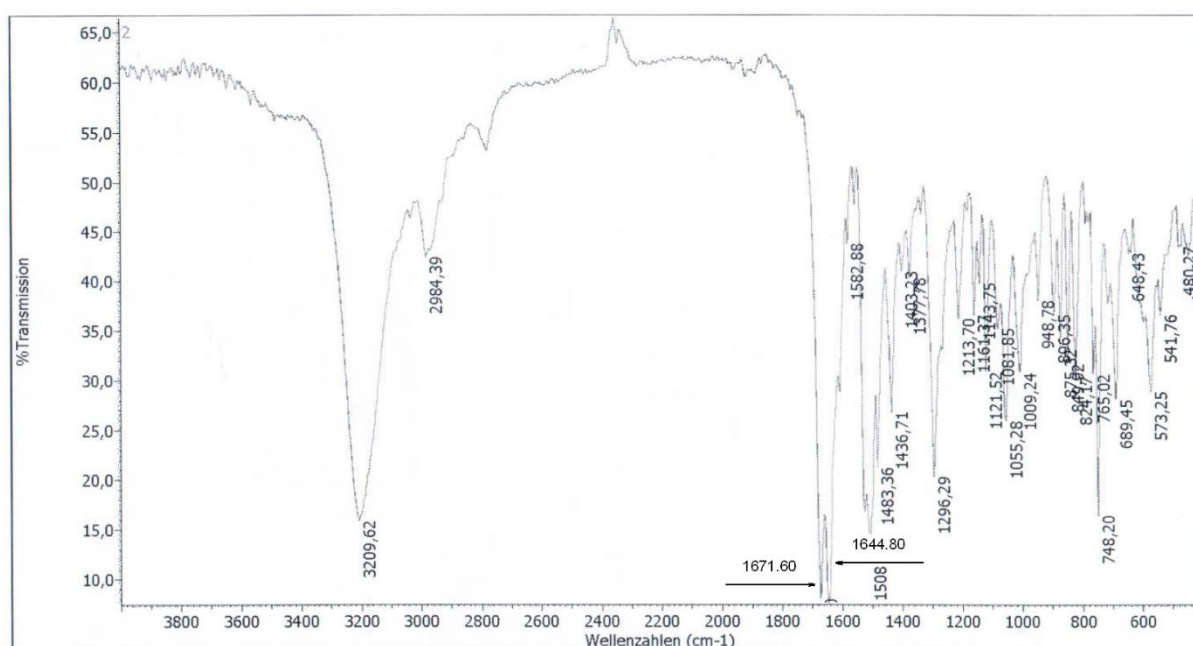


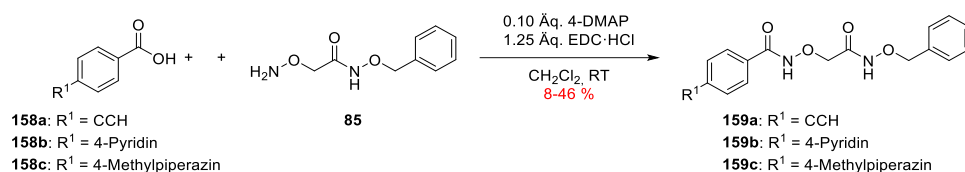
Abbildung 16: IR-Spektrum (KBr-Pressling) des 3,4-Difluor-substituierten-KSK104-Analogons **157q**.

4.2.4 Darstellung der Region A KSK104-Analoga

Die ersten Ergebnisse der biologischen Untersuchungen der von Frau Dr. KATHARINA STENZEL dargestellten Alkoxyamid-basierten Substanzen mit verschiedenen Strukturelementen in der Region A weisen darauf hin, dass für die sehr gute antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur ein Substituent in *para*-Position der Benzoyl-Gruppe bevorzugt ist.

Im Weiteren wurde versucht ein Derivat mit einer terminalen Ethinylgruppe in der Region A **159a** darzustellen, um den Prozess der Identifikation des Wirkstoffziels zu unterstützen (Kapitel 4.2.6). Der Einfluss der Derivatisierung des 4-Phenyl-Substituenten hin zum ungesättigten 4-Pyridyl-Analogon **159b** und gesättigten 4-Methylpiperazin-

Analogon **159c** stickstoffhaltigen Heterocyclen auf die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur sollte untersucht werden. Im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung wurde nach dem Prinzip der Bioisosterie der Benzenkern durch stickstoffhaltige Heterocyclen ausgetauscht. Dadurch sollten die physikochemischen Eigenschaften der Leitstruktur hinsichtlich der Hydrophilie verbessert werden. Die Strukturmodifikation der Region A erfolgte über die Aktivierung der kommerziell erhältlichen Carbonsäuren **158a-c** durch EDC·HCl und 4-DMAP mit anschließender Umsetzung mit dem Hydroxylamin **85** (Schema 97).



Schema 97: Darstellung der Region A *KSK104*-Analoga **159a-c**.

4.2.5 Bestimmung der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten der *KSK104*-Analoga

Alle der im Rahmen dieser Arbeit dargestellten *KSK104*-Analoga wurden von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. RAINER KALSCHEUER an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf am Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv untersucht.

Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen wurde mit einem Mikroubillionverdünnungs-Assay entsprechend der CLSI Richtlinien von LASSE van GEELEN durchgeführt (Kapitel 4.1.7).^[412]

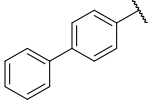
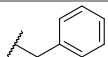
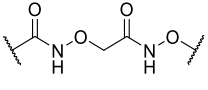
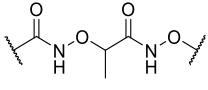
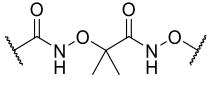
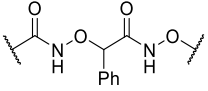
4.2.6 Antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der dargestellten *KSK104*-Analoga

4.2.6.1 Antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der in Region B modifizierten *KSK104*-Analoga

In Folge der Kettenverzweigung in der Region B durch die Einführung des Methyl-Substituenten (**125a**) kam es zu einer geringen Reduktion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität, wohingegen bei den sterisch anspruchsvolleren Dimethyl- (**125c**) und Phenyl-Substituenten (**125b**) ein Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten zu beobachten waren. Als mögliche Ursache für diese Ergebnisse kann der in Kapitel 4.2.1 diskutierte potenzielle Wirkungsmechanismus der Leitstruktur *KSK104* herangezogen werden. Demnach könnte *KSK104* ein *Prodrug* sein, welches durch die enzymatische Hydrolyse einer oder beider Alkoxyamid-Funktionalitäten durch die hypothetische Amidohydrolase, in die freie Wirkform biotransformiert wird. In Anwesenheit eines sterisch wenig anspruchsvollen Methyl-Substituenten könnte die Hydrolyse der Alkoxyamide 1 und 2 durch die Amidohydrolase

verlangsamt werden. Wohingegen die signifikant stärkere sterische Abschirmung der Alkoxyamid-Funktionalitäten durch die voluminöseren Phenyl- und Dimethyl-Substituenten die Hydrolyse dieser Strukturelemente durch die Amidohydrolase im stärkeren Umfang behindern. Dadurch kann die Amidohydrolase die kettensubstituierten *KSK104*-Analoge **125b-c** nicht mehr in die aktive Wirkform biotransferieren und der Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität begründet werden. Darüber hinaus könnten diese Substituenten möglicherweise die molekulare Konformation des Wirkstoffs beeinflussen oder essenzielle Bindungsstellen zur biomolekularen Zielstruktur abschirmen (Tabelle 17).

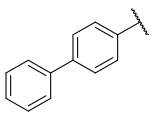
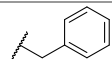
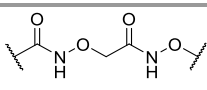
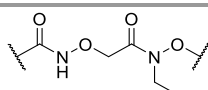
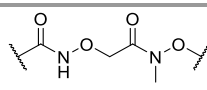
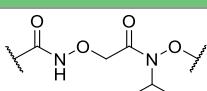
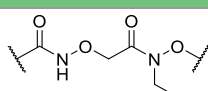
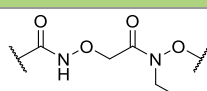
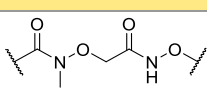
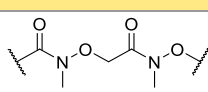
Tabelle 17: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK_{90}) der Region B *KSK104*-Analoge mit Kettenverzweigung gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

			
LEWIS-Struktur	 3a	 125a	 125c
MHK_{90} [μM]	0.096	0.78	100
LEWIS-Struktur	 125b		
MHK_{90} [μM]	100		
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM			

Die Methylierung der Stickstoffe der Alkoxyamide 1 und 2 wirkte sich im Vergleich mit *KSK104* differenziert auf die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität aus. Gut toleriert wurde die Methylierung des Alkoxyamids 2 beim Analogon **113a**, wohingegen die Methylierung des Alkoxyamids 1 zu einer signifikanten Reduktion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität des Derivats **113f** führte. Als Folge der Methylierung beider Stickstoffe des Analogons **113g** war der Verlust der biologischen Aktivität zu beobachten. Bei der Einführung von größeren Substituenten am Stickstoff des Alkoxyamids 2 konnten hingegen entgegengesetzte Veränderungen bei den biologischen Aktivitäten beobachtet werden. Im Falle des *N*-Propargyl-Analogons **113d** war dieses nur minimal weniger aktiv als die Leitstruktur, wohingegen bei den Propyl- **113c**, Isopropyl- **113e** und Ethyl-Analoga **113b** die zunehmende Reduktion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität beobachtet werden konnte (Tabelle 18). Diese Ergebnisse können zur weiteren Bekräftigung der *Prodrug*-Theorie herangezogen werden. Durch die Einführung von *N*-Alkyl-Substituenten und mit zunehmender Größe werden die

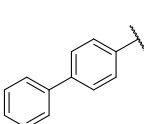
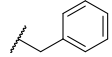
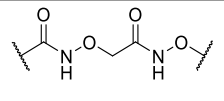
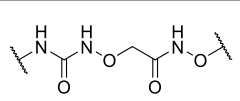
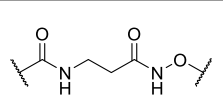
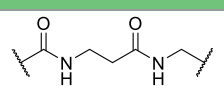
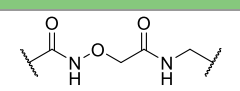
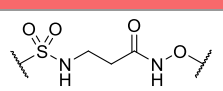
Alkoxyamid-Funktionalitäten verstärkt sterisch abgeschirmt und behindern dadurch die enzymatische Hydrolyse durch die Amidohydrolase. Die dennoch sehr gute antimykobakterielle *in vitro* Aktivität des *N*-Propargyl-Analogons **113d** könnte erklärt werden mit der geringen Flexibilität und Rotation durch die *sp*-Hybridisierung der Ethinyl-Kohlenstoffe, der geringen Anzahl an Wasserstoff-Substituenten sowie der kurzen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Dreifachbindung.

Tabelle 18: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der *N*-alkylierten *KSK104*-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

			
LEWIS-Struktur	 3a	 113d	 113a
MHK₉₀ [μM]	0.096	0.19	0.78
LEWIS-Struktur	 113e	 113c	 113b
MHK₉₀ [μM]	3.13	3.13	6.25
LEWIS-Struktur	 113f	 113g	
MHK₉₀ [μM]	6.25	100	
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM			

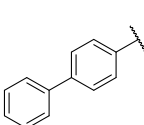
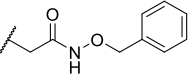
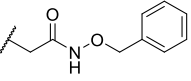
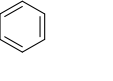


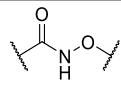
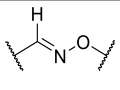
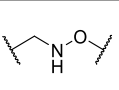
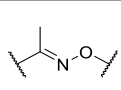
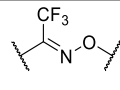
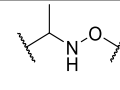
Der Austausch des Alkoxyamids **1** durch die Alkoxyharnstoff-Funktionalität (**128**) wurde gut toleriert. Wohingegen bereits die Strukturmodifikation einer der beiden Alkoxyamide **1** und **2** zu einem Carbonsäureamid (**120a-c**) oder Sulfonsäureamid (**130**) zum Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität führte (Tabelle 19). Mit diesen Messergebnissen kann erneut die *Prodrug*-Theorie bekräftigt werden. Die Abwesenheit der *N*-Alkoxy-Substituenten kann die elektronischen Eigenschaften in diesem Strukturelement verändern und dadurch die mögliche enzymatische Hydrolyse durch die Amidohydrolase beeinflussen. Im Weiteren könnte die Anwesenheit beider Alkoxy-Sauerstoffe für die Interaktionen mit der biomolekularen Zielstruktur des Mykobakteriums wichtig sein.

Tabelle 19: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der KSK104-Analoga mit Strukturmodifikation der Alkoxyamide 1 und 2 gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

			
LEWIS-Struktur	 3a	 128	 120a
MHK ₉₀ [μM]	0.096	0.39	100
LEWIS-Struktur	 120b	 120c	 130
MHK ₉₀ [μM]	100	100	100
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM			

Bei der Strukturmodifikation des Alkoxyamids 1 durch Oximether-Strukturen oder *O,N*-Dialkylhydroxylamine wurde eine signifikante Reduktion bis hin zum Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität beobachtet. Lediglich das Aldoxim-Analogon **133a** sowie dessen reduziertes Derivat **138a** wiesen noch eine gute bis moderate wachstumsinhibierende Aktivität auf. Eine mögliche Erklärung könnte, in der nicht sterisch abgeschirmten Doppelbindung des Aldoxims liegen, welche im geringen Umfang die freien Elektronenpaare des Carbonylsauerstoffs imitieren kann. Diese könnte bei den Ketoxim- und Trifluormethyloxim-Analoga **133b-c** zu stark abgeschirmt sein. Dies lässt darauf schließen, dass nach bisherigem Kenntnisstand an dieser Stelle eine hohe Elektronendichte in Form eines Carbonylsauerstoffs oder einer nicht abgeschirmten Doppelbindung für die Aktivität vorteilhaft ist (Tabelle 20).

Tabelle 20: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der KSK104-Analoga mit Strukturmodifikationen des Alkoxyamids 1 gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

						
LEWIS-Struktur	 3a	 133a	 138a	 133b	 133c	 138b
MHK ₉₀ [μM]	0.096	3.13	25	100	100	100
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM						

4.2.6.2 Antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der in Region C modifizierten *KSK104*-Analoga

In der Region C wurden die Strukturelemente des O-Phenylhydroxylamins (**150a**) und *para*-Fluor-Anilids (**149**) gut toleriert. Dahingegen wurde bei den Hydrazid- **151**, Phenylhydrazid- **150b** und Hydrazon-Analogen **144** eine signifikante Reduktion bis hin zum Verlust der biologischen Aktivität beobachtet (Tabelle 21).

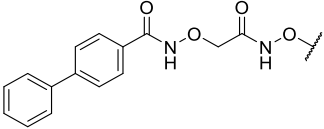
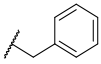
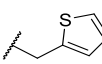
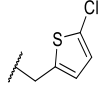
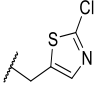
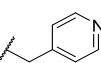
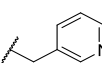
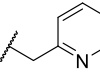
Tabelle 21: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der Region C *KSK104*-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

LEWIS-Struktur	 3a	 150a	 149	 151
MHK₉₀ [µM]	0.096	0.78	0.78	6.25
LEWIS-Struktur	 150b	 144		
MHK₉₀ [µM]	25	100		
	n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 µM			

Bei der Analyse der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen zeigte sich, dass in der Region C der bioisostere Austausch des Benzens durch Thiophen und 2-Chlorthiophen bei den Wirkstoff-Analoga **157a-b** sehr gut toleriert wurde. Die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität dieser Wirkstoffderivate ist vergleichbar mit der des etablierten Antituberkulotikums RIF (MHK₉₀ = 0.19 µM). Ebenfalls sehr aktiv waren das 2-Chlorthiazol-Analogen **157c** und die in 3- und 4-Position Pyridin-Analoga **157d-e**. Eine weitere Reduktion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität konnte dahingegen bei dem 2-Pyridyl-Analogen **157f** beobachtet werden. Die eingesetzten Heterocyclen sowie substituierten Heterocyclen wurden in der präklinischen Wirkstoffforschung vielfach eingesetzt um die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften von Wirkstoffkandidaten gezielt zu optimieren (Kapitel 4.2.3). Die guten bis sehr guten antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten der heterocyclischen *KSK104*-Analoga **157a-f** sowie die attestierten vorteilhaften Eigenschaften dieser heterocyclischen Struktur motive gegenüber eines nicht substituierten Benzens,

könnten die Leitstruktur in Bezug auf deren metabolische Stabilität (2-Chlorthiophen) und Wasserlöslichkeit (Pyridin) positiv beeinflussen (Tabelle 22).

Tabelle 22: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der heterozyklischen Region C KSK104-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

				
LEWIS-Struktur	 3a	 157a	 157b	 157c
MHK ₉₀ [μM]	0.096	0.19	0.39	0.78
LEWIS-Struktur	 157d	 157e	 157f	
MHK ₉₀ [μM]	0.78	0.78	1.56	
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM				

Bei den in der Region C in *para*-Position substituierten Benzen-Analoga **157g-p** konnten durch die Einführung elektronisch und sterisch verschiedener Substituenten lediglich geringe Tendenzen der veränderten physikochemischen Eigenschaften dieses Strukturmotivs auf die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Region C Analoga abgeleitet werden. Sowohl bei dem elektronenziehenden Brom-Substituenten im Analogon **157g** als auch bei dem Wirkstoffderivat **157h** mit einem elektronenschiebenden Methoxy-Substituenten oder sich im Volumen stark differenzierende Fluor- **157j** und Iod-Analoga **157l** wurden sehr ähnliche antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten beobachtet (Tabelle 23). Die in *para*-Position substituierten Analoga **157g-h** zeigten weiterhin eine sehr gute Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv und in Anbetracht der unvorteilhaften Eigenschaften von nicht substituierten Benzen-Strukturmotiven auf die pharmakokinetischen Parameter der ADME eines Wirkstoffkandidaten, könnten diese Analoga verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften aufweisen.^[459] Um die genauen Einflüsse auf diese Parameter zu bestimmen bedarf es jedoch weiterer Untersuchungen.

Tabelle 23: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der Region C KSK104-Analoga mit Substituenten in *para*-Position gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

LEWIS-Struktur				
MHK ₉₀ [μM]	0.096	0.78	0.78	0.78
LEWIS-Struktur				
MHK ₉₀ [μM]	1.56	1.56	1.56	3.13
LEWIS-Struktur				
MHK ₉₀ [μM]	6.25	100	100	
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM				

Ein vergleichbares Verhalten konnte bei den in der Region C di-substituierten Benzen-Analoga **157q-w** beobachtet werden. Das Muster der 3,4-Substitution des Analogons **157q** war allen anderen Substitutionsmustern überlegen. Mit der Zunahme des sterischen und elektronischen Anspruchs der Substituenten in 2,4-Position des Derivats **157w** konnte der Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität beobachtet werden (Tabelle 24).

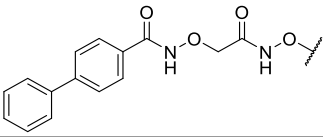



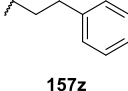
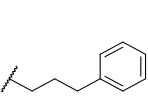
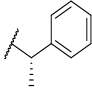
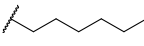
Tabelle 24: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der Region C KSK104-Analoga mit mono- und di-Substitutionsmustern gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

LEWIS-Struktur				
MHK ₉₀ [μM]	0.096	0.78	1.56	1.56
LEWIS-Struktur				
MHK ₉₀ [μM]	1.56	3.13	6.25	100

n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM

In der Region C wurden ebenfalls die kompakten aliphatischen Strukturelemente (**157x-y**) gut toleriert. Mit zunehmender Verlängerung (**157z**) und (**157aa**) der Leitstruktur nahm die biologische Aktivität geringfügig ab. Die Einführung einer flexiblen aliphatischen Kohlenstoffkette (**157ac**) führte zur Reduktion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität. Zusätzlich führte die Einführung eines Methyl-Substituenten in der Nähe des Alkoxyamids 2 im Analogon **157ab** zu einer Reduktion der biologischen Aktivität, welche auf eine mögliche sterische Abschirmung dieser funktionellen Gruppe zurückzuführen sein könnte und dadurch dessen enzymatische Bioaktivierung durch die mykobakterielle Amidohydrolase behindern könnte (Tabelle 25).

Tabelle 25: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK_{90}) der Region C *KSK104*-Analoga gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

				
LEWIS-Struktur	 3a	 157x	 157y	 157z
MHK₉₀ [μM]	0.096	0.78	0.78	0.78
LEWIS-Struktur	 157aa	 157ab	 157ac	
MHK₉₀ [μM]	1.56	1.56	3.13	
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 μM				

Der geringe Einfluss auf die biologische Aktivität, in Anbetracht der stark verschiedenen Eigenschaften der Struktur motive in der Region C bei den Analogia **157g-l/q-r/x-z** könnte die *Prodrug*-Theorie weiter bekräftigen. So könnte die Biotransformation des *Prodrugs* in die freie Wirkform durch die durchgeführten Strukturmodifikation in der Region C zumeist nur im geringen Umfang beeinflusst worden sein. Dies könnte darauf hinweisen, dass diese Partialstruktur nur wenig mit dem aktiven Zentrum der Amidohydrolase interagiert oder außerhalb von diesem liegt. Deswegen üben die strukturellen Veränderungen einen geringen Einfluss auf die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität aus.

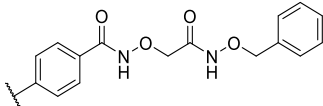




Sollte es sich bei *KSK104* nicht um ein *Prodrug* handeln, konnte aus diesen Ergebnissen abgeleitet werden, dass dieses Strukturelement vermutlich keine wesentlichen Interaktionen

mit der biomolekularen Zielstruktur des Mykobakteriums ausbildet, da die eingeführten Struktur motive nur geringe Auswirkungen auf die biologischen Aktivitäten hatten.

4.2.6.3 Antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der in Region A modifizierten *KSK104*-Analoge

Der isostere Austausch des *para*-Benzen-Substituenten der Region A durch ein 4-Pyridyl-Substituenten (**159b**) führte zu einer signifikanten Reduktion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität und wurde weniger gut toleriert als der bioisostere Austausch des Benzens in der Region C gegen Pyridin (**157d-f**). Wohingegen der Austausch gegen die kleine Ethinylgruppe (**159a**) zu einer weiteren Reduktion und beim gesättigten Heterozyklus 4-Methylpiperazin (**159c**) zum Verlust der biologischen Aktivität führte (Tabelle 26).

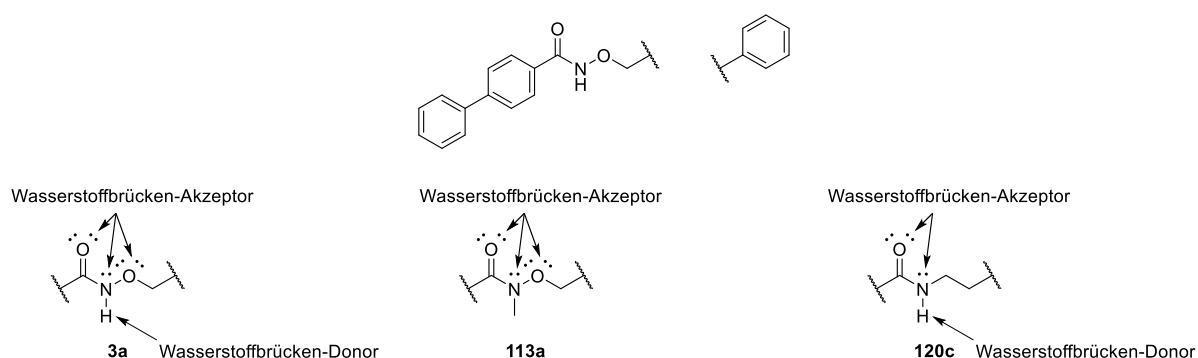
Tabelle 26: Minimale Hemmkonzentrationen (MHK₉₀) der Region A *KSK104*-Analoge gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv.

				
LEWIS-Struktur	 3a	 159b	 159a	 159c
MHK ₉₀ [µM]	0.096	3.13	12.5	100
n = 3; Verdünnungsstufen: 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.096 µM				

4.2.6.4 Diskussion der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der *KSK104*-Analoge

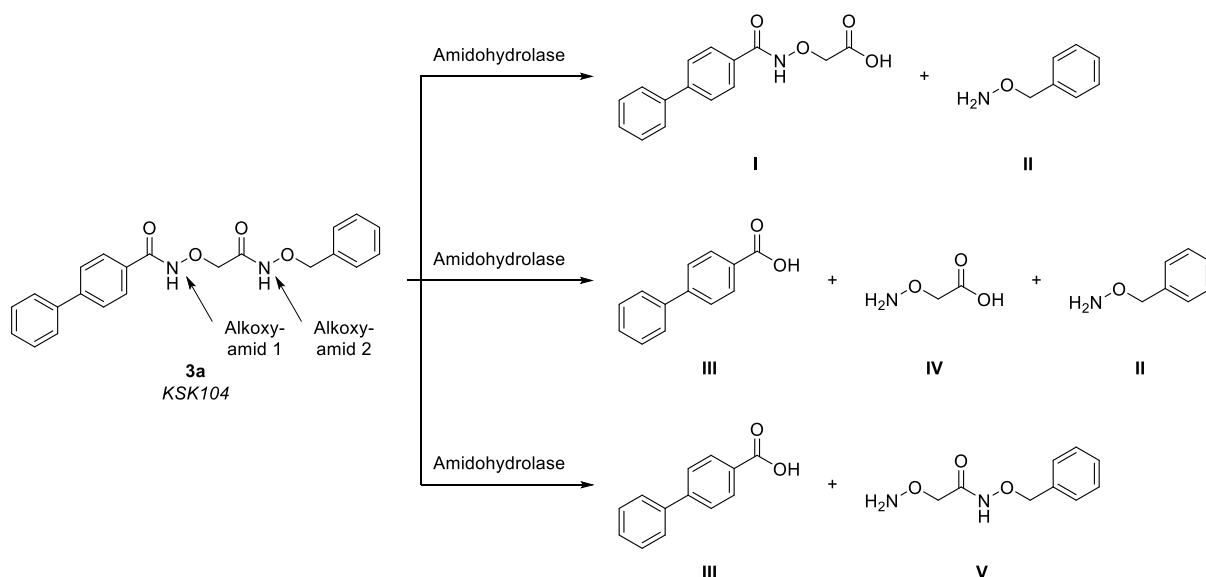
Mit den Ergebnissen der durchgeführten Strukturmodifikationen lässt sich die Bedeutung der Alkoxyamide 1 und 2 für die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur *KSK104* diskutieren. Diese könnten als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren und -Donoren Wasserstoffbrückenbindungen zur biomolekularen Zielstruktur ausbilden. Da das *N*-methylierte Alkoxyamid-Analogon **113a** weiterhin eine sehr gute biologische Aktivität aufwies, kann der Stickstoff des Alkoxyamids 2 wahrscheinlich als Wasserstoffbrücken-Donor ausgeschlossen werden. Dahingegen führte die Methylierung des Stickstoffs des Alkoxyamids 1 beim Derivat **113f** zu einer signifikanten Reduktion der antimykobakterielle *in vitro* Aktivität, weshalb dieser mit der biomolekularen Zielstruktur bevorzugte intermolekulare Wechselwirkungen eingehen könnte. Die Strukturmodifikation der Alkoxyamide 1 und 2 durch die dargestellten Amid-Analoge **120a-c** führte zum Verlust der biologischen Aktivität, weshalb die Funktion der Carbonylsauerstoffe als bevorzugte Wasserstoffbrückenakzeptoren

hinterfragt werden kann. Somit würden lediglich die Alkoxy-Sauerstoffe, der beiden Alkoxyamid-Funktionalitäten, Wechselwirkungen mit der biomolekularen Zielstruktur eingehen, deren Abwesenheit zum Verlust der biologischen Aktivität führt (Schema 98).



Schema 98: Mögliche Bindungsrollen der Alkoxyamid-, Amid- und *N*-methylierten Alkoxyamid-Strukturelemente in Position des Alkoxyamids 2 als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren und -Donoren.

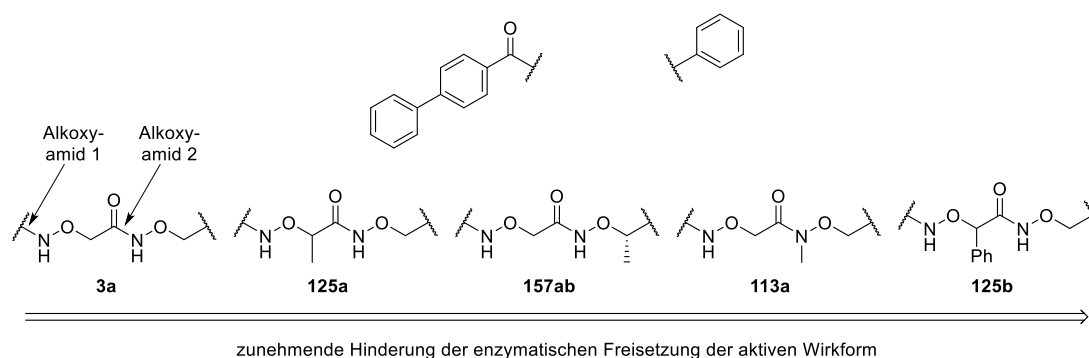
Alternativ kann versucht werden, die Rolle der Alkoxyamide 1 und 2 mit der *Prodrug*-Theorie zu erklären. Demnach könnten diese Strukturelemente von der hypothetischen Amidohydrolase enzymatisch hydrolysiert werden und eines der Hydrolyseprodukte **I-V** die Wirkform darstellen. In Abwesenheit der *N*-Alkoxy-Sauerstoffe könnte die Substrataffinität der Amidohydrolase gegenüber den Amid-Analoga **120a-c** reduziert und dadurch die Biotransformation des *Prodrugs* nicht mehr möglich sein (Schema 99).



Schema 99: Mögliche enzymatische Hydrolyse einer oder beider Alkoxyamid-Funktionalitäten durch die mykobakterielle Amidohydrolase und die Freisetzung der vermutlichen Hydrolyseprodukte **I-V**.

Ebenfalls bekräftigen die Ergebnisse der *N*-alkylierten und in Region B kettensubstituierten Analoga die Theorie, dass es sich bei *KSK104* (**3a**) um ein *Prodrug* handeln könnte. Die Anwesenheit von voluminösen Strukturmotiven bei den *N*-alkylierten Alkoxyamiden 1 und 2 (**113a-g**), der in Region B kettensubstituierten-Analoga **125a-c** und dem in Region C

substituierten Benzyloxyamid-Analogen **157ab** könnten die benachbarten Alkoxyamide 1 und 2 sterisch abschirmen und dadurch die enzymatische Hydrolyse durch die Amidohydrolase behindern. In der Folge wird die Freisetzung der aktiven Wirkform von *KSK104* verlangsamt oder verhindert (Schema 100).



Schema 100: Mögliche Erklärung für die Abnahme der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität des *N*-methylierten Alkoxyamids 2 (**113a**), des in Region B kettensubstituierten-Analogs **125a** und in der Region C substituierten Benzyloxyamid-Derivats **157ab** durch die zunehmende sterische Abschirmung der beiden Alkoxyamid-Funktionalitäten.

Ferner kann die reduzierte antimykobakterielle *in vitro* Aktivität, der in Region B kettensubstituierten und *N*-alkylierten Alkoxyamide 1 und 2 Analoga, jedoch auch das Resultat der Abschirmung von wesentlichen Bindungspartnern oder der sterischen Hinderung der Leitstruktur zur Bindungsstelle der biomolekularen Zielstruktur des Mykobakteriums sein. Zudem konnte in der Literatur gezeigt werden, dass die Einführung von Methyl-Substituenten in der räumlichen Nähe von Amid-Funktionalitäten die metabolische Stabilität der Wirkstoffkandidaten signifikant verbesserten.^[441] Der Einfluss dieser Strukturmodifikationen auf die enzymatische Hydrolyse der Alkoxyamide 1 und 2 durch die mykobakteriellen Amidohydrolase müsste in einem Enzymaktivitäts-Assay untersucht werden. An dessen Etablierung und Validierung arbeiten unsere Kooperationspartner der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. RAINER KALSCHUEER.

4.2.7 Darstellung von chemischen Sonden zur Lokalisierung und Identifikation des Wirkstoffziels

Beim klassischen Ansatz der Erforschung und Entwicklung neuer antibakterieller Wirkstoffe werden natürliche, chemische, semi-synthetische Substanzen oder Rohextrakte auf deren biologische Aktivität in Organismus- oder Zell-basierten phänotypischen Assays untersucht.^[460] Nachdem eine Substanz mit vielversprechenden antibakteriellen Eigenschaften entdeckt wurde, stehen die Aufklärung des Wirkstoffziels und Wirkungsmechanismus, welche zur phänotypischen Veränderung des Organismus geführt haben, an zentraler Stelle der

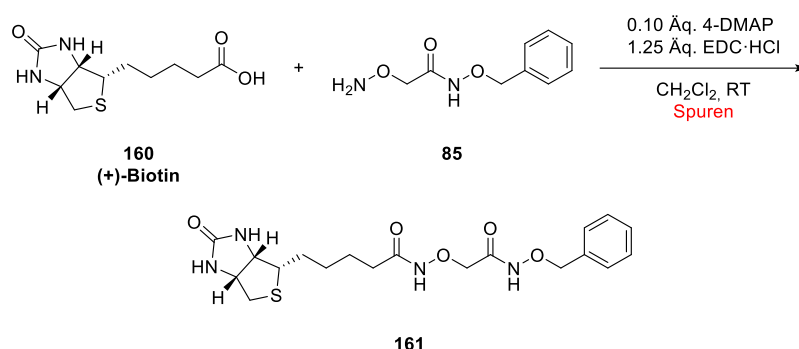
präklinischen Wirkstoffforschung.^[461] Daher wird dieser Ansatz *phänotypische Wirkstoffentdeckung* genannt.^[460]

Die phänotypische Veränderung der Zellen oder Organismen, wie beispielsweise einem bakteriellen Pathogen, kann die Folge der Interaktion des Wirkstoffs mit einem einzelnen Wirkstoffziel oder der Wechselwirkung des Wirkstoffs mit verschiedenen Biomolekülen sein. Daher ist die Identifikation des Wirkstoffziels und Wirkungsmechanismus ein essenzieller Prozess für die nachfolgende präklinische Optimierung der Leitstruktur, um unerwünschte Nebenwirkungen zu minimieren und die Selektivität des Wirkstoffs zu verbessern. Gängige Methoden der Wirkstoffziel-Identifikation basieren auf genetischen Wechselwirkungen, biochemischen Arbeitsmethoden und computergestützten Berechnungen.^[461]

Eine klassische und weit verbreitete Methode zur Identifikation von Wirkstoffzielen ist die Affinitätschromatographie von Wirkstoffsonden. Bei diesem Verfahren werden Strukturelemente oder funktionelle Gruppen des Wirkstoffs mit Affinitätsmarkierungen, wie beispielsweise (+)-Biotin, oder Festphasenmatrices verknüpft. Die markierten Wirkstoffe werden mit den Protein-Extrakten inkubiert und als Folge der spezifischen Wechselwirkung der chemischen Sonde mit der biomolekularen Zielstruktur interagiert die Wirkstoffsonde mit dem Wirkstoffziel stärker als mit anderen Biomolekülen. Während der Inkubation bilden sich Wirkstoffsonden-Biomolekül-Komplexe aus. Diese können aufgrund der Immobilisierung an Festphasenmatrices oder durch die Zugabe von Hilfsstoffen, welche mit der Affinitätsmarkierung wechselwirken, aus dem Extrakt gezielt entfernt werden. Danach können die schwach gebundenen Biomoleküle ausgewaschen und im nächsten Waschschrift das stärker gebundene Wirkstoffziel mit einem Überschuss an freiem Wirkstoff oder mittels Denaturierung eluiert werden. Die erhaltende Proteinfraction kann mit den gängigen Methoden der Proteinanalytik wie der SDS-PAGE und Identifizierung der Proteinbanden mittels Massenspektrometrie analysiert werden.^[462]

Die Proteine Avidin und Streptavidin weisen eine stark ausgeprägte Affinität gegenüber Biotin auf und präferieren zur Ausbildung stabiler, nicht-kovalent gebundener (Strept)Avidin-Biotin Komplexe. Avidin und Streptavidin können auf biokompatiblen Agarose- oder Resin-Trägermaterialien immobilisiert werden.^[463,464] Nach der Inkubation des biotinylierten Wirkstoffs mit dem Protein-Extrakt wird das immobilisierte (Strept)Avidin dem Medium hinzugegeben. Diese bilden stabile Komplexe mit der Biotin-Affinitätsmarkierung des Wirkstoff-Zielprotein-Komplexes aus und ermöglichen anschließend deren gezielte Entfernung aus dem Medium.^[464] Um den Prozess der Identifikation des Wirkstoffziels der Leitstruktur *KSK104* in der Arbeitsgruppe unseres Kooperationspartners Prof. Dr. RAINER KALSCHEUER

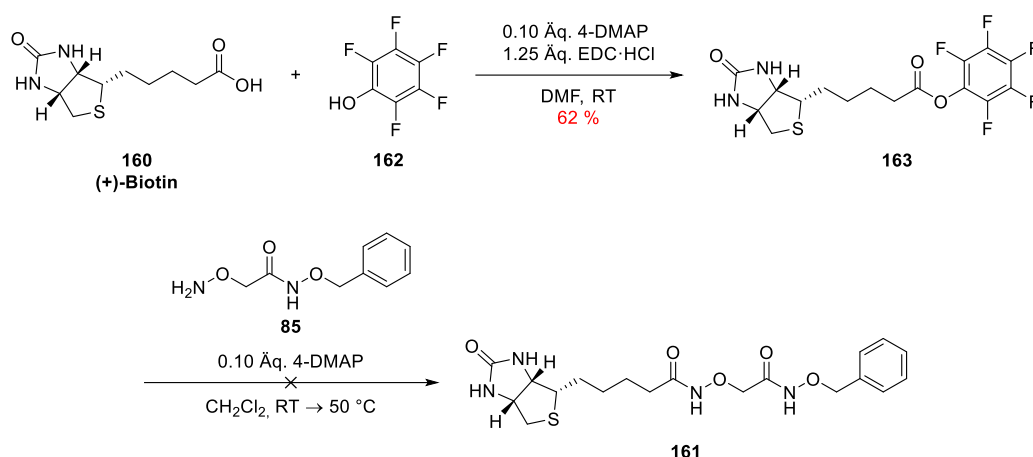
an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf am Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie zu unterstützen, wurde die Darstellung von biotinylierten *KSK104*-Analoga geplant. Zunächst wurde versucht ausgehend von (+)-Biotin (**160**) und dem Hydroxylamin **85** unter Einsatz von EDC·HCl mit 4-DMAP das biotinylierte *KSK104*-Analogon **161** darzustellen. Die Kupplungsreaktion lieferte ein komplexes Produktgemisch und bei der anschließenden säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel konnte das gewünschte Reaktionsprodukt nur in Spuren mit moderaten Verunreinigungen erhalten werden (Schema 101).



Schema 101: Versuchte Darstellung des biotinylierten *KSK104*-Analogons **161**.

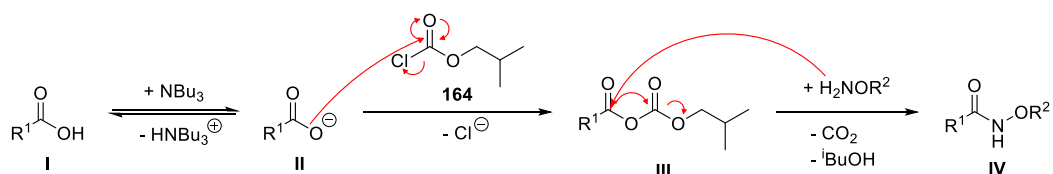
Wenn die direkte Peptidkupplung von Carbonsäuren mit Aminen mittels Kupplungsreagenzien aus diversen Gründen nicht möglich ist, kann diese mit einer alternativen Möglichkeit in einem indirekten Verfahren über die vorherige Darstellung eines Aktivesters erfolgen. Bei dieser Methode wird zunächst die Carbonsäure mit einem Peptidkupplungsreagenz in einen Aktivester, häufig Pentafluorphenol (PFP)- oder *para*-Nitrophenol (PNP)-Ester, überführt. Aufgrund der elektronenziehenden Substituenten des Phenols sind diese sehr gute Abgangsgruppen und können in einer milden Aminolyse beziehungsweise Hydroxylaminolyse von den entsprechenden Nucleophilen substituiert werden.^[465,466]

Daher wurde in einer zweiten Synthesestrategie zunächst das (+)-Biotin (**160**) mit PFP **162** unter den Bedingungen der STEGLICH-artigen Veresterung zum (+)-Biotin-PFP-Ester **163** umgesetzt und anschließend dessen Hydroxylaminolyse mit dem Hydroxylamin **85** erprobt. Zu Beginn wurde die Reaktion bei Raumtemperatur durchgeführt, da nach 8 Stunden keine Umsetzung beobachtet werden konnte wurde der Ansatz auf 50 °C erwärmt, welches zu einer sukzessiven Zersetzung der Substrate führte (Schema 102).



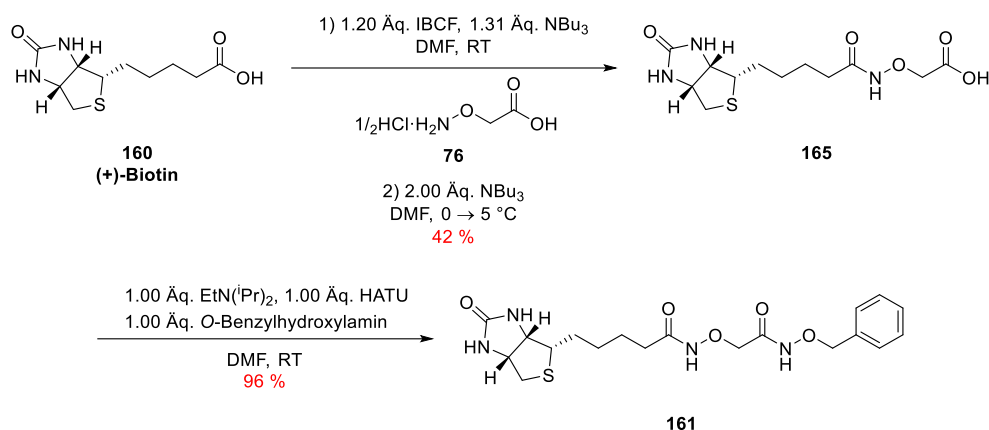
Schema 102: Versuchte Darstellung des biotinylierten *KSK104*-Analogons **161** über den (+)-Biotin-PFP-Ester **163**.

Eine weitere Möglichkeit zur Aktivierung von Carbonsäuren kann über *in situ* generierte reaktive Carbonsäure-Derivate und die nachfolgende Zugabe des Nucleophiles erfolgen. In der Peptidsynthese ist eine gängige Methode der Amidkupplung die Ausbildung von gemischten Anhydriden über die Umsetzung von Carbonsäuren mit IBCF und tertiären Alkylaminen. Im ersten Schritt findet die BRØNSTED-Säure-Base-Reaktion zwischen der Carbonsäure **I** und dem basischen Amin statt. Das entstandene Carboxylat-Anion **II** greift nucleophil am Carbonylkohlenstoff des IBCF **164** an und aus dem ablaufenden Additions-Eliminierungs-Mechanismus (S_N2t) resultiert das reaktive gemischte Anhydrid **III**. Nach der vollständigen Umsetzung der Carbonsäure wird das Nucleophil hinzugegeben, dieses greift den Carbonylkohlenstoff der aktivierten Carbonsäure an und in der ablaufenden S_N2t kommt es zur Ausbildung des Carbonsäure(alkoxy)amids **IV** sowie zur irreversiblen Freisetzung von Kohlenstoffdioxid und Isobutanol (Schema 103).^[467]



Schema 103: Reaktionsmechanismus zur Aktivierung von Carbonsäuren **I** mittels IBCF **164** unter BRØNSTED-basischen Reaktionsbedingungen. Adaptiert nach SHENDAGE *et al.*^[467]

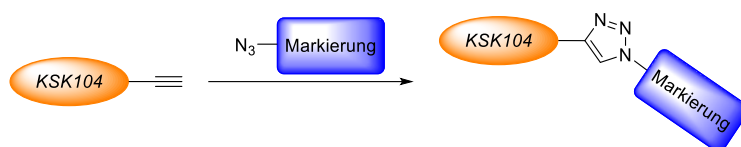
Analog zur Arbeitsvorschrift von SKANDER *et al.* wurde das (+)-Biotin (**160**) mit IBCF sowie Tributylamin in das reaktive (+)-Biotinisobutylanhydrid überführt und mit Aminoxyessigsäure als Nucleophil abgefangen.^[468] Im Anschluss erfolgte die Aktivierung der Carbonsäure **165** mit HATU und die Umsetzung mit *O*-Benzylhydroxylamin um das biotinylierte-Analogon **161** dazustellen (Schema 104).



Schema 104: Darstellung des biotinylierten *KSK104*-Analogons **161**.

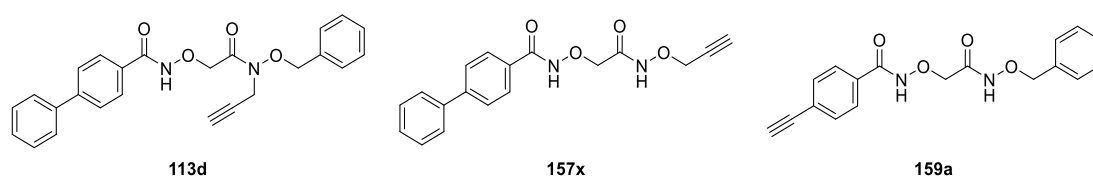
Das biotinylierte *KSK104*-Analogon **161** wies in der Ganzzell-basierten biologischen Testung keine antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber *M. tb.* ($\text{MHK}_{90} = >100 \mu\text{M}$) auf. Aufgrund der strukturellen Modifikation könnten die Ursachen hierfür in einer reduzierten Zellwandpermeabilität, einer gehinderten Interaktion mit dem Wirkstoffziel oder Wechselwirkung und metabolische Wechselwirkung durch andere Enzyme beziehungsweise eine Kombination aus mehreren Effekten liegen. Die Einführung einer verbrückenden Polyethylenglykol-Einheit zwischen dem Grundgerüst der Leitstruktur und der Affinitätsmarkierung könnte zu einer Reduktion dieser Effekte führen und dadurch die Anbindung der chemischen Sonde an das Wirkstoffziel ermöglichen. Hierfür bietet sich das Biotin-PEG₃-Azid, welches mit Hilfe einer 1,3-dipolaren Cycloaddition, kovalent mit einer terminalen Ethinylgruppe der Leitstruktur verknüpft werden könnte.

Diese Methode zur Identifikation und Lokalisierung von Wirkstoffzielen basiert auf dem Verfahren der (bio)orthogonalen chemischen Reaktionen.^[464] Bei diesen handelt es sich um Reaktionen, welche unter physiologischen Bedingungen schnell und spezifisch ablaufen, ohne dabei mit den biologischen Prozessen des Organismus oder der Zelle zu interferieren.^[469] Exemplarisch für diese orthogonale Reaktionsführung sind die 1,3-dipolaren Cycloadditionen (*Click*-Reaktionen) wie die HUISGEN-Reaktion von organischen Aziden mit einer terminalen Ethinylgruppe zu 1,2,3-Triazolen.^[464,470] Für dieses Prinzip werden Analoga des Wirkstoffs mit einem Azid oder terminalen Ethinylgruppe als Strukturelement dargestellt und nach der Inkubation im Organismus oder Protein-Extrakt mit einer Affinitäts- oder Fluoreszenz-Markierung mit der komplementären funktionellen Gruppe zur Reaktion gebracht. Als Folge der kovalenten Verknüpfung zwischen der Markierung mit dem Wirkstoff-Biomolekül-Komplex kann das Wirkstoffziel nach dem Reinigungsprozess mittels Affinitätschromatographie oder spektroskopische Methoden identifiziert werden (Schema 105).^[464]



Schema 105: (Bio)orthogonale HUISGEN-Reaktion eines terminalen Ethynyl-KSK104-Analogons mit einer Azid-Affinitäts- oder Fluoreszenz-Markierung.

Daher wurden *KSK104*-Analoge mit terminalen Ethynylgruppen dargestellt (Kapitel 4.2.2.2, 4.2.3.4 und 4.2.4) um diese anschließend mit der Affinitätsmarkierung Biotin-PEG₃-Azid in einer 1,3-dipolaren Cycloaddition zu kovalent verknüpften chemischen Sonden umzusetzen (Schema 106).

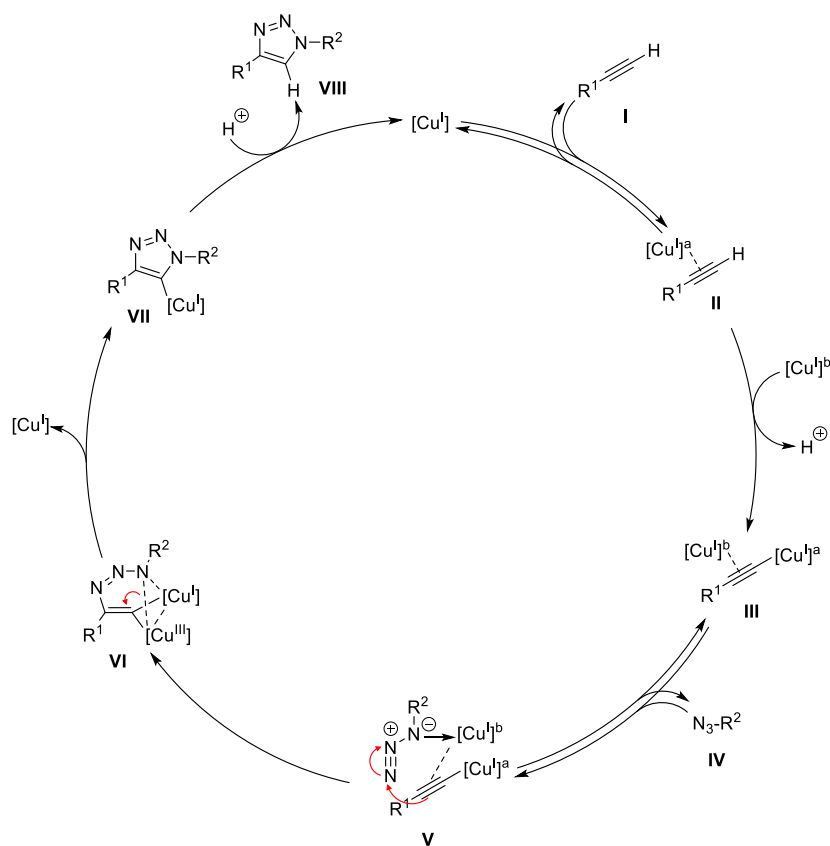


Schema 106: Dargestellte *KSK104*-Analoge **113d**, **157x** und **159a** mit terminalen Ethynylgruppen für die (bio)orthogonale Markierung mit Fluorophoren und Affinitätsstrukturen.

Bei der 1,3-dipolaren Cycloaddition reagiert eine terminale Ethynylgruppe mit einem organischen Azid zu einem 1,2,3-Triazol. Diese Reaktion verläuft jedoch selbst bei hohen Drücken oder Temperaturen langsam, zudem entsteht ein Produktgemisch zweier Regioisomere. In Anwesenheit von Kupfer(I)-Kationen findet die Reaktion bereits bei Raumtemperatur sehr schnell statt, durch die Zugabe von Liganden kann diese weiter beschleunigt werden, und es wird selektiv das 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazol gebildet. Daher wird diese als Kupfer-katalysierte Azid-Alkin 1,3-dipolare Cycloaddition (CuAAC) bezeichnet und findet in diversen Fachgebieten der organischen Chemie breite Anwendung.^[469] Weitere Vorteile liegen im reaktionsträgen Verhalten von terminalen Ethynylgruppen und organischen Aziden gegenüber zahlreichen funktionellen Gruppen, sodass die CuAAC im wässrigen Medium durchgeführt werden kann.^[470] Jedoch wird der Einsatz der CuAAC durch die Toxizität von Kupfer(I)-Kationen gegenüber Organismen eingeschränkt, daher müssen diese zuvor mit einer wässrigen Dinatriummethyldiamintetraacetat (EDTA-Na₂)-Lösung ausgewaschen werden.^[469] Die gereinigten chemischen Sonden können im Anschluss mit einem Proteinlysate oder *M. tb.*-Zellkulturen inkubiert werden.

Der Katalysezyklus der CuAAC beginnt mit der π -Koordination des ersten Cu(I)-Zentrums an die Dreifachbindung des Alkins **I**. In der Folge wird die Acidität des sp-hybridisierten Kohlenstoffs signifikant erhöht. Es folgt die Deprotonierung des Alkins **II** und mit der Anwesenheit eines zweiten Kupfer(I)-Zentrums die Ausbildung des dinuklearen σ,π -Kupfer-Acetylids **III**. Dieser wechselwirkt mit dem organischen Azid **IV** und bildet den dreifachen Azid-

Alkin-Kupfer-Komplex **V** aus. Im Anschluss reagiert dieser zum Metallacyclus **VI** bei der ein Kupfer(I) zu Kupfer(III) oxidiert wird. Nachfolgend findet die reduktive Ringkontraktion zum Kupfer(I)-triazolid **VII** statt und Freisetzung eines Kupfer(I)-Kations. Abschließend wird das Kupfer(I)-triazolid **VII** zum 1,4-disubstituierten 1,2,3-Triazol **VIII** protoniert und die katalytisch aktive Kupfer(I)-Spezies regeneriert (Schema 107).^[471]

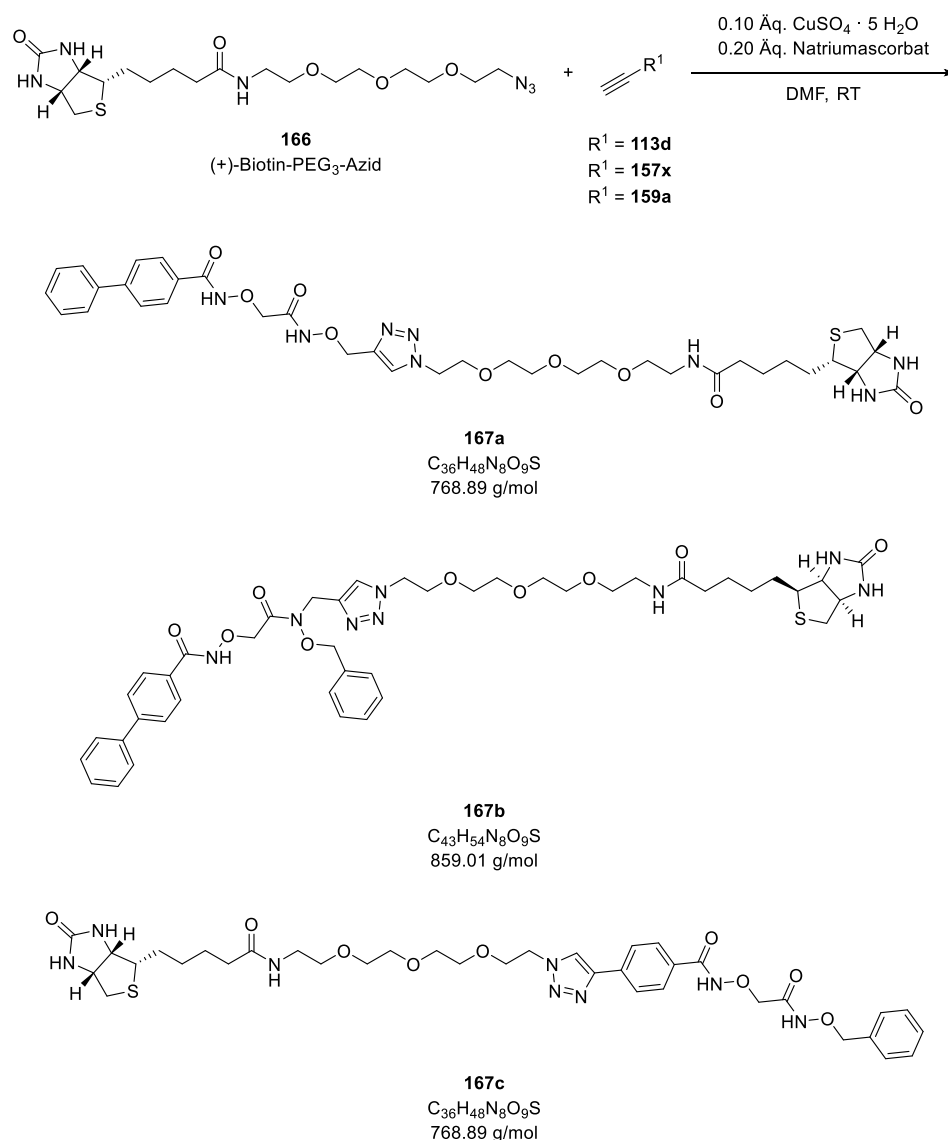


Schema 107: Vorgeschlagener Reaktionsmechanismus der CuAAC über das dinukleare σ - π -Kupfer-Acetylids **III**. Adaptiert nach WORRELL *et al.* und ergänzt nach ZHU *et al.*^{[472][471]}

Bei der Durchführung der CuAAC in organischen Lösungsmitteln ist die Zugabe einer Amin-Base essenziell um die Deprotonierung des π -Alkin-Kupfer(I)-Komplexes zu vermitteln. Im wässrigen Reaktionsmedium agiert dahingegen das amphotere Wasser als BRØNSTED-Base. Da Kupfer(I)-Spezies aufgrund ihrer thermodynamischen Instabilität unter aeroben Reaktionsbedingungen zur Disproportionierung zu den katalytisch inaktiven Kupfer(II) und elementarem Kupfer(0) neigen, wird die moderne CuAAC häufig über die *in situ* Reduktion des Präkatalysators Kupfer(II) mittels Natriumascorbat durchgeführt.^[473]

In Anlehnung an die Patentvorschrift von HAMILL *et al.* wurden das jeweilige terminale Ethinyl-Analogon **113d**, **157x** und **159a** mit Biotin-PEG₃-Azid in Anwesenheit von Kupfer(II)-sulfat und dem Reduktionsmittel Natriumascorbat in einem Lösungsmittelgemisch aus DMF und entmineralisiertem Wasser für 16 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.^[474] Danach wurden

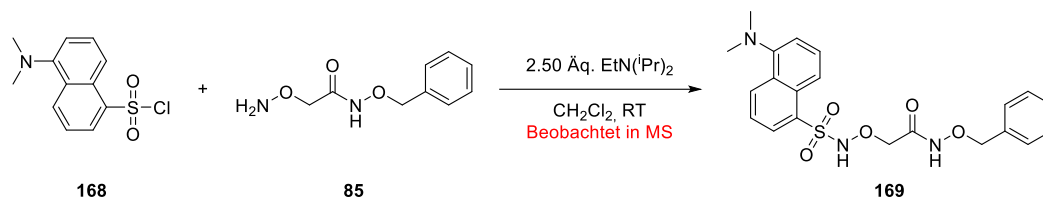
die Kupfer-Kationen mit einer wässrigen EDTA-Na₂-Lösung und das organische Lösungsmittel DMF mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung ausgewaschen. Die kovalent verknüpften *KSK104*-Biotin-PEG₃-Konjugate **167a-c** wurden mittels ESI-HRMS über deren Masse-zu-Ladungs-Verhältnis charakterisiert (Schema 108). Alternativ könnte in späteren Experimenten die Markierung mit dem kommerziell erhältlichen Fluorophor Alexa Fluor™ 488 durchgeführt werden.



Schema 108: Darstellung der *KSK104*-Biotin-PEG₃-Konjugate **167a-c**.

Neben den Affinitätsmarkierungen können Leitstrukturen ebenfalls mit niedermolekularen Fluorophoren wie beispielsweise Dansyl- oder Bor-Dipyrromethen-Derivaten verknüpft werden. Mit Hilfe dieser fluoreszierenden Reportergruppen kann die Lokalisation der markierten Substanz im Bakterium erfolgen. Jedoch sollte das fluoreszierende Strukturelement wenig Einfluss auf die Wechselwirkung zum intrazellulären Wirkstoffziel oder dessen pharmakokinetischen Eigenschaften haben.^[475] Hierfür wurde Dansylchlorid (**168**) mit

dem Hydroxylamin **85** unter BRØNSTED-basischen Reaktionsbedingungen zum Dansyl-markierten *KSK104*-Analogon **169** umgesetzt. Nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel konnte das Produkt als gelber Feststoff erhalten werden. Jedoch zeigte sich bei der Reinheitskontrolle mittels HPLC sowie bei der Strukturaufklärung via $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie, dass dieses in Lösung möglicherweise nicht stabil ist. Daher konnte die Dansyl-markierte Verbindung **169** ausschließlich mittels ESI-MS über dessen Masse-zu-Ladungs-Verhältnis von $m/z = 430.3$ charakterisiert werden (Schema 109).



Schema 109: Versuchte Darstellung eines Dansyl-markierten *KSK104*-Analogons **169**.

4.2.8 Präklinische Formulierungen von *KSK104* (3a)

Für die Evaluation der *in vivo* Pharmakokinetik sowie nachfolgend beabsichtigten Untersuchungen in Infektionsmodellen zur Bestimmung der antimykobakteriellen *in vivo* Aktivität sollte für den Wirkstoffkandidaten *KSK104* eine Formulierung gefunden werden, welche sowohl die perorale als auch intravenöse Applikation bei Labormäusen des Stamms BALB/c ermöglicht.

In Rücksprache mit unserem Kooperationspartner Dr. CHRISTOPH HÖLSCHER am Forschungszentrum Borstel, LEIBNIZ Lungenzentrum im Programmbereich Infektionen musste die Formulierung die nachfolgenden Kriterien erfüllen. Die Substanz muss in der Formulierung stabil und mit einer Konzentration von mindestens 1 mg/mL vollständig gelöst sein sowie die toxikologische Unbedenklichkeit der Vehikel in Fachpublikationen beschrieben worden sein. Basierend auf der Literatur von GAD *et al.* wurden die aufgelisteten Formulierungen bei Konzentrationen von 1 mg/mL und 5 mg/mL erprobt (Tabelle 27).^[476]

Tabelle 27: Experimentelle Übersicht zur präklinischen Formulierung der Substanz *KSK104*.^[476]

Eintrag	Formulierung	1 mg/mL	5 mg/mL
1	10 % DMSO, 18 % PEG 400, 3.6 % Tween [®] 80, 68.4 % entmineralisiertes H ₂ O	-	×
2	10 % DMSO, 20 % PEG 400, 70 % NaCl-Lösung 0.9 %	×	-
3	3 % EtOH, 7 % Tween [®] 80, 90 % Phosphat-Pufferlösung pH-Wert 7.4	✓	×

4	3 % EtOH, 7 % Tween® 80, 90 % NaCl-Lösung 0.9 %	✓	✗
5	100 % Miglyol® 812	-	✗
6	20 % Transcutol® HP, 80 % Miglyol® 812	✓	✓
7	5 % DMSO, 5 % Tween® 80, 20 % Propylenglykol, 70 % NaCl-Lösung 0.9 % ^[477]	✓	-
8	80 % Propylenglykol, 20 % entmineralisiertes H ₂ O ^[478]	✓	-

Bei den Formulierungen basierend auf dem Vehikel PEG 400 (Einträge 1 und 2) und Tween® 80 (Einträge 2 und 3) wurde bereits nach wenigen Minuten eine zunehmende Trübung und die Sedimentation der Substanz beobachtet. Die Formulierungen auf Öl Basis, Miglyol® 812 konnte die Substanz nicht in Lösung bringen (Eintrag 5), in Kombination mit dem Vehikel Transcutol® HP konnten sowohl 1 mg/mL als auch 5 mg/mL gelöst werden (Eintrag 6). Aufgrund von nicht ausreichend belegten biologischen Daten in der Referenzliteratur wurde jedoch vom Einsatz dieser Formulierung abgesehen. Für die intravenöse Applikation wurde eine Formulierung bestehend aus DMSO, Tween® 80 und Propylenglykol in 0.9%iger Natriumchlorid-Lösung (Eintrag 7)^[477] sowie für perorale Applikation eine wässrige 80%ige Propylenglykol-Lösung gefunden (Eintrag 8).^[478]

Zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Arbeit waren die Ergebnisse der Evaluierung der *in vivo* Aktivitäten, der pharmakokinetischen Untersuchungen und der geplanten Infektionsmodelle ausstehend.

4.2.9 Untersuchung der Stabilität von *KSK104* (3a)

Die Stabilität der Substanz *KSK104* wurde in Anlehnung an eine Literaturvorschrift von LEVEN *et al.* bei einer Temperatur von 37 °C und den pH-Werten 7.4 und 2.0, welche die physiologischen Bedingungen des menschlichen Blutkreislaufes und Magen simulieren sollten, untersucht.^[380]

Hierzu wurde 1 mg des *KSK104* in 0.1 mL einer Formulierung bestehend aus dem Polysorbat Tween® 80 und Ethanol (7/3 v/v) gelöst und mit 0.9 mL der Phosphatpuffer-Kochsalzlösung des jeweiligen pH-Werts verdünnt. Die *KSK104*-Lösung wurde kontinuierlich in einem Inkubator bei 37 °C geschüttelt und in Zeitabständen von 1, 3, 6, 24 und 48 Stunden mittels HPLC analysiert. Die jeweiligen Phosphatpuffer-Kochsalzlösungen wurden nach den entsprechenden Herstellungsvorschriften des Ph. Eur. 10.1 präpariert.

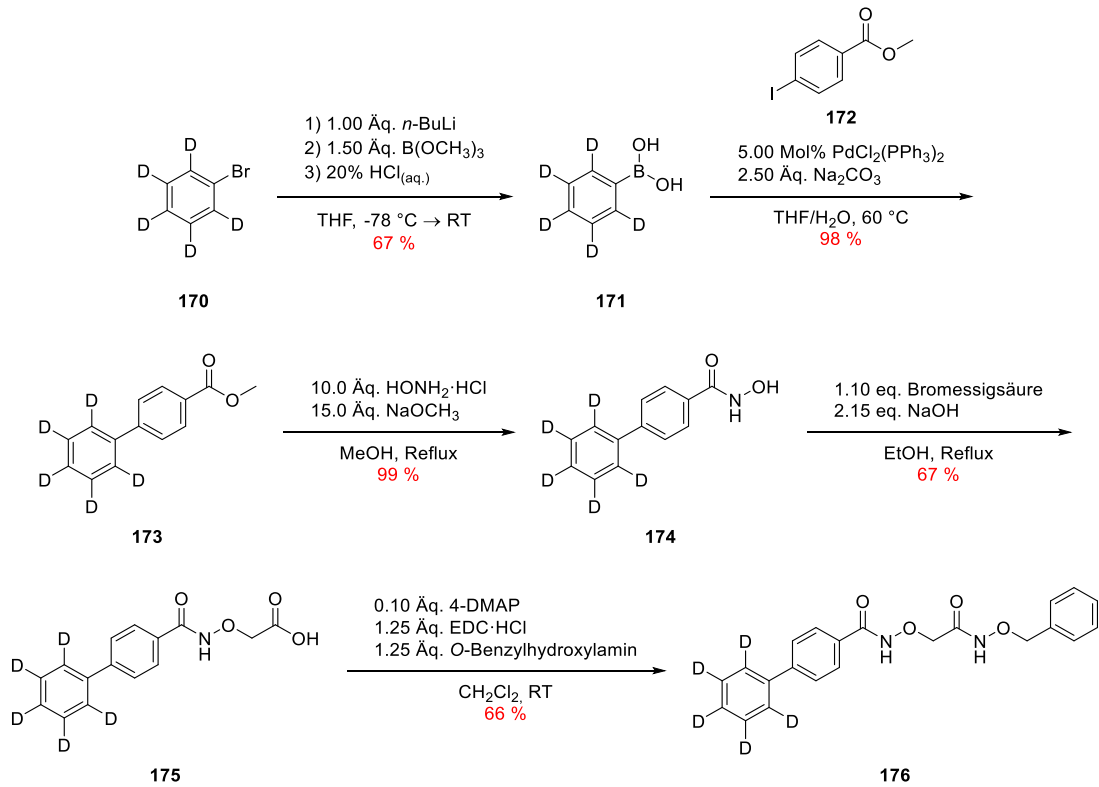
Jeweils ausgehend von einer Substanzreinheit >99 % wurde bei einer Temperatur von 37 °C über einen Zeitraum von 48 Stunden bei dem pH-Wert von 7.4 keine nennenswerte Zersetzung beobachtet. Der Substanzgehalt betrug bei der letzten Messung 98.9 ± 0.35 %. Im

sauren pH-Wert von 2.0 wurde eine marginale Zersetzung beobachtet, der Substanzgehalt betrug abschließend 96.2 ± 0.28 %. Die Stabilitätsmessungen wurden zweifach durchgeführt. Die Substanz ist somit in wässriger Lösung als stabil anzusehen, welches eine bedeutsame Eigenschaft für einen Wirkstoffkandidaten ist.

4.2.10 Darstellung des *KSK104-d₅*-Analogons **176**

Um den Prozess der Bestimmung von *in vitro* und nachfolgend *in vivo* Pharmakokinetik der Leitstruktur durch unseren Kooperationspartner Dr. BJÖRN BURCKHARDT aus dem Institut für Klinische Pharmazie und Pharmakotherapie der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf zu unterstützen, sollte ein deuteriertes Isotopomer der Substanz *KSK104* als interner Standard für die Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC/MS) synthetisiert werden.

Nach einer Vorschrift von WANG *et al.* wurde ausgehend vom kommerziell erhältlichen Brombenzen-*d*₅ (**170**) unter wasserfreien Reaktionsbedingungen mit *n*-Butyllithium in Tetrahydrofuran bei -78 °C ein Brom-Lithium Austausch durchgeführt. Das *in situ* generierte reaktive Phenyl-*d*₅-lithium wurde durch die Zugabe von Borsäuretrimethylester zum Phenyl-*d*₅-boronsäuredimethylester umgesetzt, welcher bei der Aufarbeitung des Reaktionsansatzes mit 20%iger Salzsäure-Lösung zur Phenyl-*d*₅-boronsäure (**171**) hydrolysiert wurde. Die freie Boronsäure **171** wurde in einer SUZUKI-Kreuzkupplung mit Methyl-4-iodbenzoat (**172**) unter Einsatz von 5 Mol% Bis(triphenylphosphin)palladium(II)-dichlorid als Katalysator zum 4-Biphenylcarbonsäuremethylester (**173**) umgesetzt und konnte mit einer exzellenten Ausbeute von 98 % isoliert werden.^[45] Der Methylester **173** wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von PFLIEGER *et al.* mit Hydroxylamin Hydrochlorid und Natriummethanolat in Methanol zum Rückfluss erhitzt um die entsprechende Hydroxamsäure **174** zu erhalten. Im nächsten Reaktionsschritt wurde nach einer Vorschrift von McHALE *et al.* die *O-H*-Funktionalität der Hydroxamsäure mit Bromessigsäure substituiert um die freie Carbonsäure **175** zu erhalten.^[424] Die Carbonsäure **175** wurde im Anschluss mit EDC HCl sowie 4-DMAP aktiviert und mit *O*-Benzylhydroxylamin umgesetzt um das Isotopomer **176** zu erhalten (Schema 110).



Schema 110: Darstellung des Isotopomers *KSK104-d₅* **176** für die Verwendung als interner Standard bei der Bestimmung der *in vitro* und *in vivo* Pharmakokinetik der Leitstruktur *KSK104*.

5 Zusammenfassung

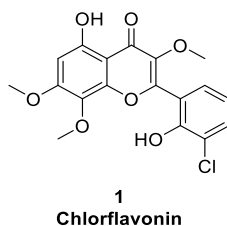
Die zunehmende globale Verbreitung von multiresistenter- (MDR) und extensiv resistenter- (XDR)-Tuberkulose (TB) gefährden die in der *End TB Strategy* proklamierten Ziele der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zur Beendigung der weltweiten TB-Pandemie bis zum Jahr 2035. Daher fordert die WHO die Entwicklung von neuen Wirkstoffkandidaten zur chemotherapeutischen Behandlung von Arzneimittel-sensitiver-, MDR- und XDR-TB als eine der drei tragenden Säulen im Kampf gegen die TB zu intensivieren.^[55,77]

Diese Promotionsarbeit gliedert sich in zwei Projekte, welche die Synthesen und präklinischen Strukturoptimierungen der beiden neuartigen, vielversprechenden antimykobakteriellen Leitstrukturen, dem natürlichen Flavonoid Chlorflavonin (**1**) sowie der Alkoxyamid-basierten Verbindung *KSK104* (**3a**), zur Entwicklung von Wirkstoffkandidaten für die Chemotherapie von Arzneimittel-sensitiver-, MDR- und XDR-TB beschreiben.

5.1 Chlorflavonin (**1**)

Der Naturstoff Chlorflavonin stellt mit dessen potenter antimykobakterieller *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv und verschiedenen XDR-*M. tb.* klinischen Isolaten, intrazellulären antimykobakteriellen Aktivität in infizierten humanen Makrophagen und einem sehr guten Selektivitätsindex eine vielversprechende Leitstruktur für die Entwicklung eines antimykobakteriellen Wirkstoffkandidaten dar. Chlorflavonin inhibiert die katalytische Untereinheit IlvB1 der mykobakteriellen Acetohydroxysäure Synthase (AHAS), welche die *de novo* Biosynthese der verzweigt-kettigen-Aminosäuren sowie der Pantothenensäure katalysiert, und führt dadurch zur Wachstumsretardierung des *M. tb.* (Kapitel 2.5.2).^[251] BOGNÀR *et al.* publizierte im Jahr 1980 die bis heute einzige Synthesevorschrift von Chlorflavonin mit einer Gesamtausbeute von 0.8 % über sieben Stufen.^[282]

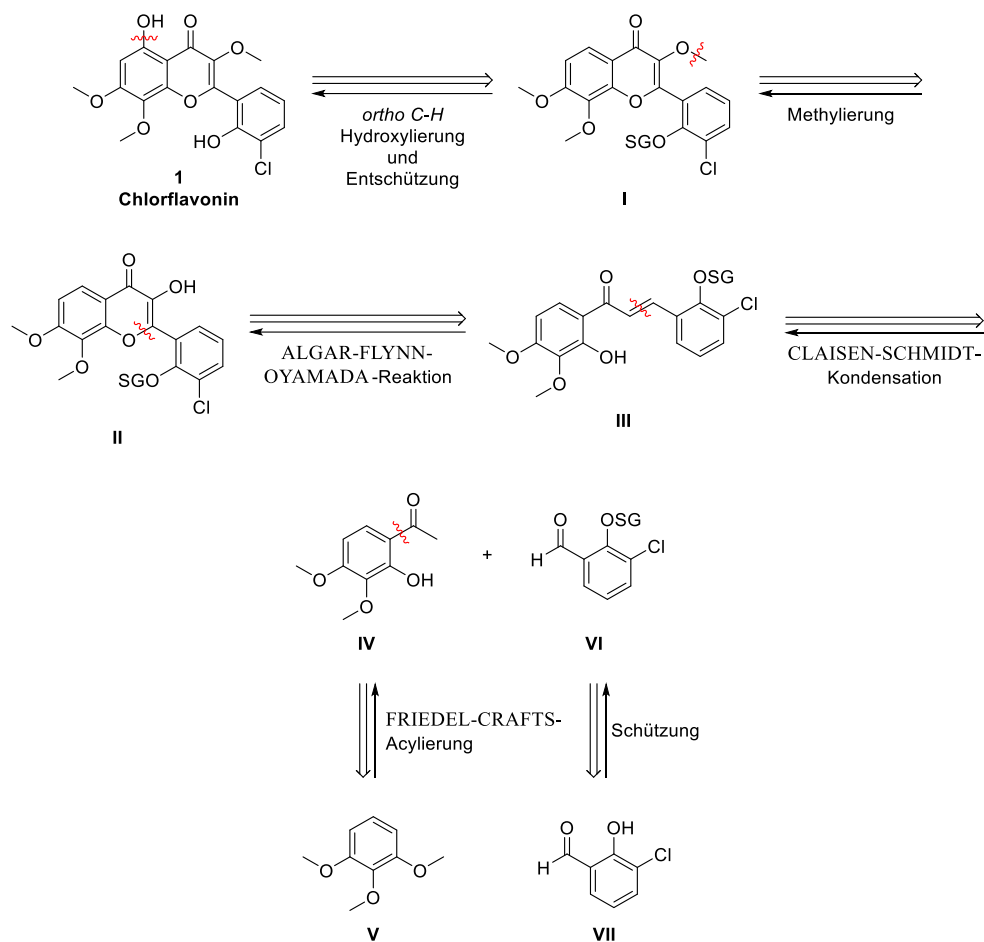
Das erste Projekt befasste sich mit der Entwicklung und Optimierung eines neuen Synthesekonzepts zur effizienten Darstellung des natürlichen Flavonoids Chlorflavonin (**1**) sowie dessen Anwendung zur Synthese von Chlorflavonin-Analoga im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung der Leitstruktur (Schema 111).



Schema 111: LEWIS-Struktur von Chlorflavonin (**1**).^[246]

Die besondere Herausforderung für die Darstellung von Chlorflavonin (**1**) liegt in dessen komplexen Substitutionsmuster. Reaktionen und Methoden zur Synthese des 3-Methoxyflavon-Grundgerüsts sind aufgrund von elektronischen und mesomeren Effekten der Substituenten nur im begrenzten Rahmen anwendbar (Kapitel 4.1.1). Zunächst wurde versucht 2,4-Dihydroxyacetophenon in einer basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation mit einem geschützten Salicylaldehyden zum Chalkon, welches anschließend zum 3-Methoxyflavon umgesetzt werden sollte, herzustellen. Bei der Kondensationsreaktion wurde lediglich die Zersetzung der Substrate beobachtet (Kapitel 4.1.2). Alternativ wurde versucht das 3-Methoxyflavon-Grundgerüst über die Oxidation des C-3 Kohlenstoffs eines Flavons zum Flavonol mit anschließender Methylierung darzustellen. Aufgrund der geringen Reaktivität des Flavons konnten keine zufriedenstellenden Ausbeuten bei der Oxidation erreicht werden (Kapitel 4.1.3).

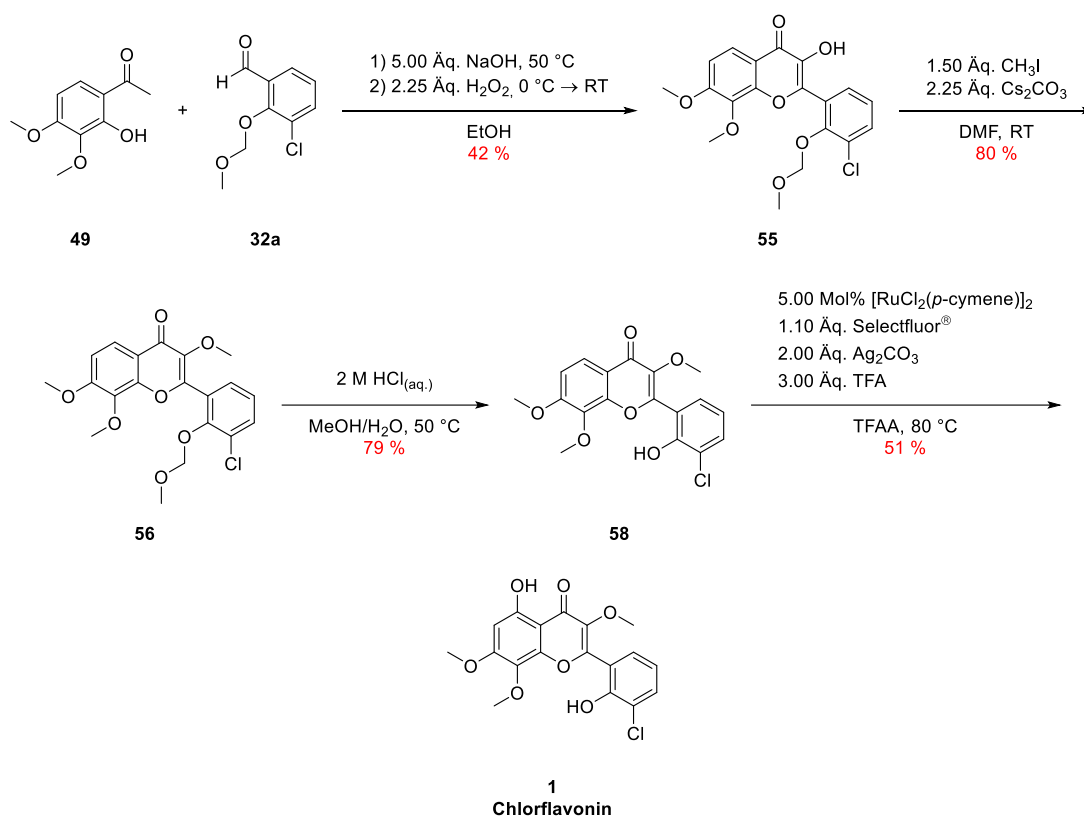
Dahingegen wurde bei der retrosynthetischen Analyse von Chlorflavonin (**1**) geplant das Flavonol-Grundgerüst **II** über die ALGAR-FLYNN-OYAMADA-(AFO)-Reaktion des Chalkons **III**, welches über die basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation des 2-Hydroxyacetophenons **IV** mit dem geschützten Aldehyden **VI** zugänglich gemacht werden kann, darzustellen. Dann kann das 3-Methoxyflavon **I** über die Methylierung des Flavonols **II** synthetisiert werden. Abschließend soll mittels Übergangsmetall-katalysierter *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung das 3-Methoxyflavon **I** zu Chlorflavonin (**1**) umgesetzt werden (Schema 112).



Schema 112: Retrosynthetische Analyse von Chlorflavonin (1).

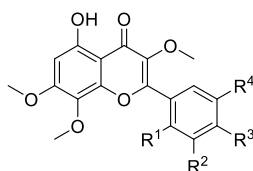
Ausgehend von 2'-Hydroxyacetophenon **49** und dem MOM-geschützten Aldehyd **32a** konnte in einer basenvermittelten CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation mit anschließender AFO-Reaktion im sequenziellen Eintopfverfahren das Flavonol **55** dargestellt werden. Daraufhin folgte die Methylierung der freien Hydroxygruppe des Flavonols **55** mit dem Methylierungsreagenz Methyljodid in Anwesenheit von Cäsiumcarbonat als Base zum 3-Methoxyflavon **56**. Anschließend wurde die MOM-Schutzgruppe acidolytisch mit 2 M Salzsäure-Lösung in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Wasser entfernt. Dadurch präzipitierte das entschützte Flavonoid **58** während der Reaktion und konnte mittels Filtration in analytisch reiner Form erhalten werden. Anschließend wurde die *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung des Flavonoids **58** zur Umsetzung zum Chlorflavonin (1) in über vierzig Optimierungsversuchen evaluiert. Durch den Einsatz von Dichloro-(*p*-cymol)-ruthenium(II) Dimer als Katalysator mit einem Silber(I)-Additiv, dem Oxidationsmittel *Selectfluor*TM in Trifluoressigsäure und Trifluoressigsäureanhydrid konnte sowohl der Umsatz als auch die Selektivität der Reaktion signifikant verbessert werden. Somit erfolgte die Darstellung des Naturstoffs Chlorflavonin (1), ausgehend vom 3-Chlorsalicylaldehyd, über fünf Stufen mit einer Gesamtausbeute von 13.5 %, welches eine deutliche Verbesserung

gegenüber der Gesamtausbeute von 0.8 % der von BOGNÀR *et al.* beschriebenen Synthese von Chlorflavonin darstellt (Schema 113).^[282]



Schema 113: Entwickelte und optimierte Synthesestrategie zur Darstellung des Naturstoffs Chlorflavonin (**1**).

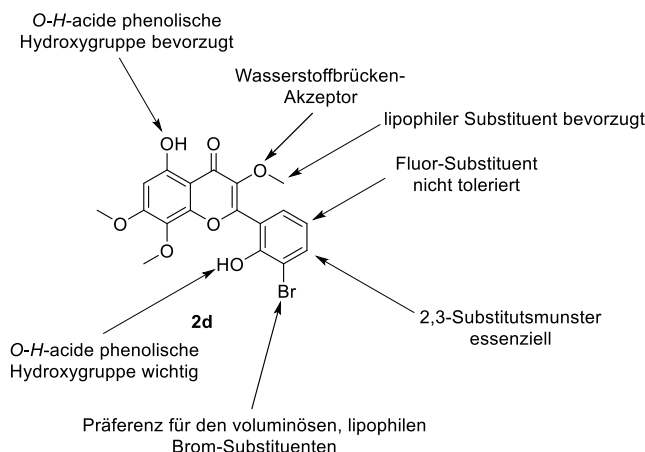
Im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung wurde zuerst die Strukturmodifikation des B-Rings durchgeführt. Basierend auf den Ergebnissen des *Molecular Dockings*, welche in der Publikation von REHBERG *et al.* beschrieben worden sind, konnten bevorzugte Wechselwirkungen der Substituenten des B-Rings mit dem aktiven Zentrum der katalytischen Untereinheit IlvB1 der mykobakteriellen AHAS identifiziert werden: (1) Die Interaktion des Chlor-Substituenten mit einer hydrophoben Seitentasche; (2) Die Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung und Salzbrücke zwischen der deprotonierten phenolischen Hydroxygruppe mit einem protonierten Lysin.^[251] Durch die Einführung von voluminösen, lipophilen Substituenten in Position R² sowie durch Fluor-Substituenten in Position R⁴ zur Erhöhung der Acidität der phenolischen Hydroxygruppe wurde versucht diese wichtigen Wechselwirkungen gezielt zu verstärken. Das entwickelte und optimierte Synthesekonzept wurde zur erfolgreichen Darstellung von dreizehn Chlorflavonin-Analoga **2a-m** angewandt (Schema 114).



2a: R ¹ = OH; R ² = CF ₃ ; R ³ = R ⁴ = H	2h: R ¹ = OH; R ² = Me; R ³ = R ⁴ = H
2b: R ¹ = OH; R ² = ⁱ Pr; R ³ = R ⁴ = H	2i: R ¹ = OH; R ² = Br; R ³ = H; R ⁴ = F
2c: R ¹ = OH; R ² = I; R ³ = R ⁴ = H	2j: R ¹ = OH; R ² = F; R ³ = R ⁴ = H
2d: R ¹ = OH; R ² = Br; R ³ = R ⁴ = H	2k: R ¹ = H; R ² = OH; R ³ = Cl; R ⁴ = H
2e: R ¹ = OH; R ² = OMe; R ³ = R ⁴ = H	2l: R ¹ = Cl; R ² = Cl; R ³ = R ⁴ = H
2f: R ¹ = OH; R ² = H; R ³ = Cl; R ⁴ = H	2m: R ¹ = H; R ² = Cl; R ³ = R ⁴ = H
2g: R ¹ = OH; R ² = Cl; R ³ = H; R ⁴ = F	

Schema 114: Dargestellte Chlorflavonin-Analoga **2a-m**.

Die dargestellten Chlorflavonin-Analoga **2a-m** wurden von unserem Kooperationspartner der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. RAINER KALSCHEUER im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv auf deren antimykobakterielle *in vitro* Aktivität untersucht. Bei den biologischen Testungen wies das Brom-Analogon **2d** mit einer $MHK_{90} = 0.78 \mu\text{M}$ eine im Vergleich zur Leitstruktur Chlorflavonin signifikant verbesserte antimykobakterielle *in vitro* Aktivität ($MHK_{90} = 1.56 \mu\text{M}$) auf. Die abgeleiteten Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der dargestellten Chlorflavonin-Analoga können wie folgt beschrieben werden: Die Abwesenheit der phenolischen Hydroxygruppe des A-Rings oder der 3'-Methoxygruppe des C-Rings führte jeweils zu einer Reduktion der biologischen Aktivität um den Faktor 4 bis 16. Dahingegen wurde beim Fehlen der phenolischen Hydroxygruppe am B-Ring beim Analogon **2m** oder des Chlor-Substituenten beim Dechlorflavonin der Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität beobachtet.^[251] Die Regioisomere **2f/k** des Chlorflavonins, mit den Substituenten in 3,4- und 2,4-Position, wiesen keine biologische Aktivität auf. Die Einführung des Fluor-Substituenten in 5-Position, *para*-Stellung zur phenolischen Hydroxygruppe (**2g/i**), führte ebenfalls zum Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität. Der Austausch des Chlor-Substituenten des B-Rings durch einen Brom-Substituenten (**2d**) führte zur Verbesserung der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität, wohingegen bei den Substituenten Iod (**2c**), Trifluormethyl (**2a**) und Isopropyl (**2b**) der Verlust der biologischen Aktivität gemessen wurde (Schema 115).



Schema 115: Struktur-Aktivitäts-Beziehungen, abgeleitet aus den biologischen Testergebnissen der Chlorflavonin-Analoga **2a-m/53/74**, am Beispiel des Brom-Analogons **2d**.

Abschließend wurde die Stabilität von Chlorflavonin im wässrigen Medium bei den pH-Werten von 2.0 und 7.4, welche die physiologischen Bedingungen des Magens und Blutkreislaufes simulieren sollten, untersucht. Bei 20 °C konnte über einen Zeitraum von 48 h keine Zersetzung von Chlorflavonin beobachtet werden. Daher ist dieses im wässrigen Medium als stabil anzusehen und ein weiterer Beleg für die sehr guten Eigenschaften der Leitstruktur für die Entwicklung von Wirkstoffkandidaten zur chemotherapeutischen Behandlung von Arzneimittel-sensitiver-, MDR- und XDR-TB (Kapitel 4.1.5).

Im Weiteren handelt es sich bei dieser Synthesestrategie um die erste Beschreibung einer effizienten, selektiven *ortho*-C(sp²)-H-Funktionalisierung von 3',7,8-trisubstituierten Flavonoid-Grundgerüsten, welche somit ebenfalls den synthetischen Zugang zu den biologisch aktiven Flavonoiden Ternatin und Chlorflavonin A sowie deren Analoga ermöglichen könnte.^[479,480]

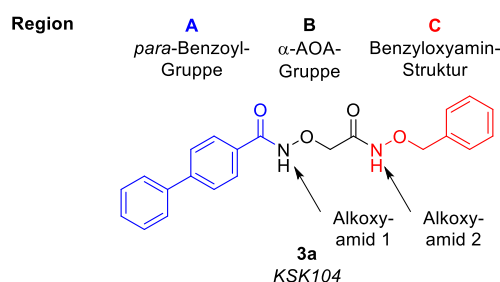
Zudem eröffnet die Darstellung Chlorflavonins die Möglichkeit der Kristallisation des Enzym-Chlorflavonin-Komplexes und Aufnahme von den Co-Kristallstrukturen. Diese können eingesetzt werden, um im Zusammenspiel mit computergestützten Methoden in der Zukunft die gezielte Optimierung der Leitstruktur in Angriff zu nehmen. Basierend auf den rationalen Überlegungen könnte der bioisostere Austausch funktioneller Gruppen erfolgen oder zusätzliche Funktionalitäten hinzugefügt werden, um beispielsweise die Wasserlöslichkeit der Leitstruktur zu verbessern oder weitere Bindungspartner des aktiven Zentrums zu adressieren.

5.2 Die Alkoxyamid-basierte Leitstruktur **KSK104 (3a)**

Das zweite Projekt befasste sich mit der Untersuchung der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und präklinischen Strukturoptimierung der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur **KSK104 (3a)**. **KSK104** weist eine sehr potente antimykobakterielle *in vitro* Aktivität gegenüber dem *M. tb.*-Stamm H37Rv und verschiedenen XDR-*M. tb.* klinischen Isolaten, intrazelluläre

antimykobakterielle Aktivität in infizierten humanen Makrophagen, einem sehr guten Selektivitätsindex und eine niedrige Resistenzrate auf. Zudem übt *KSK104* in Kombination mit den etablierten Antituberkulotika Isoniazid, Rifampicin, Ethambutol und Delamanid additive Effekte aus. Basierend auf diesen Ergebnissen ist die Alkoxyamid-basierte Verbindung *KSK104* (**3a**) eine vielversprechende neue Leitstruktur für die Entwicklung eines antimykobakteriellen Wirkstoffs (Kapitel 4.2.1.2).

Die Leitstruktur *KSK104* (**3a**) wurde in die drei Regionen A, B und C unterteilt und die beiden Alkoxyamid-Funktionalitäten mit 1 und 2 gekennzeichnet. Aus den Arbeiten von Frau Dr. KATHARINA STENZEL war bekannt, dass in der Region A *para*-substituierte Benzoyl-Strukturelemente bevorzugt waren, weshalb in dieser Promotionsarbeit hauptsächlich die Strukturmodifikationen der Regionen B und C sowie der Alkoxyamid-Funktionalitäten durchgeführt wurden (Schema 116).^[420]



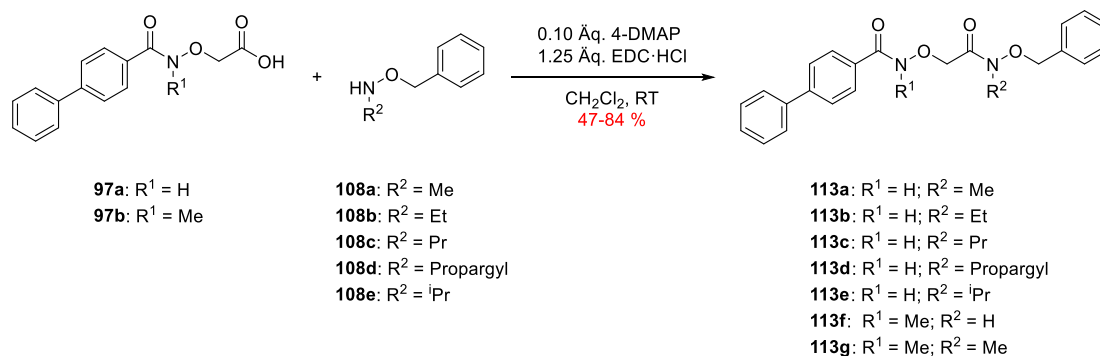
Schema 116: LEWIS-Struktur der Alkoxyamid-basierten Leitstruktur *KSK104* (**3a**) und deren Einteilung in die Regionen A, B und C sowie Kennzeichnung der Alkoxyamid-Funktionalitäten 1 und 2.

Basierend auf den Ergebnissen der Gesamtgenomsequenzierung, durch unseren Kooperationspartner Prof. Dr. RAINER KALSCHUEUR an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf am Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie, konnten bei fünf unabhängigen, spontan *KSK104*-resistenten *M. tb.*-Mutanten verschiedene Einzelnukleotid-Polymorphismen im Gen *Rv0552*, welches eine hypothetische Amidohydrolase codiert, nachgewiesen werden. Diese Amidohydrolase wird mit der Hydrolyse von Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen assoziiert.^[421] Dadurch konnten Rückschlüsse auf die möglichen Wirkungsmechanismen von *KSK104* gezogen werden. Demnach könnte es sich bei *KSK104* um ein *Prodrug* handeln, welches durch die Amidohydrolase in die Wirkform biotransformiert wird (*Prodrug*-Theorie), oder die mutierte Amidohydrolase könnte den Wirkstoff *KSK104* mittels Hydrolyse inaktivieren (Kapitel 4.2.1).

Daher wurde zuerst die Strukturmodifikationen der Alkoxyamide 1 und 2 durchgeführt um weitere Informationen dieser Partialstrukturen auf die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen,

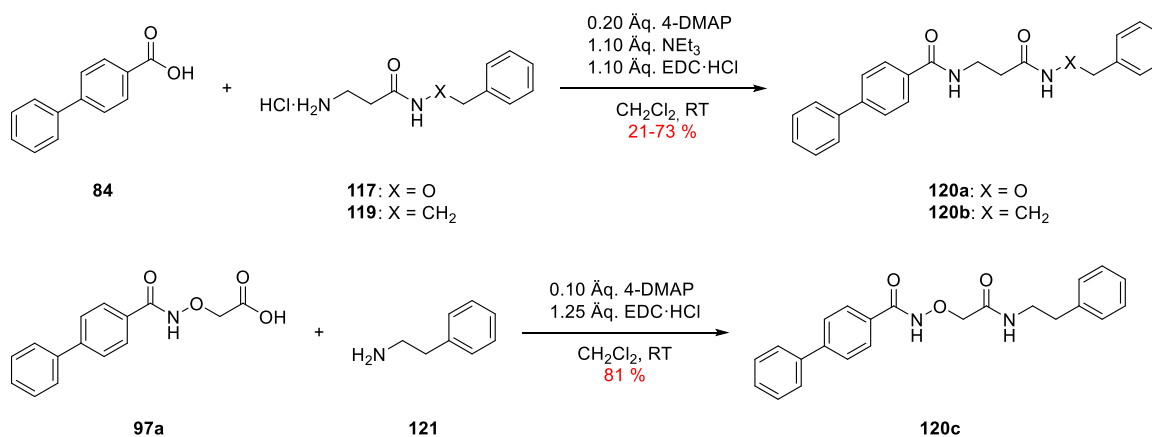
mögliche Wechselwirkungen mit den biomolekularen Zielstrukturen und Wirkungsmechanismus zu erhalten.

Die *N*-alkylierten *KSK104*-Analoga **113a-g** wurden über die Aktivierung der Carbonsäuren **97a-b** mit dem Peptidkupplungsreagenz EDC·HCl und dem nukleophilen Katalysator 4-DMAP sowie anschließender Umsetzung mit den entsprechenden *N*-alkylierten *O*-Benzylhydroxylaminen **108a-e** dargestellt (Schema 117).



Schema 117: Darstellung der *N*-alkylierten *KSK104*-Analoga **113a-g**.

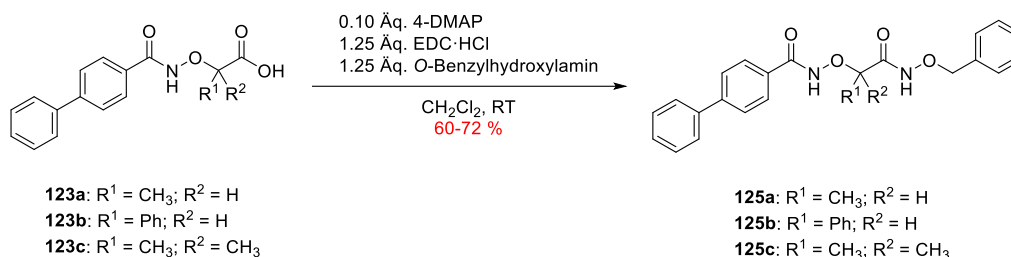
Ähnlich wurden die Amid-Analoga **120a-c** über die Aktivierung der Carbonsäuren **84/97a** und Umsetzung mit den entsprechenden Amin-Nukleophilen **117/119/121** zugänglich gemacht (Schema 118).



Schema 118: Darstellung der *KSK104*-Amid-Analoga **120a-c**.

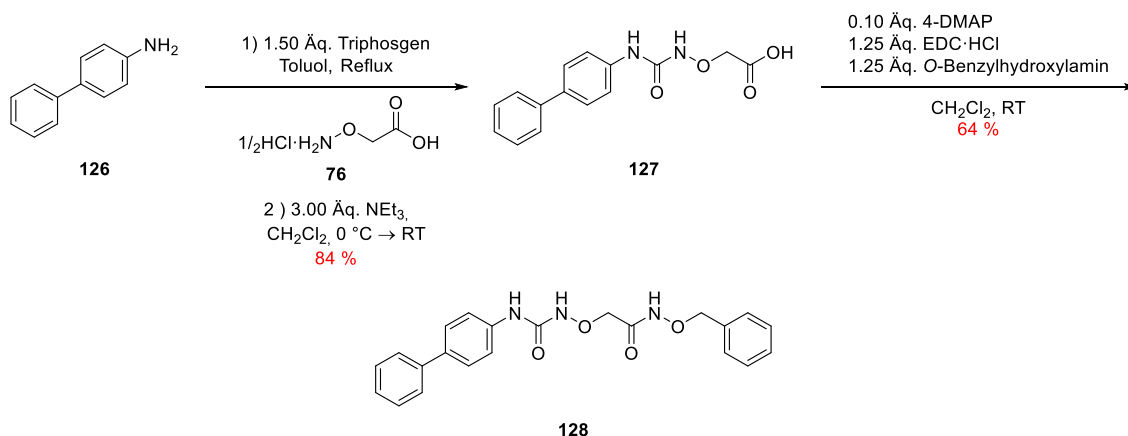
Für die Darstellung der kettensubstituierten *KSK104*-Analoga **125a-c** wurden zunächst die Carbonsäuren **123a-b** über die selektive Alkylierung von Biphenylhydroxamsäure mit den entsprechenden α -Bromcarbonsäuren hergestellt. Die selektive Alkylierung wurde mittels zweidimensionalen heteronuklearen ¹H-¹⁵N-HSQC NMR-Experiment untersucht (Kapitel 4.2.2.2). Bei der Alkylierung mit α -Bromisobuttersäure konnte nur eine geringe Selektivität erreicht werden, weshalb die Carbonsäuren **123c** über die Umsetzung von

Aminoxyisobuttersäuremethylester mit Biphenylcarbonsäure und anschließender Hydrolyse des Methylesters zugänglich gemacht wurde. Im Anschluss wurden die *KSK104*-Analoge **125a-c** über die Aktivierung der Carbonsäuren **123a-c** und Reaktion mit *O*-Benzylhydroxylamin dargestellt (Schema 119).



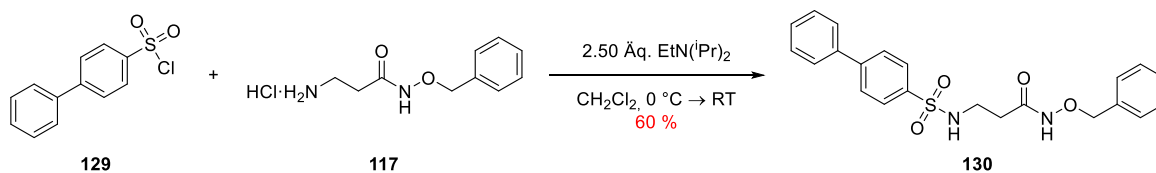
Schema 119: Darstellung der kettensubstituierten *KSK104*-Analoge **125a-c**.

Ausgehend von 4-Aminobiphenyl (**126**) wurde mit Triphosgen *in situ* ein Isocyanat generiert, welches mit (Aminoxy)essigsäure **76** zur Carbonsäure **127** umgesetzt wurde. Anschließend folgte die Aktivierung der Carbonsäure **127** und die Reaktion mit *O*-Benzylhydroxylamin zum Alkoxyharnstoff-Analogon **128** (Schema 120).



Schema 120: Darstellung des Alkoxyharnstoff-Analogons **128**.

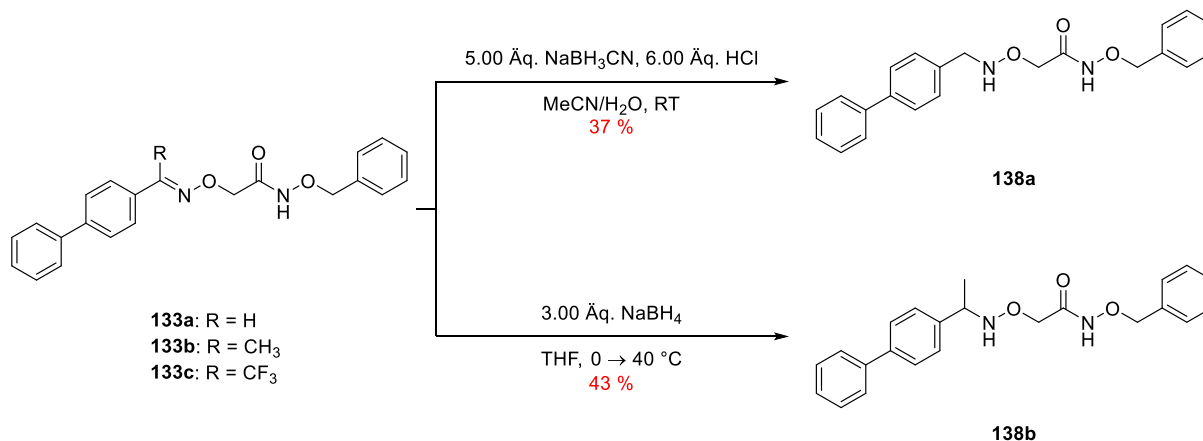
Die Synthese des Sulfonsäureamid-Analogons **130** erfolgte über die Reaktion des Sulfonsäurechlorids **129** mit dem β-Amin Hydrochlorid **117** (Schema 121).



Schema 121: Darstellung des Sulfonsäureamid-Analogons **130**.

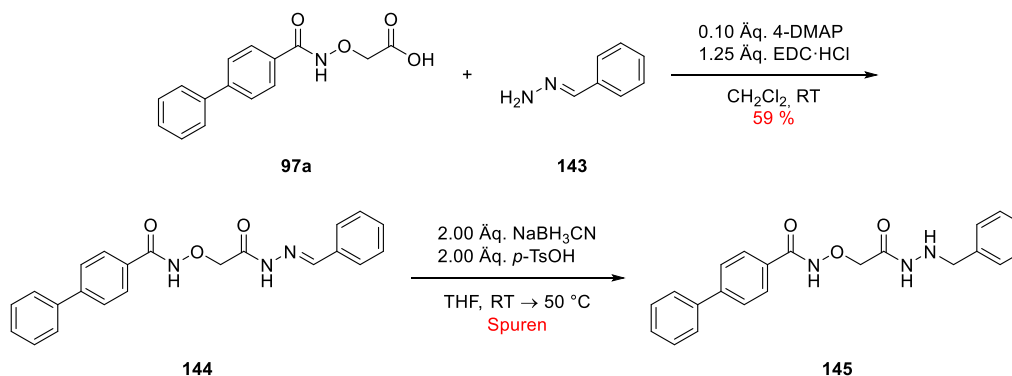
Die Darstellung der *O,N*-Dialkylhydroxylamine **138a-b** erfolgte über die Reduktion der Oxim-Analoge **133a-c**, welche über die Kondensation der entsprechenden Carbonylverbindungen

mit den jeweiligen Hydroxylaminen zugänglich gemacht wurden. Aufgrund der geringen Stabilität konnte das Trifluormethyl-Analogon nach der Reduktion nicht erhalten werden (Schema 122).



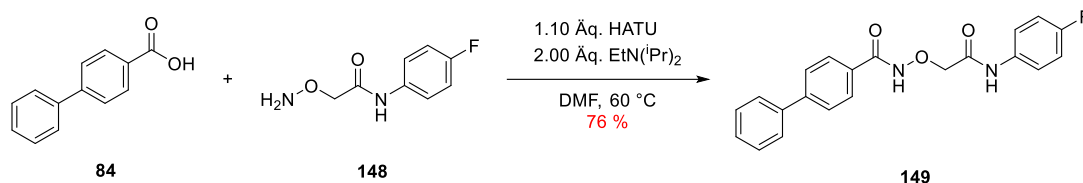
Schema 122: Darstellung der *O,N*-Dialkylhydroxylamin-KSK104-Analoga **138a-b**.

Ausgehend von der Carbonsäure **97a** wurde das Hydrazon-Analogon **144** durch die Umsetzung mit Benzylidenhydrazin (**143**), welches über die Kondensation von Benzaldehyd mit Hydrazin Monohydrat hergestellt wurde, erhalten. Bei der anschließenden Reduktion des Hydrazon-Strukturelements zum Hydrazid **145** wurde die starke Fragmentierung des Substrats beobachtet und das Hydrazid-Analogon **145** konnte nur in Spuren erhalten werden (Schema 123).



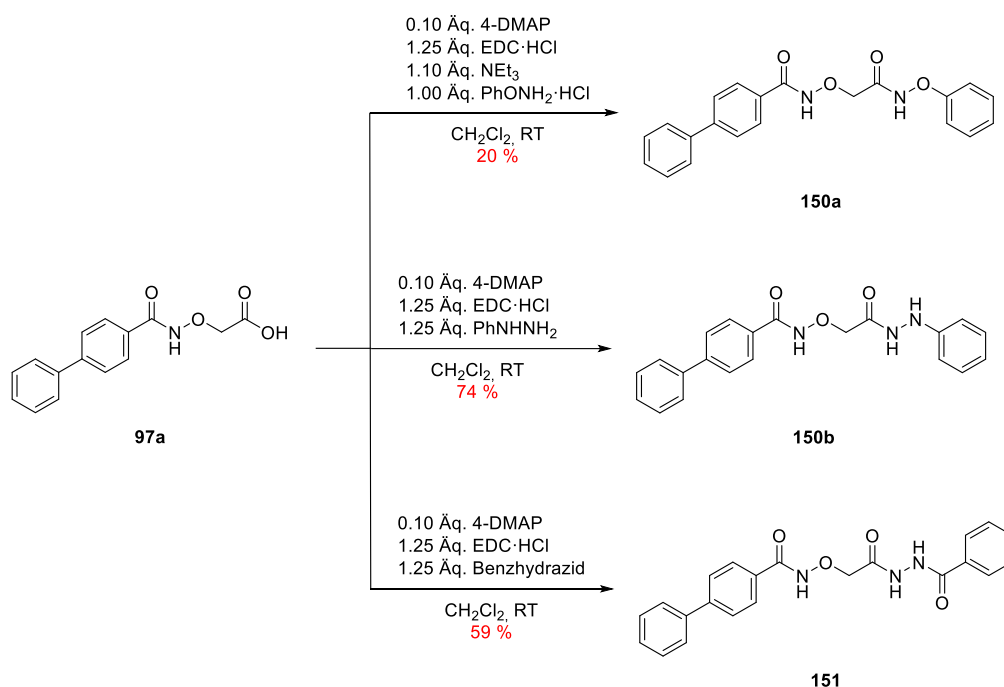
Schema 123: Darstellung des KSK104-*N*-Acetylhydrazone-Analogons **144** und Hydrazid-Analogons **145**.

Das Anilid-Analogon **149** konnte über die Umsetzung der Carbonsäure **84** mit dem α -Aminooxycarbonsäure -Anilid **147** hergestellt werden (Schema 124).



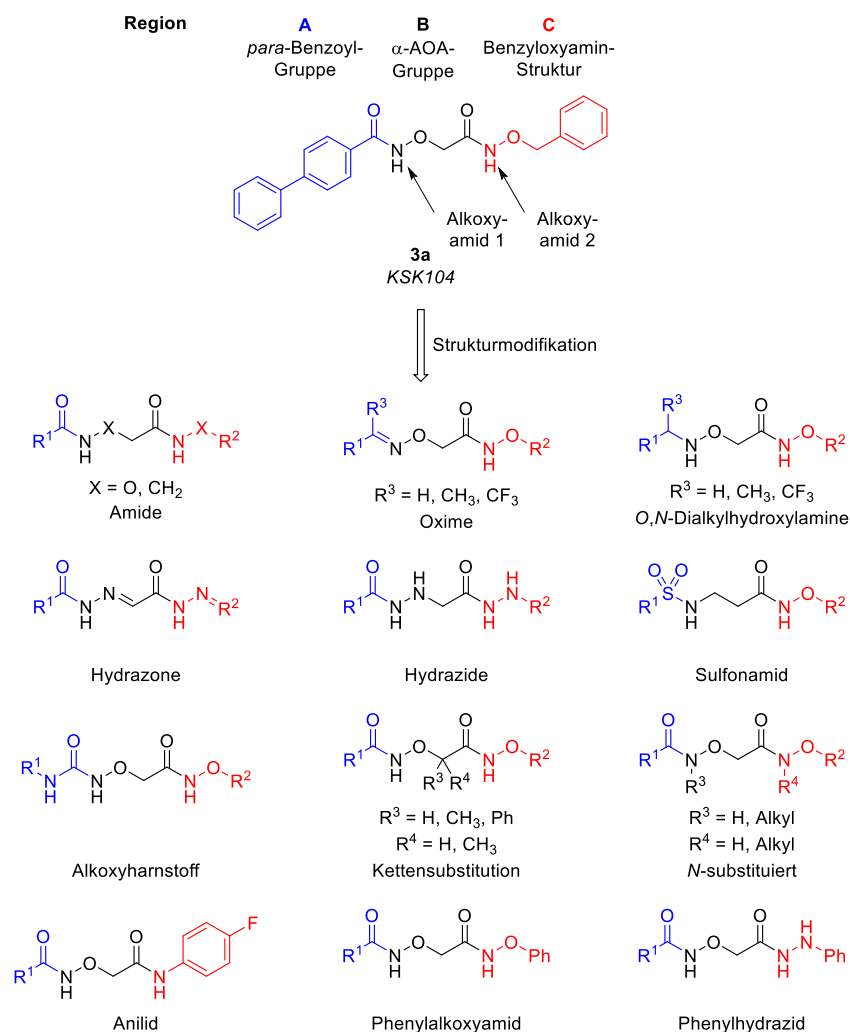
Schema 124: Darstellung des *para*-Fluoranilid-KSK104-Analogons **149**.

Im Weiteren erfolgte die Darstellung der Phenylalkoxyamid-, Phenylhydrazid- und Benzhydrazid-Analoga **150a-b/151** über die Umsetzung der Carbonsäure **97a** mit den entsprechenden Stickstoff-Nucleophilen (Schema 125).



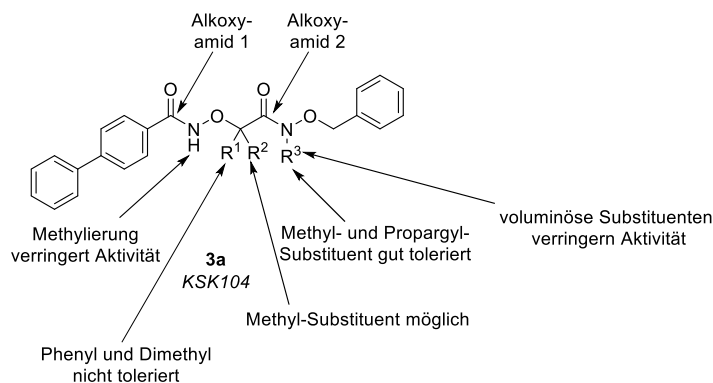
Schema 125: Darstellung der Phenylalkoxyamid- und Phenylhydrazid-KSK104-Analoga **150a-b** und Benzhydrazid-KSK104-Analogons **151**.

Die Strukturmodifikationen der Alkoxyamid-Funktionalitäten 1 und 2 erwiesen sich für die antimykobakterielle *in vitro* Aktivität der Leitstruktur als kritisch. Die dargestellten Aldoxim- und *O,N*-Dialkylhydroxylamin-Analoga wiesen signifikant reduzierte antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten auf und bei den Amid-, Ketoxim-, Trifluormethyloxim-, Sulfonamid-, Hydrazon- und Hydrazid-Analoga wurde der Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivitäten beobachtet. Dahingegen wurde das Strukturmotiv des Alkoxyharnstoffs im Derivat **128** ($\text{MHK}_{90} = 0.39 \mu\text{M}$) anstelle des Alkoxyamids 1 sehr gut toleriert. Ebenfalls wurde die Partialstruktur des Anilid-Analogons **149** in Position des Alkoxyamids 2 ($\text{MHK}_{90} = 0.78 \mu\text{M}$) akzeptiert. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass nach bisherigem Kenntnisstand die Alkoxyamid-, Alkoxyharnstoff- und Anilid-Funktionalitäten maßgeblich zur antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität dieser neuen Leitstruktur beitragen (Schema 126).



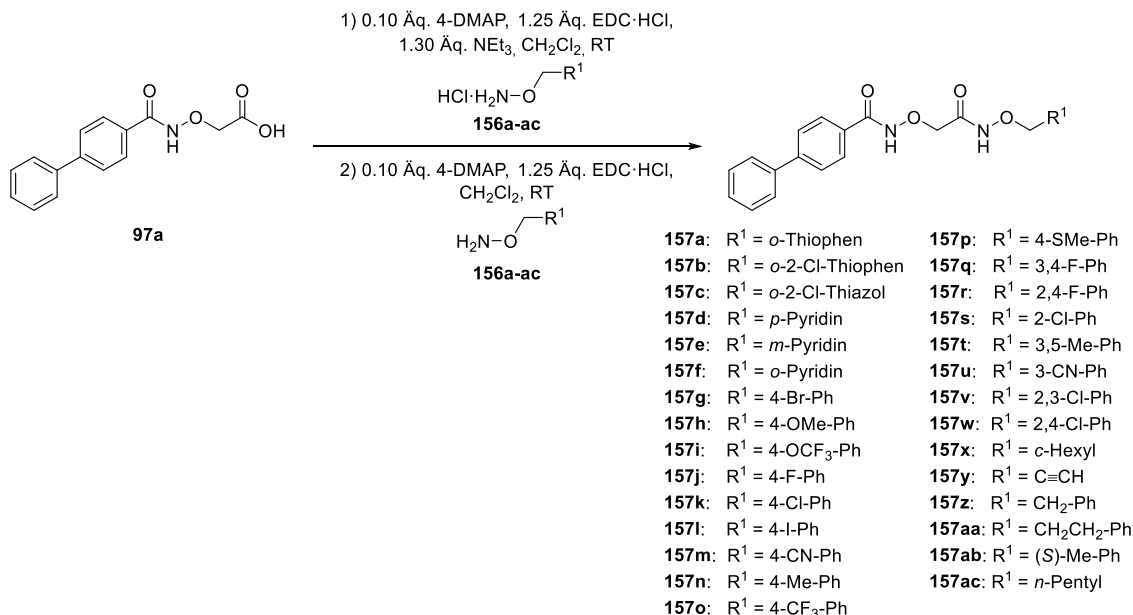
Schema 126: Erfolgte Strukturmodifikationen der Region B und Alkoxyamide 1 und 2 der Leitstruktur KSK104 (**3a**).

Ferner wurde bei den kettensubstituierten Region B-Analoga in Abhängigkeit von sterisch anspruchsvollen Substituenten R¹ und R² (Phenyl- oder Dimethyl-) der Verlust und bei Alkyl-Substituenten am Stickstoff des Alkoxyamids 2 mit zunehmenden Volumen von R³ (H >> Me > ⁿPr = ⁱPr > Et) eine Abnahme der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität beobachtet werden. Diese Substituenten könnten die Biotransformation von KSK104 durch die Amidohydrolase verlangsamen oder behindern. Mit diesen Ergebnissen kann die Prodrug-Theorie untermauert werden. Ebenfalls denkbar ist die sterische Abschirmung von wesentlichen Bindungspartnern oder die sterische Hinderung der Leitstruktur zur Bindungsstelle der biomolekularen Zielstrukturen des Mykobakteriums (Schema 127).



Schema 127: Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Leitstruktur *KSK104* (**3a**), abgeleitet von den biologischen Testergebnissen der dargestellten *KSK104*-Analoge.

Die Darstellung der Region C *KSK104*-Analoge **157a-ac** erfolgte über Aktivierung der Carbonsäure **97a** mit EDC-HCl und 4-DMAP sowie nachfolgender Umsetzung mit den entsprechenden Hydroxylaminen bzw. Hydroxylamin Hydrochloriden **156a-ac**. Hierfür eingesetzte Hydroxylamine bzw. Hydroxylamin Hydrochloride **156a-ac** wurden über die zweistufige analoge GABRIEL-Synthese durch die Hydrazinolyse der Phthaloyl-geschützten Hydroxylamine, welche entweder mittels Substitution von Benzyl- und Alkylhalogeniden durch *N*-Hydroxyphthalimid (NHPI) oder über die MITSUNOBU-Reaktion von Benzylalkohol-Derivaten mit NHPI zugänglich gemacht wurden, dargestellt (Schema 128).

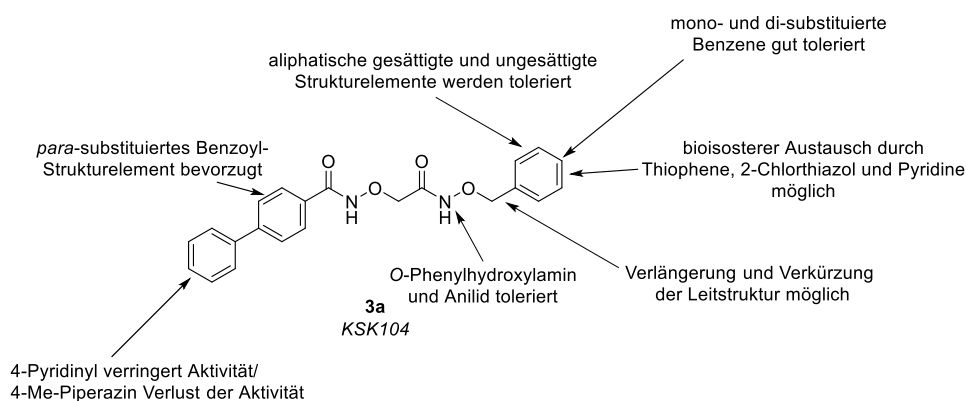


Schema 128: Darstellung der Region C *KSK104*-Analoge **157a-ac**.

Zusammenfassend können die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Region C *KSK104*-Analoge wie folgt beschrieben werden. In der Region C wurden in deren Volumen und elektronischen Eigenschaften sehr verschiedene, aliphatische- (R¹ = *c*-Hexyl (**157x**); -C≡CH (**157y**)) oder heterocyclische- (R¹ = Thiophenyl (**157a**); 2-

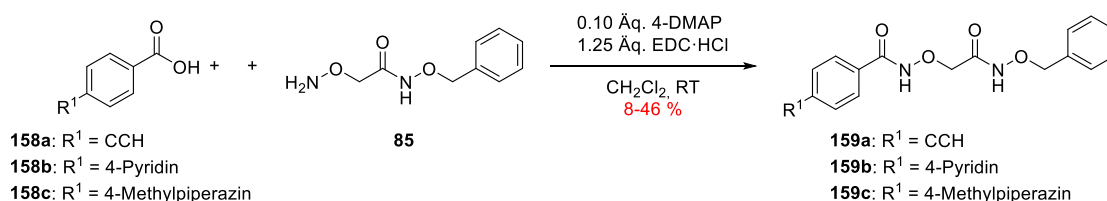
Chlorthiophenyl (**157b**); 2-Chlorthiazolyl (**157c**); *m/p*-Pyridinyl (**157d-e**) und mono/di-substituierte Benzen- ($R^1 = 4\text{-Br-Ph}$ (**157g**); 4-OMe-Ph (**157h**); 4-OCF₃-Ph (**157g**); 3,4-F-Ph (**157q**) Partialstrukturen sehr gut toleriert. Deren gemessene antimykobakterielle *in vitro* Aktivitäten lagen zwischen $MHK_{90} = 0.19$ bis $0.78 \mu\text{M}$ und sind vergleichbar mit der des etablierten Antituberkulotikum Rifampicin ($MHK_{90} = 0.19 \mu\text{M}$).

In der Wirkstoffforschung werden nicht substituierte Benzen-Partialstrukturen mit nachteiligen pharmakokinetische Eigenschaften assoziiert. Daher ist im Rahmen der präklinischen Strukturoptimierung von *KSK104* durch die Einführung von heterozyklischen sowie mono/di-substituierten Benzen-Partialstrukturen in der Region C ein bedeutender Schritt vollzogen worden. Insbesondere der bioisostere Austausch des Benzenkerns durch die Heterocyclen Thiophen (**157a**), 2-Chlorthiophen (**157b**), 2-Chlorthiazol (**157c**) und Pyridine (**157d-f**) können gemäß des Konzepts der *drug-likeness* die pharmakokinetischen und physikochemischen Eigenschaften der Leitstruktur *KSK104* vorteilhaft verändern (Kapitel 4.2.3).^[448,449]



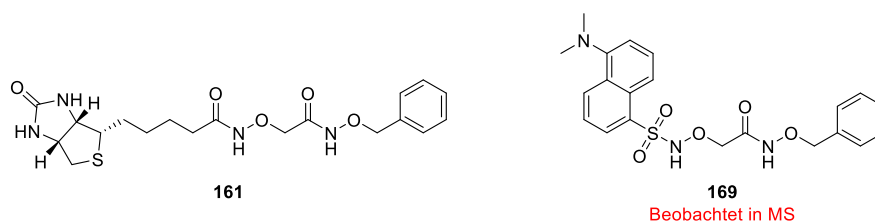
Schema 129: Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der Leitstruktur *KSK104* (**3a**), abgeleitet von den biologischen Testergebnissen der dargestellten Regionen A und C Analoga.

Die Region A *KSK104*-Analoga **159a-c** wurden über die Aktivierung der kommerziell erhältlichen Carbonsäuren **158a-c** mittels EDC·HCl sowie 4-DMAP und der Umsetzung mit dem Hydroxylamin **85** dargestellt (Schema 130). In dieser Partialstruktur wurde lediglich der bioisostere Austausch des Benzens durch 4-Pyridinyl im Analogon **159c** ($MHK_{90} = 3.13 \mu\text{M}$) moderat toleriert.



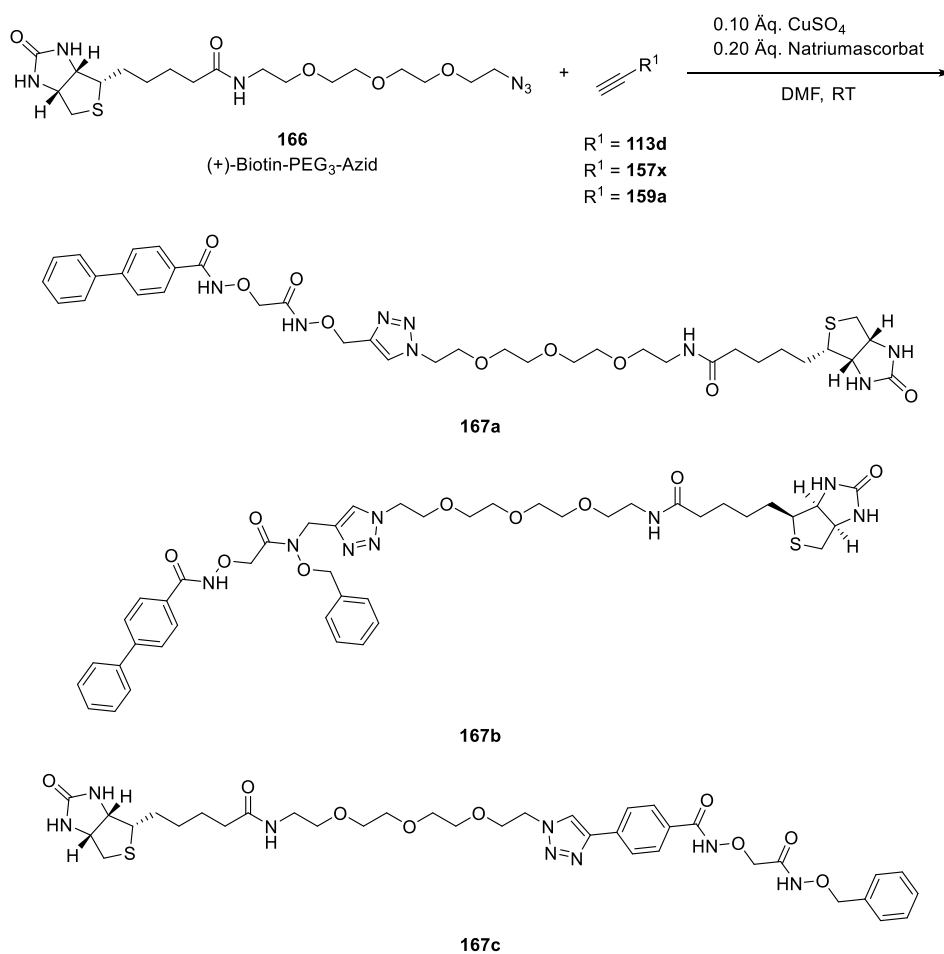
Schema 130: Darstellung der Region A *KSK104*-Analoga **159a-c**.

Für die Identifizierung und Lokalisierung der biomolekularen Zielstruktur der Leitstruktur wurden *KSK104*-Analoge mit Affinitäts- und Fluorophormarkierungen dargestellt. Das biotinylierte *KSK104*-Analogon **161** wies im Ganzzell-basierten Aktivitäts-Assay keine antimykobakterielle *in vitro* Aktivität auf, weshalb keine weiteren Studien zur Identifikation des Wirkstoffziels mit dieser chemischen Sonde durchgeführt worden sind. Dahingegen konnte das Dansyl-markierte Analogon **169** aufgrund der geringen Stabilität dieser Verbindung nicht in analytisch reiner Form erhalten werden. Die Verbindung **169** konnte lediglich mittels ESI-MS über dessen Masse-zu-Ladungs-Verhältnis charakterisiert werden (Schema 131).



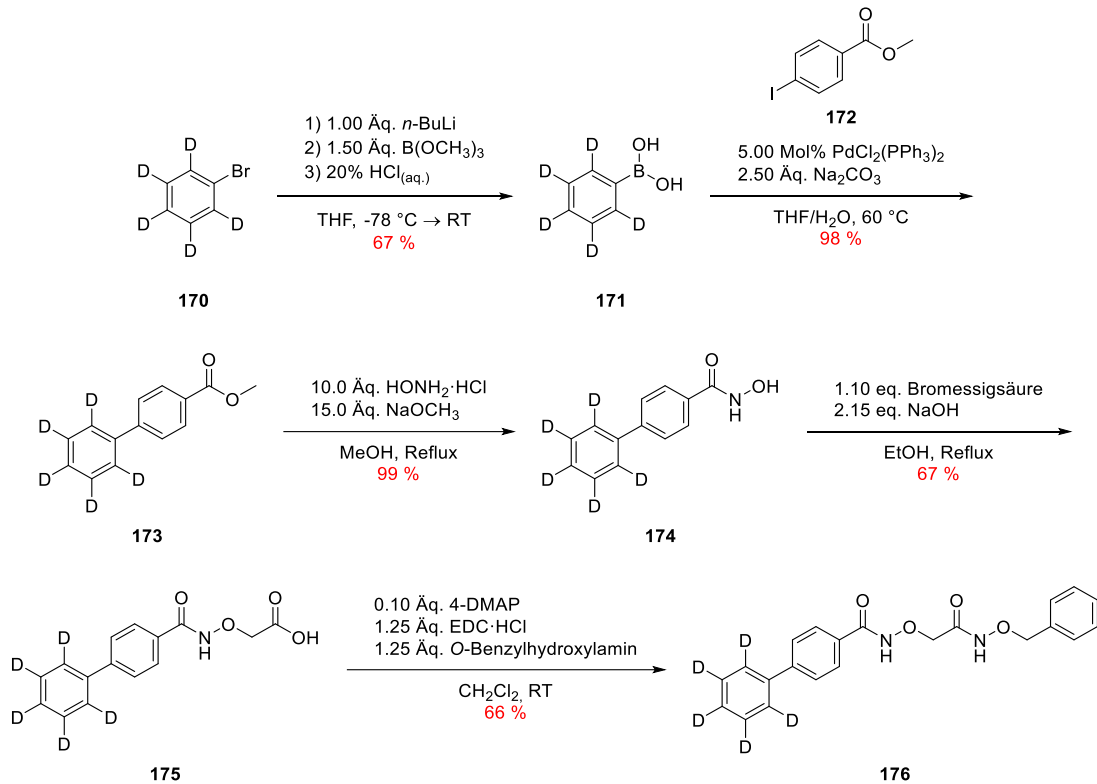
Schema 131: Dargestellte *KSK104*-Analoge mit Affinitäts- und Fluorophormarkierung.

Der Verlust der antimykobakteriellen *in vitro* Aktivität des biotinylierten *KSK104*-Analogons **161** kann auf hinderliche Interaktionen der Affinitätsmarkierung mit der biomolekularen Zielstruktur oder eine Reduktion der Membranpermeabilität zurückzuführen sein. Diese können durch die Einführung einer verbrückenden Polyethylenglykol (PEG)-Kette zwischen den Partialstrukturen des *KSK104* und der Biotin-Markierung reduziert werden. Basierend auf den Ergebnissen der Struktur-Aktivitäts-Beziehungen wurden die drei *KSK104*-Analoge **113d**, **157x** und **159a** dargestellt, welche in den Region A oder C über eine terminale Ethinylgruppe verfügen. Die biologische Testung dieser Analoga zeigte, dass diese weiterhin über eine sehr gute bis moderate antimykobakterielle *in vitro* Aktivität aufwiesen. Daher wurden diese im Anschluss mittels Kupfer-katalysierte Azid-Alkin 1,3-dipolare Cycloaddition mit der Affinitätsmarkierung Biotin-PEG₃-Azid zu den kovalent verknüpften *KSK104*-Biotin-PEG₃-Konjugate **167a-c** umgesetzt (Schema 133). Diese werden in der Arbeitsgruppe unseres Kooperationspartners Prof. Dr. RAINER KALSCHUEUR zur Lokalisation und Identifikation der mykobakteriellen biomolekularen Zielstruktur der neuen Alkoxyamid-basierten Leitstruktur *KSK104* eingesetzt. Zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Arbeit lagen die Ergebnisse noch nicht vor. Mit Hilfe des Wirkstoffziels könnten Rückschlüsse auf den möglichen Wirkungsmechanismus gezogen werden. Dies eröffnet die Möglichkeit mit Hilfe von strukturbioologischen und computergestützten Methoden sowie rationalen Überlegungen die weitere gezielte Strukturoptimierung von *KSK104* durchzuführen.



Schema 132: Darstellung der *KSK104*-Biotin-PEG₃-Konjugate **167a-c**.

Zusätzlich wurde das deuterierte Isotopomer **176** der Leitstruktur *KSK104* (**3a**), ausgehend vom kommerziell erhältlichen Brombenzen-*d*₅ (**170**) über fünf Stufen mit einer Gesamtausbeute von 28.7 %, dargestellt (Schema 133). Dieses wird als interner Standard bei den Untersuchungen mittels Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung zur Bestimmung *in vitro* und *in vivo* Pharmakokinetik sowie Plasmastabilität eingesetzt. Zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Arbeit lagen die Ergebnisse noch nicht vor.



Schema 133: Darstellung des deuterierten Isotopomers von *KSK104-d₅* **176**.

Für die Bestimmung der *in vivo* Pharmakokinetik und Durchführung von Infektionsmodellen an Labormäusen des Stamms BALB/c wurden für den Wirkstoff *KSK104* präklinische Formulierungen evaluiert, welche die perorale und intravenöse Applikation ermöglichen. Für die intravenöse Applikation wurde eine Formulierung bestehend aus DMSO, Tween® 80 und Propylenglykol in 0.9%iger Natriumchlorid-Lösung sowie für perorale Applikation eine wässrige 80%ige Propylenglykol-Lösung gefunden.^[477,478] Zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Promotionsarbeit waren die Ergebnisse der *in vivo* Pharmakokinetik und Infektionsmodellen noch ausstehend (Kapitel 4.2.8).

Abschließend wurde die Stabilität von *KSK104* im wässrigen Medium bei den pH-Werten von 2.0 und 7.4, welche die physiologischen Bedingungen des Magens und Blutkreislaufes simulieren sollten, untersucht. Im sauren konnte bei 37 °C über einen Zeitraum von 48 h lediglich eine marginale Zersetzung und im neutralen Medium kein Substanzabbau von *KSK104* beobachtet werden. Daher ist *KSK104* unter den genannten physikalischen Bedingungen als stabil anzusehen und ein weiterer Beleg für die sehr guten Eigenschaften dieser Leitstruktur für die Entwicklung von Wirkstoffkandidaten zur chemotherapeutischen Behandlung von Arzneimittel-sensitiver-, MDR- und XDR-TB (Kapitel 4.2.9).

6 Experimentalteil

6.1 Material und Methoden

Chemikalien

Die, für diese Arbeit, verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen *abcr*, *Acros Organics*, *Alfa Aesar*, *Apollo Scientific*, *BLDpharm*, *Carbolution Chemicals*, *Carl Roth*, *Fluorochem*, *J&K Scientific*, *Merck*, *Sigma-Aldrich*, *Thermo Fisher Scientific*, *Tokyo Chemical Industry* und *VWR* kommerziell erworben und ohne weitere Reinigungsschritte eingesetzt.

Lösungsmittel

Die absoluten Lösungsmittel Acetonitril, Dichlormethan, *N,N*-Dimethylformamid, Tetrahydrofuran und Toluol wurden von der Firma *Acros Organics* erworben. Zur Trocknung von Diethylether und Dichlormethan wurden diese für mindestens 24 h über Calciumchlorid stehen gelassen, anschließend destilliert und das Destillat über aktiviertem Molekularsieb 4 Å bis zur Verwendung vor Licht geschützt gelagert. Die Trocknung von 1-Methylpyrrolidin-2-on erfolgte durch die Filtration über das zehnfache Volumen an aktiviertem Molekularsieb 4 Å mit anschließender lichtgeschützter Lagerung. Für die Säulenchromatographie und zum Extrahieren wurden Lösungsmittel technischer Qualität verwendet. Für die Umkristallisation und Durchführung von feuchtigkeitunempfindlichen Reaktionen wurden Lösungsmittel der Qualität p. a. verwendet.

Rotationsverdampfer

Zur destillativen Entfernung von Lösungsmitteln wurde ein Rotationsverdampfer der Firma *Büchi* sofern nicht anders angegeben mit einer Badtemperatur von 45 °C und einer angeschlossenen Hochvakuumpumpe der Firma *Vacuubrand* verwendet.

Feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen

Alle feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden in mit einem Heißluftfön (550 °C) ausgeheizten Glasapparaturen unter Stickstoff-Schutzgasatmosphäre durchgeführt. Feste Reaktanden wurden unter Schutzgasgegenstrom hinzugegeben und flüssige Reaktanden wurden mittels Einwegspritzen in die mit einem Septum verschlossene Glasapparatur gegeben.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die Reaktionskontrolle wurden Fertigfolien der Firma *Macherey-Nagel* (ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄) mit Fluoreszenz-Indikator verwendet. Die Detektion erfolgte entweder durch

Fluoreszenzlöschung unter UV-Lampen (253 nm und 356 nm) oder mittels Anfärben mit einer 1%igen ethanolischen Eisen(III)-chlorid-Lösung (1.00 g FeCl₃, 100 mL Ethanol 96 %) oder Kaliumpermanganat-Lösung (5.00 mL 5%ige Natriumhydroxid-Lösung, 300 mL dest. Wasser, 20.0 g K₂CO₃, 3.00 g KMnO₄) und anschließender Entwicklung mit einem Heißluftfön.

Säulenchromatographie

Für die Säulenchromatographie wurden zylindrische Glassäulen, gefüllt mit Kieselgel 60M (Partikelgröße 0.040-0.063 mm, 230-400 mesh) der Firma *Macherey-Nagel* verwendet. Als mobile Phase dienten Eluentengemische diverser Lösungsmittel, deren Verhältnisse in den entsprechenden Versuchsvorschriften angegeben sind und stets mit einem Gradienten von geringer zur höheren Polarität eingesetzt wurden.

Flash-Chromatographie

Die Flashchromatographie wurde an dem Gerät CombiFlash® Rf 200 mit RediSep™ Rf-Kartuschen der Firma *Teledyne Isco* durchgeführt.

Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie (HPLC)

Die HPLC Messungen wurden am Gerät Varian ProStar 210 in Kombination mit dem UV-Detektor Varian ProStar 330 im Bereich von 220-254 nm der Firma *Varian Inc.* Als stationäre Phase wurde die Chromatographiesäule Phenomenex Luna C-18 (2) Partikelgröße 5 µm (250 x 4.6 mm) mit einer vorgeschalteten Phenomenex Security Guard C-18 (4.0 mm x 3.0 mm) der Firma *Phenomenex* verwendet. Die Messungen wurden mit dem unten aufgeführten Laufmittelgradienten in den Methoden I und II durchgeführt:

Tabelle 28: Eingestellter Laufmittelgradient bei der HPLC.

Zeitintervall [min]	Eluent A [%]	Eluent B [%]
0-0.5	90	10
0.5-20	90 → 0	10 → 100
20-30	0	100

Methode I:

Flussrate: 1.00 mL/min; Eluent A: Wasser + 0.1 % TFA; Eluent B: Acetonitril + 0.1 % TFA

Methode II:

Flussrate: 1.00 mL/min; Eluent A: Wasser; Eluent B: Acetonitril

Kernresonanz-Spektroskopie (NMR)

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte an den folgenden Geräten der Firma *Bruker*:

Bruker Avance III – 300 (^1H : 300 MHz; ^{11}B : 193 MHz; ^{13}C : 75 MHz; ^{19}F : 282 MHz)

Bruker Avance III – 600 (^1H : 600 MHz; ^{13}C : 151 MHz; ^{19}F : 565 MHz)

Bruker Avance DRX – 500 (^1H : 500 MHz; ^{13}C : 126 MHz; ^{19}F : 471 MHz)

Zur Prozessierung der Spektren wurde die Software Mnova der Firma *Mestrelab Research* verwendet. Alle Spektren wurden in kommerziell erhältlichen, deuterierten Lösungsmitteln der Firma *Sigma-Aldrich* bei einer Messtemperatur von 298.0 K aufgenommen. Die Kalibrierung der Spektren erfolgte mit Hilfe der jeweiligen charakteristischen, chemischen Verschiebung des nicht vollständig deuterierten Lösungsmittelsignals:^[481]

Chloroform-*d*: ^1H : $\delta = 7.26$ ppm und ^{13}C : $\delta = 77.2$ ppm.

DMSO-*d*₆: ^1H : $\delta = 2.50$ ppm und ^{13}C : $\delta = 39.5$ ppm

Die chemischen Verschiebungen δ sind in *parts per million* (ppm), die Größe der Kopplungskonstanten *J* in Hertz (Hz) angegeben. Alle in dieser Arbeit aufgelisteten ^{11}B -, ^{13}C - und ^{19}F -NMR-Spektren sind ^1H -Breitband-entkoppelt. Die Multiplizitäten der jeweiligen Signale wurden mit den folgenden, gängigen Abkürzungen bezeichnet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin. (Quintett), hept. (Heptett), m (Multipllett) und br s (breites Singulett).

Massenspektrometrie (MS)

Die Massenspektren wurden aufgenommen von der Abteilung für Massenspektrometrie an der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf. Die Messung der ESI-MS und ESI-HRMS erfolgte am Gerät UHR-QTOF maXis 4G der Firma *Bruker Daltonics*.

Infrarot-Spektroskopie

Die Infrarotspektren wurden mit dem Gerät Varian 800 FT-IR Scimitar series der Firma *Varian Inc.* aufgenommen. Feste Substanzen wurden als KBr-Presslinge präpariert und gemessen.

Mikrowellenreaktionen

Die Mikrowellenreaktionen wurden in dem Mikrowellenreaktor Discover der Firma *CEM GmbH* durchgeführt. Als Reaktionsgefäß wurde ein dickwandiges 10 mL Mikrowellenrohr, verschlossen mit einem Schnappdeckelverschluss, verwendet.

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden im Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der HEINRICH-HEINE-Universität Düsseldorf an den Geräten Perkin Elmer II Analyzer 2400 der

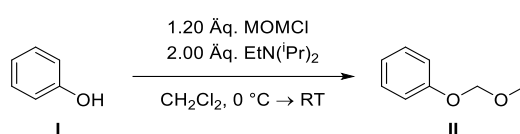
Firma *PerkinElmer* oder einem Elementar vario MICRO CUBE der Firma *Elementar Analysensysteme GmbH* durchgeführt.

Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden bei Normaldruck an dem Gerät Schmelzpunkt M-565 der Firma *Büchi* bestimmt und sind nicht korrigiert.

6.2 Allgemeine Synthesevorschriften (ASV)

6.2.1 ASV. 1: Einführung der MOM-Schutzgruppe



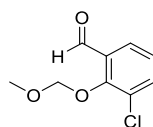
Die Darstellung der Methoxymethyl-geschützten Verbindungen wurde in Anlehnung an die Vorschrift von OHNO *et al.* durchgeführt.^[482]

In einem ausgeheizten Rundkolben wurde das entsprechende Phenol I (1.00 Äq.) in absolutem Dichlormethan gelöst. Der Ansatz wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und *N,N*-Diisopropylethylamin (2.00 Äq.) hinzugegeben. Nach 10 min wurde langsam (Chlormethyl)methylether (1.20 Äq.) hinzugetropft, die Eiskühlung entfernt und der Ansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsansatz wurde mit (2.00 mL/mmol) einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung verdünnt und dreimal mit jeweils (2.00 mL/mmol) Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit (2.00 mL/mmol) einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 29: Experimentelle Details zur Einführung der MOM-Schutzgruppe.

Phenol	MOMCl	EtN(<i>i</i> Pr) ₂	CH ₂ Cl ₂	Ausbeute
4 10.0 g 63.9 mmol	6.17 g 76.6 mmol	16.5 g 127.8 mmol	100 mL	32a 12.1 g (94 %) 60.1 mmol
62a 12.2 g 75.3 mmol	7.27 g 90.3 mmol	19.5 g 151 mmol	100 mL	63a 13.8 g (89 %) 66.9 mmol
62b 3.00 g 22.0 mmol	2.13 g 26.4 mmol	5.70 g 44.1 mmol	50.0 mL	63b 2.15 g (54 %) 11.9 mmol

66 1.00 g 4.03 mmol	0.39 g 4.84 mmol	1.04 g 8.06 mmol	20.0 mL	64c 1.11 g (98 %) 3.80 mmol
3-Bromosalicylaldehyd 5.00 g 24.9 mmol	2.40 g 29.8 mmol	6.43 g 49.7 mmol	50.0 mL	64d 5.89 g (97 %) 24.0 mmol
3-Methoxysalicylaldehyd 5.00 g 32.9 mmol	3.17 g 39.4 mmol	8.49 g 65.7 mmol	50.0 mL	64e 6.29 g (97 %) 32.1 mmol
4-Chlorsalicylaldehyd 3.00 g 19.2 mmol	1.85 g 23.0 mmol	4.95 g 38.3 mmol	60.0 mL	64f 3.76 g (98 %) 18.7 mmol
3-Chlor-5-fluorsalicylaldehyd 5.00 g 28.6 mmol	2.77 g 34.4 mmol	7.40 g 57.3 mmol	50.0 mL	64g 4.99 g (80 %) 22.8 mmol
3-Methylsalicylaldehyd 4.48 g 32.9 mmol	3.18 g 39.5 mmol	8.50 g 65.8 mmol	50.0 mL	64h 3.78 g (64 %) 21.0 mmol
3-Brom-5-fluorsalicylaldehyd 2.00 g 9.13 mmol	0.88 g 11.0 mmol	2.36 g 18.3 mmol	40.0 mL	64i 2.26 g (99 %) 8.60 mmol
3-Fluorsalicylaldehyd 5.00 g 35.7 mmol	3.45 g 42.8 mmol	9.22 g 71.4 mmol	70.0 mL	64j 5.72 g (87 %) 31.1 mmol
4-Chlor-3-hydroxybenzaldehyd 3.00 g 19.2 mmol	1.85 g 23.0 mmol	4.95 g 38.3 mmol	60.0 mL	64k 3.78 g (98 %) 18.8 mmol

 3-Chlor-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**32a**)


32a
 $C_9H_9ClO_3$
 200.62 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **32a** als weißer Feststoff (12.1 g, 60.1 mmol, 94 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 43.2 °C

R_f 0.19 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 95:5)

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

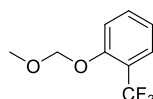
δ (ppm) = 3.64 (s, 3H), 5.24 (s, 2H), 7.23 (td, $J = 7.8, 0.8$ Hz, 1H), 7.68 (dd, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H), 7.80 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H), 10.39 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)

δ (ppm) = 58.3, 100.7, 125.5, 126.9, 128.6, 131.6, 136.1, 156.2, 189.6.

HPLC $t_R = 12.41$ min (Methode 2) A.U.C = >99 %

1-(Methoxymethoxy)-2-(trifluormethyl)benzen (**63a**)



63a
 $\text{C}_9\text{H}_9\text{F}_3\text{O}_2$
 206.16 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittel *n*-Hexan konnte das Produkt **63a** als farblose Flüssigkeit (13.8 g, 66.9 mmol, 89 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[483]

R_f 0.48 (*n*-Hexan/Dichlormethan 9:1)

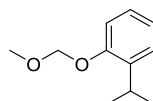
^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

δ (ppm) = 3.39 (s, 3H), 5.34 (s, 2H), 7.14 (tp, $J = 7.7, 0.9$ Hz, 1H), 7.32 (dq, $J = 8.2, 0.8$ Hz, 1H), 7.53 – 7.67 (m, 2H).

^{19}F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -60.8.

1-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzen (**63b**)



63b
 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_2$
 180.25 g/mol

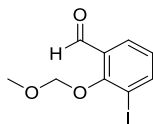
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittel *n*-Hexan konnte das Produkt **63b** als farblose Flüssigkeit (2.15 g, 11.9 mmol, 54 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[484]

R_f 0.41 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

δ (ppm) = 1.17 (d, J = 6.9 Hz, 6H), 3.22 – 3.36 (m, 1H), 3.39 (s, 3H), 5.21 (s, 2H), 6.91 – 6.98 (m, 1H), 7.02 (dd, J = 8.2, 1.3 Hz, 1H), 7.12 (ddd, J = 8.2, 7.2, 1.8 Hz, 1H), 7.22 (dd, J = 7.6, 1.8 Hz, 1H).

3-Iod-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64c**)



64c
C₉H₉IO₃
292.07 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64c** als farblose Flüssigkeit (1.11 g, 3.80 mmol, 98 %) erhalten werden.

R_f 0.47 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

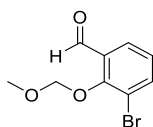
¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.65 (d, J = 1.2 Hz, 3H), 5.19 (d, J = 1.1 Hz, 2H), 7.05 (tt, J = 7.8, 1.0 Hz, 1H), 7.86 (dt, J = 7.6, 1.5 Hz, 1H), 8.08 (dt, J = 7.8, 1.5 Hz, 1H), 10.31 (d, J = 0.9 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 58.6, 93.6, 101.6, 126.9, 128.9, 131.3, 145.5, 160.1, 190.2.

3-Brom-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64d**)



64d
C₉H₉BrO₃
245.07 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64d** als weißer Feststoff (5.89 g, 24.0 mmol, 97 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[482]

Schmelzpunkt 54.2 °C

R_f 0.35 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

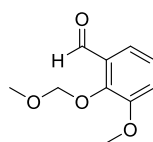
δ (ppm) = 3.64 (s, 3H), 5.22 (s, 2H), 7.17 (td, $J = 7.8, 0.9$ Hz, 1H), 7.82 (q, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.85 (q, $J = 1.7$ Hz, 1H), 10.36 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)

δ (ppm) = 58.3, 101.0, 118.2, 126.0, 127.7, 131.7, 139.2, 157.3, 189.7.

HPLC $t_R = 12.82$ min (Methode 2) A.U.C = >99 %

3-Methoxy-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64e**)



64e
 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$
 196.20 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 \rightarrow 95:5) konnte das Produkt **64e** als weißer Feststoff (6.29 g, 32.1 mmol, 97 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 60.2 °C

R_f 0.15 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

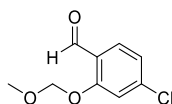
δ (ppm) = 3.47 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 5.18 (s, 2H), 7.24 (td, $J = 7.9, 0.9$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 10.35 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.6, 57.8, 99.4, 100.0, 118.8, 119.2, 125.2, 130.4, 149.1, 152.9, 166.6, 190.6.

HPLC $t_R = 10.63$ min (Methode 2) A.U.C = >99 %

4-Chlor-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64f**)



64f
 $\text{C}_9\text{H}_9\text{ClO}_3$
 200.62 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 \rightarrow 95:5) konnte das Produkt **64f** als weißer Feststoff (3.76 g, 18.7 mmol, 98 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 58.2 °C

R_f 0.27 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

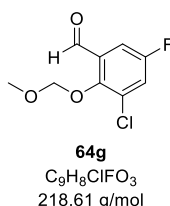
δ (ppm) = 3.45 (s, 3H), 5.42 (s, 2H), 7.21 (ddt, *J* = 8.3, 1.8, 0.9 Hz, 1H), 7.40 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.73 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 1H), 10.32 – 10.36 (m, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.3, 94.6, 115.9, 122.0, 123.8, 129.4, 140.3, 159.4, 188.3.

HPLC *t_R* = 13.02 min (Methode 2) A.U.C = >99 %

3-Chlor-5-fluor-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64g**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64g** als weißer Feststoff (4.99 g, 22.8 mmol, 80 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 72.6 °C

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 95:5)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.53 (s, 3H), 5.18 (s, 2H), 7.50 (dd, *J* = 8.1, 3.2 Hz, 1H), 7.93 (dd, *J* = 8.0, 3.2 Hz, 1H), 10.16 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

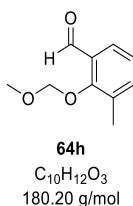
δ (ppm) = 57.8, 100.8 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 1.0 Hz), 112.9 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 23.4 Hz), 123.3 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 26.9 Hz), 129.3 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 10.3 Hz), 131.6 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 7.0 Hz), 152.0, 157.9 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 246.7 Hz), 188.6 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 1.7 Hz).

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -114.6.

HPLC *t_R* = 13.46 min (Methode 2) A.U.C = >99 %

2-(Methoxymethoxy)-3-methylbenzaldehyd (**64h**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64h** als farblose Flüssigkeit (3.78 g, 21.0 mmol, 64 %) erhalten werden.

R_f 0.24 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

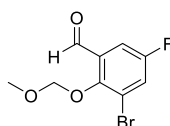
δ (ppm) = 2.31 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 3.50 (s, 3H), 5.09 (s, 2H), 7.23 (tt, *J* = 7.5, 0.5 Hz, 1H), 7.53 – 7.63 (m, 2H), 10.23 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 16.4, 57.8, 57.8, 101.0, 125.1, 126.4, 129.8, 132.8, 137.8, 158.9, 191.1.

HPLC *t_R* = 11.79 min (Methode 2) A.U.C = 98.7 %

3-Brom-5-fluor-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64i**)



64i
C₉H₈BrFO₃
263.06 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64i** als weißer Feststoff (2.26 g, 8.60 mmol, 99 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 73.1 °C

R_f 0.19 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.54 (s, 3H), 5.17 (s, 2H), 7.53 (dd, *J* = 8.1, 3.2 Hz, 1H), 8.04 (dd, *J* = 7.8, 3.2 Hz, 1H), 10.14 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

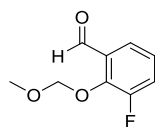
δ (ppm) = 57.9, 101.0, 113.4 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 23.4 Hz), 118.9 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 9.4 Hz), 126.2 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 26.4 Hz), 131.6 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 6.6 Hz), 153.1 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.0 Hz), 158.2 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 247.6 Hz), 188.8.

¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -114.7.

HPLC *t_R* = 13.65 min (Methode 2) A.U.C = >99 %

3-Fluor-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64j**)



64j
 $C_9H_9FO_3$
 184.17 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64j** als farblose Flüssigkeit (5.72 g, 31.1 mmol, 87 %) erhalten werden.

R_f 0.19 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 95:5)

1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.57 (s, 3H), 5.27 (d, J = 1.0 Hz, 2H), 7.14 (tdd, J = 8.0, 4.5, 0.8 Hz, 1H), 7.34 (ddd, J = 11.2, 8.1, 1.7 Hz, 1H), 7.62 (ddd, J = 7.8, 1.7, 1.1 Hz, 1H), 10.42 (d, J = 0.8 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)

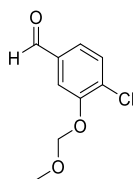
δ (ppm) = 58.0, 99.9 (d, $^4J(^{13}C, ^{19}F)$ = 7.5 Hz), 122.8 (d, $^2J(^{13}C, ^{19}F)$ = 19.7 Hz), 123.9 (d, $^4J(^{13}C, ^{19}F)$ = 3.4 Hz), 124.4 (d, $^3J(^{13}C, ^{19}F)$ = 7.4 Hz), 131.0 (d, $^3J(^{13}C, ^{19}F)$ = 1.7 Hz), 147.3 (d, $^2J(^{13}C, ^{19}F)$ = 11.4 Hz), 155.3 (d, $^1J(^{13}C, ^{19}F)$ = 248.9 Hz), 189.1 (d, $^4J(^{13}C, ^{19}F)$ = 3.3 Hz).

^{19}F NMR (282 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = -129.2.

HPLC t_R = 10.87 min (Methode 2) A.U.C = >99 %

4-Chlor-3-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64k**)



64k
 $C_9H_9ClO_3$
 200.62 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 1**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte das Produkt **64k** als weißer Feststoff (3.78 g, 18.8 mmol, 98 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 29.2 °C

R_f 0.22 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$)

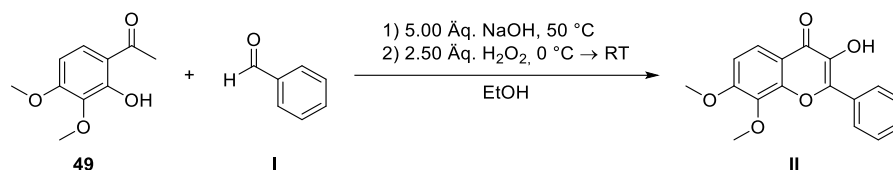
Experimentalteil

δ (ppm) = 3.43 (s, 3H), 5.39 (s, 2H), 7.58 (dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J = 4.9, 3.1$ Hz, 2H), 9.96 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.0, 94.6, 115.1, 124.3, 128.8, 130.9, 136.0, 152.7, 192.0.

HPLC $t_{\text{R}} = 12.41$ min (Methode 2) A.U.C = >99 %

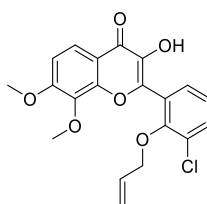
6.2.2 ASV. 2: Darstellung der Flavonole im sequenziellen Eintopfverfahren


Zu einer Lösung von 3,4-Dimethoxy-2-hydroxyacetophenon (**49**) (1.00 Äq.) und dem entsprechenden Aldehyd **I** (1.00 Äq.) in Ethanol wurde bei Raumtemperatur 5 m Natriumhydroxid-Lösung (5.00 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf 50 °C erwärmt und für 24 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit Wasserstoffperoxid-Lösung (30 Gew.-%, 2.50 Äq.) versetzt. Die entstandene Suspension wurde mit eiskaltem Ethanol verdünnt bis ein weiteres Rühren möglich war, auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der viskose Rückstand in (5.00 mL/mmol) dest. Wasser aufgenommen und unter Eiskühlung der pH-Wert mit 2 m Salzsäure-Lösung vorsichtig auf 7 eingestellt. Die wässrige Suspension wurde viermal mit jeweils (4.00 mL/mmol) Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen einmal mit (4.00 mL/mmol) einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 30: Experimentelle Übersicht zur Darstellung der Flavonole über die CLAISEN-SCHMIDT-Kondensation mit anschließender AFO-Reaktion im sequenziellen Eintopfverfahren.

Acetophenon	Aldehyd	5 m NaOH	30%ige H ₂ O ₂	Ethanol	Ausbeute
49 5.44 g 27.7 mmol	32b 5.45 g 27.7 mmol	27.7 mL 139 mmol	7.86 mL 69.3 mmol	150 mL	51 4.39 g (41 %) 11.3 mmol
49 8.17 g 41.7 mmol	32a 8.36 g 41.7 mmol	41.7 mL 208 mmol	11.8 mL 104 mmol	200 mL	55 6.83 g (42 %) 17.4 mmol
49 9.30 g 47.4 mmol	64a 11.1 g 47.4 mmol	47.4 mL 237 mmol	13.4 mL 119 mmol	250 mL	70a 6.37 g (32 %) 14.9 mmol
49 1.41 g 7.20 mmol	64b 1.50 g 7.20 mmol	7.20 mL 36.0 mmol	2.04 mL 18.0 mmol	40.0 mL	70b 0.94 g (32 %) 2.34 mmol
49	64c			30.0 mL	70c

0.74 g 3.77 mmol	1.10 g 3.77 mmol	3.77 mL 18.8 mmol	1.07 mL 9.42 mmol		0.67 g (37 %) 1.39 mmol
49 4.64 g 23.7 mmol	64d 5.80 g 23.7 mmol	23.7 mL 118 mmol	6.71 mL 59.2 mmol	130 mL	70d 4.04 g (39 %) 9.24 mmol
49 3.71 g 18.9 mmol	64e 3.71 g 18.9 mmol	18.9 mL 94.7 mmol	5.37 mL 47.3 mmol	150 mL	70e 4.20 g (57 %) 10.8 mmol
49 3.57 g 18.2 mmol	64f 3.65 g 18.2 mmol	18.2 mL 91.0 mmol	5.16 mL 45.5 mmol	100 mL	70f 3.62 g (51 %) 9.22 mmol
49 2.94 g 15 mmol	64g 3.28 g 15.0 mmol	15.0 mL 75.0 mmol	4.25 mL 37.5 mmol	100 mL	70g 2.11 g (34 %) 5.14 mmol
49 3.34 g 17.0 mmol	64h 3.06 g 17.0 mmol	17.0 mL 85 mmol	4.82 mL 42.5 mmol	150 mL	70h 3.57 g (56 %) 9.59 mmol
49 1.69 g 8.59 mmol	64i 2.26 g 8.59 mmol	8.59 mL 43.0 mmol	2.43 mL 21.5 mmol	25.0 mL	70i 1.26 g (32 %) 2.77 mmol
49 6.09 g 31.1 mmol	64j 5.72 g 31.1 mmol	31.1 mL 155 mmol	8.80 mL 77.6 mmol	100 mL	70j 4.98 g (43 %) 13.2 mmol
49 3.57 g 18.2 mmol	64k 3.65 g 18.2 mmol	18.2 mL 91.0 mmol	5.16 mL 45.5 mmol	100 mL	70k 2.38 g (33 %) 6.06 mmol
49 5.00 g 25.5 mmol	64l 4.46 g 25.5 mmol	25.5 mL 127 mmol	7.22 mL 63.7 mmol	150 mL	70l 4.34 g (46 %) 11.8 mmol
49 5.00 g 25.5 mmol	64m 3.58 g 25.5 mmol	25.5 mL 127 mmol	7.22 mL 63.7 mmol	150 mL	70m 2.77 g (33 %) 8.32 mmol

 2-(2-(Allyloxy)-3-chlorophenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**51**)


51
C₂₀H₁₇ClO₆
388.80 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **51** als gelber Feststoff (4.39 g, 11.3 mmol, 41 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 145.1 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

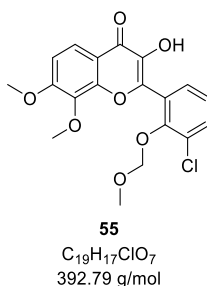
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 4.05 (s, 3H), 4.10 (s, 3H), 4.64 (dt, *J* = 5.8, 1.3 Hz, 2H), 5.15 (dq, *J* = 10.3, 1.2 Hz, 1H), 5.31 (dq, *J* = 17.2, 1.6 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 7.18 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.27 – 7.39 (m, 1H), 7.63 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 8.09 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.8, 61.9, 75.2, 110.5, 116.4, 118.5, 121.1, 124.9, 126.7, 129.2, 130.0, 132.9, 133.2, 137.0, 138.4, 144.7, 150.6, 153.6, 156.7, 173.2.

2-(3-Chlor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**55**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **55** als gelber Feststoff (6.83 g, 17.4 mmol, 42 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 166.7 °C

R_f 0.28 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

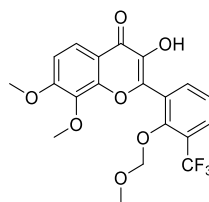
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.14 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 4.98 (s, 2H), 7.30 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.35 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 7.70 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 9.16 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 56.6, 60.8, 99.0, 110.7, 116.8, 120.3, 125.3, 127.4, 130.3, 132.1, 136.0, 138.7, 144.9, 149.3, 151.0, 155.9, 172.4.

3-Hydroxy-7,8-dimethoxy-2-(2-(methoxymethoxy)-3-(trifluormethyl)phenyl)-4*H*-chromen-4-on (**70a**)



70a
C₂₀H₁₇F₃O₇
426.34 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70a** in moderat verunreinigter Form als gelber Feststoff (6.37 g, 14.9 mmol, 32 %) erhalten werden. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet.

Schmelzpunkt 174.1 °C

R_f 0.34 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.13 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.89 (s, 2H), 7.30 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.48 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.73 (ddd, *J* = 15.5, 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.90 (dd, *J* = 12.1, 7.8 Hz, 1H), 9.24 (br s, 1H).

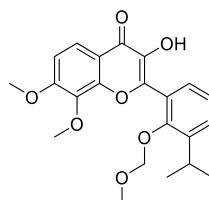
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 56.5, 60.9, 89.4, 99.5, 110.5, 110.8, 117.1, 117.4, 118.9, 120.1, 120.2, 120.5, 135.2, 136.1, 138.9, 144.2, 149.8, 155.8, 172.7.

¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -59.3.

3-Hydroxy-2-(3-isopropyl-2-(methoxymethoxy)phenyl)-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70b**)



70b
C₂₂H₂₄O₇
400.43 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70b** als gelber Feststoff (0.94 g, 2.34 mmol, 32 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 115.7 °C

R_f 0.30 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 2:3)

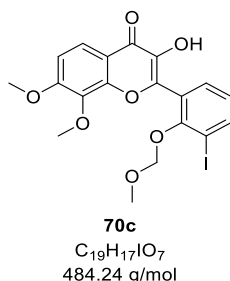
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.24 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H), 3.17 (s, 3H), 3.33 – 3.48 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.81 (s, 2H), 7.24 – 7.31 (m, 2H), 7.38 (dd, *J* = 7.6, 1.8 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.91 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 23.5, 25.9, 56.5, 56.5, 60.8, 99.5, 110.6, 116.8, 120.2, 124.2, 125.0, 128.6, 136.1, 138.3, 142.1, 146.7, 149.3, 152.7, 155.7, 172.4.

3-Hydroxy-2-(3-iod-2-(methoxymethoxy)phenyl)-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70c**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70c** als gelber Feststoff (0.67 g, 1.39 mmol, 37 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 130.2 °C

R_f 0.42 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

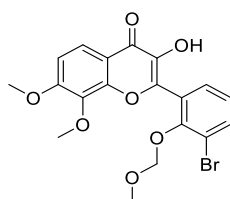
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.12 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.89 (s, 2H), 7.10 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.61 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.03 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 9.09 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 57.0, 57.4, 61.3, 94.2, 99.8, 111.2, 117.3, 120.8, 126.6, 126.6, 132.2, 136.5, 139.0, 141.8, 145.9, 149.8, 155.3, 156.4, 172.9.

2-(3-Brom-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70d**)



70d

C₁₉H₁₇BrO₇
437.24 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70d** als gelber Feststoff (4.04 g, 9.24 mmol, 39 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 126.3 °C

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

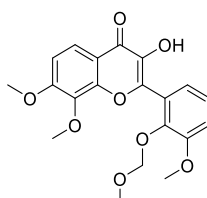
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.12 (s, 3H), 3.83 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.94 (s, 2H), 7.26 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.61 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.84 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 9.13 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 56.7, 60.9, 99.1, 110.8, 116.8, 117.3, 120.3, 125.7, 127.3, 131.0, 135.2, 136.0, 138.6, 145.1, 149.3, 152.1, 155.9, 172.4.

3-Hydroxy-7,8-dimethoxy-2-(3-methoxy-2-(methoxymethoxy)phenyl)-4*H*-chromen-4-on (**70e**)



70e

C₂₀H₂₀O₈
388.37 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70e** als gelber Feststoff (4.20 g, 10.8 mmol, 57 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 145.8 °C

R_f 0.34 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

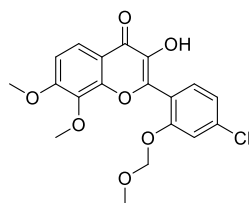
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.04 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.97 (s, 2H), 7.12 (dd, J = 6.6, 2.6 Hz, 1H), 7.20 – 7.26 (m, 2H), 7.28 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 8.89 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 55.9, 55.9, 56.5, 60.8, 97.8, 110.7, 114.6, 116.8, 120.2, 122.3, 124.2, 126.2, 136.0, 138.5, 143.6, 146.1, 149.3, 152.3, 155.7, 172.4.

2-(4-Chlor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70f**)



70f
 $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{ClO}_7$
 392.79 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70f** als gelber Feststoff (3.62 g, 9.22 mmol, 51 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 193.4 °C

R_f 0.47 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

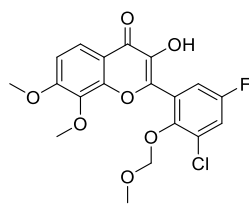
^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.35 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 5.27 (s, 2H), 7.22 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.35 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.56 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 9.01 (s, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.2, 56.9, 61.2, 94.8, 111.2, 115.9, 117.3, 120.3, 120.5, 121.7, 132.9, 135.9, 136.6, 139.0, 145.5, 149.8, 155.8, 156.2, 172.8.

2-(3-Chlor-5-fluor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70g**)



70g
 $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClFO}_7$
 410.78 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70g** in moderat verunreinigter Form als gelber Feststoff (2.11 g, 5.14 mmol, 34 %) erhalten werden. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet.

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.11 (s, 3H), 3.83 (s, 4H), 3.96 (s, 3H), 4.94 (s, 2H), 7.27 – 7.33 (m, 1H), 7.48 – 7.55 (m, 1H), 7.75 (dd, *J* = 8.2, 3.1 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 9.29 (s, 1H).

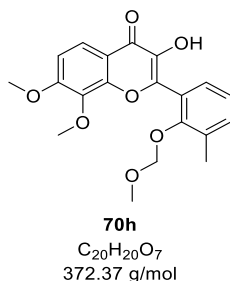
¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 57.0, 57.2, 61.4, 99.7, 111.3, 117.4, 117.4 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 31.8 Hz), 119.7 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 26.2 Hz), 120.8, 128.6 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 9.7 Hz), 128.9 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 11.6 Hz), 136.5, 139.3, 144.2 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 1.3 Hz), 148.4 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.4 Hz), 149.8, 156.5, 157.8 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 244.9 Hz), 172.9.

¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = -116.30.

3-Hydroxy-7,8-dimethoxy-2-(2-(methoxymethoxy)-3-methylphenyl)-4*H*-chromen-4-on (**70h**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70h** als gelber Feststoff (3.57 g, 9.59 mmol, 56 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 130.3 °C

R_f 0.42 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

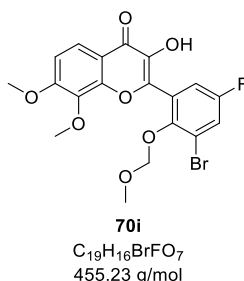
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.34 (s, 3H), 3.15 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.85 (s, 2H), 7.20 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.37 – 7.44 (m, 2H), 7.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 8.91 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 16.9, 56.8, 57.0, 61.3, 99.3, 111.1, 117.3, 120.7, 124.3, 125.7, 129.5, 132.1, 133.5, 136.6, 138.9, 147.1, 149.8, 154.4, 156.2, 172.9.

2-(3-Brom-5-fluor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70i**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70i** als gelber Feststoff (1.26 g, 2.77 mmol, 32 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 230.8 °C (Zersetzung)

R_f 0.19 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.23 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 5.00 (s, 2H), 7.11 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.34 (dd, *J* = 8.1, 3.1 Hz, 1H), 7.49 (dd, *J* = 7.5, 3.1 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H).

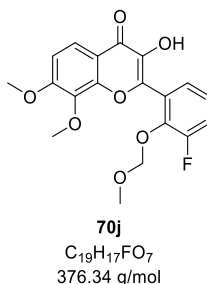
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.8, 57.7, 61.9, 100.3, 110.6, 110.7, 116.2, 117.5, 121.2, 122.7, 136.7, 137.0, 138.4, 143.4, 150.5, 151.6, 156.9, 158.4, 175.3.

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -115.9.

2-(3-Fluor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70j**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch

n-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70j** als gelber Feststoff (4.98 g, 13.2 mmol, 43 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 148.2 °C

R_f 0.22 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.19 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 5.05 (s, 2H), 7.26 – 7.34 (m, 2H), 7.43 (dt, *J* = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.48 (ddd, *J* = 11.4, 8.2, 1.6 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 9.12 (s, 1H).

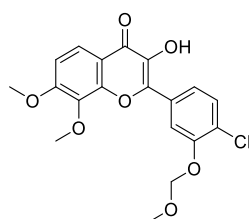
¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 56.2, 56.5, 60.8, 98.8 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 5.2 Hz), 110.8, 116.8, 118.5 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 19.5 Hz), 120.3, 124.6 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 8.5 Hz), 126.8 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.3 Hz), 127.2 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 2.5 Hz), 136.0, 138.7, 142.4 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 12.2 Hz), 144.6 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.1 Hz), 149.3, 155.1 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 245.9 Hz), 155.9, 172.4.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -129.2.

2-(4-Chlor-3-(methoxymethoxy)phenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70k**)



70k
C₁₉H₁₇ClO₇
392.79 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70k** als gelber Feststoff (2.38 g, 6.06 mmol, 33 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 223.2 °C

R_f 0.48 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

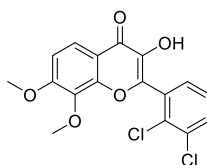
¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.58 (s, 3H), 4.02 (s, 3H), 4.05 (s, 3H), 5.36 (s, 2H), 7.00 – 7.15 (m, 2H), 7.53 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.86 – 8.06 (m, 2H), 8.18 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.7, 56.8, 61.8, 95.6, 110.5, 112.5, 115.0, 115.5, 121.1, 122.2, 130.6, 131.2, 134.0, 146.4, 150.0, 153.2, 156.9, 163.6, 167.9.

2-(2,3-Dichlorphenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70l**)



70l
C₁₇H₁₂Cl₂O₅
367.18 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70l** als gelber Feststoff (4.34 g, 11.8 mmol, 46 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 196.8 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

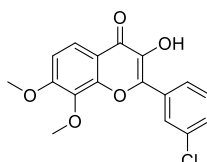
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.57 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 7.32 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.70 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 7.85 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 9.38 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.6, 61.0, 110.9, 116.9, 120.4, 128.5, 130.8, 131.0, 132.1, 132.3, 132.3, 136.1, 138.6, 144.8, 149.3, 156.1, 172.6.

2-(3-Chlorphenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**70m**)



70m
C₁₇H₁₃ClO₅
332.74 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 2**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **70m** als gelber Feststoff (2.77 g, 8.32 mmol, 33 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 187.5 °C

R_f 0.43 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

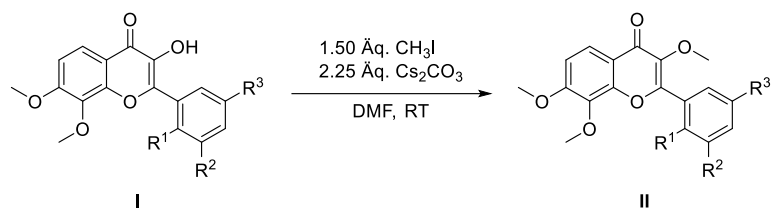
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.95 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 7.30 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.52 – 7.70 (m, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 8.14 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 9.86 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 61.0, 110.8, 116.1, 120.3, 125.5, 126.8, 129.3, 130.6, 133.3, 133.5, 136.0, 139.0, 142.7, 148.8, 156.2, 172.7.

6.2.3 ASV. 3: Methylierung der Flavonole

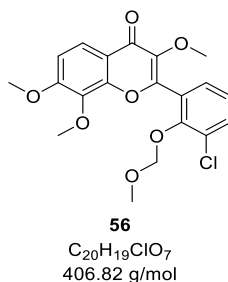


In *N,N*-Dimethylformamid wurde das entsprechende Flavonol (1.00 Äq.) und Cäsiumcarbonat (2.25 Äq.) vorgelegt. Zu dieser Suspension wurde Iodmethan (1.50 Äq.) hinzugegeben und der Reaktionsansatz bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde mittels Dünnschichtchromatographie beobachtet und bei vollständiger Umsetzung mit Essigsäureethylester (20.0 mL/mmol) verdünnt. Die organische Phase wurde sechsmal mit jeweils (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 31: Experimentelle Details zur Methylierung der Flavonole.

Edukt	Methyliodid	Cs ₂ CO ₃	DMF	Ausbeute
55 4.99 g 12.7 mmol	2.70 g 19.1 mmol	9.32 g 28.6 mmol	80.0 mL	56 4.12 g (80 %) 10.1 mmol
70a 5.29 g 12.4 mmol	2.64 g 18.6 mmol	9.12 g 27.9 mmol	100 mL	71a 2.89 g (53 %) 6.56 mmol
70b 0.45 g 1.12 mmol	0.24 g 1.69 mmol	0.82 g 2.53 mmol	10.0 mL	71b 0.37 g (80 %) 0.90 mmol
70c 0.60 g 1.24 mmol	0.26 g 1.86 mmol	0.91 g 2.79 mmol	20.0 mL	71c 0.47 g (76 %) 0.94 mmol
70d 4.02 g 9.19 mmol	1.96 g 13.8 mmol	6.76 g 20.7	50.0 mL	71d 3.28 g (79 %) 7.27 mmol
70e 3.28 g 8.45 mmol	1.80 g 12.7 mmol	6.19 g 19.0 mmol	20.0 mL	71e 2.96 g (87 %) 7.35 mmol
70f 2.60 g 6.62 mmol	1.41 g 9.93 mmol	4.87 g 14.9 mmol	40.0 mL	71f 2.29 g (84 %) 5.63 mmol
70g			20.0 mL	71g

1.20 g 2.92 mmol	0.62 g 4.38 mmol	2.14 g 6.57 mmol		0.83 g (67 %) 1.96 mmol
70h 3.40 g 9.13 mmol	1.94 g 13.7 mmol	6.69 g 20.5 mmol	20.0 mL	71h 2.48 g (70 %) 6.42 mmol
70i 0.60 g 1.32 mmol	0.28 g 1.98 mmol	0.97 g 2.97 mmol	10.0 mL	71i 0.48 g (78 %) 1.02 mmol
70j 2.65 g 7.04 mmol	1.50 g 10.6 mmol	5.18 g 15.8 mmol	45.0 mL	71j 2.29 g (83 %) 5.87 mmol
70k 2.36 g 6.01 mmol	1.28 g 9.01 mmol	4.42 g 13.5 mmol	40.0 mL	71k 1.93 g (79 %) 4.74 mmol
70l 1.80 g 4.90 mmol	1.04 g 7.35 mmol	3.59 g 11.0 mmol	30.0 mL	71l 1.38 g (74 %) 3.62 mmol
70m 1.22 g 3.67 mmol	0.78 g 5.50 mmol	2.69 g 8.25 mmol	20.0 mL	71m 0.92 g (72 %) 2.64 mmol

 2-(3-Chlor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4H-chromen-4-on (**56**)


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **56** als gelbes Öl (4.12 g, 10.1 mmol, 80 %) erhalten werden. Alternativ konnte **56** als beige Kristalle aus 45 °C warmen Methanol auskristallisiert werden.

Schmelzpunkt 90.4 °C

R_f 0.23 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.10 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 5.01 (s, 2H), 7.25 – 7.41 (m, 2H), 7.59 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.74 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H).

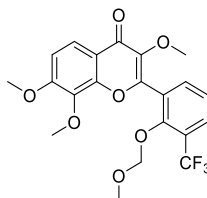
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 56.6, 59.6, 60.9, 99.3, 111.0, 118.5, 120.4, 125.6, 127.3, 127.4, 129.9, 132.6, 136.1, 140.5, 149.3, 151.1, 154.0, 156.3, 173.1.

HPLC

t_R = 13.96 min (Methode 1) A.U.C = 97.9 %

3,7,8-Trimethoxy-2-(2-(methoxymethoxy)-3-(trifluoromethyl)phenyl)-4H-chromen-4-on (71a)



71a
C₂₁H₁₉F₃O₇
440.37 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71a** als gelbes Öl (2.89 g, 6.56 mmol, 53 %) erhalten werden.

R_f

0.40 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.13 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 4.89 (s, 2H), 6.99 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.25 – 7.31 (m, 1H), 7.64 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.70 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 9.1 Hz, 1H).

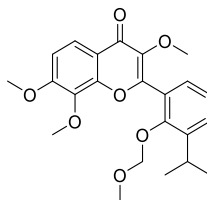
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 56.6, 57.5, 60.4, 61.7, 100.9 – 101.3 (m), 110.3, 119.5, 121.2, 123.4 (q, $^1J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 273.1 Hz), 124.1, 124.7, 125.1 (q, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 30.6 Hz), 127.1, 129.4 (q, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 5.2 Hz), 135.2, 136.9, 141.3, 150.1, 154.3 – 154.8 (m), 156.6, 174.5.

¹⁹F NMR (565 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -60.7.

2-(3-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4H-chromen-4-on (71b)



71b
C₂₃H₂₆O₇
414.45 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71b** als gelbes Öl (0.37 g, 0.90 mmol, 80 %) erhalten werden.

R_f 0.20 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

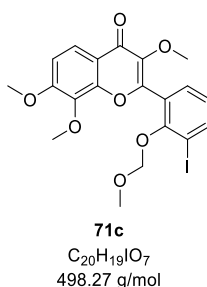
¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 1.24 (d, *J* = 7.0 Hz, 6H), 3.21 (s, 2H), 3.41 (hept, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 4.86 (s, 2H), 6.98 – 7.08 (m, 1H), 7.20 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.30 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H), 7.34 – 7.46 (m, 1H), 7.96 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 23.7, 26.6, 56.5, 57.1, 60.3, 61.6, 61.6, 100.5, 110.0, 119.4, 121.0, 124.4, 125.3, 128.4, 129.1, 136.8, 141.1, 142.8, 150.0, 153.4, 156.3, 156.6, 174.5.

2-(3-Iod-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71c**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71c** als gelbes Öl (0.47 g, 0.94 mmol, 76 %) erhalten werden.

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

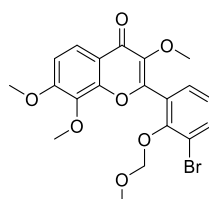
¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.22 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 5.02 (s, 2H), 7.02 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.52 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.98 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 8.01 (dd, *J* = 9.0, 1.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 14.1, 31.6, 56.5, 57.5, 60.3, 61.7, 93.2, 100.3, 110.1, 119.3, 121.1, 125.9, 126.5, 131.4, 136.7, 141.1, 141.9, 149.9, 155.0, 155.5, 156.4, 174.4.

2-(3-Brom-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71d**)



71d
 $C_{20}H_{19}BrO_7$
 451.27 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71d** als orangenes Öl (3.28 g, 7.27 mmol, 79 %) erhalten werden.

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

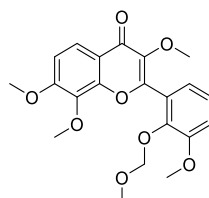
1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.09 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.99 (s, 2H), 7.23 – 7.35 (m, 2H), 7.62 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.81 – 7.94 (m, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 56.7, 59.5, 60.9, 99.5, 111.0, 117.3, 118.6, 120.4, 126.0, 127.2, 130.6, 135.7, 136.1, 140.5, 149.3, 152.2, 154.1, 156.3, 173.1.

3,7,8-Trimethoxy-2-(3-methoxy-2-(methoxymethoxy)phenyl)-4*H*-chromen-4-on (**71e**)



71e
 $C_{21}H_{22}O_8$
 402.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71e** als weißer Feststoff (2.96 g, 7.35 mmol, 87 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 159.3 °C

R_f 0.22 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

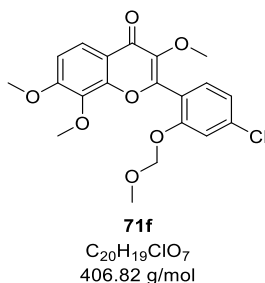
1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.03 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.99 (s, 2H), 7.12 (dd, $J = 7.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.23 – 7.29 (m, 2H), 7.30 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 61.1, 61.3, 61.7, 64.7, 66.1, 103.3, 116.2, 120.2, 123.8, 125.6, 127.0, 129.7, 131.2, 141.3, 145.8, 148.8, 154.5, 157.3, 160.4, 161.4, 178.4.

2-(4-Chlor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71f**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71f** als gelber Feststoff (2.29 g, 5.62 mmol, 84 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 116.7 °C

R_f 0.47 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

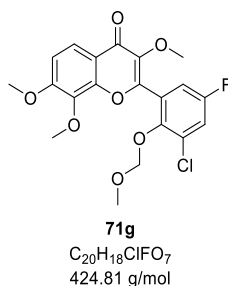
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.34 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.96 (s, 4H), 5.30 (s, 2H), 7.26 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 55.8, 56.5, 59.9, 60.9, 94.3, 111.0, 115.3, 118.6, 119.5, 120.3, 121.4, 132.1, 136.0, 136.1, 140.7, 149.3, 154.2, 155.2, 156.2, 173.1.

2-(3-Chlor-5-fluor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71g**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71g** als gelbes Öl (0.83 g, 1.96 mmol, 67 %) erhalten werden.

R_f 0.51 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.18 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.98 (s, 4H), 5.00 (s, 2H), 7.05 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.17 (dd, *J* = 8.0, 3.1 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 7.8, 3.1 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

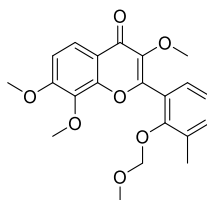
¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 56.5, 57.4, 60.4, 61.6, 99.9, 110.3, 116.4 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 23.9 Hz), 119.2, 119.7 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 25.7 Hz), 121.1, 128.2 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 9.3 Hz), 129.4 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 11.0 Hz), 136.7, 141.3, 148.4 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.6 Hz), 149.9, 153.4 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 2.1 Hz), 156.6, 158.0 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 247.8 Hz), 174.2.

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -115.8.

3,7,8-Trimethoxy-2-(2-(methoxymethoxy)-3-methylphenyl)-4*H*-chromen-4-on (**71h**)



71h
C₂₁H₂₂O₇
386.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71h** als gelbes Öl (2.48 g, 6.42 mmol, 70 %) erhalten werden.

R_f 0.20 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

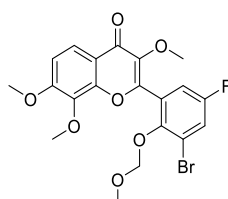
¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 2.41 (s, 3H), 3.27 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 3.83 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 3.96 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 4.01 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 4.95 (d, *J* = 0.8 Hz, 2H), 7.07 (dd, *J* = 9.0, 0.8 Hz, 1H), 7.18 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.33 – 7.41 (m, 2H), 8.03 (dd, *J* = 9.0, 0.8 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 16.4, 56.3, 56.5, 59.5, 60.9, 99.0, 110.9, 118.6, 120.3, 124.0, 125.2, 128.5, 131.7, 133.6, 136.1, 140.4, 149.3, 153.8, 155.8, 156.1, 173.2.

2-(3-Brom-5-fluor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71i**)



71i
 $C_{20}H_{18}BrFO_7$
 469.26 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71i** als gelbes Öl (0.48 g, 1.02 mmol, 78 %) erhalten werden.

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.14 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.96 (s, 2H), 7.02 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.19 (dd, *J* = 7.9, 3.1 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J* = 7.5, 3.1 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

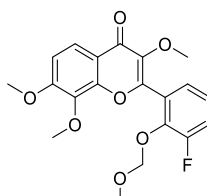
¹³C NMR (151 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 56.5, 57.4, 60.4, 61.6, 100.1, 110.3, 117.1 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 23.9 Hz), 118.5 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 10.1 Hz), 119.2, 121.1, 122.6 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 25.4 Hz), 128.1 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 8.9 Hz), 136.7, 141.2, 149.5 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.3 Hz), 149.9, 153.5, 156.6, 158.1 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 248.7 Hz), 174.2.

¹⁹F NMR (565 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -115.9.

2-(3-Fluor-2-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (71j)



71j
 $C_{20}H_{19}FO_7$
 390.36 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71j** als gelbes Öl (2.29 g, 5.87 mmol, 83 %) erhalten werden.

R_f 0.20 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.16 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 5.07 (d, J = 0.7 Hz, 2H), 7.27 – 7.38 (m, 2H), 7.43 (ddd, J = 7.7, 1.7, 1.0 Hz, 1H), 7.51 (ddd, J = 11.4, 8.2, 1.7 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 9.0 Hz, 1H).

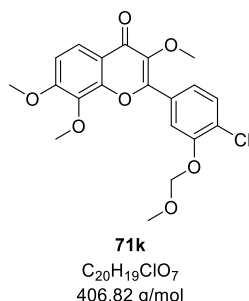
^{13}C NMR (151 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 56.9, 57.0, 60.2, 61.4, 99.5 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 5.7 Hz), 119.0, 119.5 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 19.3 Hz), 120.8, 125.3 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 8.1 Hz), 126.9 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 3.3 Hz), 127.4 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 2.3 Hz), 136.6, 141.2, 142.9 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 12.2 Hz), 149.8, 154.1 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 3.0 Hz), 155.4 (d, $^1J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 246.0 Hz), 156.8, 173.6.

^{19}F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -129.0.

2-(4-Chlor-3-(methoxymethoxy)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71k**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71k** als beiger Feststoff (1.93 g, 4.74 mmol, 79 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 145.2 °C

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

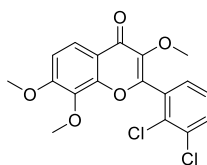
^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.48 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 5.38 (s, 2H), 7.31 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.70 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.74 (dd, J = 8.4, 1.9 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 1.9 Hz, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.0, 56.5, 59.7, 61.1, 95.0, 111.0, 115.8, 118.2, 120.3, 122.4, 124.8, 130.4, 130.5, 136.1, 140.5, 148.9, 152.3, 152.9, 156.4, 173.5.

2-(2,3-Dichlorphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71l**)



71I
 $C_{18}H_{14}Cl_2O_5$
 381.21 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71I** als gelber Feststoff (1.38 g, 3.62 mmol, 74 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 148.4 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

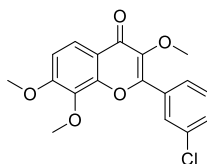
1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.71 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 7.34 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.55 – 7.62 (m, 1H), 7.74 (dd, J = 7.7, 1.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.88 (dd, J = 8.2, 1.5 Hz, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 59.9, 61.0, 111.2, 118.6, 120.3, 128.6, 130.2, 130.6, 131.9, 132.3, 132.4, 136.2, 140.5, 149.2, 153.7, 156.4, 173.1.

2-(3-Chlorphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**71m**)



71m
 $C_{18}H_{15}ClO_5$
 346.76 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 3**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **71m** als gelber Feststoff (0.92 g, 2.64 mmol, 72 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 152.7 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

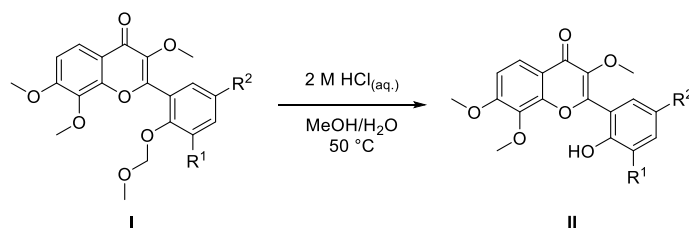
1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.84 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.96 (s, 4H), 7.30 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.61 – 7.67 (m, 2H), 7.82 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.99 (ddd, J = 6.4, 2.4, 1.7 Hz, 1H), 8.02 (td, J = 1.7, 0.8 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 59.8, 61.0, 111.0, 118.2, 120.3, 126.7, 127.6, 130.5, 130.7, 132.6, 133.3, 136.1, 140.6, 148.9, 152.7, 156.4, 173.4.

6.2.4 ASV. 4: Acidolyse der MOM-Schutzgruppe



Das entsprechende Methoxymethyl-geschützte Flavonoid **I** (1.00 Äq.) wurde in Methanol gelöst und unter Rühren mit einer 2 M Salzsäure-Lösung versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf 50 °C erwärmt und bis zum vollständigen Umsatz gerührt.

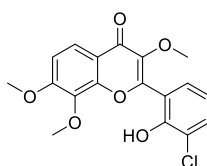
Aufarbeitung A: Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde unter starkem Rühren eiskaltes dest. Wasser (20.0 mL/mmol) hinzugegeben und die Suspension über Nacht bei 7 °C stehen gelassen. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abfiltriert und mit (2.00 mL/mmol) eiskaltem dest. Wasser gewaschen. Der Filterkuchen wurde in Ethanol aufgenommen und das Lösungsmittel als Azeotrop am Rotationsverdampfer, mit einer Badtemperatur von 45 °C, destillativ entfernt. Dieser Vorgang wurde zweimal wiederholt und das Produkt ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet.

Aufarbeitung B: Das Lösungsmittelvolumen wurde unter vermindertem Druck um die Hälfte reduziert und die wässrige Suspension viermal mit Dichlormethan (10.0 mL/mmol) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit (10.0 mL/mmol) einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 32: Experimentelle Übersicht zur Acidolyse der MOM-Schutzgruppe.

Edukt	MeOH	2 m HCl	Ausbeute
56 3.00 g 7.37 mmol	70.0 mL	70.0 mL	58 2.12 g (79 %) 5.86 mmol
71a 3.49 g 7.93 mmol	50.0 mL	50.0 mL	72a 2.14 g (68 %) 5.39 mmol
71b 350 mg 844 µmol	10.0 mL	10.0 mL	72b 207 mg (66 %) 559 µmol
71c	10.0 mL	10.0 mL	72c

0.43 g 863 µmol			341 mg (87 %) 751 µmol
71d 2.02 g 4.48 mmol	40.0 mL	40.0 mL	72d 1.51 g (83 %) 3.71 mmol
71e 1.59 g 3.95 mmol	40.0 mL	40.0 mL	72e 1.27 g (90 %) 3.56 mmol
71f 2.10 g 5.16 mmol	30.0 mL	30.0 mL	72f 1.78 g (95 %) 4.91 mmol
71g 0.60 g 1.41 mmol	20.0 mL	20.0 mL	72g 342 mg (64 %) 898 µmol
71h 2.00 g 5.18 mmol	40.0 mL	40.0 mL	72h 1.22 g (69 %) 3.57 mmol
71i 400 mg 852 µmol	10.0 mL	10.0 mL	72i 257 mg (71 %) 604 µmol
71j 1.23 g 3.15 mmol	35.0 mL	35.0 mL	72j 0.86 g (79 %) 2.49 mmol
71k 2.10 g 5.16 mmol	30.0 mL	30.0 mL	72k 1.38 g (74 %) 3.80 mmol

 2-(3-Chlor-2-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**58**)


58
C₁₈H₁₅ClO₆
362.76 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester mit 0.1 % Triethylamin (3:2 → 2:3) konnte das Produkt **58** als weißer Feststoff (2.12 g, 5.86 mmol, 79 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 77.9 °C

R_f 0.35 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

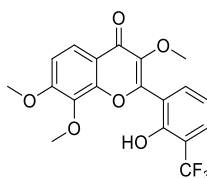
δ (ppm) = 3.72 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 7.01 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 7.57 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 10.02 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 59.8, 60.9, 110.8, 118.8, 120.1, 120.2, 120.4, 121.5, 129.5, 131.9, 136.2, 140.8, 149.6, 150.9, 154.4, 156.1, 173.4.

HPLC *t*_R = 12.46 min (Methode 1) A.U.C = 98.2 %

2-(2-Hydroxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72a**)



72a
C₁₉H₁₅F₃O₆
396.32 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 3:2) konnte das Produkt **72a** als weißer Feststoff (2.14 g, 5.39 mmol, 68 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 167.8 °C

R_f 0.45 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.89 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 7.02 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.14 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.73 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.93 (dd, *J* = 8.3, 6.2 Hz, 2H), 8.50 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, Chloroform-*d*)

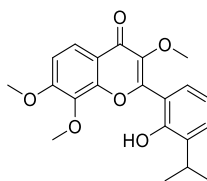
δ (ppm) = 56.8, 61.8, 62.5, 110.6, 118.8, 120.5, 120.8, 121.1, 121.4, 124.5, 130.6 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 5.0 Hz), 133.7, 137.1, 139.3, 150.3, 153.5, 154.0, 157.1, 173.5.

¹⁹F NMR (565 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -62.5.

HPLC *t*_R = 13.96 min (Methode 1) A.U.C = 95.9 %

2-(2-Hydroxy-3-isopropylphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72b**)



72b
 $C_{21}H_{22}O_6$
 370.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Produkt **72b** konnte als gelber Feststoff (207 mg, 559 μ mol, 66 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 125.5 °C

R_f 0.32 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

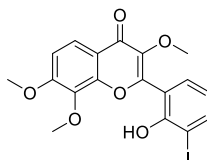
δ (ppm) = 1.28 (d, J = 6.8 Hz, 6H), 3.52 (p, J = 6.9 Hz, 1H), 3.88 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 4.01 (s, 3H), 7.09 (ddd, J = 12.1, 8.2, 3.1 Hz, 2H), 7.43 (dd, J = 7.5, 1.7 Hz, 1H), 7.63 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 7.93 (br s, 1H), 8.00 (d, J = 9.0 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 22.9, 27.3, 56.7, 61.9, 62.1, 110.4, 118.9, 119.0, 120.9, 121.2, 127.2, 129.8, 137.1, 139.0, 139.1, 150.4, 153.0, 156.0, 156.9, 173.7.

HPLC t_R = 15.27 min (Methode 1) A.U.C = 96.4 %

2-(2-Hydroxy-3-iodophenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72c**)



72c
 $C_{18}H_{15}IO_6$
 454.22 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Produkt **72c** konnte als gelber Feststoff (341 mg, 751 μ mol, 87 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 177.4 °C

R_f 0.43 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

1H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.93 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 6.87 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.08 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.78 (dd, J = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.99 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.49 (s, 1H).

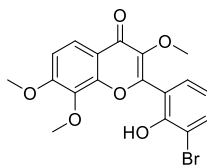
^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 56.6, 61.7, 62.1, 88.5, 110.4, 118.8, 118.8, 121.1, 122.4, 130.3, 136.9, 139.2, 142.6, 150.1, 153.9, 154.0, 156.8, 173.4.

HPLC

$t_R = 13.90$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(3-Brom-2-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72d**)



72d
 $C_{18}H_{15}BrO_6$
 407.22 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester mit 0.1 % Triethylamin (4:1 → 3:2) konnte das Produkt **72d** als gelber Feststoff (1.51 g, 3.71 mmol, 83 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 176.3 °C

R_f 0.41 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.71 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 6.94 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.44 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.72 (dd, $J = 8.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 9.98 (s, 1H).

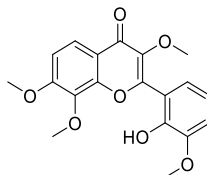
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 59.8, 60.9, 110.7, 111.5, 118.9, 120.1, 120.2, 120.6, 130.2, 135.0, 136.2, 140.9, 149.6, 151.7, 154.3, 156.1, 173.5.

HPLC

$t_R = 13.00$ min (Methode 1) A.U.C = 96.1 %

2-(2-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72e**)



72e
 $C_{19}H_{18}O_7$
 358.35 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 1:1) konnte das Produkt **72e** als gelber Feststoff (1.27 g, 3.56 mmol, 90 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 152.1 °C

R_f 0.14 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

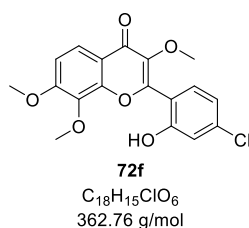
δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 6.91 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.99 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 9.26 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 55.9, 56.5, 59.7, 60.9, 110.8, 113.5, 118.3, 118.7, 118.8, 120.2, 121.7, 136.1, 140.5, 144.9, 147.9, 149.4, 155.7, 156.0, 173.3.

HPLC *t_R* = 11.06 min (Methode 1) A.U.C = 98.9 %

2-(4-Chlor-2-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72f**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (8:2 → 7:3) konnte das Produkt **72f** als gelber Feststoff (1.78 g, 4.91 mmol, 95 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 194.2 °C

R_f 0.37 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

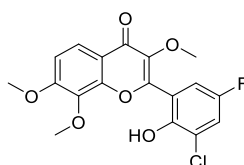
δ (ppm) = 3.71 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 7.02 (dd, *J* = 8.1, 2.1 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 10.54 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 59.7, 60.9, 110.8, 116.0, 117.2, 118.7, 118.9, 120.2, 132.1, 135.6, 136.1, 140.6, 149.4, 154.7, 156.1, 156.6, 173.2.

HPLC *t_R* = 12.56 min (Methode 1) A.U.C = 98.2 %

2-(3-Chlor-5-fluor-2-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72g**)



72g
 $C_{18}H_{14}ClFO_6$
 380.75 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 3:2) konnte das Produkt **72g** als gelber Feststoff (342 mg, 898 μ mol, 64 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 165.3 °C

R_f 0.16 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.73 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 7.31 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 8.6, 3.2$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J = 8.3, 3.2$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 10.02 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6)

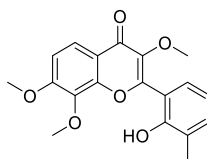
δ (ppm) = 56.6, 59.8, 61.0, 110.9, 116.0 (d, $^2J(^{13}C, ^{19}F) = 23.9$ Hz), 118.8, 119.2, 120.2, 120.6 (d, $^3J(^{13}C, ^{19}F) = 9.3$ Hz), 122.2 (d, $^3J(^{13}C, ^{19}F) = 11.1$ Hz), 136.2, 140.9, 147.8 (d, $^4J(^{13}C, ^{19}F) = 2.8$ Hz), 149.6, 153.0 (d, $^4J(^{13}C, ^{19}F) = 1.5$ Hz), 154.1 (d, $^1J(^{13}C, ^{19}F) = 239.0$ Hz), 156.2, 173.4.

^{19}F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -123.0.

HPLC $t_R = 13.10$ min (Methode 1) A.U.C = 98.3 %

2-(2-Hydroxy-3-methylphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72h**)



72h
 $C_{19}H_{18}O_6$
 342.35 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **72h** konnte als weißer Feststoff (1.22 g, 3.57 mmol, 69 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 145.9 °C

R_f 0.29 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

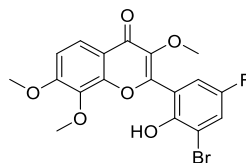
δ (ppm) = 2.24 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 6.88 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.23 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.28 (dd, J = 8.5, 3.2 Hz, 2H), 7.84 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 9.04 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 16.5, 56.5, 59.7, 60.9, 110.6, 118.2, 118.9, 118.9, 120.1, 125.8, 128.1, 132.8, 136.2, 140.7, 149.6, 153.0, 155.9, 156.0, 173.5.

HPLC t_R = 12.94 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(3-Brom-5-fluor-2-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72i**)



72i
 $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{BrFO}_6$
 425.21 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Produkt **72i** konnte als gelber Feststoff (257 mg, 604 μmol , 71 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 173.8 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

^1H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.95 (s, 3H), 3.97 (s, 3H), 4.01 (s, 3H), 7.08 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.41 – 7.56 (m, 2H), 7.99 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.11 (br s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)

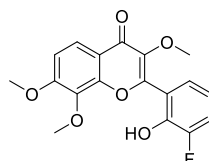
δ (ppm) = 56.8, 61.9, 62.4, 110.7, 114.1 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 10.1 Hz), 115.4 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 24.5 Hz), 118.9, 120.2 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 8.2 Hz), 121.3, 123.6 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 25.8 Hz), 137.0, 139.8, 148.6 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 2.7 Hz), 150.2, 152.8 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 1.4 Hz), 156.0 (d, $^1J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 243.4 Hz), 157.2, 173.6.

^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3)

δ (ppm) = -121.3.

HPLC t_R = 13.53 min (Methode 1) A.U.C = 92.6 %

2-(3-Fluor-2-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72j**)



72j
 $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{FO}_6$
 346.31 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester mit 0.1 % Triethylamin (3:2 → 1:1) konnte das Produkt **72j** als weißer Feststoff (0.86 g, 2.49 mmol, 79 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 130.9 °C

R_f 0.37 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.72 (s, 0H), 3.82 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 6.97 (td, *J* = 8.0, 4.9 Hz, 1H), 7.27 (dt, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.38 (ddd, *J* = 11.2, 8.2, 1.6 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 10.18 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

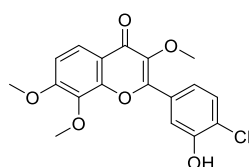
δ (ppm) = 56.5, 59.8, 60.9, 110.8, 117.8 (d, ²*J*(¹³C,¹⁹F) = 18.5 Hz), 118.7, 119.1 (d, ³*J*(¹³C,¹⁹F) = 7.3 Hz), 120.2, 121.0 (d, ⁴*J*(¹³C,¹⁹F) = 3.4 Hz), 125.9 (d, ⁴*J*(¹³C,¹⁹F) = 3.2 Hz), 136.2, 140.7, 143.4 (d, ²*J*(¹³C,¹⁹F) = 14.8 Hz), 149.5, 151.6 (d, ¹*J*(¹³C,¹⁹F) = 240.2 Hz), 154.2 (d, ⁴*J*(¹³C,¹⁹F) = 3.5 Hz), 156.1, 173.3.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -134.5.

HPLC *t*_R = 11.23 min (Methode 1) A.U.C = 97.8 %

2-(4-Chlor-3-hydroxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**72k**)



72k
C₁₈H₁₅ClO₆
362.76 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 4** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (8:2 → 7:3) konnte das Produkt **72k** als beiger Feststoff (1.38 g, 3.80 mmol, 74 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 217.2 °C

R_f 0.29 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

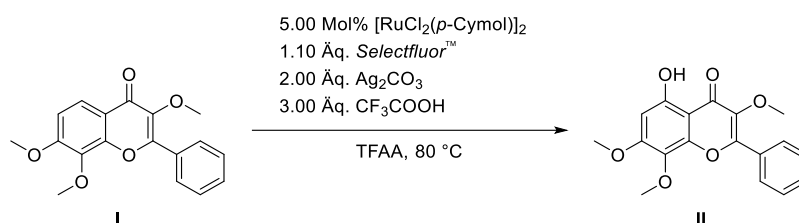
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.82 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 7.29 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.60 (m, 2H), 7.75 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 10.69 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 59.7, 61.2, 110.9, 115.8, 118.2, 119.7, 120.3, 122.3, 130.2, 130.3, 136.2, 140.4, 148.9, 153.2, 153.2, 156.3, 173.5.

HPLC $t_R = 12.52$ min (Methode 1) A.U.C = 96.3 %

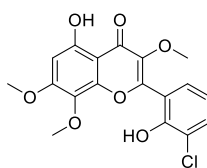
6.2.5 ASV. 5: Ruthenium-katalysierte *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung


In einem ausgeheizten 100 mL SCHLENK-Rohr wurde das entsprechende Flavonoid **I** (1.00 Äq.), Selectfluor™ (1.10 Äq.), Silbercarbonat (2.00 Äq.) und Dichloro-(*p*-cymol)-ruthenium(II) Dimer (5.00 Mol%) in Trifluoressigsäureanhydrid (15.2 mL/mmol) vorgelegt. Anschließend wurde Trifluoressigsäure (3.00 Äq.) hinzugegeben, das SCHLENK-Rohr druckdicht verschlossen und für 24 h in einem bereits auf 80 °C vorgeheizten Ölbad gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung mit Dichlormethan (30.0 mL/mmol) verdünnt, über Celite® abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Methanol (50 mL/mmol) gelöst und das Lösungsmittel mittels Rotationsverdampfers mit einer Wasserbadtemperatur von 50 °C entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 8:2) gereinigt.

Tabelle 33: Experimentelle Übersicht zur Ruthenium-katalysierten *ortho*-C(sp²)-H-Hydroxylierung der 3-Methoxyflavone.

Edukt	Kat.	Selectfluor™	Ag ₂ CO ₃	TFA	TFAA	Ausbeute
58						1
363 mg 1.00 mmol	30.6 mg 5.00 Mol%	390 mg 1.10 mmol	552 mg 2.00 mmol	230 µL 3.00 mmol	15.2 mL	192 mg (51 %) 507 µmol
72a						2a
396 mg 1.0 mmol	30.6 mg 5.00 Mol%	390 mg 1.10 mmol	552 mg 2.0 mmol	230 µL 3.0 mmol	15.2 mL	184 mg (45 %) 446 µmol
72b						2b
200 mg 540 µmol	16.5 mg 5.00 Mol%	210 mg 594 µmol	298 mg 1.08 mmol	124 µL 3.00 mmol	8.21 mL	101 mg (48 %) 261 µmol
72c						2c
318 mg	21.4 mg	287 mg	386 mg	161 µL	10.6 mL	129 mg (39 %)

0.7 mmol	5.00 Mol%	0.77 mmol	1.4 mmol	2.1 mmol		274 µmol
72d						2d
407 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	195 mg (46 %)
1.00 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.00 mmol	3.00 mmol		461 µmol
72e						2e
358 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	nicht stabil
1.0 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.0 mmol	3.00 mmol		-
72f						2f
363 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	169 mg (45 %)
1.0 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.0 mmol	3.00 mmol		446 µmol
72g						2g
283 mg	22.8 mg	290 mg	410 mg	171 µL	11.3 mL	101 mg (34 %)
743 µmol	5.00 Mol%	818 µmol	1.49 mmol	2.23 mmol		255 µmol
72h						2h
342 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	171 mg (48 %)
1.00 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.0 mmol	3.00 mmol		477 µmol
72i						2i
250 mg	18.0 mg	229 mg	324 mg	124 µL	8.94 mL	137 mg (53 %)
588 µmol	5.00 Mol%	647 µmol	1.18 mmol	3.00 mmol		311 µmol
72j						2j
346 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	157 mg (43 %)
1.00 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.00 mmol	3.00 mmol		433 µmol
72k						2k
363 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	122 mg (32 %)
1.0 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.0 mmol	3.00 mmol		322 µmol
71l						2l
381 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	197 mg (50 %)
1.00 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.0 mmol	3.0 mmol		495 µmol
71m						2m
347 mg	30.6 mg	390 mg	552 mg	230 µL	15.2 mL	63 mg (17 %)
1.0 mmol	5.00 Mol%	1.10 mmol	2.0 mmol	3.00 mmol		174 µmol

 2-(3-Chlor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**1**)


1
 $C_{18}H_{15}ClO_7$
 378.76 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus Methanol konnte das Produkt **1** als gelber Feststoff (192 mg, 507 µmol, 51 %) erhalten

werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[251]

Schmelzpunkt 213.7 °C (Lit.: 212 °C)^[282]

R_f 0.34 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.71 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 6.65 (s, 1H), 7.01 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 10.09 (s, 1H), 12.43 (s, 1H).

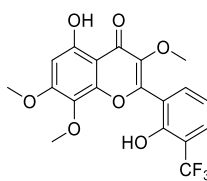
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.6, 60.1, 60.9, 95.8, 105.2, 119.8, 120.2, 121.6, 128.3, 129.5, 132.2, 139.4, 148.7, 150.9, 155.6, 156.5, 158.2, 178.6.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₈H₁₆ClO₇ [M+H⁺]: 379.0585; gefunden: 379.0584.

HPLC *t_R* = 14.21 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

5-Hydroxy-2-(2-hydroxy-3-(trifluormethyl)phenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2a**)



2a
C₁₉H₁₅F₃O₇
412.32 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus Methanol konnte **2a** als gelber Feststoff (184 mg, 446 μmol, 45 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 195.4 °C

R_f 0.34 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.64 (s, 1H), 7.14 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.71 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J* = 7.9, 1.7 Hz, 1H), 10.41 (s, 1H), 12.41 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 56.6, 60.1, 60.9, 95.8, 105.4, 117.7 (q, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 30.0 Hz), 119.1, 119.6, 123.7 (q, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 272.4 Hz), 128.4, 129.3 (q, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 5.2 Hz), 135.1, 139.9, 148.9, 152.9 – 153.9 (m), 154.6, 156.5, 158.2, 178.8.

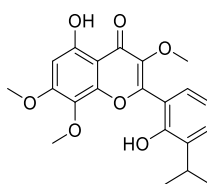
¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -61.0.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₉H₁₆F₃O₇ [M+H⁺]: 413.0848; gefunden: 413.0844.

HPLC *t_R* = 15.35 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

5-Hydroxy-2-(2-hydroxy-3-isopropylphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2b**)



2b
C₂₁H₂₂O₇
386.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus Methanol konnte das Produkt **2b** als gelber Feststoff (101 mg, 261 µmol, 48 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 157.8 °C

R_f 0.41 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.21 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H), 3.70 (d, *J* = 1.6 Hz, 6H), 3.91 (s, 3H), 6.62 (s, 1H), 6.95 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.35 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 9.08 (s, 1H), 12.50 (s, 1H).

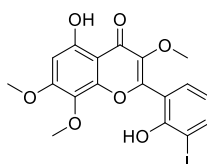
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 22.6, 26.2, 56.5, 60.0, 60.9, 95.6, 105.2, 117.8, 119.2, 127.7, 128.3, 128.4, 136.3, 139.3, 148.9, 152.0, 156.5, 157.2, 158.0, 178.8.

HPLC *t_R* = 16.71 min (Methode 1) A.U.C = 91.0 %

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₁H₂₂O₇ [M+H⁺]: 387.1444; gefunden: 387.1440.

5-Hydroxy-2-(2-hydroxy-3-iodophenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2c**)



2c
C₁₈H₁₅IO₇
470.22 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2c** als gelber Feststoff (129 mg, 274 µmol, 39 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 223.4 °C

R_f 0.36 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.69 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.63 (s, 1H), 6.79 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.44 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H), 7.92 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 10.05 (s, 1H), 12.43 (s, 1H).

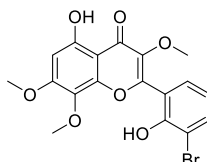
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.6, 60.1, 60.9, 87.7, 95.7, 105.3, 118.0, 121.3, 128.4, 130.9, 139.5, 141.5, 148.8, 153.8, 155.7, 156.5, 158.2, 178.7.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{18}H_{16}O_7$ $[M+H^+]$: 470.9941; gefunden: 470.9939.

HPLC t_R = 15.29 min (Methode 1) A.U.C = 98.2 %

2-(3-Brom-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2d**)



2d
 $C_{18}H_{15}BrO_7$
 423.22 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2d** als gelber Feststoff (195 mg, 461 μ mol, 46 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 210.2 °C

R_f 0.24 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.71 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.64 (s, 1H), 6.95 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.44 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.73 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 10.04 (s, 1H), 12.42 (s, 1H).

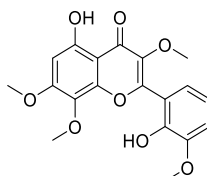
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.6, 60.1, 60.9, 95.8, 105.2, 111.6, 119.5, 120.7, 128.4, 130.2, 135.4, 139.5, 148.8, 151.7, 155.6, 156.5, 158.2, 178.7.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{18}H_{16}FO_7$ $[M+H^+]$: 363.0880; gefunden: 363.0873.

HPLC t_R = 14.61 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

5-Hydroxy-2-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2e**)



2e
 $C_{19}H_{18}O_8$
 374.35 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Das Produkt **2d** konnte als nicht stabiler gelber Feststoff erhalten werden, welcher sich in Gegenwart von Luftsauerstoff bei Raumtemperatur in ein rotes Öl und bei mäßiger Wärmeeinwirkung in einen braunen Feststoff verwandelte.

R_f 0.28 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

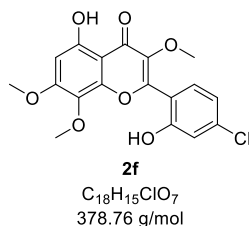
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.63 (s, 1H), 6.87 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.99 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 7.08 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H), 7.16 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 9.37 (s, 1H), 12.47 (s, 1H).

MS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₉H₁₉O₈ [M+H⁺]: 375; gefunden: 375.

HPLC *t_R* = 12.83 min (Methode 1) A.U.C = 92.2 %

2-(4-Chlor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (2f)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2f** als gelber Feststoff (169 mg, 446 μmol, 45 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 240.7 °C

R_f 0.29 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.72 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 6.62 (s, 1H), 7.03 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 10.62 (s, 1H), 12.41 (s, 1H).

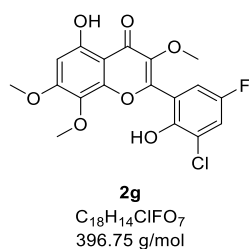
¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 57.0, 60.6, 61.4, 96.3, 105.5, 116.6, 117.1, 119.4, 128.8, 132.5, 136.5, 139.6, 149.1, 156.4, 157.0, 157.1, 158.7, 178.9.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₈H₁₆ClO₇ [M+H⁺]: 379.0585; gefunden: 379.0579.

HPLC *t_R* = 14.16 min (Methode 1) A.U.C = >98.1 %

2-(3-Chlor-5-fluor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (2g)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2g** als gelber Feststoff (101 mg, 255 μmol, 34 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 245.0 °C

R_f 0.34 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.65 (s, 1H), 7.38 (dd, *J* = 8.4, 3.2 Hz, 1H), 7.63 (dd, *J* = 8.2, 3.2 Hz, 1H), 10.09 (s, 1H), 12.36 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 56.6, 60.2, 61.0, 95.9, 105.2, 115.9 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 23.9 Hz), 119.3 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 25.7 Hz), 120.0 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 8.9 Hz), 122.3 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 11.2 Hz), 128.4, 139.5, 147.9 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 2.6 Hz), 148.7, 154.2 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 1.9 Hz), 156.5, 158.3, 162.4 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 238.4 Hz), 178.6.

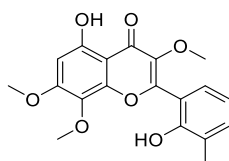
¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -122.8.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₈H₁₅ClFO₇ [M+H⁺]: 397.0490; gefunden: 397.0487.

HPLC *t_R* = 14.49 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

5-Hydroxy-2-(2-hydroxy-3-methylphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2h**)



2h
C₁₉H₁₈O₇
358.35 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2h** als gelber Feststoff (171 mg, 477 μmol, 48 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 213.3 °C

R_f 0.40 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.24 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.70 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 6.62 (s, 1H), 6.89 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.23 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H), 7.29 (dd, *J* = 7.5, 1.7 Hz, 1H), 9.11 (s, 1H), 12.50 (s, 1H).

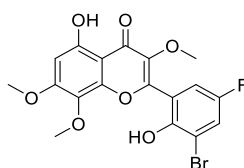
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 16.4, 56.5, 60.0, 60.9, 95.6, 105.2, 117.7, 119.0, 125.9, 128.0, 128.3, 133.1, 139.3, 148.8, 153.1, 156.5, 157.3, 158.1, 178.7.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₉H₁₉O₇ [M+H⁺]: 359.1131; gefunden: 359.1123.

HPLC *t_R* = 14.59 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(3-Brom-5-fluor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2i**)



2i
C₁₈H₁₄BrFO₇
441.21 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2i** als gelber Feststoff (137 mg, 311 μmol, 53 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 251.4 °C

R_f 0.38 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.65 (s, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.4, 3.2 Hz, 1H), 7.74 (dd, *J* = 7.9, 3.2 Hz, 1H), 10.04 (s, 1H), 12.36 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 56.6, 60.1, 61.0, 95.9, 105.2, 111.9 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 10.6 Hz), 116.4 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 23.7 Hz), 119.6 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 8.8 Hz), 122.2 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 25.4 Hz), 128.4, 139.5, 148.7, 154.2 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 2.0 Hz), 154.3 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 239.8 Hz), 154.9, 156.5, 158.3, 178.6.

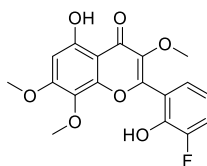
¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -123.0.

HPLC *t_R* = 14.93 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₈H₁₅BrFO₇ [M+H⁺]: 440.9985; gefunden: 440.9982.

2-(3-Fluor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2j**)



2j
C₁₈H₁₅FO₇
362.31 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2j** als gelber Feststoff (157 mg, 433 μmol, 43 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 208.6 °C

R_f 0.35 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.92 (s, 3H), 6.63 (s, 1H), 6.97 (td, J = 8.0, 4.7 Hz, 1H), 7.27 (dt, J = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.38 (ddd, J = 11.2, 8.2, 1.6 Hz, 1H), 10.25 (s, 1H), 12.41 (s, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 56.5, 60.0, 60.8, 95.8, 105.0, 118.0 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 18.3 Hz), 119.1 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 7.0 Hz), 120.4 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 3.7 Hz), 125.8 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 3.2 Hz), 128.3, 139.2, 143.4 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 15.1 Hz), 148.5, 151.5 (d, $^1J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 240.7 Hz), 155.3 (d, $^4J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F})$ = 3.3 Hz), 156.4, 158.1, 178.4.

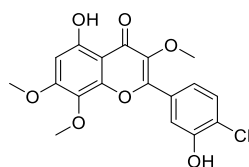
^{19}F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -134.3.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{FO}_7$ [$\text{M}+\text{H}^+$]: 363.0880; gefunden: 363.0873.

HPLC t_R = 12.96 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(4-Chlor-3-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2k**)



2k
 $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClO}_7$
378.76 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2k** als gelber Feststoff (122 mg, 322 μmol , 32 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 48.0 °C (Zersetzung)

R_f 0.28 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.82 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 6.62 (s, 1H), 7.49 – 7.56 (m, 1H), 7.57 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 10.74 (s, 1H), 12.35 (s, 1H).

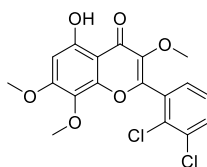
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.5, 60.0, 61.2, 95.9, 104.7, 115.8, 119.7, 122.8, 128.4, 129.7, 130.3, 138.9, 147.9, 153.2, 154.2, 156.4, 158.4, 178.5.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClO}_7$ [$\text{M}+\text{H}^+$]: 379.0585; gefunden: 379.0581.

HPLC t_R = 14.98 min (Methode 1) A.U.C = >96.9 %

2-(2,3-Dichlorphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2l**)



2l
 $C_{18}H_{14}Cl_2O_6$
 397.20 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2l** als gelber Feststoff (197 mg, 495 μ mol, 50 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 184.8 °C

R_f 0.32 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 4:1)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.69 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.93 (s, 4H), 6.68 (s, 1H), 7.59 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.74 (dd, J = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 7.90 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H).

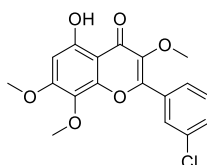
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 56.7, 60.4, 61.1, 96.3, 105.1, 128.4, 128.8, 130.3, 130.6, 131.4, 132.4, 132.8, 139.1, 148.3, 154.7, 156.6, 158.6, 178.4.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{18}H_{15}Cl_2O_6$ [$M+H^+$]: 397.0246; gefunden: 397.0241.

HPLC t_R = 16.98 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(3-Chlorphenyl)-5-hydroxy-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**2m**)



2m
 $C_{18}H_{15}ClO_6$
 362.76 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 5**. Nach anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester konnte das Produkt **2m** als gelber Feststoff (63 mg, 174 μ mol, 17 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 188.3 °C

R_f 0.40 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 4:1)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.81 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 6.64 (s, 1H), 7.61 – 7.72 (m, 2H), 7.99 (dt, J = 7.4, 1.6 Hz, 1H), 8.02 (t, J = 1.9 Hz, 1H), 12.30 (s, 1H).

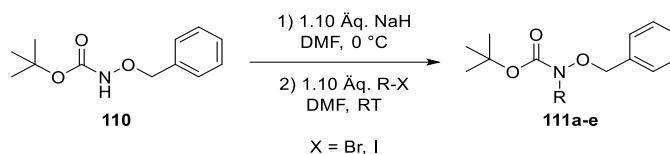
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

Experimentalteil

δ (ppm) = 56.6, 60.1, 61.0, 96.0, 104.8, 126.8, 127.6, 128.4, 130.8, 130.9, 132.1, 133.4, 139.1, 148.0, 153.7, 156.4, 158.5, 178.5.

HPLC t_R = 17.49 min (Methode 1) A.U.C = >96.6 %

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{18}H_{16}ClO_6$ $[M+H^+]$: 363.0635; gefunden: 363.0628.

6.2.6 ASV. 6: Alkylierung von Boc-geschütztem O-Benzylhydroxylamin


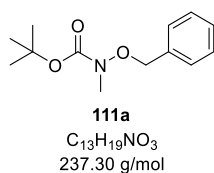
Die Darstellung von alkylierten *tert*-Butyl (Benzyloxy)carbamat-Derivaten wurde in Anlehnung an die Vorschrift von COURTENS *et al.* durchgeführt.^[485]

Unter Stickstoffatmosphäre wurde bei 0 °C zu einer Lösung von *tert*-Butyl (Benzyloxy)carbamat (**110**) (1.00 Äq.) in absolutem *N,N*-Dimethylformamid Natriumhydrid (60%ige Dispersion in Mineralöl, 1.20 Äq.) hinzugegeben und für 20 min gerührt. Zu der Suspension wurde langsam das entsprechende Alkylhalogenid (1.20 Äq.) hinzutropft, der Reaktionsansatz auf 60 °C erwärmt und für 16 h zur Reaktion gebracht. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension mit dest. Wasser (6.00 mL/mmol) verdünnt und viermal mit *n*-Hexan (6.00 mL/mmol) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) gereinigt.

Tabelle 34: Experimentelle Übersicht zur Alkylierung von Boc-geschütztem O-Benzylhydroxylamin.

Edukt	NaH	Alkylhalogenid	DMF	Ausbeute
110 2.50 g 11.2 mmol	0.49 g 13.4 mmol	Methyliodid 1.91 g 13.4 mmol	30.0 mL	111a 1.84 g (69 %) 7.75 mmol
110 2.00 g 8.96 mmol	0.43 g 10.7 mmol	Ethyliodid 1.71 g 10.7 mmol	30.0 mL	111b 1.96 g (87 %) 7.80 mmol
110 1.51 g 6.77 mmol	0.33 g 8.13 mmol	Brompropan 1.00 g 8.13 mmol	20.0 mL	111c 1.37 g (76 %) 5.16 mmol
110 2.20 g 9.85 mmol	0.47 g 11.8 mmol	Propargylbromid (80 Gew.-%. in Toluol) 1.05 mL 11.8 mmol	30.0 mL	111d 2.07 g (80 %) 7.92 mmol
110 3.00 g 13.4 mmol	0.65 g 16.1 mmol	2-Brompropan 1.98 g 16.1 mmol	50.0 mL	111e 2.31 g (65 %) 8.72 mmol

tert-Butyl (Benzyloxy)(methyl)carbamate (**111a**)



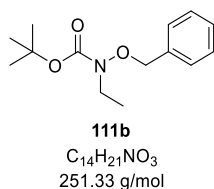
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 6**. Das Produkt **111a** konnte als farblose Flüssigkeit (1.84 g, 7.75 mmol, 69 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[486]

R_f 0.42 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.41 (s, 9H), 3.00 (s, 3H), 4.79 (s, 2H), 7.35 – 7.41 (m, 5H).

tert-Butyl (Benzyloxy)(ethyl)carbamate (**111b**)



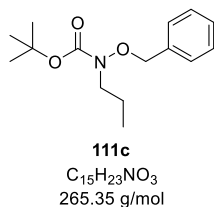
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 6**. Das Produkt **111b** konnte als farblose Flüssigkeit (1.96 g, 7.80 mmol, 87 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[487]

R_f 0.67 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 8:2)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.06 (s, 9H), 1.16 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 4.24 (q, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.87 (s, 2H), 7.26 – 7.40 (m, 5H).

tert-Butyl (Benzyloxy)(propyl)carbamate (**111c**)



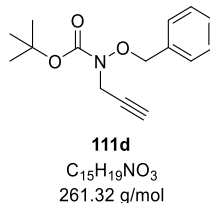
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 6**. Das Produkt **111c** konnte als farblose Flüssigkeit (1.37 g, 5.16 mmol, 76 %) erhalten werden.

R_f 0.55 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 0.83 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.52 (h, J = 6.9 Hz, 2H), 3.33 – 3.38 (m, 1H), 4.78 (s, 2H), 7.26 – 7.47 (m, 5H).

tert-Butyl (Benzyloxy)(prop-2-yn-1-yl)carbamat (**111d**)



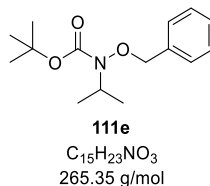
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 6**. Das Produkt **111d** konnte als farblose Flüssigkeit (2.07 g, 7.92 mmol, 80 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[488]

R_f 0.47 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.42 (s, 9H), 3.20 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 4.17 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 4.84 (s, 2H), 7.14 – 7.56 (m, 5H).

tert-Butyl (Benzyloxy)(isopropyl)carbamat (**111e**)



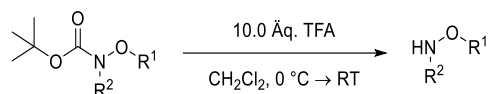
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 6**. Das Produkt **111e** konnte als farblose Flüssigkeit (2.31 g, 8.72 mmol, 65 %) erhalten werden.

R_f 0.58 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 1.20 (d, J = 6.7 Hz, 6H), 1.53 (s, 10H), 4.23 (hept, J = 6.7 Hz, 1H), 4.84 (s, 2H), 7.31 – 7.45 (m, 5H).

6.2.7 ASV. 7: Acidolyse der *tert*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe



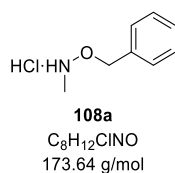
Die Entschützung der *tert*-Butoxycarbonyl-geschützten Hydroxylamine wurde in Anlehnung an die Vorschrift von GRIGG *et al.* durchgeführt.^[487]

Das entsprechende *tert*-Butoxycarbonyl-geschützte Hydroxylamin (1.00 Äq.) wurde in Dichlormethan gelöst und unter Eiskühlung langsam mit Trifluoressigsäure (10.0 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in (10.0 mL/mmol) eiskalter gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung aufgenommen und viermal mit jeweils (5.00 mL/mmol) Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 8:2) gereinigt.

Tabelle 35: Experimentelle Übersicht zur Acidolyse der Boc-Schutzgruppe.

Edukt	TFA	CH ₂ Cl ₂	Ausbeute
111a 1.84 g 7.75 mmol	5.94 mL	20.0 mL	108a 0.78 g (87 %) 4.50 mmol
111b 1.96 g 7.80 mmol	5.97 mL	20.0 mL	108b 1.09 g (92 %) 7.21 mmol
111c 1.37 g 5.16 mmol	3.95 mL	20.0 mL	108c 0.74 g (87 %) 4.50 mmol
111d 2.74 g 10.5 mmol	8.03 mL	20.0 mL	108d 1.25 g (74 %) 7.75 mmol
111e 2.31 g 8.72 mmol	6.67 mL	20.0 mL	108e 1.26 g (87 %) 7.63 mmol
116 0.50 g 1.71 mmol	2.00 mL	10.0 mL	117 0.31 g (94 %) 1.61 mmol

O-Benzyl-N-methylhydroxylamin Hydrochlorid (**108a**)



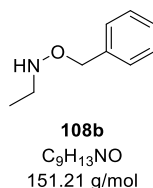
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 7**. Das Produkt wurde in 20.0 mL absolutem Diethylether gelöst und unter Eiskühlung der pH-Wert mit 4 M Salzsäure in 1,4-Dioxan auf 1 eingestellt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und unter Hochvakuum getrocknet. **108a** konnte als weißes Pulver (0.78 g, 4.50 mmol, 87 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[489]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.86 (s, 3H), 5.14 (s, 2H), 7.28 – 7.56 (m, 5H), 12.32 (br s, 2H).

HPLC t_R = 5.05 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-Benzyl-N-ethylhydroxylamin (**108b**)



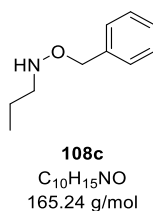
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 7**. Das Produkt **108b** konnte als klare Flüssigkeit (1.09 g, 7.21 mmol, 92 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[487]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 0.98 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 2.68 – 2.91 (m, 2H), 4.60 (s, 2H), 6.50 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 7.21 – 7.41 (m, 5H).

HPLC t_R = 5.79 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 89.4 %

O-Benzyl-N-propylhydroxylamin (**108c**)



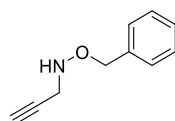
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 7**. Das Produkt **108c** konnte als gelbliche Flüssigkeit (0.74 g, 4.50 mmol, 87 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[490]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 1.43 (h, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.74 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.59 (s, 2H), 5.75 (d, *J* = 0.6 Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 7.24 – 7.36 (m, 5H).

HPLC t_R = 6.86 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 89.5 %

O-Benzyl-*N*-(prop-2-yn-1-yl)hydroxylamin (**108d**)



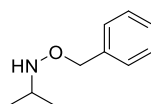
108d
C₁₀H₁₁NO
161.20 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 7**. Das Produkt **108d** konnte als klare Flüssigkeit (1.25 g, 7.75 mmol, 74 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[488]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.06 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 6.1, 2.5 Hz, 2H), 4.66 (s, 2H), 6.79 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.25 – 7.31 (m, 1H), 7.31 – 7.38 (m, 4H).

O-Benzyl-*N*-isopropylhydroxylamin (**108e**)



108e
C₁₀H₁₅NO
165.24 g/mol

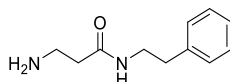
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 7**. Das Produkt **108e** konnte als klare Flüssigkeit (1.26 g, 7.63 mmol, 87 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[487]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 0.96 (d, *J* = 6.3 Hz, 6H), 3.00 – 3.08 (m, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.60 (s, 2H), 6.33 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H), 7.27 (ddd, *J* = 8.6, 5.4, 2.3 Hz, 1H), 7.30 – 7.36 (m, 4H).

HPLC t_R = 6.67 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 97.0 %

3-Amino-*N*-phenethylpropanamid (**117**)



117
 $C_{11}H_{16}N_2O$
192.26 g/mol

Die Darstellung von 3-Amino-*N*-phenethylpropanamid (**117**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 7**. Das Produkt **117** konnte als klare Flüssigkeit (0.31 g, 1.61 mmol, 94 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[491]

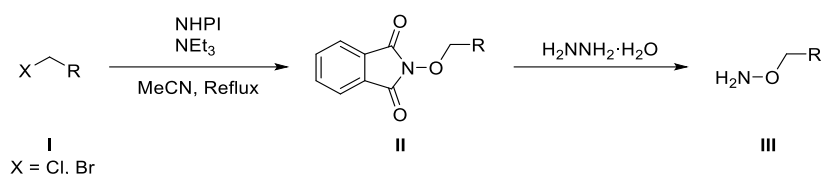
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.41 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.71 (dd, J = 8.3, 6.6 Hz, 2H), 2.95 (s, 2H), 3.17 – 3.37 (m, 2H), 7.14 – 7.24 (m, 3H), 7.24 – 7.35 (m, 2H), 8.22 (t, J = 5.5 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 32.8, 35.1, 35.7, 40.2, 126.1, 128.3, 128.6, 139.4, 158.1, 158.5, 169.5.

6.2.8 ASV. 8: Darstellung von O-alkylierten Hydroxylaminen über die analoge GABRIEL-Synthese



Die Darstellung der Hydroxylamine und Hydroxylamin Hydrochloride wurde in Anlehnung an die Vorschrift von PFLIEGER *et al.* durchgeführt.^[457]

Das entsprechende Alkylhalogenid **I** (1.00 Äq.), *N*-Hydroxyphthalimid und Triethylamin wurden in Acetonitril bzw. *N,N*-Dimethylformamid bis zur vollständigen Umsetzung zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in (10.0 mL/mmol) Essigsäureethylester gelöst und erschöpfend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Phthaloyl-geschützte Hydroxylamin **II** wurde ohne weitere Reinigungsschritte direkt im nächsten Schritt eingesetzt.

Methode A: Das entsprechende Phthaloyl-geschützte Hydroxylamin **II** (1.00 Äq.) wurde in Ethanol gelöst und mit Hydrazin Monohydrat (HM: 98%ige-Lösung) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 2 h zum Rückfluss erhitzt und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur für 1 h bei 0 °C stehen gelassen. Der Niederschlag wurde abgesaugt und zweimal mit jeweils 10.0 mL eiskaltem Ethanol gewaschen. Das Filtrat wurde auf 0 °C abgekühlt und bei ständigem Rühren der pH-Wert mit 4 m Salzsäure in 1,4-Dioxan auf 2 bis 3 eingestellt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abgesaugt und mit 1,4-Dioxan gewaschen.

Methode B: Das entsprechende Phthaloyl-geschützte Hydroxylamin **II** (1.00 Äq.) wurde in Dichlormethan oder Tetrahydrofuran gelöst und mit Hydrazin Monohydrat (HM: 98%ige-Lösung) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt, dann über Nacht bei 7 °C stehen gelassen und der Niederschlag abgesaugt. Das Filtrat wurde dreimal mit jeweils (5.00 mL/mmol) gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit (5.00 mL/mmol) gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in (5.00 mL/mmol) absolutem Diethylether gelöst und unter

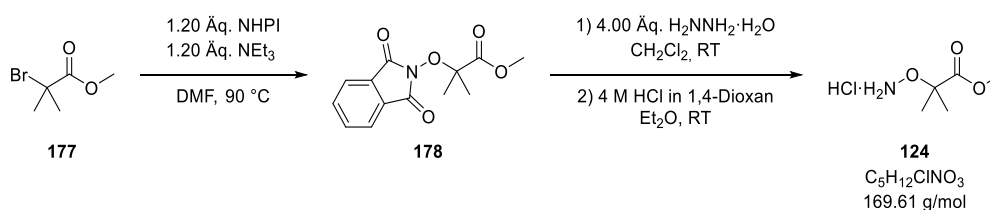
Eiskühlung mit 4 M Salzsäure in 1,4-Dioxan der pH-Wert auf 1 eingestellt. Die Suspension wurde über Nacht bei -20 °C stehen gelassen, das ausgefallene Hydroxylamin Hydrochlorid **III** abfiltriert und mit (2.00 mL/mmol) eiskaltem absolutem Diethylether gewaschen.

Tabelle 36: Experimentelle Übersicht zur Darstellung der Hydroxylamine und Hydroxylamin Hydrochloride.

Phthaloyl-Schützung		Hydrazinolyse		
Substrat	Reagenzien	Substrat	Reagenzien	Ausbeute
177 9.99 g 55.2 mmol	NHPI: 10.8 g, 66.2 mmol NEt ₃ : 6.70 g, 66.2 mmol DMF: 100 mL	178 12.7 g 48.2 mmol	HM: 4.78 mL, 96.5 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	124 7.35 g (90 %) 43.5 mmol
146 4.30 g 18.5 mmol	NHPI: 3.48 g, 21.3 mmol NEt ₃ : 2.16 g, 21.3 mmol MeCN: 100 mL	147 383 mg 1.22 mmol	HM: 121 µL, 2.44 mmol THF: 11.0 mL	148 0.22 g (60 %) 1.17 mmol
153c 5.15 g 30.7 mmol	NHPI: 5.00 g, 30.7 mmol NEt ₃ : 3.41 g, 33.7 mmol MeCN: 50.0 mL	155c 1.00 g 3.39 mmol	HM: 185 µL, 3.73 mmol CH ₂ Cl ₂ : 25.0 mL	156c 441 mg (65 %) 2.68 mmol
153d 5.00 g 39.2 mmol	NHPI: 7.67 g, 47.0 mmol NEt ₃ : 8.73 g, 86.2 mmol MeCN: 200 mL	155d 0.60 g 2.36 mmol	HM: 467 µL, 9.44 mmol CH ₂ Cl ₂ : 50.0 mL	156d 0.38 g (67 %) 1.93 mmol
153e 5.00 g 30.5 mmol	NHPI: 5.97 g, 36.6 mmol NEt ₃ : 6.79 g, 67.1 mmol MeCN: 200 mL	155e 2.00 g 7.87 mmol	HM: 1.17 mL, 23.6 mmol CH ₂ Cl ₂ : 40.0 mL	156e 0.86 g (52 %) 4.52 mmol
153f 5.00 g 30.5 mmol	NHPI: 5.97 g, 36.6 mmol NEt ₃ : 6.79 g, 67.1 mmol MeCN: 100 mL	155f 2.00 g 7.87 mmol	HM: 389 µL, 7.87 mmol EtOH: 20.0 mL	156f 1.43 g (56 %) 7.23 mmol
153g 3.00 g 12.0 mmol	NHPI: 2.35 g, 14.4 mmol NEt ₃ : 1.46 g, 14.4 mmol MeCN: 50.0 mL	155g 3.99 g 12.0 mmol	HM: 653 µL, 13.2 mmol CH ₂ Cl ₂ : 50.0 mL	156g 2.45 g (71 %) 10.3 mmol
153h 3.00 g 19.2 mmol	NHPI: 3.75 g, 23.0 mmol NEt ₃ : 2.33 g, 23.0 mmol MeCN: 100 mL	155h 3.40 g 12.0 mmol	HM: 653 µL, 13.2 mmol CH ₂ Cl ₂ : 60.0 mL	156h 1.86 g (51 %) 9.81 mmol
153i 10.0 g 39.2 mmol	NHPI: 7.68 g, 47.1 mmol NEt ₃ : 5.16 g, 51.0 mmol MeCN: 100 mL	155i 11.2 g 33.2 mmol	HM: 6.58 mL, 133 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	156i 5.99 g (63 %) 24.7 mmol
153j 5.00 g 34.6 mmol	NHPI: 6.77 g, 41.5 mmol NEt ₃ : 4.55 g, 45.0 mmol MeCN: 100 mL	155j 2.00 g 7.37 mmol	HM: 365 µL, 7.37 mmol EtOH: 20.0 mL	156j 1.24 g (42 %) 6.98 mmol
153k	NHPI 6.00 g, 37.3 mmol	155k	HM: 912 µL, 18.4 mmol	156k

5.00 g 31.1 mmol	NEt ₃ 4.09 g, 40.4 mmol MeCN 100 mL	5.29 g 18.4 mmol	EtOH: 70.0 mL	1.86 g (43 %) 9.58 mmol
153l 2.00 g 6.74 mmol	NHPI: 1.32 g, 8.08 mmol NEt ₃ : 0.89 g, 8.76 mmol MeCN: 50.0 mL	155l 2.38 g 6.01 mmol	HM: 1.19 mL, 24.1 mmol CH ₂ Cl ₂ : 50.0 mL	156l 1.21 g (72 %) 4.86 mmol
153m 5.18 g 34.2 mmol	NHPI: 6.69 g, 41.0 mmol NEt ₃ : 4.15 g, 41.0 mmol MeCN: 200 mL	155m 4.87 g 17.5 mmol	HM: 1.73 mL, 35.0 mmol CH ₂ Cl ₂ : 150 mL	156m 2.23 g (44 %) 15.1 mmol
153n 5.00 g 35.6 mmol	NHPI 6.96 g, 42.7 mmol NEt ₃ 4.68 g, 46.3 mmol MeCN 100 mL	155n 3.11 g 11.6 mmol	HM: 634 µL, 12.8 mmol EtOH: 30.0 mL	156n 1.43 g (68 %) 10.4 mmol
153o 5.00 g 20.9 mmol	NHPI: 4.09 g, 25.1 mmol NEt ₃ : 2.75 g, 27.2 mmol MeCN: 100 mL	155o 2.00 g 6.23 mmol	HM: 308 µL, 6.23 mmol EtOH: 20.0 mL	156o 1.04 g (67 %) 4.58 mmol
153q 2.00 g 12.3 mmol	NHPI: 2.41 g, 14.8 mmol NEt ₃ : 1.49 g, 14.8 mmol MeCN: 100 mL	155q 2.60 g 8.99 mmol	HM: 489 µL, 9.89 mmol CH ₂ Cl ₂ : 50.0 mL	156q 1.34 g (56 %) 6.85 mmol
153r 5.00 g 24.2 mmol	NHPI: 4.73 g, 29.0 mmol NEt ₃ : 3.18 g, 31.5 mmol MeCN: 100 mL	155r 2.00 g 6.91 mmol	HM: 342 µL, 6.91 mmol EtOH: 20.0 mL	156r 0.45 g (25 %) 2.28 mmol
153s 5.00 g 31.1 mmol	NHPI 6.00 g, 37.3 mmol NEt ₃ 4.09 g, 40.4 mmol MeCN 100 mL	155s 4.20 g 14.6 mmol	HM: 723 µL, 14.6 mmol EtOH: 60.0 mL	156s 2.46 g (59 %) 12.7 mmol
156t 5.00 g 25.1 mmol	NHPI: 4.92 g, 30.1 mmol NEt ₃ : 3.30 g, 32.6 mmol MeCN: 100 mL	155t 2.88 g 10.2 mmol	HM: 507 µL, 10.2 mmol EtOH: 50.0 mL	156t 1.76 g (69 %) 9.38 mmol
153u 5.00 g 25.5 mmol	NHPI: 4.99 g, 30.6 mmol NEt ₃ : 3.10 g, 30.6 mmol MeCN: 200 mL	155u 6.37 g 22.9 mmol	HM: 2.27 mL, 45.8 mmol CH ₂ Cl ₂ : 150 mL	156u 3.19 g (84 %) 21.5 mmol
153v 5.00 g 25.6 mmol	NHPI: 5.01 g, 30.7 mmol NEt ₃ : 3.11 g, 30.7 mmol MeCN: 100 mL	155v 2.15 g 6.67 mmol	HM: 330 µL, 6.67 mmol EtOH: 40.0 mL	156v 1.34 g (67 %) 5.86 mmol
153w 5.00 g 25.6 mmol	NHPI: 5.01 g, 30.7 mmol NEt ₃ : 3.11 g, 30.7 mmol MeCN: 100 mL	155w 7.15 g 22.2 mmol	HM: 4.40 mL, 88.8 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	156w 3.34 g (68 %) 17.4 mmol
153x 8.15 g 46.0 mmol	NHPI: 9.00 g, 55.2 mmol NEt ₃ : 5.59 g, 55.2 mmol MeCN: 200 mL	155x 4.56 g 17.6 mmol	HM: 1.75 mL, 35.2 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	156x 1.89 g (48 %) 11.4 mmol
153y 5.00 g	NHPI: 8.23 g, 50.4 mmol NEt ₃ : 5.52 g, 54.6 mmol	155y 1.30 g	HM: 0.64 mL, 12.9 mmol CH ₂ Cl ₂ : 30.0 mL	156y 3.72 g (28 %)

42.0 mmol	DMF: 100 mL	6.46 mmol		3.46 mmol
153z 10.8 g 54.0 mmol	NHPI: 10.6 g, 64.8 mmol NEt ₃ : 6.56 g, 64.8 mmol MeCN: 200 mL	155z 13.4 g 50.0 mmol	HM: 4.95 mL, 100 mmol CH ₂ Cl ₂ : 200 mL	156z 7.23 g (74 %) 41.6 mmol
153aa 10.8 g 54.2 mmol	NHPI: 10.6 g, 65.1 mmol NEt ₃ : 6.56 g, 65.1 mmol MeCN: 200 mL	155aa 14.1 g 50.0 mmol	HM: 4.95 mL, 100 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	156aa 8.43 g (84 %) 44.9 mmol
153ac 10.0 g 60.6 mmol	NHPI: 11.9 g, 72.7 mmol NEt ₃ : 7.36 g, 72.7 mmol MeCN: 200 mL	155ac 2.02 g 8.19 mmol	HM: 405 µL, 8.19 mmol EtOH: 40.0 mL	156ac 0.85 g (55 %) 5.56 mmol
-	-	179 1.30 g 5.44 mmol	HM: 808 µL, 16.3 mmol CH ₂ Cl ₂ : 20.0 mL	180 0.63 g (80 %) 4.33 mmol

 Methyl 2-(Aminooxy)-2-methylpropanoat Hydrochlorid (**124**)


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **124** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (7.35 g, 43.5 mmol, 90 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 156.2 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

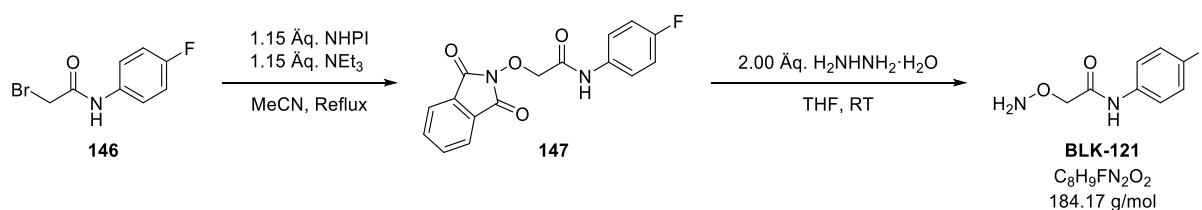
δ (ppm) = 1.49 (s, 6H), 3.71 (s, 3H), 10.80 (br s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 23.19, 52.67, 52.70, 82.71, 172.13.

Elementaranalyse (%)

Berechnet für C₅H₁₂ClNO₃: C 35.41, H 7.13, N 8.26 gefunden: C 35.32, H 7.41, N 8.26.

 2-(Aminooxy)-*N*-(4-fluorphenyl)acetamid (**148**)


Die Darstellung von 2-(Aminoxy)-*N*-(4-fluorphenyl)acetamid (**148**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**, jedoch ohne die Fällung als Hydrochlorid. Das Zwischenprodukt **147** wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert. Das Produkt **148** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (0.22 g, 1.17 mmol, 60 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 113.9 °C

R_f 0.37 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

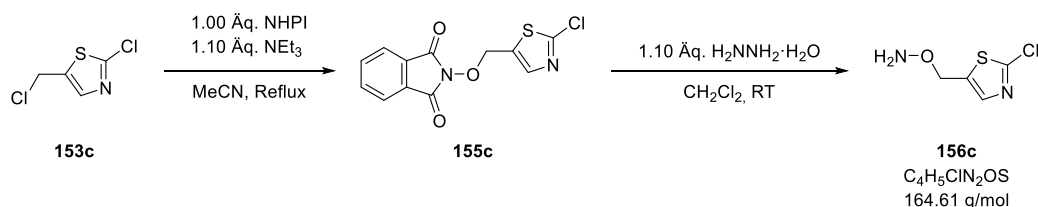
δ (ppm) = 4.12 (s, 2H), 6.44 (s, 2H), 6.88 – 7.32 (m, 2H), 7.53 – 7.86 (m, 2H), 9.74 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 74.5, 115.2 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 22.1 Hz), 121.4 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 7.9 Hz), 134.9 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 2.7 Hz), 158.1 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 239.8 Hz), 168.8.

HPLC *t*_R = 6.18 min (Methode 2) A.U.C = 97.9 %

O-((2-Chlorthiazol-5-yl)methyl)hydroxylamin (**156c**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 6** nach **Methode B**, jedoch ohne die Fällung als Hydrochlorid. Das Produkt **156c** konnte über zwei Stufen als brauner Feststoff (441 mg, 2.68 mmol, 65 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[492]

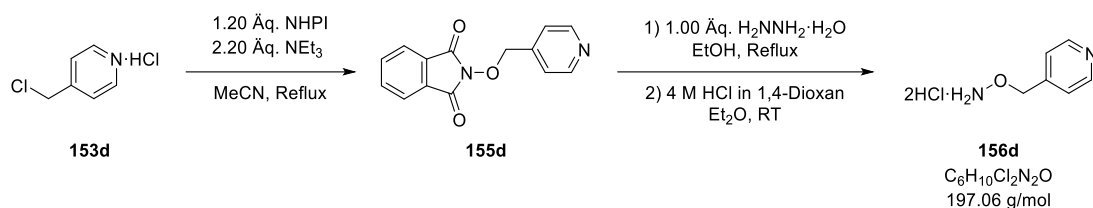
Schmelzpunkt 41.1 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.69 (d, *J* = 0.9 Hz, 2H), 6.27 (s, 2H), 7.62 (t, *J* = 0.9 Hz, 1H).

HPLC *t*_R = 3.73 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(Pyridin-4-ylmethyl)hydroxylamin Dihydrochlorid (**156d**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156d** konnte über zwei Stufen als gelber Feststoff (0.38 g, 1.93 mmol, 67 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[493]

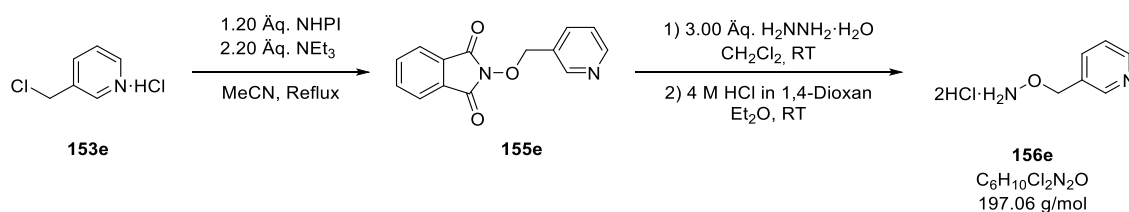
Schmelzpunkt 168.7 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.42 (s, 2H), 7.98 – 8.04 (m, 2H), 8.91 – 8.95 (m, 2H), 11.22 (br s, 4H).

HPLC $t_R = 1.33$ min (Methode 1) A.U.C = 90.0 %

O-(Pyridin-3-ylmethyl)hydroxylamin Dihydrochlorid (**156e**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156e** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (0.89 g, 4.52 mmol, 52 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[494]

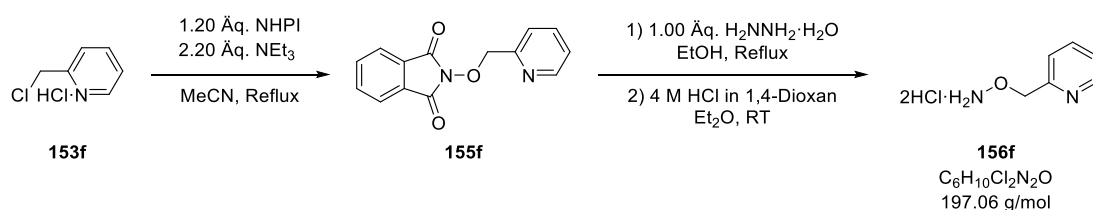
Schmelzpunkt 188.3 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.29 (s, 2H), 7.97 (ddd, *J* = 7.9, 5.5, 0.8 Hz, 1H), 8.48 (dt, *J* = 8.0, 1.8 Hz, 1H), 8.88 (dd, *J* = 5.6, 1.5 Hz, 1H), 8.94 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H).

HPLC $t_R = 1.34$ min (Methode 1) A.U.C = 97.8 %

O-(Pyridin-2-ylmethyl)hydroxylamin Dihydrochlorid (**156f**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156f** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.43 g, 7.23 mmol, 56 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[495]

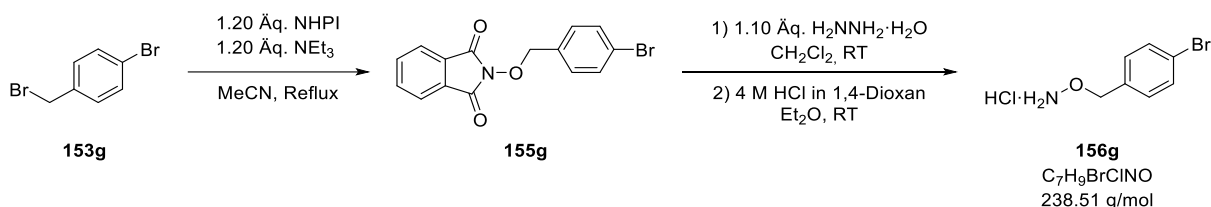
Schmelzpunkt 162.3 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.35 (s, 2H), 7.74 (ddd, *J* = 7.7, 5.3, 1.2 Hz, 1H), 7.81 (dt, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.25 (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 8.76 (ddd, *J* = 5.3, 1.7, 0.8 Hz, 1H), 9.95 (s, 4H).

HPLC *t*_R = 1.73 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(4-Brombenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156g**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156g** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (2.45 g, 10.3 mmol, 71 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[496]

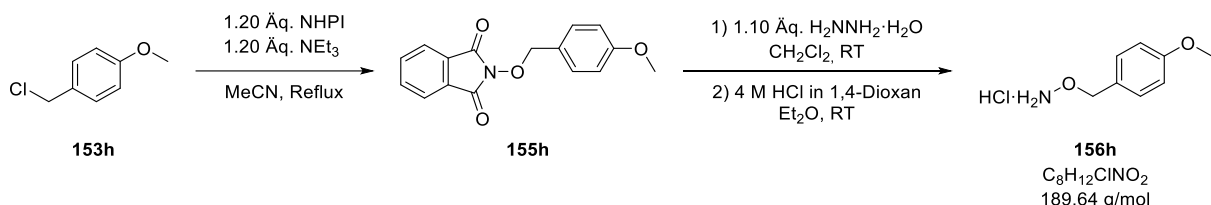
Schmelzpunkt 249.3 °C (Zersetzung) (Lit.: 183-205 °C Zersetzung)^[496]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.00 (s, 2H), 7.31 – 7.43 (m, 2H), 7.58 – 7.68 (m, 2H), 10.99 (br s, 3H).

HPLC *t*_R = 6.76 min (Methode 1) A.U.C = 96.1 %

O-(4-Methoxybenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156h**)



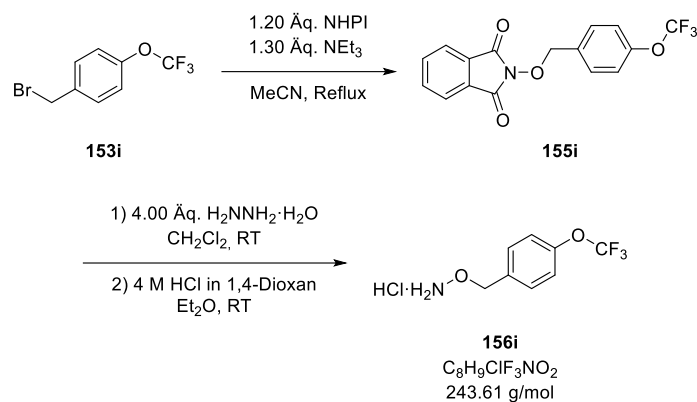
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156h** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.86 g, 9.81 mmol, 51 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[496]

Schmelzpunkt 201.2 °C (Lit.: 162-165 °C)^[496]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.77 (s, 3H), 4.95 (s, 2H), 6.93 – 7.02 (m, 2H), 7.29 – 7.41 (m, 2H), 10.99 (br s, 3H).

O-(4-(Trifluormethoxy)benzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156i**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156i** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (5.99 g, 24.7 mmol, 63 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 249.9 °C (Zersetzung)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.10 (s, 2H), 7.40 (dq, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 2H), 7.49 – 7.62 (m, 2H), 11.25 (br s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

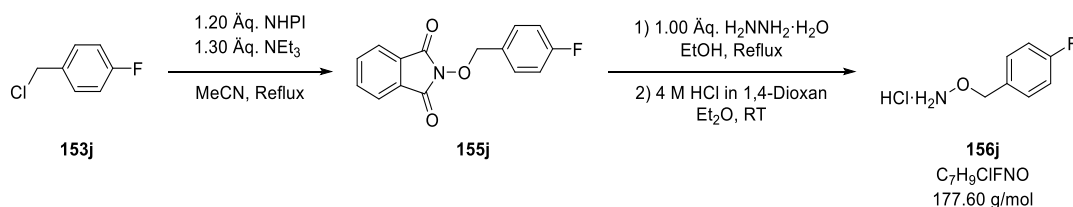
δ (ppm) = 74.6, 120.0 (q, $^1J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = 256.5$ Hz), 121.1, 131.3, 133.3, 148.7 (q, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = 1.7$ Hz).

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -56.8.

HPLC $t_R = 7.95$ min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = >99 %

O-(4-Fluorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156j**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156j** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.24 g, 6.98 mmol, 42 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

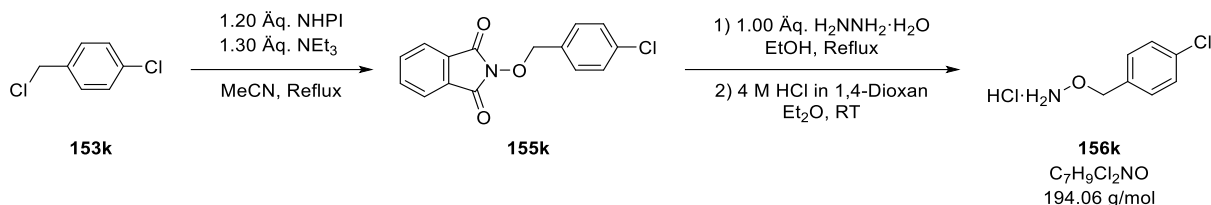
Schmelzpunkt 243.4 °C (Lit.: 219-220 °C)^[497]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.03 (s, 2H), 7.19 – 7.32 (m, 2H), 7.40 – 7.58 (m, 2H), 11.13 (br s, 3H).

HPLC t_R = 5.13 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(4-Chlorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156k**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156k** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.86 g, 9.58 mmol, 43 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

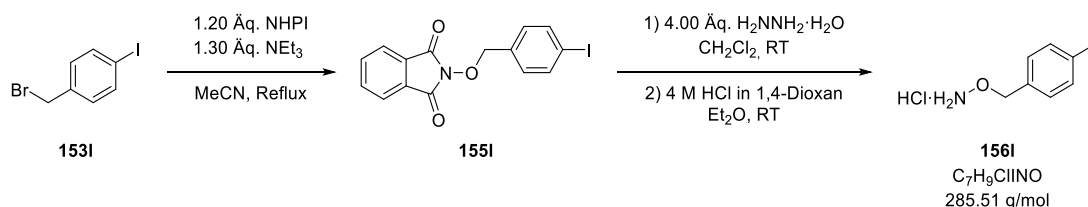
Schmelzpunkt 245.0 °C (Lit.: 226-228.5 °C)^[497]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.03 (s, 2H), 7.41 – 7.53 (m, 4H), 11.02 (br s, 3H).

HPLC t_R = 6.38 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(4-Iodbenzyl)hydroxylamine Hydrochlorid (**156l**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156l** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.21 g, 4.86 mmol, 72 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

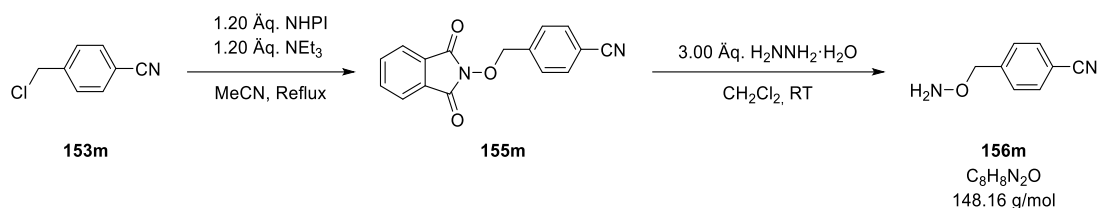
Schmelzpunkt 237.4 °C (Zersetzung)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.00 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 7.22 (dd, *J* = 8.4, 2.2 Hz, 2H), 7.79 (dd, *J* = 8.3, 2.2 Hz, 2H), 11.12 (br s, 3H).

HPLC t_R = 7.29 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

4-((Aminoxy)methyl)benzonitrile (**156m**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**, jedoch ohne die Fällung als Hydrochlorid. Das Produkt **156m** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (2.23 g, 15.1 mmol, 44 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[498]

Schmelzpunkt 90.2 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

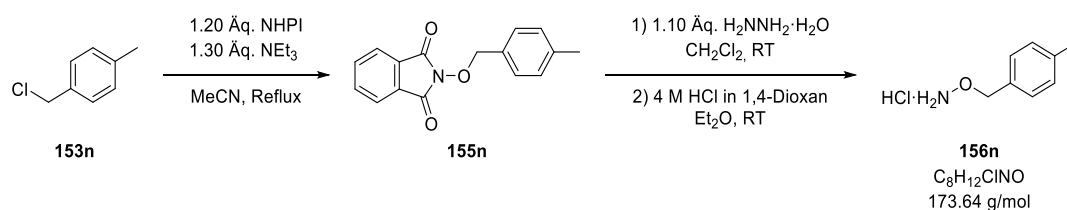
δ (ppm) = 4.66 (s, 2H), 6.21 (s, 3H), 7.30 – 7.65 (m, 2H), 7.72 – 7.97 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 75.7, 110.0, 118.9, 128.3, 132.1, 144.6.

HPLC $t_R = 4.45$ min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 97.1 %

O-(4-Methylbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156n**)



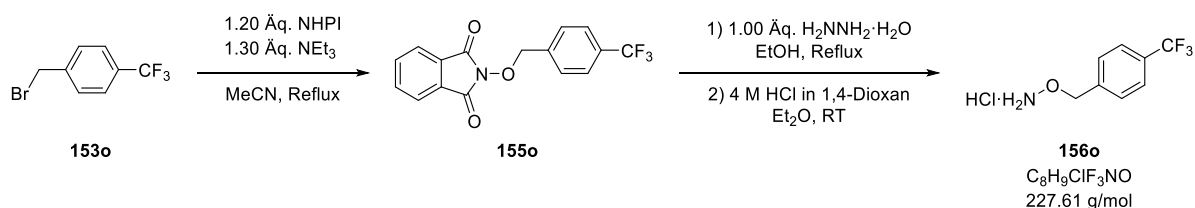
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156n** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.43 g, 10.4 mmol, 68 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[499]

Schmelzpunkt 237.9 °C (Lit.: 233 °C)^[500]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.32 (s, 3H), 4.99 (s, 2H), 7.18 – 7.28 (m, 2H), 7.25 – 7.35 (m, 2H), 11.07 (s, 3H).

O-(4-(Trifluormethyl)benzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156o**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156o** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.04 g, 4.58 mmol, 67 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

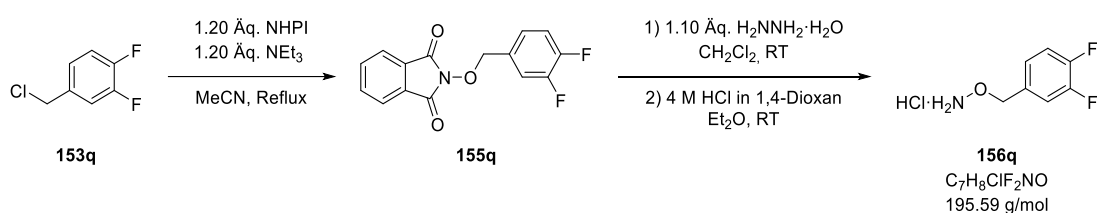
Schmelzpunkt 238.7 °C (Lit.: 179-181 °C)^[497]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.14 (s, 2H), 7.65 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 11.10 (br s, 3H).

HPLC *t*_R = 7.45 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(3,4-Difluorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156q**)



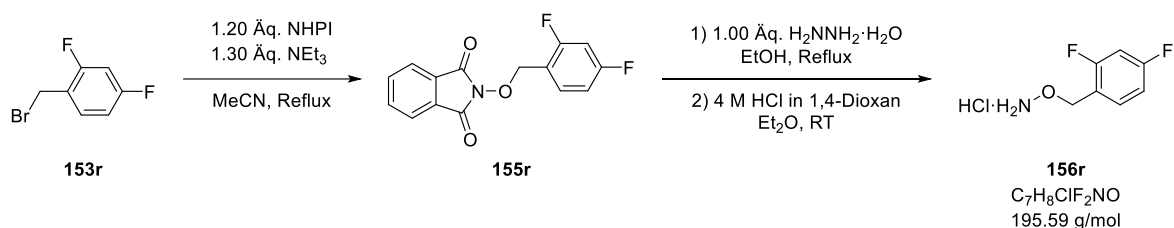
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156q** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.34 g, 6.85 mmol, 56 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 232.8 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.03 (s, 2H), 7.30 (dddd, *J* = 8.4, 4.1, 2.0, 1.0 Hz, 1H), 7.42 – 7.61 (m, 2H), 11.08 (br s, 3H).

O-(2,4-Difluorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156r**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156r** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (0.45 g, 2.28 mmol, 25 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

Schmelzpunkt 238.1 °C (Zersetzung) (Lit.: 155-157 °C)^[497]

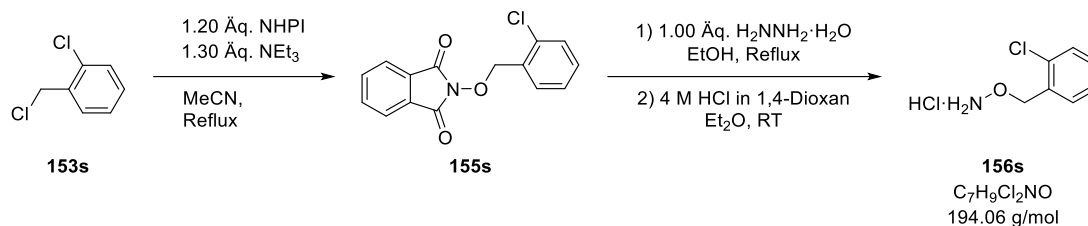
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.08 (d, *J* = 1.4 Hz, 2H), 7.16 (tdd, *J* = 8.6, 2.6, 1.1 Hz, 1H), 7.34 (ddd, *J* = 10.4, 9.4, 2.6 Hz, 1H), 7.58 (td, *J* = 8.5, 6.6 Hz, 1H), 11.09 (s, 3H).

HPLC

$t_R = 5.20$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(2-Chlorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (156s)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156s** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (2.46 g, 12.7 mmol, 59 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

Schmelzpunkt 153.2 °C (Lit.: 148-150 °C)^[497]

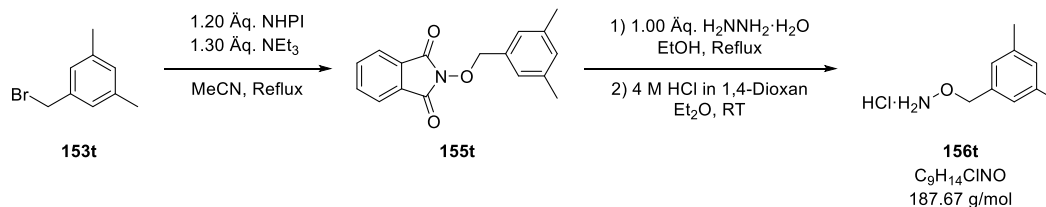
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.17 (s, 2H), 7.37 – 7.49 (m, 2H), 7.50 – 7.58 (m, 2H), 11.23 (br s, 3H).

HPLC

$t_R = 5.60$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

O-(3,5-Dimethylbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (156t)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156t** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.76 g, 9.38 mmol, 69 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 186.3 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) 2.28 (d, *J* = 0.8 Hz, 6H), 4.96 (s, 2H), 7.00 (dt, *J* = 1.6, 0.8 Hz, 2H), 7.03 (tt, *J* = 1.6, 0.8 Hz, 1H), 11.07 (br s, 3H).

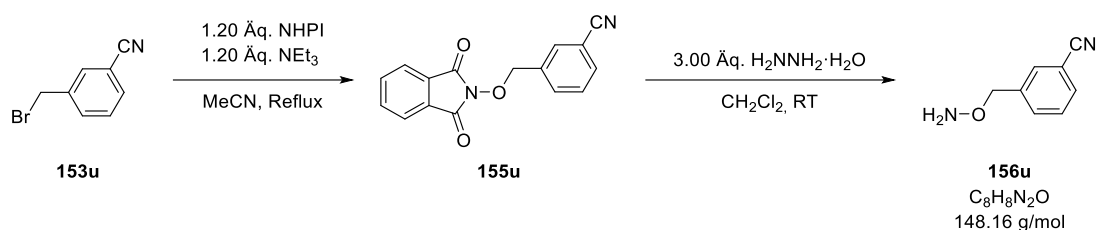
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 20.8, 75.7, 126.9, 130.4, 133.5, 137.7.

HPLC

$t_R = 7.11$ min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 95.6 %

3-((Aminoxy)methyl)benzonitrile (156u)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**, jedoch ohne die Fällung als Hydrochlorid. Das Produkt **156u** konnte über zwei Stufen als gelbe Flüssigkeit (3.19 g, 21.5 mmol, 84 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[498]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

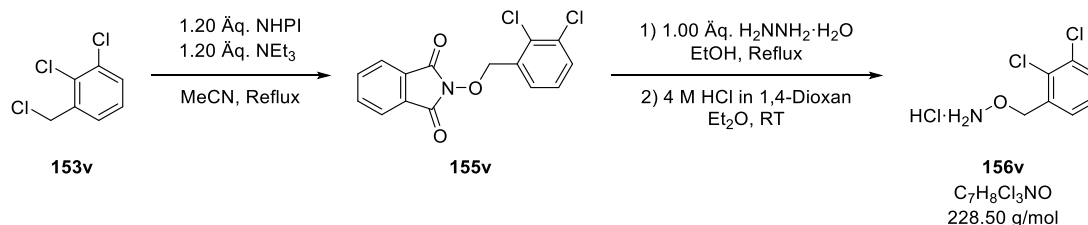
δ (ppm) = 4.62 (s, 2H), 6.18 (s, 3H), 7.51 – 7.59 (m, 1H), 7.62 – 7.69 (m, 1H), 7.71 – 7.78 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 75.4, 111.2, 118.9, 129.4, 131.1, 131.1, 132.5, 140.4.

HPLC $t_R = 4.43$ min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 95.9 %

O-(2,3-Dichlorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (156v)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156v** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (1.34 g, 5.86 mmol, 67 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

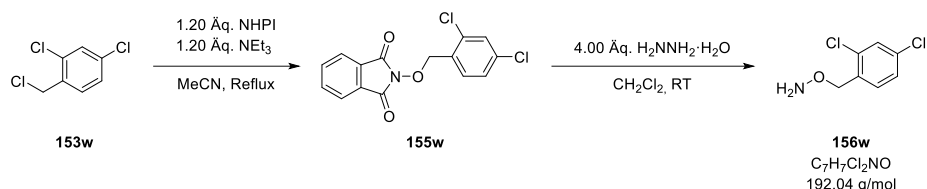
Schmelzpunkt 188.7 °C (Lit.: 184.5-185.5 °C)^[497]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.18 (s, 2H), 7.44 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.53 (dd, $J = 7.7, 1.7$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H), 11.01 (br s, 3H).

HPLC $t_R = 7.14$ min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 96.5 %

O-(2,4-Dichlorbenzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (156w)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**, jedoch ohne die Fällung als Hydrochlorid. Das Produkt **156w** konnte über zwei Stufen als klares Öl (1.86 g, 9.69 mmol, 68 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

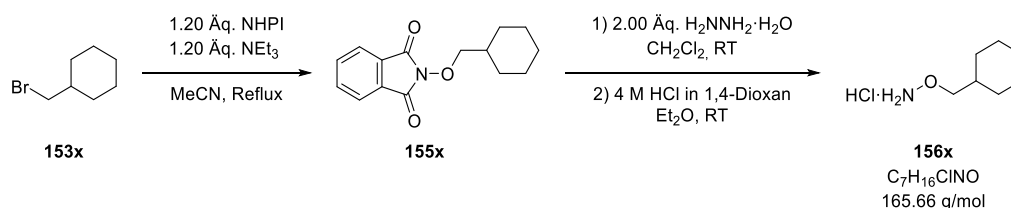
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.63 (s, 2H), 6.23 (s, 2H), 7.40 (dd, $J = 8.3, 2.1$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H).

HPLC

$t_R = 7.20$ min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 97.0 %

O-(Cyclohexylmethyl)hydroxylamin Hydrochlorid (156x)



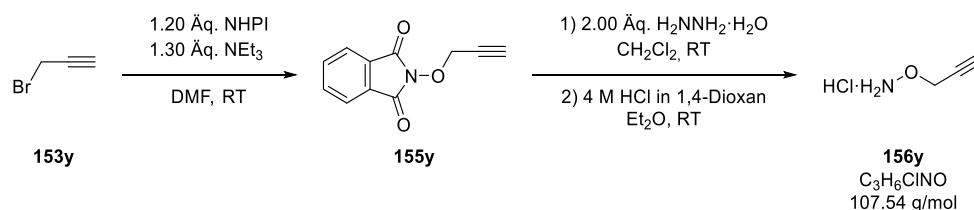
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B**. Das Produkt **156x** konnte als weißer Feststoff (1.89 g, 11.4 mmol, 48 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 178.6 °C (Lit.: 173 °C)^[501]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 0.83 – 1.04 (m, 2H), 1.19 (h, $J = 12.1$ Hz, 3H), 1.55 – 1.73 (m, 6H), 3.81 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 10.92 (br s, 3H).

O-(Prop-2-yn-1-yl)hydroxylamin Hydrochlorid (156y)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B** bei Raumtemperatur für 5 h. Das Produkt **156y** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (372 mg, 3.46 mmol, 28 %)

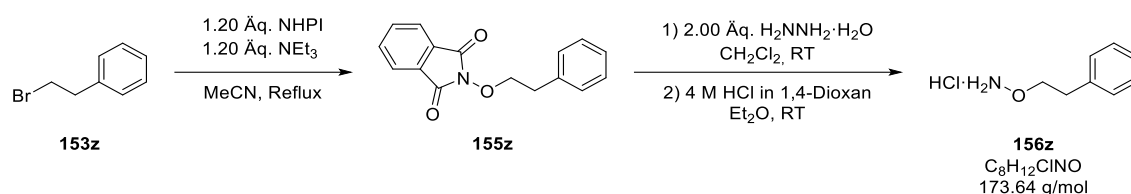
erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[501]

Schmelzpunkt 164.5 °C (Lit.: 95-110-150 °C)^[501]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.86 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.75 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 11.10 (br s, 3H).

O-Phenethylhydroxylamin Hydrochlorid (**156z**)



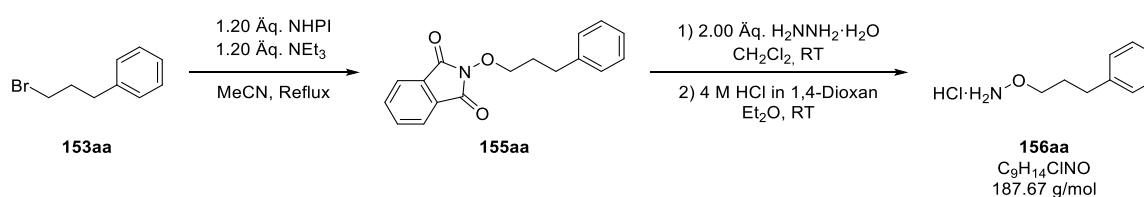
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B** mit einer Reaktionsdauer von 3 h. Das Produkt **156z** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (7.23 g, 41.6 mmol, 74 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

Schmelzpunkt 107.3 °C (Lit.: 110-111 °C)^[497]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.93 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.24 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 6.95 – 7.55 (m, 5H), 11.02 (br s, 3H).

O-(3-Phenylpropyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156aa**)



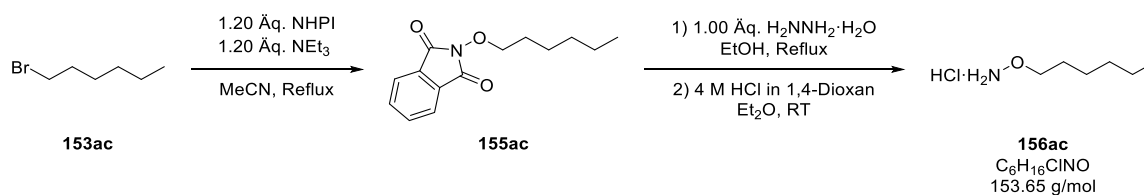
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B** mit einer Reaktionsdauer von 3 h. Das Produkt **156aa** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (8.43 g, 44.9 mmol, 84 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[497]

Schmelzpunkt 174.8 °C (Lit.: 168-169 °C)^[497]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.82 – 1.96 (m, 2H), 2.63 (dd, *J* = 8.8, 6.7 Hz, 2H), 4.01 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 7.12 – 7.33 (m, 5H), 10.98 (br s, 3H).

O-Hexylhydroxylamin Hydrochlorid (**156ac**)



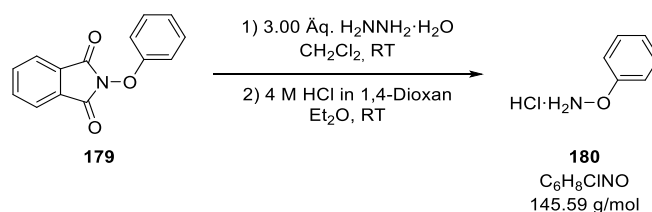
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156ac** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (0.85 g, 5.56 mmol, 55 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[496]

Schmelzpunkt 151.3 °C (Lit.: 141-147 °C)^[496]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 0.79 – 0.94 (m, 3H), 1.13 – 1.38 (m, 6H), 1.57 (tt, *J* = 7.4, 6.1 Hz, 2H), 3.99 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 10.99 (br s, 3H).

O-Phenylhydroxylamin Hydrochlorid (**180**)



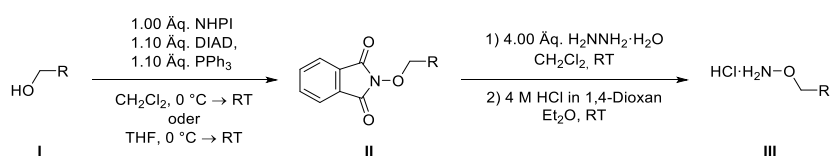
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode B** mit einer Reaktionsdauer von 16 h. Das Produkt **180** konnte als weißer Feststoff (0.63 g, 4.33 mmol, 80 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[498]

Schmelzpunkt 129.5 °C (Lit.: 121-122 °C)^[502]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 7.06 – 7.11 (m, 1H), 7.15 – 7.21 (m, 2H), 7.35 – 7.40 (m, 2H).

6.2.9 ASV. 9: Darstellung von O-alkylierten Hydroxylaminen über die analoge MITSUNOBU-Reaktion



Die Darstellung der Hydroxylamin Hydrochloride wurde in Anlehnung an die Vorschriften von ALANINE *et al.*^[456] und PFLIEGER *et al.*^[457] durchgeführt.

In absolutem Dichlormethan bzw. Tetrahydrofuran wurde der entsprechende Alkohol I (1.00 Äq.), *N*-Hydroxyphthalimid (1.00 Äq.) und Triphenylphosphan (1.10 Äq.) vorgelegt. Der Reaktionsansatz wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und langsam Diisopropylazodicarboxylat (1.10 Äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt.

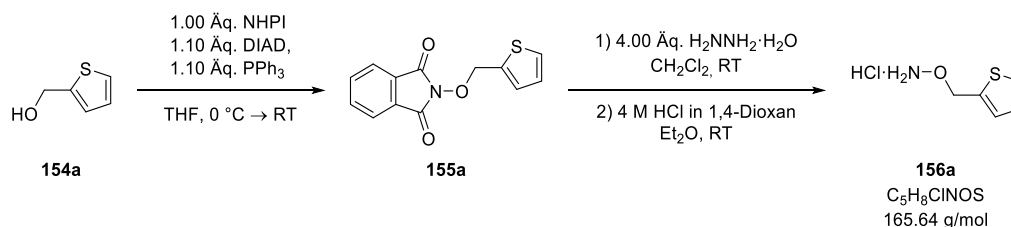
Methode A: Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert. Das Phthaloyl-geschützte Hydroxylamin II wurde abfiltriert, zweimal mit eiskaltem Ethanol gewaschen und ohne weitere Reinigungsschritte direkt im nächsten Schritt eingesetzt.

Methode B: Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 1:1) konnte das Phthaloyl-geschützte Hydroxylamin II erhalten werden.

Das entsprechende Phthaloyl-geschützte Hydroxylamin II (1.00 Äq.) wurde in Dichlormethan gelöst und mit Hydrazin Monohydrat (4.00 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt, dann über Nacht bei 7 °C stehen gelassen und der Niederschlag abgesaugt. Das Filtrat wurde dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in absolutem Diethylether (3.00 mL/mmol) gelöst und unter Eiskühlung der pH-Wert mit 4 M Salzsäure in 1,4-Dioxan auf 1 eingestellt. Die Suspension wurde über Nacht bei -20 °C stehen gelassen, das ausgefallene Hydroxylamin Hydrochlorid III abfiltriert und mit absolutem Diethylether gewaschen.

Tabelle 37: Experimentelle Übersicht zur Darstellung der Hydroxylamin Hydrochloride.

MITSUNOBU-Reaktion		Hydrazinolyse		
Substrat	Reagenzien	Substrat	Reagenzien	Ausbeute
154a 3.00 g 26.3 mmol	NHPI 4.29 g, 26.3 mmol DIAD 5.85 g, 28.9 mmol PPh ₃ 7.58 g, 28.9 mmol THF 200 mL	155a 4.24 g 16.4 mmol	HM: 3.24 mL, 65.4 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	156a 2.59 g (59 %) 15.6 mmol
154b 2.97 g 20.0 mmol	NHPI 3.26 g, 20.0 mmol DIAD 4.45 g, 22.0 mmol PPh ₃ 5.77 g, 22.0 mmol CH ₂ Cl ₂ 130 mL	155b 4.45 g 15.1 mmol	HM: 3.00 mL, 60.6 mmol CH ₂ Cl ₂ : 132 mL	156b 2.74 g (69 %) 13.7 mmol
154p 5.05 g 32.7 mmol	NHPI 5.34 g, 32.7 mmol DIAD 7.28 g, 36.0 mmol PPh ₃ 9.44 g, 36.0 mmol CH ₂ Cl ₂ 220 mL	155p 5.00 g 16.7 mmol	HM: 3.31 mL, 66.8 mmol CH ₂ Cl ₂ : 100 mL	156p 3.13 g (81 %) 15.2 mmol
154ab 3.21 g 26.3 mmol	NHPI 4.29 g, 26.3 mmol DIAD 5.85 g, 28.9 mmol PPh ₃ 7.59 g, 28.9 mmol CH ₂ Cl ₂ 100 mL	155ab 6.19 g 23.2 mmol	HM: 4.59 mL, 92.6 mmol CH ₂ Cl ₂ : 200 mL	156ab 3.49 g (77 %) 20.1 mmol

 O-(Thiophen-2-ylmethyl)hydroxylamin Hydrochlorid(**156a**)


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156a** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (2.59 g, 15.6 mmol, 59 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 164.6 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

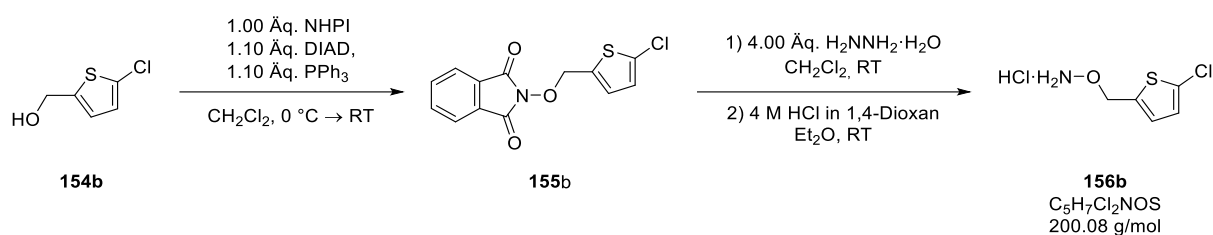
δ (ppm) = 5.27 (s, 2H), 7.07 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 7.19 – 7.32 (m, 1H), 7.67 (dd, *J* = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 11.20 (br s, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 69.6, 127.3, 128.9, 130.2, 135.1.

HPLC *t*_R = 3.77 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = >99 %

O-((5-Chlorthiophen-2-yl)methyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156b**)

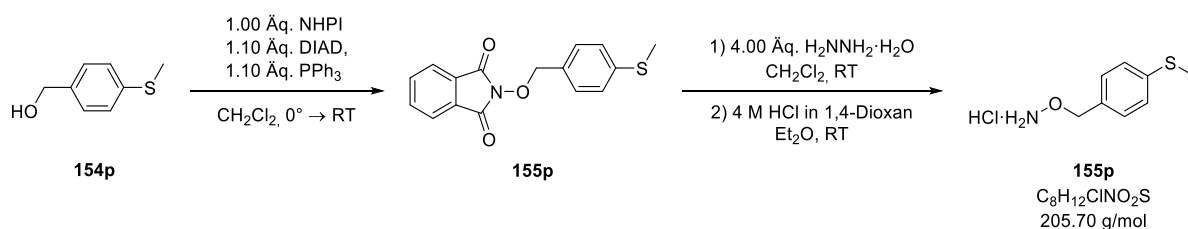


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 8** nach **Methode A**. Das Produkt **156b** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (2.74 g, 13.7 mmol, 69 %) erhalten werden.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 5.21 (s, 2H), 7.08 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.14 – 7.19 (m, 1H), 11.37 (s, 2H).

O-(4-(Methylthio)benzyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156p**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 9** nach **Methode A**. Das Produkt **156p** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (3.13 g, 15.2 mmol, 81 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 228.5 °C

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

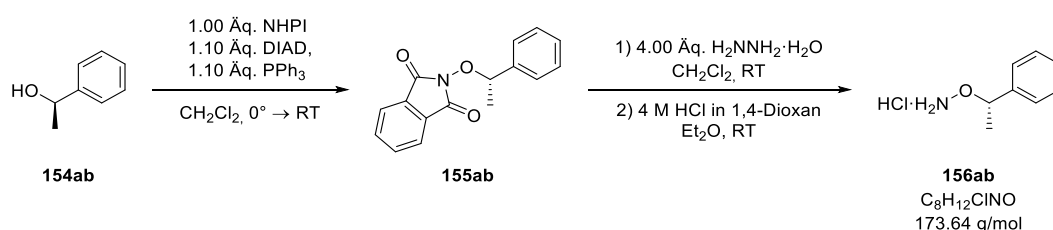
δ (ppm) = 2.48 (s, 3H), 5.01 (s, 2H), 7.25 – 7.33 (m, 2H), 7.33 – 7.40 (m, 2H), 11.18 (br s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 14.5, 75.2, 125.8, 129.8, 130.0, 139.4.

HPLC *t*_R = 6.54 min (Methode 1) A.U.C = 97.6 %

(*S*)-O-(1-Phenylethyl)hydroxylamin Hydrochlorid (**156ab**)



Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 9** nach **Methode B**. Das Produkt **156ab** konnte über zwei Stufen als weißer Feststoff (3.49 g, 20.1 mmol, 77 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[503]

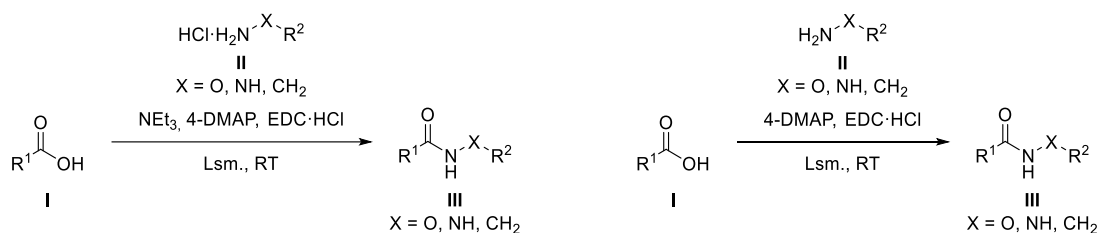
Schmelzpunkt 154.5 °C

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.51 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 5.31 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.33 – 7.46 (m, 5H).

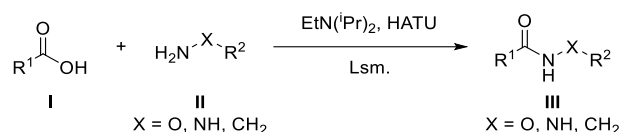
HPLC t_R = 5.23 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 93.9 %

6.2.10 ASV. 10: Aktivierung von Carbonsäuren durch Peptidkupplungsreagenzien



Methode A: Unter Stickstoffatmosphäre wurde das entsprechende Amin bzw. Hydroxylamin Hydrochlorid **II**, Triethylamin und *N,N*-Dimethylpyridin-4-amin im jeweiligen absolutem Lösungsmittel vorgelegt. Nach 10 min rühren bei Raumtemperatur wurde die entsprechende Carbonsäure **I** (1.00 Äq.) und 3-(Ethyliminomethylidenamino)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin Hydrochlorid hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt.

Methode B: Unter Stickstoffatmosphäre wurde das entsprechende Amin bzw. Hydroxylamin **II** und *N,N*-Dimethylpyridin-4-amin im jeweiligen absolutem Lösungsmittel vorgelegt. Nach 10 min rühren bei Raumtemperatur wurde die entsprechende Carbonsäure **I** (1.00 Äq.) und 3-(Ethyliminomethylidenamino)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin Hydrochlorid hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt.



Methode C: Unter Stickstoffatmosphäre wurde das entsprechende die Carbonsäure **I**, das Amin **II** mit *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluor-phosphat und *N,N*-Diisopropylethylamin im jeweiligen absoluten Lösungsmittel vorgelegt. Der Ansatz wurde für die angegebene Zeit bei der jeweiligen Reaktionstemperatur gerührt.

Aufarbeitung A: Der Reaktionsansatz wurde dreimal mit jeweils (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit (20.0 mL/mmol) 10%iger Zitronensäure-Lösung und einmal mit (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Aufarbeitung B: Der Reaktionsansatz wurde für 48 h bei 7 °C stehen gelassen, das ausgefallene Reaktionsprodukt abfiltriert und der Filterkuchen mit (10.0 mL/mmol) eiskaltem Dichlormethan, (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, (20.0 mL/mmol) 10%iger Zitronensäure-Lösung und (20.0 mL/mmol) dest. Wasser gewaschen.

Aufarbeitung C: Der Reaktionsansatz wurde dreimal mit jeweils (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Aufarbeitung D: Der Reaktionsansatz wurde mit (20.0 mL/mmol) Essigsäureethylester verdünnt, dreimal mit jeweils (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit (20.0 mL/mmol) 10%iger Zitronensäure-Lösung und einmal mit (20.0 mL/mmol) gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 38: Experimentelle Übersicht zur Aktivierung von Carbonsäuren durch Peptidkupplungsreagenzien.

Carbonsäure	Nucleophil	Reagenz	4-DMAP	Base	Lsm.	Ausbeute
97a 400 mg 1.47 mmol	107 227 mg 1.84 mmol	EDC·HCl 353 mg 1.84 mmol	18 mg 147 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 40.0 mL	3a 370 mg (67 %) 0.98 mmol
97a 300 mg 1.11 mmol	108a 193 mg 1.11 mmol	HATU 422 mg 1.11 mmol	-	EtN(ⁱ Pr) ₂ 774 µL 4.42 mmol	DMF 10.0 mL	113a 345 mg (80 %) 884 µmol
97a 200 mg 737 µmol	108b 139 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	113b 196 mg (66 %) 485 µmol
97a 200 mg 737 µmol	108c 152 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	113c 288 mg (62 %) 688 µmol
97a 200 mg 737 µmol	108d 149 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	113d 240 mg (79 %) 579 µmol
97a 200 mg	108e 152 mg	EDC·HCl 177 mg	9.01 mg	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	113e 145 mg (47 %)

737 μ mol	922 μ mol	922 μ mol	73.7 μ mol			346 μ mol
97b 200 mg 701 μ mol	107 108 876 μ mol	EDC·HCl 168 mg 876 μ mol	8.6 mg 70.1 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	113f 243 mg (89 %) 622 μ mol
97b 200 mg 701 μ mol	108a 120 mg 876 μ mol	EDC·HCl 168 mg 876 μ mol	8.7 mg 70.1 μ mol	NEt ₃ 127 μ L 911 μ mol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	113g 239 mg (84 %) 591 μ mol
114 1.13 g 5.99 mmol	115 0.73 g 5.99 mmol	EDC·HCl 1.15 g 5.99 mmol	73 mg 599 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 6.00 mL	116 1.01 g (58 %) 3.46 mmol
84 154 mg 777 μ mol	117 195 mg 855 μ mol	EDC·HCl 164 mg 855 μ mol	19 mg 155 μ mol	NEt ₃ 119 μ L 855 μ mol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	120a 212 mg (73 %) 567 μ mol
84 301 mg 1.52 mmol	119 292 mg 1.52 mmol	EDC·HCl 291 mg 1.52 mmol	19 mg 152 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 6.00 mL THF 2.00 mL	120b 121 mg (21 %) 325 μ mol
97a 200 mg 737 μ mol	121 112 mg 922 μ mol	EDC·HCl 177 mg 922 μ mol	9.0 mg 73.7 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	120c 224 mg (81 %) 597 μ mol
123a 300 mg 1.05 mmol	107 162 mg 1.31 mmol	EDC·HCl 252 mg 1.31 mmol	12.8 mg 105 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	125a 288 mg (70 %) 738 μ mol
123b 300 mg 864 μ mol	107 133 mg 1.08 mmol	EDC·HCl 207 mg 1.08 mmol	10.6 mg 86.4 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	125b 233 mg (60 %) 515 μ mol
123c 300 mg 1.00 mmol	107 154 mg 1.25 mmol	EDC·HCl 240 mg 1.25 mmol	12.2 mg 100 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	125c 289 mg (72 %) 715 μ mol
127 266 mg 929 μ mol	107 143 mg 1.16 mmol	EDC·HCl 223 mg 1.16 mmol	11.4 mg 92.9 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	128 234 mg (64 %) 598 μ mol
132a 1.00 g 3.92 mmol	107 603 mg 4.90 mmol	EDC·HCl 939 mg 4.90 mmol	47.9 mg 392 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 50.0 mL	133a 1.19 g (84 %) 3.29 mmol
132b 299 mg 1.11 mmol	107 171 mg 1.39 mmol	EDC·HCl 266 mg 1.39 mmol	13.6 mg 111 μ mol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	133b 322 mg (78 %) 860 μ mol
132c 570 mg	107·HCl 352 mg	EDC·HCl 423 mg	21.5 mg	565 μ L	CH ₂ Cl ₂ 40.0 mL	133c 464 mg (84 %)

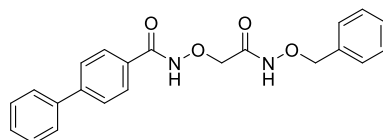
1.76 mmol	2.20 mmol	2.20 mmol	176 µmol	4.06 mmol		1.08 mmol
97a 2.00 mg 7.37 mmol	143 1.11 g 9.22 mmol	EDC·HCl 1.77 g 9.22 mmol	90.1 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 40.0 mL	144 1.63 g (59 %) 4.37 mmol
84 155 mg 782 µmol	148 144 mg 782 µmol	HATU 327 mg 860 µmol	-	EtN(iPr) ₂ 265 µL 1.56 mmol	DMF 6.00 mL	149 217 mg (76 %) 596 µmol
97a 200 mg 737 µmol	180 134 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	150a 53 mg (20 %) 146 µmol
97a 150 mg 553 µmol	PhNHNH ₂ 75 mg 691 µmol	EDC·HCl 133 mg 691 µmol	6.76 mg 55.3 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	150b 148 mg (74 %) 410 µmol
97a 200 mg 737 µmol	PhCONHNH ₂ 125 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.0 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	151 169 mg (59 %) 434 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156a 153 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157a 212 mg (75 %) 554 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156b 184 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	157b 238 mg (78 %) 571 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156c 152 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157c 243 mg (79 %) 582 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156d 182 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 268 µL 1.92 mmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157d 176 mg (63 %) 466 µmol
97a 150 mg 553 µmol	156e 136 mg 691 µmol	EDC·HCl 133 mg 691 µmol	6.76 mg 55.3 µmol	NEt ₃ 200 µL 1.44 mmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157e 118 mg (57 %) 313 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156f 182 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.0 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157f 174 mg (63 %) 461 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156g 220 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157g 202 mg (60 %) 444 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156h 175 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157h 262 mg (88 %) 645 µmol

97a 400 mg 1.47 mmol	156i 448 mg 1.84 mmol	EDC·HCl 353 mg 1.84 mmol	18.0 mg 147 µmol	NEt ₃ 268 µL 1.92 mmol	CH ₂ Cl ₂ 40.0 mL	157i 544 mg (80 %) 1.18 mmol
97a 200 mg 737 µmol	156j 164 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.0 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157j 264 mg (91 %) 669 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156k 179 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.0 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157k 124 mg (41 %) 302 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156l 263 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	157l 246 mg (67 %) 490 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156m 137 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.20 mg 7.37 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157m 225 mg (76 %) 561 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156n 160 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157n 243 mg (84 %) 622 µmol
97a 98 mg 361 µmol	156o 102 mg 452 µmol	EDC·HCl 87 mg 452 µmol	4.5 mg 36.1 µmol	NEt ₃ 66 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 5.00 mL	157o 125 mg (78 %) 281 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156p 190 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	157p 232 mg (75 %) 449 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156q 180 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157q 248 mg (82 %) 601 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156r 181 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.0 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157r 287 mg (94 %) 696 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156s 179 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157s 256 mg (85 %) 623 µmol
97a 150 mg 553 µmol	156t 130 mg 691 µmol	EDC·HCl 133 mg 691 µmol	6.76 mg 55.3 µmol	NEt ₃ 100 µL 719 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157t 148 mg (66 %) 366 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156u 137 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.20 mg 7.37 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157u 273 mg (92 %) 680 µmol
97a	156v	EDC·HCl		NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	157v

200 mg 737 µmol	211 mg 922 µmol	177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	134 µL 958 µmol	10.0 mL	208 mg (63 %) 467 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156w 177 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157w 234 mg (71 %) 525 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156x 153 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157x 264 mg (94 %) 690 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156y 99.2 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157y 181 mg (76 %) 558 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156z 160 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157z 125 mg (43 %) 321 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156aa 173 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157aa 231 mg (78 %) 571 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156ab 160 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	157ab 224 mg (78 %) 574 µmol
97a 200 mg 737 µmol	156ac 152 mg 922 µmol	EDC·HCl 177 mg 922 µmol	9.01 mg 73.7 µmol	NEt ₃ 134 µL 958 µmol	CH ₂ Cl ₂ 10.0 mL	157ac 202 mg (74 %) 545 µmol
158a 250 mg 1.66 mmol	85 326 mg 1.66 mmol	EDC·HCl 318 mg 1.66 mmol	20.3 mg 166 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	159a 248 mg (46 %) 765 µmol
158b 190 mg 953 µmol	85 187 mg 953 µmol	EDC·HCl 228 mg 1.19 mmol	11.6 mg 95.3 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 15.0 mL DMF 5.00 mL	159b 119 mg (33 %) 315 µmol
158c 386 mg 1.75 mmol	85 342 mg 1.75 mmol	HATU 665 mg 1.75 mmol	-	EtN(ⁱ Pr) ₂ 595 µL 3.50 mmol	DMF 4.00 mL	159c 55.0 mg (8 %) 138 µmol
160 500 mg 2.05 mmol	162 471 mg 2.56 mmol	EDC·HCl 490 mg 2.56 mmol	25.0 mg 205 µmol	-	DMF 20.0 mL	163 513 mg (62 %) 1.25 mmol
175 450 mg 1.63 mmol	107 251 mg 2.04 mmol	EDC·HCl 390 mg 2.04 mmol	19.9 mg 163 µmol	-	CH ₂ Cl ₂ 20.0 mL	176 412 mg (66 %) 1.08 mmol
84	124	EDC·HCl		NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	181

1.50 g 7.57 mmol	1.41 g 8.32 mmol	1.45 g 7.57 mmol	92.5 mg 757 µmol	1.27 mL 9.08 mmol	50.0 mL	1.93 g (81 %) 6.16 mmol
---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	----------------------	---------	----------------------------

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**3a**)



3a
C₂₂H₂₀N₂O₄
376.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **3a** konnte als weißer Feststoff (370 mg, 0.98 mmol, 67 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 155.2 °C

R_f 0.27 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 2:8)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

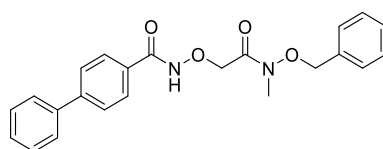
δ (ppm) = 4.43 (s, 2H), 4.88 (s, 2H), 7.25 – 7.46 (m, 6H), 7.46 – 7.57 (m, 2H), 7.70 – 7.77 (m, 2H), 7.80 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.89 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 11.53 (br s, 1H), 12.19 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.2, 77.1, 126.7, 126.9, 127.9, 128.2, 128.3, 128.8, 129.0, 130.1, 130.2, 135.7, 139.0, 143.5, 164.7, 164.9.

HPLC *t_R* = 13.14 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((Benzyloxy)(methyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**113a**)



113a
C₂₃H₂₂N₂O₄
390.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode C** mit anschließender **Aufarbeitung D**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 6:4) konnte das Produkt **113a** als weißer Feststoff (345 mg, 884 µmol, 80 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 113.5 °C

R_f 0.53 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

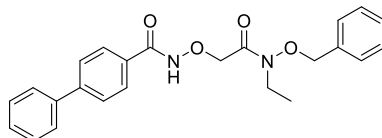
δ (ppm) = 3.20 (s, 3H), 4.69 (s, 2H), 4.92 (s, 2H), 7.31 – 7.54 (m, 8H), 7.64 – 7.80 (m, 4H), 7.85 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 11.91 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 33.0, 38.6, 38.9, 39.2, 39.5, 39.8, 40.0, 40.3, 71.7, 75.4, 126.5, 126.8, 127.9, 128.1, 128.5, 128.8, 129.0, 129.5, 130.7, 134.5, 139.0, 143.1, 164.3, 168.9.

HPLC t_R = 13.90 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

***N*-(2-((Benzyloxy)(ethyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (113b)**



113b
 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$
 404.47 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 6:4) konnte das Produkt **113b** als weißer Feststoff (196 mg, 485 μmol , 66 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 92.7 °C

R_f 0.33 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

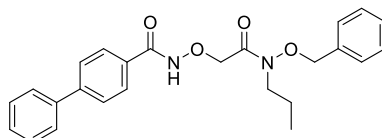
δ (ppm) = 1.12 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 3.68 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 4.71 (s, 2H), 4.90 (s, 2H), 7.35 – 7.39 (m, 1H), 7.40 (t, J = 7.8 Hz, 3H), 7.45 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.49 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.72 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.76 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 11.93 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3)

δ (ppm) = 12.0, 40.8, 73.1, 76.7, 127.3, 127.3, 127.9, 128.2, 129.0, 129.0, 129.1, 129.5, 130.5, 133.7, 140.0, 144.9, 165.4, 171.1.

HPLC t_R = 14.33 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

***N*-(2-((Benzyloxy)(propyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (113c)**



113c
 $\text{C}_{25}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_4$
 418.49 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch

n-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 6:4) konnte das Produkt **113c** als weißer Feststoff (288 mg, 688 μmol, 62 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 108.9 °C

R_f 0.26 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

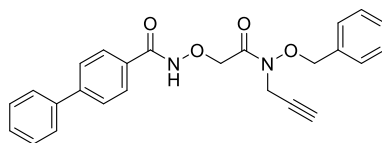
δ (ppm) = 0.84 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 1.58 (h, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.63 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 4.73 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 7.35 – 7.38 (m, 1H), 7.38 – 7.42 (m, 3H), 7.43 – 7.45 (m, 2H), 7.49 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.72 (dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.85 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 11.92 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 11.0, 19.6, 46.0, 71.7, 75.5, 126.6, 126.8, 127.9, 128.1, 128.5, 128.8, 129.0, 129.4, 130.7, 134.5, 139.0, 143.2, 164.4, 168.8.

HPLC *t_R* = 15.25 min (Methode 1) A.U.C = 98.3 %

N-(2-((Benzyloxy)(prop-2-yn-1-yl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**113d**)



113d
C₂₅H₂₂N₂O₄
414.46 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (8:2 → 7:3) konnte das Produkt **113d** als weißer Feststoff (240 mg, 579 μmol, 79 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 135.3 °C

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

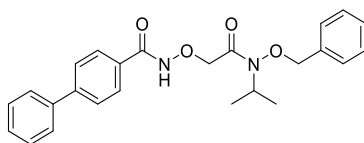
δ (ppm) = 3.26 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.48 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H), 4.72 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 7.34 – 7.39 (m, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 7.44 – 7.47 (m, 2H), 7.49 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.69 – 7.74 (m, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 11.95 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 35.8, 71.9, 74.4, 76.4, 78.5, 126.5, 126.8, 127.8, 128.1, 128.5, 128.8, 129.0, 129.5, 130.7, 134.4, 139.1, 143.2, 164.3, 169.9.

HPLC *t_R* = 14.17 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((Benzyloxy)(isopropyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**113e**)



113e
C₂₅H₂₆N₂O₄
418.49 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 8:2) konnte das Produkt **113e** als weißer Feststoff (145 mg, 346 μmol, 47 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 106.9 °C

R_f 0.28 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 6:4)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

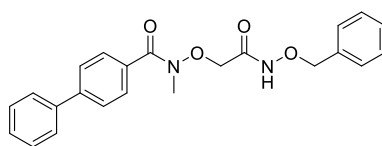
δ (ppm) = 1.25 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 4.46 (hept, *J* = 6.5, 5.9 Hz, 1H), 4.79 (s, 2H), 4.94 (s, 2H), 7.30 – 7.56 (m, 8H), 7.72 (dd, *J* = 7.1, 1.8 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 11.96 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 19.5, 50.2, 72.4, 78.6, 126.5, 126.8, 127.8, 128.0, 128.5, 128.7, 129.0, 129.0, 130.7, 134.7, 139.0, 143.2, 164.4, 169.9.

HPLC *t_R* = 15.22 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**113f**)



113f
C₂₃H₂₂N₂O₄
390.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 1:9) konnte das Produkt **113f** als weißer Feststoff (243 mg, 622 μmol, 89 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 123.9 °C

R_f 0.52 (Essigsäureethylester)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

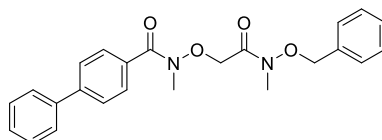
δ (ppm) = 3.29 (s, 3H), 4.28 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 7.27 – 7.44 (m, 6H), 7.45 – 7.56 (m, 2H), 7.61 – 7.81 (m, 6H), 11.37 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 36.7, 72.0, 77.4, 126.9, 127.3, 128.5, 128.8, 129.1, 129.2, 129.5, 133.4, 136.2, 139.6, 142.7, 164.2, 169.6.

HPLC t_R = 13.42 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((Benzyloxy)(methyl)amino)-2-oxoethoxy)-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**113g**)



113g
 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$
 404.47 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 \rightarrow 1:1) konnte das Produkt **113g** als weißer Feststoff (239 mg, 591 μmol , 84 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 77.1 °C

R_f 0.46 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

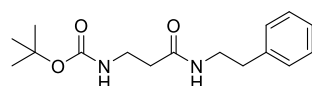
δ (ppm) = 3.14 (s, 3H), 3.30 (s, 3H), 4.53 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 7.36 (s, 5H), 7.41 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.50 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.66 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.70 – 7.73 (m, 2H), 7.74 (d, J = 8.2 Hz, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 33.3, 36.6, 71.7, 75.7, 126.8, 127.3, 128.5, 129.0, 129.1, 129.3, 129.5, 130.1, 133.6, 134.8, 139.6, 142.6, 168.8, 169.5.

HPLC t_R = 14.35 min (Methode 1) A.U.C = 95.9 %

tert-Butyl (3-Oxo-3-(phenethylamino)propyl)carbammat (**116**)



116
 $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$
 292.38 g/mol

Die Darstellung von *tert*-Butyl (3-Oxo-3-(phenethylamino)propyl)carbammat (**116**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Produkt **116** als hellgelber Feststoff (1.01 g, 3.46 mmol, 58 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 110.2 °C

R_f 0.38 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

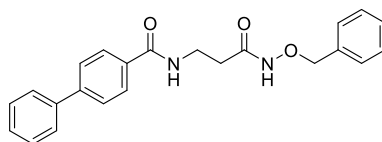
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.37 (s, 9H), 2.20 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.69 (dd, *J* = 8.1, 6.5 Hz, 2H), 3.10 (td, *J* = 7.5, 5.8 Hz, 2H), 3.19 – 3.30 (m, 2H), 6.71 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.19 (dt, *J* = 6.1, 1.6 Hz, 3H), 7.24 – 7.36 (m, 2H), 7.93 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 28.2, 35.1, 35.8, 36.7, 40.1, 77.5, 126.0, 128.3, 128.6, 139.5, 155.4, 170.2.

N-(3-((Benzyloxy)amino)-3-oxopropyl)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**120a**)



120a
C₂₃H₂₂N₂O₃
374.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (3:2 → 1:4) konnte das Produkt **120a** als weißer Feststoff (212 mg, 567 μmol, 73 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 217.7 °C

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

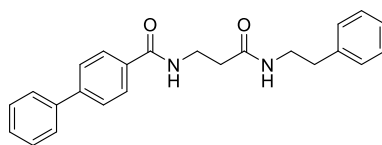
δ (ppm) = 2.29 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.49 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.79 (s, 2H), 7.28 – 7.46 (m, 6H), 7.44 – 7.56 (m, 2H), 7.68 – 7.81 (m, 4H), 7.89 – 7.98 (m, 2H), 8.64 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 11.07 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 33.0, 36.4, 77.3, 126.9, 127.3, 128.3, 128.5, 128.7, 128.7, 129.3, 129.5, 133.7, 136.5, 139.6, 143.1, 166.3, 168.1.

HPLC *t_R* = 12.08 min (Methode 1) A.U.C = 97.5 %

N-(3-Oxo-3-(phenethylamino)propyl)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**120b**)



120b
 $C_{24}H_{24}N_2O_2$
 372.47 g/mol

Die Darstellung von *N*-(3-Oxo-3-(phenethylamino)propyl)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**120b**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode C**. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 5.00 mL Essigsäureethylester suspendiert, der Niederschlag abfiltriert und mit 10.0 mL Essigsäureethylester gewaschen. Das Rohprodukt wurde in 50.0 mL Chloroform gelöst, dreimal mit jeweils 50.0 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, die organische Phase über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und der Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (10:0 → 9:1) konnte das Produkt **120b** als weißer Feststoff (121 mg, 325 μ mol, 21 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 241.1 °C

R_f 0.30 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 2.37 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.71 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.26 (q, J = 7.7, 5.8 Hz, 2H), 3.47 (q, J = 6.9 Hz, 2H), 7.10 – 7.33 (m, 5H), 7.35 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.55 (m, 2H), 7.67 – 7.82 (m, 4H), 7.88 – 7.97 (m, 2H), 8.00 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 8.56 (t, J = 5.6 Hz, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

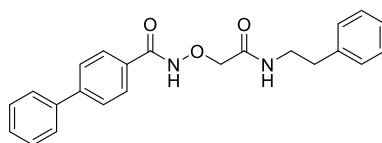
δ (ppm) = 35.1, 35.4, 36.2, 40.2, 126.0, 126.4, 126.8, 127.8, 128.0, 128.2, 128.6, 129.0, 133.3, 139.2, 139.5, 142.6, 165.8, 170.3.

HPLC t_R = 12.92 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

Elementaranalyse (%)

Berechnet für $C_{24}H_{24}N_2O_2$: C 77.39, H 6.50, N 7.52, gefunden: C 77.46, H 6.48, N 7.44.

N-(2-Oxo-2-(phenethylamino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**120c**)



120c
 $C_{23}H_{22}N_2O_3$
 374.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Produkt **120c** konnte als weißer Feststoff (224 mg, 597 μ mol, 81 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 162.5 °C

R_f 0.33 (Essigsäureethylester)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

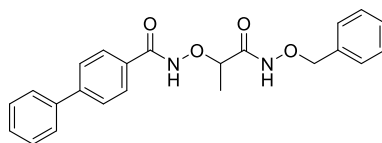
δ (ppm) = 2.77 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.39 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H), 4.38 (s, 2H), 7.11 – 7.31 (m, 5H), 7.35 – 7.48 (m, 1H), 7.43 – 7.56 (m, 2H), 7.68 – 7.79 (m, 2H), 7.80 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 8.48 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 35.5, 40.4, 75.3, 126.6, 127.2, 127.4, 128.3, 128.7, 128.8, 129.1, 129.5, 130.6, 139.4, 139.7, 144.0, 165.6, 168.1.

HPLC t_R = 13.52 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-((1-((Benzyloxy)amino)-1-oxopropan-2-yl)oxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**125a**)



125a
C₂₃H₂₂N₂O₄
390.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **125a** konnte als weißer Feststoff (288 mg, 738 μ mol, 70 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 177.8 °C

R_f 0.45 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

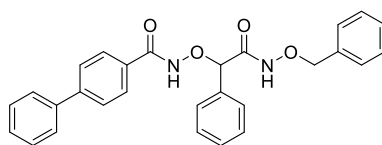
δ (ppm) = 1.35 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 4.40 (q, *J* = 6.6 Hz, 1H), 4.84 (q, *J* = 11.0 Hz, 2H), 7.29 – 7.34 (m, 3H), 7.36 – 7.40 (m, 2H), 7.40 – 7.44 (m, 1H), 7.50 (dd, *J* = 8.4, 7.0 Hz, 2H), 7.73 (dt, *J* = 6.3, 1.3 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 11.45 (s, 1H), 12.02 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 17.2, 77.4, 79.2, 127.1, 127.3, 128.4, 128.6, 128.7, 128.8, 129.4, 129.5, 130.9, 136.2, 139.5, 143.9, 165.4, 168.1.

HPLC t_R = 13.33 min (Methode 1) A.U.C = 97.9 %

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxo-1-phenylethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**125b**)



125b
 $C_{28}H_{24}N_2O_4$
 452.51 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **125b** konnte als weißer Feststoff (233 mg, 515 μ mol, 60 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 189.5 °C

R_f 0.24 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 6:4)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

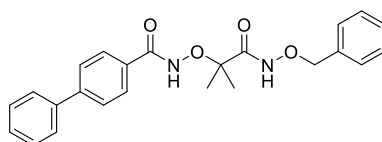
δ (ppm) = 4.83 (s, 2H), 5.38 (s, 1H), 7.22 – 7.36 (m, 5H), 7.37 – 7.45 (m, 4H), 7.46 – 7.54 (m, 4H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.79 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.88 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 11.66 (s, 1H), 12.20 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 77.3, 83.6, 127.1, 127.3, 128.1, 128.4, 128.7, 128.7, 128.8, 128.8, 129.3, 129.5, 129.5, 130.9, 135.8, 136.1, 139.5, 143.8, 165.5, 166.1.

HPLC t_R = 14.98 min (Methode 1) A.U.C = 97.0 %

N-((1-((Benzyloxy)amino)-2-methyl-1-oxopropan-2-yl)oxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**125c**)



125c
 $C_{24}H_{24}N_2O_4$
 404.47 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 \rightarrow 1:1) konnte das Produkt **125c** als weißer Feststoff (289 mg, 715 μ mol, 72 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 113.7 °C

R_f 0.42 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

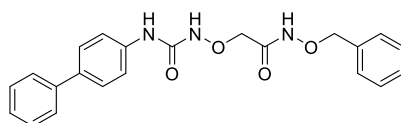
δ (ppm) = 1.45 (s, 6H), 4.83 (s, 2H), 7.30 – 7.34 (m, 1H), 7.34 – 7.39 (m, 2H), 7.39 – 7.46 (m, 3H), 7.50 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.69 – 7.76 (m, 2H), 7.80 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.84 – 7.89 (m, 2H), 11.59 (s, 1H), 11.66 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 24.2, 77.2, 85.5, 127.2, 127.4, 128.6, 128.7, 128.8, 128.8, 129.3, 129.5, 130.5, 136.2, 139.4, 144.2, 167.8, 170.7.

HPLC $t_R = 14.23$ min (Methode 1) A.U.C = 99.0 %

2-(((1,1'-Biphenyl]-4-yl)ureido)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**128**)



128
 $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$
 391.43 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde in siedendem Propan-2-ol suspendiert, heiß filtriert und der Filterkuchen mit Propan-2-ol gewaschen. Das Produkt **128** konnte als hellgelber Feststoff (234 mg, 598 μmol , 64 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 203.3 °C

R_f 0.33 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

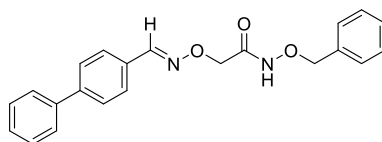
δ (ppm) = 4.31 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 7.30 – 7.35 (m, 2H), 7.37 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.39 – 7.47 (m, 4H), 7.58 – 7.69 (m, 6H), 9.71 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 11.83 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.8, 77.6, 119.6, 126.7, 127.4, 127.4, 128.8, 129.3, 129.3, 134.7, 136.1, 138.9, 140.2, 157.9, 166.5.

HPLC $t_R = 13.38$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(((1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**133a**)



133a
 $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$
 360.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch

n-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) konnte das Produkt **133a** als weißer Feststoff (1.19 g, 3.29 mmol, 84 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 136.8 °C

R_f 0.26 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 6:4)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

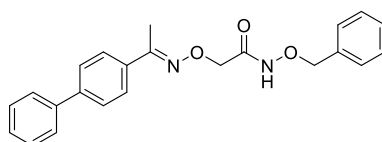
δ (ppm) = 4.54 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 7.31 – 7.44 (m, 6H), 7.48 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.69 – 7.73 (m, 4H), 7.75 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 8.37 (s, 1H), 11.31 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 71.9, 77.5, 127.2, 127.5, 128.1, 128.4, 128.7, 128.8, 129.4, 129.5, 131.0, 136.2, 139.7, 142.2, 150.6, 165.9.

HPLC *t_R* = 15.00 min (Methode 1) A.U.C = 98.3 %

2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ethyliden)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**133b**)



133b
C₂₃H₂₂N₂O₃
374.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 4:6) konnte das Produkt **133b** als weißer Feststoff (322 mg, 860 μmol, 78 %) erhalten werden.

R_f 0.56 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

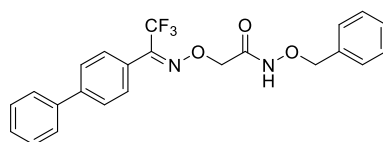
δ (ppm) = 2.28 (s, 3H), 4.56 (s, 2H), 4.83 (s, 2H), 7.31 – 7.45 (m, 6H), 7.48 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.67 – 7.77 (m, 6H), 11.23 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 13.2, 71.9, 77.5, 127.1, 127.1, 127.1, 128.3, 128.8, 129.4, 129.5, 135.0, 136.2, 139.8, 141.5, 156.0, 166.2.

HPLC *t_R* = 15.67 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethyliden)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**133c**)



133c
 $C_{23}H_{19}F_3N_2O_3$
 428.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (3:2 → 3:7) konnte das Produkt **133c** als Gemisch der *E*- und *Z*-Konfigurationsisomere als weißer Feststoff (464 mg, 1.08 mmol, 84 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 117.9 °C

R_f 0.14 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 4:1)

1H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 4.75 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 7.29 – 7.44 (m, 14H), 7.45 – 7.56 (m, 6H), 7.60 (ddt, J = 11.2, 6.0, 1.3 Hz, 6H), 7.63 – 7.70 (m, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.46 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = 73.7, 73.7, 74.4, 78.5, 78.6, 117.1, 119.0, 124.6, 127.2, 127.2, 127.3, 127.3, 127.6, 128.2, 128.2, 128.7, 128.8, 128.9, 129.0, 129.0, 129.2, 129.3, 134.6, 134.8, 139.7, 139.8, 143.7, 143.8, 148.9, 165.2.

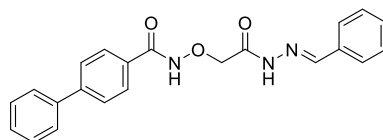
^{19}F NMR (565 MHz, $CDCl_3$)

δ (ppm) = -66.3, -62.1.

MS (ESI): m/z berechnet für $C_{23}H_{20}F_3N_2O_3$ $[M+H]^+$: 429; gefunden: 429.

HPLC t_R = 16.27 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(2-Benzylidenhydrazinyl)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**144**)



144
 $C_{22}H_{19}N_3O_3$
 373.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (3:2 → 3:7) konnte das Produkt **144** als Gemisch der *E*- und *Z*-Konfigurationsisomere als weißer Feststoff (1.63 g, 4.37 mmol, 59 %) erhalten werden.

R_f 0.15 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:4)

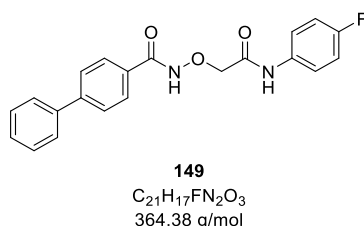
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.59 (s, 2H), 5.00 (s, 2H), 7.37 – 7.54 (m, 12H), 7.65 (dd, *J* = 7.5, 2.1 Hz, 2H), 7.72 (ddd, *J* = 9.4, 4.8, 2.0 Hz, 6H), 7.77 (dd, *J* = 21.4, 8.2 Hz, 4H), 7.89 (dd, *J* = 8.6, 6.8 Hz, 4H), 7.98 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 11.56 (s, 1H), 11.82 (s, 1H), 11.99 (s, 1H), 12.28 (br s, 1H).

MS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₂H₂₀N₃O₃ [M+H⁺]: 374.2 gefunden: 374.3.

HPLC *t_R* = 13.03 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((4-Fluorphenyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**149**)



Die Darstellung von *N*-(2-((4-Fluorphenyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**149**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode C** bei einer Reaktionstemperatur von 60 °C für 48 h. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 20.0 mL Essigsäureethylester gelöst, dreimal mit jeweils 20.0 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, einmal mit 20.0 mL einer 10%igen Zitronensäure-Lösung und einmal mit 20.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 3:7) konnte das Produkt **149** als weißer Feststoff (217 mg, 596 μmol, 76 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 186.1 °C

R_f 0.51 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.61 (s, 2H), 7.20 (t, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.34 – 7.46 (m, 1H), 7.49 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.61 – 7.77 (m, 4H), 7.80 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 10.65 (s, 1H), 12.41 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 75.4, 115.5 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 22.3 Hz), 121.0 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 7.7 Hz), 126.8, 126.9, 128.0, 128.2, 129.0, 129.9, 134.6 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 2.6 Hz), 138.9, 158.2 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 240.4 Hz), 165.6, 166.6.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

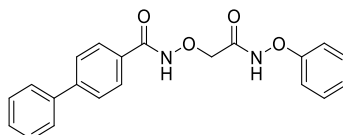
δ (ppm) = -118.7.

HPLC

t_R = 14.77 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

MS (ESI): m/z berechnet für C₂₁H₁₈N₂O₃ [M+H⁺]: 365.1; gefunden: 365.1.

N-(2-Oxo-2-(phenoxyamino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**150a**)



150a
C₂₁H₁₈N₂O₄
362.39 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (8:2 → 3:7) konnte das Produkt **150a** als weißer Feststoff (53 mg, 146 μmol, 20 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 135.4 °C

R_f 0.16 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.59 (s, 2H), 7.01 – 7.10 (m, 3H), 7.28 – 7.36 (m, 2H), 7.39 – 7.45 (m, 1H), 7.50 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.74 (d, 2H), 7.81 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.90 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 12.25 (s, 2H).

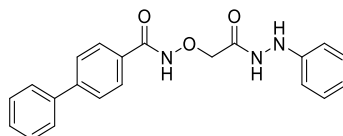
¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.4, 113.4, 123.0, 127.2, 127.4, 128.4, 128.7, 129.5, 129.9, 130.7, 139.4, 144.0, 159.7, 165.9, 168.4.

HPLC

t_R = 13.33 min (Methode 1) A.U.C = 96.0 %

N-(2-Oxo-2-(2-phenylhydrazinyl)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**150b**)



150b
C₂₁H₁₉N₃O₃
361.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **150b** konnte als weißer Feststoff (148 mg, 410 μmol, 74 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 179.1 °C

R_f 0.20 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

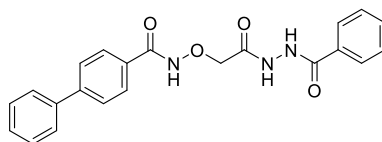
δ (ppm) = 4.57 (s, 2H), 6.65 – 6.77 (m, 3H), 7.06 – 7.15 (m, 2H), 7.36 – 7.46 (m, 1H), 7.46 – 7.56 (m, 2H), 7.72 – 7.79 (m, 2H), 7.82 (dt, *J* = 6.2, 2.4 Hz, 3H), 7.85 – 7.93 (m, 2H), 10.06 (s, 1H), 12.18 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.8, 112.2, 118.7, 126.7, 126.9, 127.8, 128.2, 128.7, 129.1, 130.2, 139.0, 143.4, 148.9, br s 164.8, 167.6.

HPLC *t_R* = 12.45 min (Methode 1) A.U.C = 98.9 %

N-(2-(2-Benzoylhydrazinyl)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**151**)



151
C₂₂H₁₉N₃O₄
389.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (3:7 → 0:10) konnte das Produkt **151** als weißer Feststoff (169 mg, 434 μmol, 59 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 195.3 °C

R_f 0.17 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

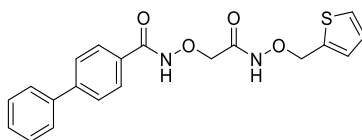
δ (ppm) = 4.61 (s, 2H), 7.38 – 7.46 (m, 1H), 7.46 – 7.55 (m, 4H), 7.56 – 7.63 (m, 1H), 7.74 (dt, *J* = 6.2, 1.4 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.85 – 7.97 (m, 4H), 10.30 (s, 1H), 10.46 (s, 1H), 12.19 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.5, 126.7, 126.8, 127.4, 127.8, 128.2, 128.4, 129.0, 130.1, 131.9, 132.3, 138.9, 143.4, 165.0, 165.4, 167.1.

HPLC *t_R* = 11.20 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-oxo-2-((thiophen-2-ylmethoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157a**)



157a
 $C_{20}H_{18}N_2O_4S$
 382.43 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 4:6) konnte das Produkt **157a** als weißer Feststoff (212 mg, 554 μ mol, 75 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 98.9 °C

R_f 0.27 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

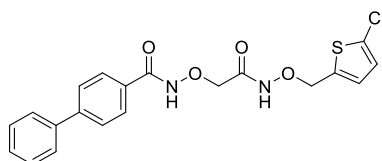
δ (ppm) = 4.41 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 6.99 (t, J = 4.2 Hz, 1H), 7.15 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.39 – 7.44 (m, 1H), 7.46 – 7.53 (m, 2H), 7.54 – 7.60 (m, 1H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.79 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 11.51 (s, 1H), 12.16 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 70.9, 73.2, 126.6, 126.8, 127.6, 127.8, 128.1, 128.7, 129.0, 130.3, 137.4, 139.0, 143.4, 164.8.

HPLC t_R = 12.43 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((5-Chlorthiophen-2-yl)methoxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157b**)



157b
 $C_{20}H_{17}ClN_2O_4S$
 416.88 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 4:6) konnte das Produkt **157b** als weißer Feststoff (238 mg, 571 μ mol, 78 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 169.8 °C

R_f 0.45 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

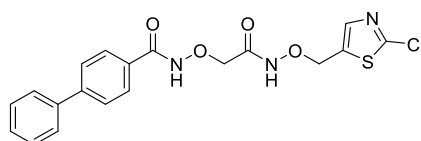
δ (ppm) = 4.41 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 6.97 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.03 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H), 7.42 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 11.54 (s, 1H), 12.15 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 70.9, 73.1, 126.5, 126.6, 126.8, 127.8, 128.1, 128.6, 129.0, 129.4, 130.2, 137.1, 139.0, 143.4, 164.9.

HPLC t_R = 13.73 min (Methode 1) A.U.C = 99.0 %

N-(2-(((2-Chlorthiazol-5-yl)methoxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157c**)



157c
C₁₉H₁₆ClN₃O₄S
417.86 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **157c** konnte als weißer Feststoff (243 mg, 582 μmol, 79 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 171.6 °C

R_f 0.23 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

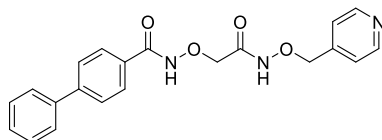
δ (ppm) = 4.41 (s, 2H), 5.06 (s, 2H), 7.37 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.54 (m, 2H), 7.68 – 7.76 (m, 3H), 7.78 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 11.85 (br s, 2H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 68.3, 73.0, 126.7, 126.9, 127.8, 128.2, 129.0, 130.2, 135.7, 139.0, 142.2, 143.4, 151.5, 165.0, 165.0.

HPLC t_R = 12.32 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-Oxo-2-((pyridin-4-ylmethoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157d**)



157d
C₂₁H₁₉N₃O₄
377.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch

Dichlormethan/Methanol (95:5 → 90:10) konnte das Produkt **157d** als weißer Feststoff (176 mg, 466 μmol, 63 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 171.4 °C

R_f 0.51 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

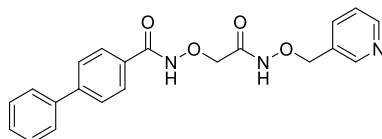
δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 7.35 – 7.46 (m, 3H), 7.50 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.84 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 8.54 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H), 11.64 (s, 1H), 12.15 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.1, 75.3, 122.6, 126.6, 126.8, 127.8, 128.1, 129.0, 130.2, 139.0, 143.4, 144.8, 149.6, br s 164.8, br s 165.0.

HPLC *t_R* = 8.57 min (Methode 1) A.U.C = 97.7 %

N-(2-Oxo-2-((pyridin-3-ylmethoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157e**)



157e
C₂₁H₁₉N₃O₄
377.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde aus Chloroform/Methanol umkristallisiert und das Produkt **157e** konnte als weißer Feststoff (118 mg, 313 μmol, 57 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 158.2 °C

R_f 0.15 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

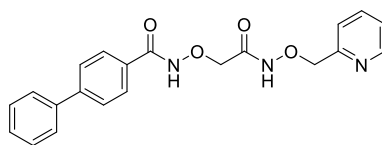
δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.91 (s, 2H), 7.34 – 7.46 (m, 2H), 7.46 – 7.56 (m, 2H), 7.66 – 7.88 (m, 7H), 8.54 (dd, *J* = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 8.62 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 11.57 (s, 1H), 12.06 (s, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.6, 75.0, 123.8, 127.0, 127.2, 128.2, 128.5, 129.4, 130.6, 131.8, 137.0, 139.4, 143.8, 149.9, 150.3, br s 165.1.

HPLC *t_R* = 8.47 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-Oxo-2-((pyridin-2-ylmethoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157f**)



157f
 $C_{21}H_{19}N_3O_4$
 377.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **157f** konnte als weißer Feststoff (174 mg, 461 μ mol, 63 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 152.8 °C

R_f 0.52 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

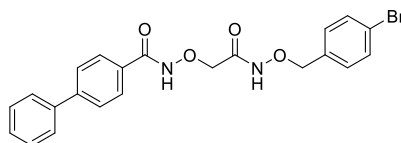
δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 7.34 (ddd, J = 7.6, 4.8, 1.2 Hz, 1H), 7.38 – 7.46 (m, 1H), 7.46 – 7.59 (m, 3H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.76 – 7.88 (m, 5H), 8.54 (ddd, J = 5.0, 1.8, 0.9 Hz, 1H), 11.64 (s, 1H), 12.06 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.6, 78.3, 123.0, 123.7, 127.1, 127.3, 128.3, 128.7, 129.5, 130.7, 137.2, 139.4, 143.8, 149.5, 156.1, 165.3, 165.5.

HPLC t_R = 8.77 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-Brombenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157g**)



157g
 $C_{22}H_{19}BrN_2O_4$
 455.31 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **157g** konnte als weißer Feststoff (202 mg, 444 μ mol, 60 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 217.2 °C

R_f 0.29 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

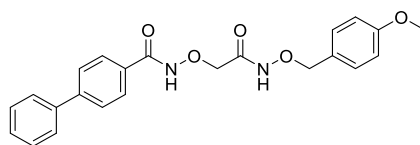
δ (ppm) = 4.38 (s, 2H), 4.84 (s, 2H), 7.33 – 7.39 (m, 2H), 7.39 – 7.45 (m, 1H), 7.47 – 7.55 (m, 4H), 7.71 – 7.75 (m, 2H), 7.79 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.82 – 7.87 (m, 2H), 11.49 (s, 1H), 12.14 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.1, 76.1, 121.6, 126.7, 126.9, 127.9, 128.2, 129.1, 130.2, 131.0, 131.2, 135.2, 139.0, 143.4, br s 164.7, 164.9.

HPLC t_R = 14.10 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-Methoxybenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157h**)



157h
C₂₃H₂₂N₂O₅
406.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **157h** konnte als weißer Feststoff (262 mg, 645 μ mol, 88 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 161.8 °C

R_f 0.22 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆)

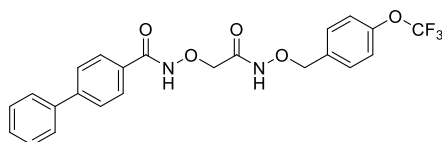
δ (ppm) = 3.72 (s, 3H), 4.40 (s, 2H), 4.79 (s, 2H), 6.88 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.29 – 7.37 (m, 2H), 7.38 – 7.46 (m, 1H), 7.50 (dd, *J* = 8.4, 6.9 Hz, 2H), 7.70 – 7.75 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 11.36 (s, 1H), 12.05 (s, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 55.4, 73.6, 77.0, 114.1, 127.0, 127.2, 128.1, 128.2, 128.5, 129.4, 130.6, 131.0, 139.4, 143.8, 159.8, br s 165.0.

HPLC t_R = 12.90 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-Oxo-2-(((4-(trifluormethoxy)benzyl)oxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157i**)



157i
C₂₃H₁₉F₃N₂O₅
460.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Rohprodukt wurde aus Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **157i** konnte als weißer Feststoff (544 mg, 1.18 mmol, 80 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 207.5 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.41 (s, 2H), 4.90 (s, 2H), 7.32 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.42 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.84 – 7.90 (m, 2H), 11.64 (br s, 1H), 11.95 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 73.0, 75.9, 120.0 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 256.4 Hz), 120.8, 126.7, 126.8, 127.8, 128.2, 129.0, 130.2, 130.7, 135.3, 139.0, 143.4, 148.2 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 1.8 Hz), 164.4, 164.7.

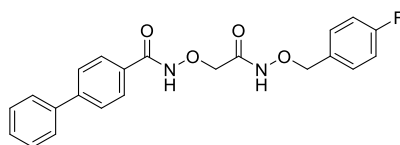
¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -56.8.

HPLC

*t*_R = 14.55 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-Fluorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157j**)



157j
C₂₂H₁₉FN₂O₄
394.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 1:1) konnte das Produkt **157j** als weißer Feststoff (264 mg, 669 μmol, 91 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 189.5 °C

R_f 0.24 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.84 (s, 2H), 7.09 – 7.21 (m, 2H), 7.37 – 7.56 (m, 5H), 7.69 – 7.76 (m, 2H), 7.76 – 7.90 (m, 4H), 11.48 (s, 1H), 12.13 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 73.1, 76.1, 115.1 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 21.3 Hz), 126.7, 126.9, 127.8, 128.2, 129.0, 130.2, 131.1 (d, ³*J*(¹³C, ¹⁹F) = 8.5 Hz), 132.0, 139.0, 143.4 (d, ⁴*J*(¹³C, ¹⁹F) = 3.0 Hz), 162.1 (d, ¹*J*(¹³C, ¹⁹F) = 244.2 Hz), br s 164.7.

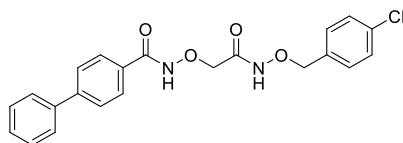
¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -113.8.

HPLC

*t*_R = 13.23 min (Methode 1) A.U.C = 98.9 %

N-(2-(((4-Chlorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157k**)



157k
 $C_{22}H_{19}ClN_2O_4$
 410.85 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Produkt **157k** konnte als weißer Feststoff (124 mg, 302 μ mol, 41 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 205.1 °C

R_f 0.23 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

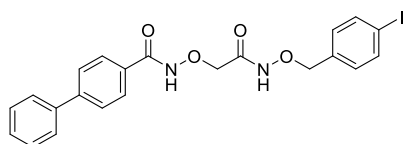
δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.85 (s, 2H), 7.34 – 7.46 (m, 5H), 7.46 – 7.54 (m, 2H), 7.69 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 11.50 (s, 1H), 12.13 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.6, 76.5, 127.2, 127.3, 128.3, 128.7, 128.8, 129.5, 130.6, 131.1, 133.4, 135.3, 139.5, 143.9, br s 165.2.

HPLC t_R = 14.12 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-Iodbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157l**)



157l
 $C_{22}H_{19}IN_2O_4$
 502.31 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Produkt **157l** wurde als weißer Feststoff (246 mg, 490 μ mol, 67 %) erhalten.

Schmelzpunkt 214.5 °C

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 7.21 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.41 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.50 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.73 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.79 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 11.47 (br s, 1H), 12.15 (br s, 1H).

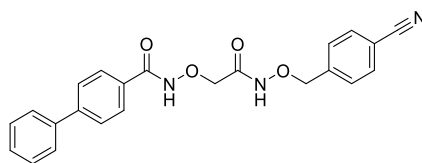
^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.1, 76.2, 94.7, 126.7, 126.9, 127.9, 128.2, 129.0, 130.2, 131.0, 135.5, 137.1, 139.0, 143.4, 164.7, 164.9.

HPLC

$t_R = 14.45$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-Cyanobenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157m**)



157m
 $C_{23}H_{19}N_3O_4$
 401.42 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 1:9) konnte das Produkt **157m** als weißer Feststoff (225 mg, 561 μ mol, 76 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 178.9 °C

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 7.42 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.50 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.61 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.68 – 7.76 (m, 2H), 7.76 – 7.89 (m, 6H), 11.58 (br s, 1H), 12.14 (br s, 1H).

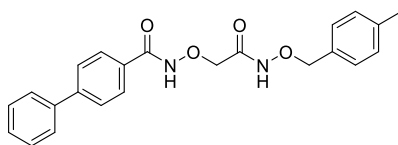
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.3, 76.0, 110.9, 118.7, 126.7, 126.9, 127.9, 128.2, 129.1, 129.2, 130.2, 132.2, 139.0, 141.6, 143.6, 164.9, 165.0.

HPLC

$t_R = 12.61$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-Methylbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157n**)



157n
 $C_{23}H_{22}N_2O_4$
 390.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **157n** konnte als weißer Feststoff (243 mg, 622 μ mol, 84 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 165.8 °C

R_f 0.27 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 2.27 (s, 3H), 4.39 (s, 2H), 4.80 (s, 2H), 7.13 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.23 – 7.33 (m, 2H), 7.36 – 7.46 (m, 1H), 7.45 – 7.56 (m, 2H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.79 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.86 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 11.43 (s, 1H), 12.11 (s, 1H).

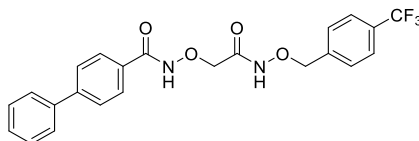
^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3)

δ (ppm) = 21.6, 75.9, 78.6, 127.6, 127.7, 128.2, 128.6, 129.2, 129.3, 129.6, 132.4, 138.8, 140.0, 145.9, 166.4, 168.0.

HPLC $t_R = 13.83$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

MS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}^+]$: 391.2; gefunden: 391.2.

N-(2-Oxo-2-(((4-(trifluormethyl)benzyl)oxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157o**)



157o
 $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$
 444.41 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung B**. Das Produkt **157o** konnte als weißer Feststoff (125 mg, 281 μmol , 78 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 224.4 °C

R_f 0.52 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 7.37 – 7.46 (m, 1H), 7.46 – 7.56 (m, 2H), 7.60 – 7.76 (m, 6H), 7.78 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 11.59 (br s, 1H), 12.10 (br s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

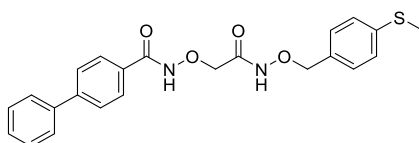
δ (ppm) = 72.8 – 73.3 (m), 76.0, 123.3, 125.0 – 125.2 (m), 126.7, 126.8, 127.8, 128.2, 128.7 (d, $^3J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = 31.3$ Hz), 129.0, 129.2, 130.0 – 130.3 (m), 139.0, 140.5 – 140.8 (m), 143.3 – 143.6 (m), 164.8.

^{19}F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -61.0.

HPLC $t_R = 14.55$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((4-(Methylthio)benzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157p**)



157p
 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$
 422.50 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (6:4 → 3:7) konnte das Produkt **157p** als weißer Feststoff (232 mg, 549 μmol, 75 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 185.9 °C

R_f 0.20 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

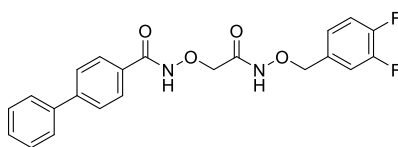
δ (ppm) = 2.43 (s, 3H), 4.38 (s, 2H), 4.81 (s, 2H), 7.19 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.34 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.36 – 7.48 (m, 1H), 7.44 – 7.56 (m, 2H), 7.68 – 7.79 (m, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 11.43 (s, 1H), 12.15 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 14.6, 73.2, 76.5, 125.7, 126.6, 126.8, 127.8, 128.1, 129.0, 129.6, 130.2, 132.2, 138.4, 139.0, 143.4, 164.7.

HPLC *t*_R = 13.63 min (Methode 1) A.U.C = 97.9 %

N-(2-(((3,4-Difluorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157q**)



157q
C₂₂H₁₈F₂N₂O₄
412.39 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert. **157q** konnte als weißer Feststoff (248 mg, 601 μmol, 82 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 189.3 °C

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 7.27 (ddt, *J* = 8.3, 4.0, 1.5 Hz, 1H), 7.33 – 7.46 (m, 2H), 7.46 – 7.57 (m, 3H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (dd, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.85 (dd, *J* = 8.4 Hz, 2H), 11.60 (s, 1H), 11.98 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 73.12, 75.56, 117.30 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 17.2 Hz), 117.69 (d, ²*J*(¹³C, ¹⁹F) = 17.5 Hz), 125.44 – 125.84 (m), 126.67, 126.86, 127.80, 128.18, 129.05, 130.13, 133.26 – 134.28 (m), 138.98, 143.22 – 143.59 (m), 147.65 – 148.87 (m), 149.25 – 150.60 (m), br s 164.79.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = -139.4 (d, J = 22.2 Hz), -138.8 (d, J = 22.2 Hz).

Elementaranalyse (%)

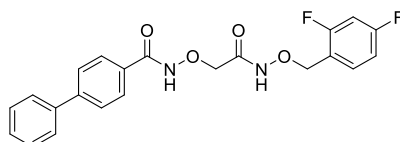
Berechnet für $C_{22}H_{18}F_2N_2O_4$: C 64.08, H 4.40, N 6.79, gefunden: C 63.84, H 4.17, N 6.65.

HPLC t_R = 13.52 min (Methode 1) A.U.C = >99 %.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{22}H_{19}F_2N_2O_4$ $[M+H^+]$: 413.1313; gefunden: 413.1302.

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 3210 (NH), 2984 (CH₂), 1672, 1645 (C=O) cm^{-1} .

N-(2-(((2,4-Difluorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157r**)



157r
 $C_{22}H_{18}F_2N_2O_4$
 412.39 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 1:1) konnte das Produkt **157r** als weißer Feststoff (287 mg, 696 μ mol, 94 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 145.9 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.38 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 7.02 (td, J = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 7.17 – 7.30 (m, 1H), 7.37 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.61 (m, 3H), 7.68 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.82 – 7.90 (m, 2H), 11.48 (s, 1H), 12.11 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆)

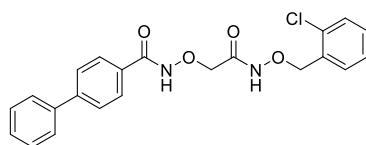
δ (ppm) = 69.9, 73.0, 103.9 (t, $^2J(^{13}C, ^{19}F)$ = 25.9 Hz), 111.4 (dd, $^{2,3}J(^{13}C, ^{19}F)$ = 21.5, 3.7 Hz), 119.2 (dd, $^{2,3}J(^{13}C, ^{19}F)$ = 12.1, 2.6 Hz), 126.7, 126.9, 127.8, 128.2, 129.0, 130.1, 133.3 (dd, $^{3,3}J(^{13}C, ^{19}F)$ = 9.5, 6.3 Hz), 139.0, 143.4, 161.1 (dd, $^{1,3}J(^{13}C, ^{19}F)$ = 249.8, 12.6 Hz), 162.5 (dd, $^{1,3}J(^{13}C, ^{19}F)$ = 235.2, 12.4 Hz), br s 164.8.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -109.2, -113.4.

HPLC t_R = 13.47 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((2-Chlorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157s**)



157s
 $C_{22}H_{19}ClN_2O_4$
 410.85 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **157s** konnte als weißer Feststoff (256 mg, 623 μ mol, 85 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 139.8 °C

R_f 0.39 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

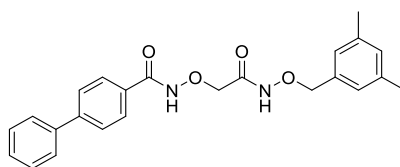
δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.99 (s, 2H), 7.27 – 7.36 (m, 1H), 7.36 – 7.58 (m, 6H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 11.62 (s, 1H), 12.03 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.5, 74.4, 127.1, 127.3, 127.7, 128.3, 128.7, 129.5, 129.8, 130.7, 131.6, 133.6, 133.8, 139.4, 143.8, br s 165.3.

HPLC t_R = 13.95 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((3,5-Dimethylbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157t**)



157t
 $C_{24}H_{24}N_2O_4$
 404.47 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus Essigsäureethylester/Acetonitril umkristallisiert und das Produkt **157t** konnte als weißer Feststoff (148 mg, 366 μ mol, 66 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 134.5 °C

R_f 0.24 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

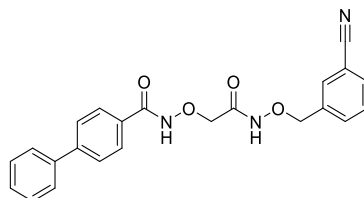
δ (ppm) = 2.24 (s, 6H), 4.40 (s, 2H), 4.78 (s, 2H), 6.96 (s, 1H), 7.00 (s, 2H), 7.37 – 7.46 (m, 1H), 7.47 – 7.57 (m, 2H), 7.73 (dt, J = 6.2, 1.4 Hz, 2H), 7.79 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.87 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 11.48 (s, 1H), 12.16 (s, 1H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 21.6, 74.2, 78.0, 127.4, 127.5, 127.7, 128.8, 129.0, 129.9, 130.5, 131.1, 136.4, 138.2, 139.9, 144.4, 165.5, 165.9.

HPLC t_R = 14.78 min (Methode 1) A.U.C = 95.6 %

N-(2-(((3-Cyanobenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157u**)



157u
C₂₃H₁₉N₃O₄
401.42 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 3:7) konnte das Produkt **157u** als weißer Feststoff (273 mg, 680 μ mol, 92 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 171.6 °C

R_f 0.18 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

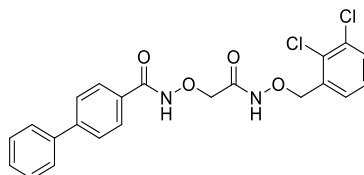
δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.93 (s, 2H), 7.37 – 7.45 (m, 1H), 7.50 (dd, J = 8.4, 7.0 Hz, 2H), 7.56 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.66 – 7.74 (m, 2H), 7.74 – 7.81 (m, 5H), 7.83 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.89 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 11.58 (br s, 1H), 12.14 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.7, 76.3, 111.8, 119.1, 127.2, 127.4, 128.3, 128.7, 129.5, 130.0, 130.6, 132.5, 133.8, 138.1, 139.4, 143.9, 144.0, 165.4.

HPLC t_R = 12.71 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((2,3-Dichlorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157v**)



157v
C₂₂H₁₈Cl₂N₂O₄
445.30 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan

umkristallisiert und das Produkt **157v** konnte als weißer Feststoff (208 mg, 467 μ mol, 63 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 170.1 °C

R_f 0.25 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

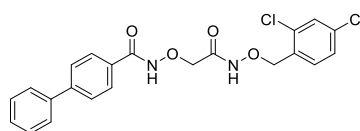
δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 5.02 (s, 2H), 7.33 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.38 – 7.46 (m, 1H), 7.46 – 7.56 (m, 3H), 7.62 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (dd, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.84 (dd, *J* = 8.5 Hz, 2H), 11.69 (br s, 1H), 11.99 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.5, 74.7, 100.0, 127.1, 127.3, 128.3, 128.6, 128.7, 129.5, 129.9, 130.7, 130.9, 131.5, 132.3, 136.5, 139.4, 143.8, 164.8, br s 165.3.

HPLC t_R = 14.87 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-(((2,4-Dichlorbenzyl)oxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157w**)



157w
C₂₂H₁₈Cl₂N₂O₄
445.30 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **157w** konnte als weißer Feststoff (234 mg, 525 μ mol, 71 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 194.1 °C

R_f 0.46 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

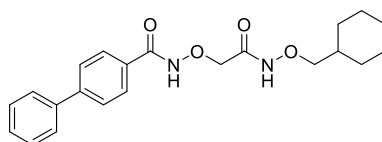
δ (ppm) = 4.39 (s, 2H), 4.96 (s, 2H), 7.35 (dd, *J* = 8.3, 2.1 Hz, 1H), 7.38 – 7.45 (m, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.55 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.70 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.81 – 7.87 (m, 2H), 11.73 (br s, 2H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.0, 73.1, 126.6, 126.8, 127.3, 127.8, 128.2, 128.8, 129.0, 130.1, 132.5, 132.5, 139.0, 139.3, 140.3, 143.4, 164.8.

HPLC t_R = 15.34 min (Methode 1) A.U.C = 98.2 %

N-(2-((Cyclohexylmethoxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157x**)



157x
 $C_{22}H_{26}N_2O_4$
 382.46 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (8:2 → 1:1) konnte das Produkt **157x** als weißer Feststoff (264 mg, 690 μmol, 94 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 115.6 °C

R_f 0.23 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

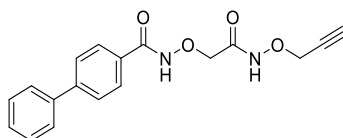
δ (ppm) = 0.88 – 0.99 (m, 2H), 1.06 – 1.25 (m, 3H), 1.56 – 1.69 (m, 4H), 1.69 – 1.77 (m, 2H), 3.62 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 4.39 (s, 2H), 7.39 – 7.46 (m, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.70 – 7.75 (m, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.87 (d, 2H), 11.37 (s, 1H), 12.14 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 25.6, 26.5, 29.6, 36.4, 73.7, 81.1, 127.2, 127.3, 128.3, 128.7, 129.5, 130.7, 139.4, 143.9, 164.8, br s 165.3.

HPLC t_R = 14.93 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-Oxo-2-((prop-2-yn-1-yloxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157y**)



157y
 $C_{18}H_{16}N_2O_4$
 324.34 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (6:4 → 3:7) konnte das Produkt **157y** als weißer Feststoff (181 mg, 558 μmol, 76 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 146.3 °C

R_f 0.37 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

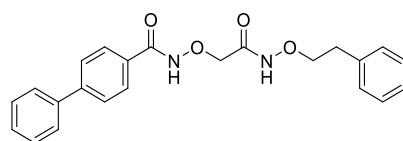
δ (ppm) = 3.60 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 4.42 (s, 2H), 4.53 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 7.38 – 7.45 (m, 1H), 7.46 – 7.53 (m, 2H), 7.69 – 7.75 (m, 2H), 7.78 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.83 – 7.91 (m, 2H), 11.67 (s, 1H), 12.16 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 63.2, 73.6, 79.1, 79.3, 127.2, 127.3, 128.4, 128.7, 129.5, 130.7, 139.4, 143.9, br s 165.4.

HPLC t_R = 11.03 min (Methode 1) A.U.C = 98.2 %

N-(2-Oxo-2-(phenethoxyamino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157z**)



157z
 $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$
 390.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und das Produkt **157z** konnte als weißer Feststoff (125 mg, 320 μmol , 43 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 160.4 °C

R_f 0.37 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

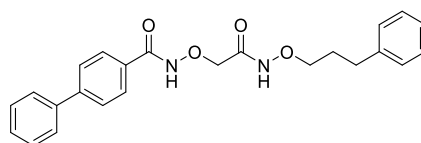
δ (ppm) = 2.90 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 4.04 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 4.42 (s, 2H), 7.20 (p, J = 4.0 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 4.5 Hz, 4H), 7.41 (dd, J = 8.3, 6.4 Hz, 1H), 7.49 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.66 – 7.76 (m, 2H), 7.78 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.88 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 11.49 (s, 1H), 12.17 (s, 1H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 33.8, 73.2, 75.8, 126.2, 126.7, 126.9, 127.8, 128.2, 128.3, 128.8, 129.0, 138.1, 138.9, 143.4, 164.6, 164.6.

HPLC t_R = 13.84 min (Methode 1) A.U.C = 97.9 %

N-(2-Oxo-2-((3-phenylpropoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157aa**)



157aa
 $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$
 404.47 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert

und das Produkt **157aa** konnte als weißer Feststoff (231 mg, 571 μ mol, 78 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 146.5 °C

R_f 0.29 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

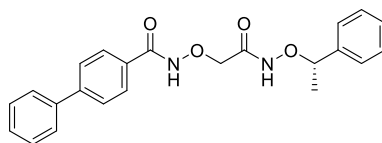
δ (ppm) = 1.78 – 1.91 (m, 2H), 2.68 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 3.83 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 4.41 (s, 2H), 7.15 – 7.19 (m, 1H), 7.20 – 7.24 (m, 2H), 7.27 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.39 – 7.47 (m, 1H), 7.51 (dd, *J* = 8.4, 7.0 Hz, 2H), 7.69 – 7.77 (m, 2H), 7.76 – 7.82 (m, 2H), 7.83 – 7.91 (m, 2H), 11.44 (s, 1H), 12.17 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 29.9, 31.8, 73.7, 75.1, 126.2, 127.2, 127.3, 128.3, 128.7, 128.7, 128.8, 129.5, 130.7, 139.4, 142.0, 143.9, 165.0, br s 165.4.

HPLC t_R = 14.42 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

(*S*)-*N*-(2-oxo-2-((1-phenylethoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157ab**)



157ab
C₂₃H₂₂N₂O₄
390.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 3:7) konnte das Produkt **157ab** als weißer Feststoff (224 mg, 574 μ mol, 78 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 112.6 °C

R_f 0.31 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

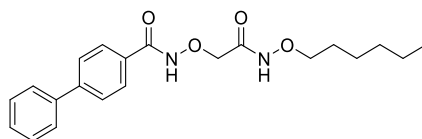
δ (ppm) = 1.45 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 4.35 (q, 2H), 4.99 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.38 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H), 7.40 – 7.44 (m, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 11.28 (s, 1H), 12.12 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 20.7, 73.2, 81.9, 126.6, 126.8, 127.8, 128.1, 128.2, 129.0, 130.2, 139.0, 141.2, 143.4, 164.7, 165.0.

HPLC t_R = 13.32 min (Methode 1) A.U.C = 98.3 %

N-(2-((Hexyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**157ac**)



157ac
C₂₁H₂₆N₂O₄
370.45 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Dichlormethan umkristallisiert und das Produkt **157ac** konnte als weißer Feststoff (202 mg, 545 µmol, 74 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 102.5 °C

R_f 0.31 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

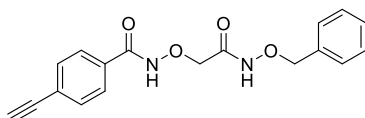
δ (ppm) = 0.80 – 0.91 (m, 3H), 1.20 – 1.46 (m, 6H), 1.61 – 1.74 (m, 2H), 3.95 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.57 (s, 2H), 7.33 – 7.52 (m, 3H), 7.55 – 7.64 (m, 2H), 7.63 – 7.70 (m, 2H), 7.82 – 7.92 (m, 2H), 9.88 (br s, 1H), 11.43 (br s, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 14.1, 22.7, 25.5, 28.1, 31.7, 75.8, 77.1, 127.4, 127.6, 128.0, 128.5, 129.0, 129.1, 139.8, 145.8, 166.2, 167.9.

HPLC *t_R* = 14.93 min (Methode 1) A.U.C = 97.3 %

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-4-ethynylbenzamid (**159a**)



159a
C₁₈H₁₆N₂O₄
324.34 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 6:4) sowie anschließender Umkristallisation aus *n*-Hexan/Chloroform konnte das Produkt **159a** als weißer Feststoff (248 mg, 765 µmol, 46 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 141.3 °C

R_f 0.27 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:9)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.37 (s, 2H), 4.40 (s, 1H), 4.84 (s, 2H), 7.30 – 7.38 (m, 3H), 7.39 (dd, J = 7.2, 2.4 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.72 – 7.79 (m, 2H), 11.43 (br s, 1H), 12.15 (br s, 1H).

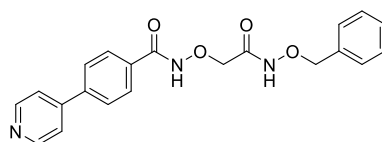
^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 72.9, 77.0, 82.7, 83.2, 125.0, 127.4, 128.3, 128.8, 131.5, 131.8, 135.7, 164.6, 164.6.

HPLC

t_R = 10.70 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-4-(pyridin-4-yl)benzamid (**159b**)



159b
 $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4$
 377.40 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung C**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (3:7 → 0:10) konnte das Produkt **159b** als weißer Feststoff (119 mg, 315 μmol , 33 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 173.5 °C

R_f 0.29 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 7.31 – 7.38 (m, 3H), 7.39 – 7.42 (m, 2H), 7.75 – 7.79 (m, 2H), 7.90 (dd, J = 8.5 Hz, 2H), 7.93 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 8.67 (dd, 2H), 11.48 (br s, 1H), 12.20 (br s, 1H).

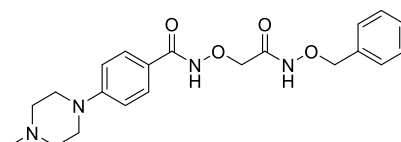
^{13}C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.5, 77.5, 121.8, 127.4, 128.5, 128.5, 128.8, 129.3, 132.4, 136.2, 140.7, 146.3, 150.8, br s 165.1.

HPLC

t_R = 6.72 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-4-(4-methylpiperazin-1-yl)benzamid (**159c**)



159c
 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$
 398.46 g/mol

Die Darstellung von *N*-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-4-(4-methylpiperazin-1-yl)benzamid (**159c**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode C** für 6 h bei 60 °C und weiteren 16 h bei Raumtemperatur. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 20.0 mL Essigsäureethylester aufgenommen, dreimal mit jeweils 20.0 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit 20.0 mL 10%iger Zitronensäure-Lösung und einmal mit 10.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (9:1 → 7:3) gereinigt. Die Produktfraktion wurde anschließend zweimal mittels Umkehrphasenchromatographie an C-18 Säulenmaterial mit dem Laufmittelgemisch Wasser/Acetonitril (9:1 → 8:2) gereinigt. Das Produkt **159c** konnte als weißer Feststoff (55.0 mg, 138 µmol, 8 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 158.9 °C (Zersetzung)

R_f 0.39 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

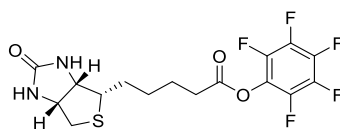
δ (ppm) = 2.27 (q, *J* = 5.5, 4.0 Hz, 3H), 2.48 (q, *J* = 4.9 Hz, 4H), 3.23 (q, *J* = 4.9 Hz, 4H), 4.38 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H), 4.87 (d, *J* = 4.1 Hz, 2H), 6.64 – 6.90 (m, 2H), 7.22 (q, *J* = 5.2 Hz, 4H), 7.29 – 7.42 (m, 2H), 7.56 (td, *J* = 5.3, 2.5 Hz, 2H), 11.50 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 46.2, 47.5, 54.9, 76.0, 78.4, 114.1, 128.6, 128.7, 129.1, 129.2, 135.4, 145.2, 154.2, 166.3, 168.8.

HPLC *t_R* = 6.67 min (Methode 1) A.U.C = 98.4 %

Perfluorphenyl 5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-Oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanoat (**163**)



163

C₁₆H₁₅F₅N₂O₃S
410.36 g/mol

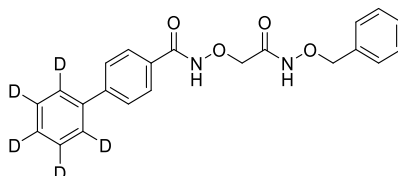
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B**. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Kieselgel absorbiert nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (7:3 → 6:4) konnte das Produkt **163** als weißer Feststoff (513 mg, 1.25 mmol, 62 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[504]

Schmelzpunkt 187.6 °C (Lit.: 188-189 °C)^[504]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.36 – 1.75 (m, 6H), 2.59 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 2.79 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.84 (dd, *J* = 12.4, 5.1 Hz, 1H), 3.12 (ddd, *J* = 8.5, 6.2, 4.4 Hz, 1H), 4.15 (ddd, *J* = 7.7, 4.5, 1.9 Hz, 1H), 4.28 – 4.35 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.44 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H).

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-2',3',4',5',6'-*d*₅-4-carboxamid (**176**)



176
C₂₂H₁₅D₅N₂O₄
381.44 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode B** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (6:4 → 4:6) konnte das Produkt **176** als weißer Feststoff (412 mg, 1.08 mmol, 66 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 158.5 °C

R_f 0.23 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.40 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 7.30 – 7.39 (m, 3H), 7.38 – 7.46 (m, 2H), 7.79 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.86 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 11.50 (s, 1H), 12.15 (s, 1H).

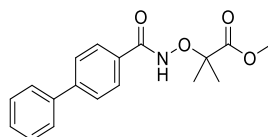
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.1, 77.0, 126.6, 127.9, 128.3, 128.8, 130.2, 135.7, 138.8, 143.4, 164.7, 164.9.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₂H₁₆D₅N₂O₄ [M+H⁺]: 382.1815; gefunden: 382.1817.

HPLC *t_R* = 13.14 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

Methyl 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-methylpropanoat (**181**)



181
C₁₈H₁₉NO₄
313.35 g/mol

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 10** nach **Methode A** mit anschließender **Aufarbeitung A**. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch

n-Hexan/Essigsäureethylester (10:0 → 9:1) konnte das Produkt **181** als weißer Feststoff (1.93 g, 6.16 mmol, 81 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 178.4 °C

R_f 0.14 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

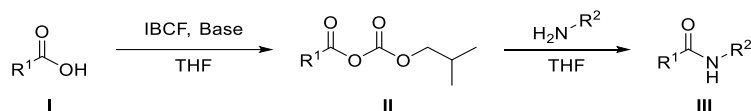
δ (ppm) = 1.46 (s, 6H), 3.70 (s, 3H), 7.36 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.54 (m, 2H), 7.64 – 7.76 (m, 2H), 7.79 (q, *J* = 8.5 Hz, 4H), 11.22 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 22.8, 52.2, 83.2, 126.6, 126.8, 128.1, 129.0, 131.1, 139.1, 143.2, 166.4, 172.4.

HPLC *t_R* = 12.82 min (Methode 1) A.U.C = 95.9 %

6.2.11 ASV. 11: Aktivierung von Carbonsäuren durch IBCF



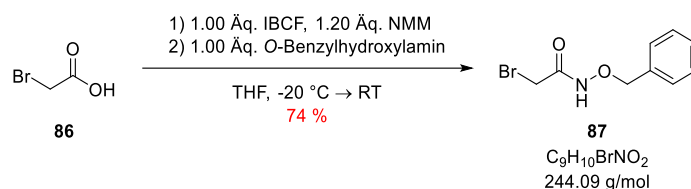
Die Aktivierung von Carbonsäuren durch IBCF wurde in Anlehnung an die Vorschrift von KATOH *et al.* durchgeführt.^[505]

In absolutem Tetrahydrofuran wurde die entsprechende Carbonsäure **I** (1.00 Äq.) gelöst und der Reaktionsansatz mit einem Aceton-Kältebad auf ca. -20 °C abgekühlt. Zu der Lösung wurde *N*-Methylmorpholin und Chlorameisensäureisobutylester hinzugegeben und die Suspension für 30 min bei -20 °C gerührt. Anschließend wurde das entsprechende Amin bzw. Hydroxylamin hinzugegeben, der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wurde mittels Vakuumfiltration abfiltriert, der Filterkuchen mit etwas Tetrahydrofuran gewaschen und das Lösungsmittelvolumen des Filtrats unter vermindertem Druck reduziert. Der viskose Rückstand wurde mit (5.00 mL/mmol) Essigsäureethylester verdünnt, dreimal mit jeweils (5.00 mL/mmol) gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, einmal mit (5.00 mL/mmol) einer 10%igen Zitronensäure-Lösung und einmal mit (5.00 mL/mmol) gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 39: Experimentelle Übersicht zur Aktivierung von Carbonsäuren durch IBCF.

Carbonsäure	Nukleophil	IBCF	NMM	THF	Ausbeute
86 10.0 g	107 8.86 g	9.83 g	8.74 g	200 mL	87 13.2 g (75 %)

72.0 mmol	72.0 mmol	72.0 mmol	86.4 mmol		54.1 mmol
90	107				91
0.50 g	0.32 g	0.36 g	0.32 g	20.0 mL	0.51 g (66 %)
2.62 mmol	2.62 mmol	2.62 mmol	3.14 mmol		1.72 mmol
114	107				118
6.00 g	3.91 g	4.33 g	3.85 g	200 mL	8.89 g (95 %)
31.7 mmol	31.7 mmol	31.7 mmol	38.1 mmol		30.2 mmol
86	4-Fluoranilin				146
709 mg	567 mg	766 mg	567 mg	50.0 mL	0.84 g (72 %)
5.10 mmol	5.10 mmol	5.61 mmol	5.61 mmol		3.62 mmol

***N*-(Benzyloxy)-2-bromacetamid (**87**)**


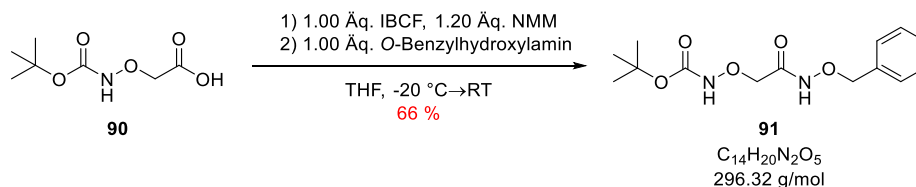
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 11**. Das Produkt **87** konnte als weißer Feststoff (13.2 g, 54.1 mmol, 75 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[506]

Schmelzpunkt 97.6 °C (Lit.: 98-99 °C)^[506]

R_f 0.22 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:4)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.86 (d, *J* = 127.3 Hz, 2H), 4.82 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 7.07 – 7.74 (m, 5H), 11.49 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H).

***tert*-Butyl (2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)carbammat (**91**)**


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 11**. Das Produkt **91** konnte als klare Flüssigkeit (0.51 g, 1.72 mmol, 66 %) erhalten werden.

R_f 0.59 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

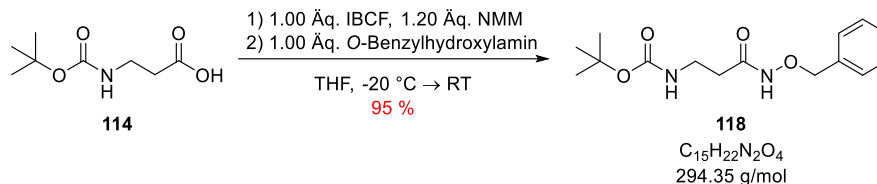
δ (ppm) = 1.40 (s, 9H), 4.15 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 7.39 (tq, *J* = 5.9, 3.2, 2.6 Hz, 5H), 10.21 (br s, 1H), 11.22 (br s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 27.9, 73.2, 77.1, 80.4, 128.3, 128.8, 135.7, 156.6, 164.8.

HPLC t_R = 11.00 min (Methode 1) A.U.C = 96.0 %

***tert*-Butyl (3-((Benzyloxy)amino)-3-oxopropyl)carbamate (**118**)**



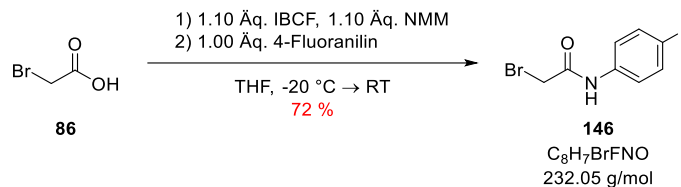
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 11**. Das Produkt **118** konnte als weißer Feststoff (8.89 g, 30.2 mmol, 95 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[505]

Schmelzpunkt 102.8 °C (Lit.: 103-104 °C)^[505]

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 1.37 (s, 9H), 2.11 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.98 – 3.23 (m, 2H), 4.77 (s, 2H), 6.79 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 7.34 – 7.41 (m, 5H), 11.00 (s, 1H).

2-Brom-*N*-(4-fluorphenyl)acetamid (146**)**



Die Darstellung von 2-Brom-*N*-(4-fluorphenyl)acetamid (**146**) wurde von BEATE LUNGERICH durchgeführt.

Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 11**. Das Produkt **146** konnte als weißer Feststoff (0.84 g, 3.62 mmol, 72 %) erhalten werden.

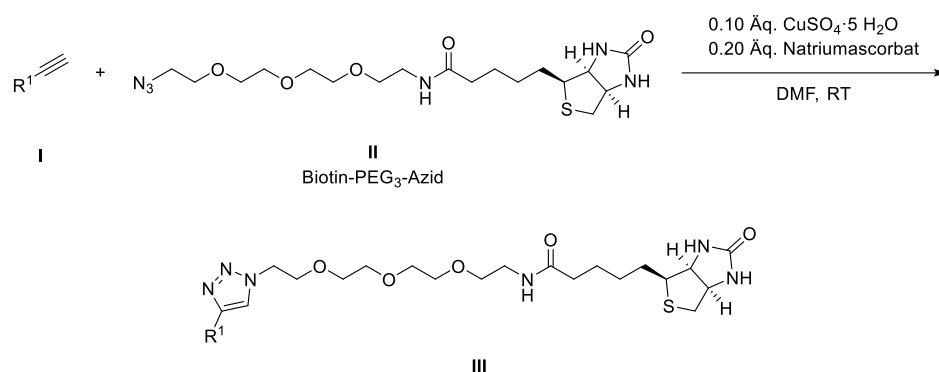
Schmelzpunkt 112.4 °C

R_f 0.30 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 6:4)

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 4.13 (d, J = 65.3 Hz, 2H), 7.03 – 7.28 (m, 2H), 7.52 – 7.70 (m, 2H), 10.38 (d, J = 26.8 Hz, 1H).

6.2.12 ASV. 12: Kupfer-katalysierte Azid-Alkin 1,3-dipolare Cycloaddition



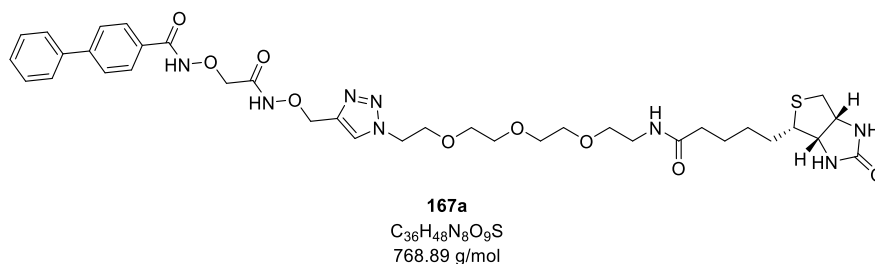
Die Darstellung der Biotin-PEG₃-KSK104-Analoga wurde in Anlehnung an die Vorschrift von HAMILL *et al.* durchgeführt.^[474]

In einem Mikroreaktionsgefäß wurde das entsprechende Alkin I (1.00 Äq.) und Biotin-PEG₃-Azid II (1.00 Äq.) in *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Zu der Lösung wurde die 0.2 M Kupfersulfat-Lösung und 0.2 M Natriumascorbat-Lösung hinzugegeben und das Reaktionsgefäß mit Argon geflutet. Der Reaktionsansatz wurde intensiv durchmischt und für 24 h bei Raumtemperatur auf einem Kreisschüttler inkubiert. Anschließend wurde das Reaktionsmedium durch die Zugabe von 600 µL Dichlormethan verdünnt, dreimal mit jeweils 430 µL einer 0.3 M Ethylendiamintetraessigsäure Dinatriumsalz-Lösung mit einem pH-Wert von 8 und einmal mit 430 µL einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Tabelle 40: Experimentelle Übersicht zur CuAAC von KSK104-Analoga mit Biotin-PEG₃-Azid.

Edukt	Biotin-PEG ₃ -Azid	CuSO ₄ 0.2 M	Natriumascorbat 0.2 M	DMF	Ergebnis
113d 2.94 mg 9.06 µmol	4.03 mg 9.07 µmol	4.50 µL	9.10 µL	260 µL	167a
157x 2.49 mg 6.01 µmol	2.67 mg 6.01 µmol	3.00 µL	6.00 µL	172 µL	167b
159a 2.35 mg 7.25 µmol	3.22 mg 7.24 µmol	3.60 µL	7.30 µL	208 µL	167c

N-(2-Oxo-2-(((1-(13-oxo-17-((3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)-3,6,9-trioxa-12-azaheptadecyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)amino)ethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**167a**)

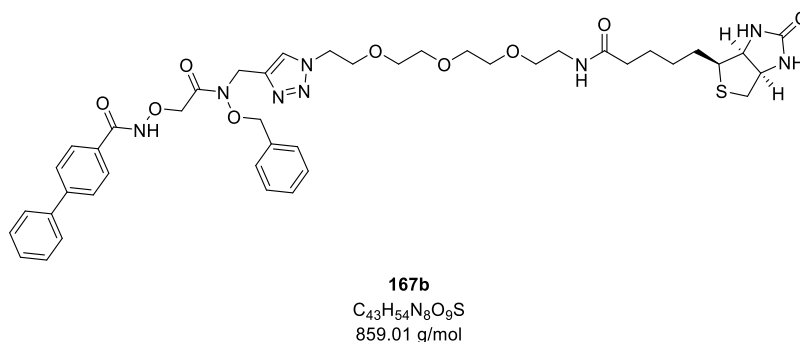


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 12**. Das Produkt **167a** konnte als farbloses Öl erhalten werden.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₃₆H₄₉N₈O₉S [M+H⁺]: 769.3343; gefunden: 769.3342.

HPLC t_R = 9.01 min (Methode 1) A.U.C = 91.6 %

N-(2-((Benzyloxy)((1-(13-oxo-17-((3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)-3,6,9-trioxa-12-azaheptadecyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amino)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**167b**)

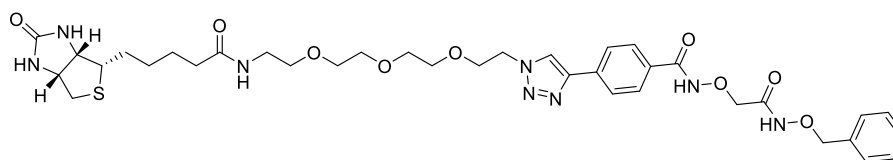


Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 12**. Das Produkt **167b** konnte als farbloses Öl erhalten werden.

HRMS (ESI): *m/z* berechnet für C₄₃H₅₅N₈O₉S [M+H⁺]: 859.3813; gefunden: 859.3809.

HPLC t_R = 13.51 min (Methode 1) A.U.C = 97.1 %

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-4-(1-(13-oxo-17-((3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)-3,6,9-trioxa-12-azaheptadecyl)-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)benzamid (**167c**)



167c
 $C_{36}H_{49}N_8O_9S$
 768.89 g/mol

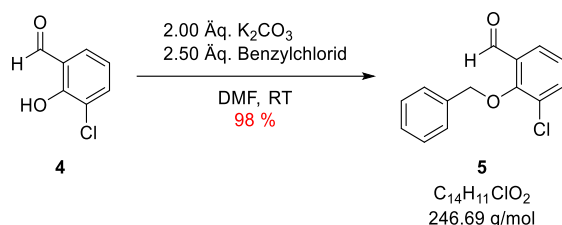
Die Synthese erfolgte gemäß der **ASV. 12**. Das Produkt **167c** konnte als farbloses Öl erhalten werden.

HRMS (ESI): m/z berechnet für $C_{36}H_{49}N_8O_9S$ $[M+H^+]$: 769.3343; gefunden: 769.3343.

HPLC t_R = 8.41 min (Methode 1) A.U.C = 94.5%

6.3 Synthesevorschriften: Chlorflavonin und Chlorflavonin-Analoga

2-(Benzyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**5**)



Die Darstellung von 2-(Benzyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**5**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von TÖKÉS *et al.* durchgeführt.^[282]

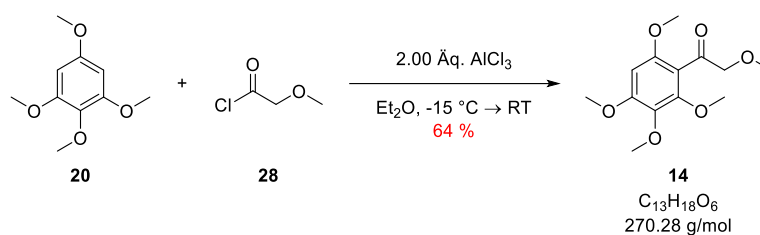
In 10.0 mL *N,N*-Dimethylformamid wurde Kaliumcarbonat (1.88 g, 13.6 mmol, 2.00 Äq.), 3-Chlor-2-hydroxybenzaldehyd (**4**) (1.07 g, 6.81 mmol, 1.00 Äq.) und Benzylchlorid (2.16 g, 17.0 mmol, 2.50 Äq.) vorgelegt. Die Suspension wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt, mit 50.0 mL Essigsäureethylester verdünnt und viermal mit jeweils 50.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) gereinigt. 2-(Benzyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**5**) konnte als weißer Feststoff (1.64 g, 6.65 mmol, 98 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[282]

Schmelzpunkt 41.2 °C (Lit. 40 °C)^[282]

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 5.16 (s, 2H), 7.20 (td, J = 7.8, 0.9 Hz, 1H), 7.35 – 7.48 (m, 6H), 7.71 (ddd, J = 14.8, 7.9, 1.7 Hz, 2H), 10.13 (d, J = 0.8 Hz, 1H).

2-Methoxy-1-(2,3,4,6-tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**14**)



Die Darstellung von 2-Methoxy-1-(2,3,4,6-tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**14**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von ASKAWA *et al.* durchgeführt.^[333]

Unter Argonatmosphäre wurde 1,2,3,5-Tetramethoxybenzen (**20**) (1.00 g, 5.04 mmol, 1.00 Äq.) und Aluminiumtrichlorid (1.37 g, 10.1 mmol, 2.00 Äq.) in 30.0 mL absolutem Diethylether vorgelegt. Die Suspension wurde mit einem Aceton-Kältebad auf ca. -20 °C abgekühlt und 2-Methoxyacetylchlorid (0.66 g, 6.05 mmol, 1.20 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 24 h gerührt. Durch die Zugabe von 50 g Eis und 50.0 mL 1 M Salzsäure-Lösung wurde die Reaktion beendet. Die wässrige Phase wurde viermal mit jeweils 80.0 mL Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kiesel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (10:0 → 9:1) gereinigt. 2-Methoxy-1-(2,3,4,6-tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**14**) konnte als brauner Feststoff (0.87 g, 3.23 mmol, 64 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 90.1 °C

R_f 0.21 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

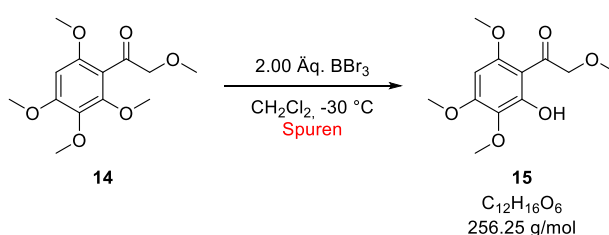
δ (ppm) = 3.42 (s, 3H), 3.75 (d, *J* = 3.3 Hz, 6H), 3.85 (d, *J* = 1.3 Hz, 6H), 4.31 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H), 6.22 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.4, 59.4, 61.2, 62.2, 78.9, 92.7, 115.5, 136.5, 151.9, 153.4, 155.7, 200.6.

HPLC *t_R* = 9.33 min (Methode 1) A.U.C = 96.8 %

1-(2-Hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)-2-methoxyethan-1-on (**15**)



In 5.00 mL absolutem Dichlormethan wurde 2-Methoxy-1-(2,3,4,6-tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**14**) (50.0 mg, 168 μ mol, 1.00 Äq.) vorgelegt und der Reaktionsansatz mit einem Aceton-Kältebad auf 30 °C abgekühlt. Mit einem Zeitabstand von 30 min wurde zweimal Bortribromid (161 μ L, 168 μ mol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde für 4 h bei -30 °C gerührt, die Reaktion durch die Zugabe von 5.00 mL einer 6 M Salzsäure-Lösung beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit jeweils 5.00 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit jeweils 5.00 mL 2 M Lithiumhydroxid-Lösung gewaschen. Der pH-Wert der gesammelten wässrigen Phase wurde mit 6 M Salzsäure-Lösung auf 7 gestellt und dreimal mit jeweils 5.00 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. 1-(2-Hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)-2-methoxyethan-1-on (**15**) konnte als hellgelber Feststoff in Spuren in verunreinigter Form erhalten werden.

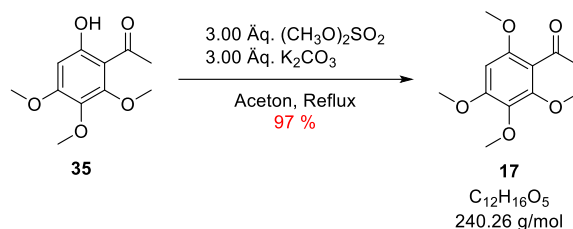
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.50 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 4.59 (s, 2H), 5.96 (s, 1H), 13.49 (s, 1H).

HPLC

t_R = 8.82 min (Methode 1) A.U.C = 79.8 %

1-(2,3,4,6-Tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**17**)



Die Darstellung von 1-(2,3,4,6-Tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**17**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von RIZZI durchgeführt.^[333]

Eine Suspension von 1-(6-Hydroxy-2,3,4-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**35**) (1.90 g, 8.40 mmol, 1.00 Äq.), Dimethylsulfat (2.38 mL, 25.2 mmol, 3.00 Äq.) und Kaliumcarbonat (3.48 g, 25.2 mmol, 3.00 Äq.) in 50.0 mL Aceton wurde für 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50.0 mL 1 M Natriumhydroxid-Lösung gelöst und für 15 min gerührt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit jeweils 50.0 mL Diethylether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Im Anschluss erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 \rightarrow 8:2). 1-(2,3,4,6-

Tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**17**) konnte als farbloses Öl (1.95 g, 8.12 mmol, 97 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[333]

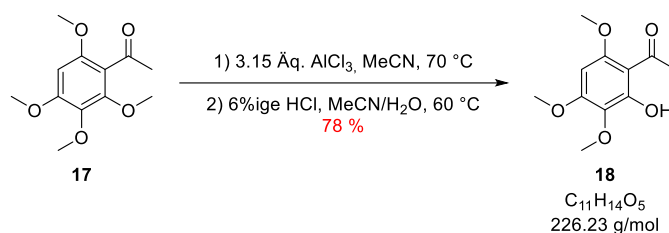
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 2.46 (s, 3H), 3.79 (d, *J* = 2.6 Hz, 6H), 3.88 (s, 6H), 6.25 (s, 1H).

HPLC

t_R = 10.48 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

1-(2-Hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**18**)



Die Darstellung von 1-(2-Hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**18**) wurde nach einer Vorschrift von TSUKAYAMA *et al.* durchgeführt.^[303]

1-(2,3,4,6-Tetramethoxyphenyl)ethan-1-on (**17**) (1.80 g, 7.49 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 15.0 mL absolutem Acetonitril gelöst und mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Zu der Lösung wurde wasserfreies Aluminiumtrichlorid (3.15 g, 23.6 mmol, 3.15 Äq.) hinzugegeben, der Reaktionsansatz auf 70 °C erwärmt und für 1 h gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 50.0 mL 6%iger Salzsäure-Lösung beendet und für 30 min bei 60 °C gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abfiltriert und mit dest. Wasser gewaschen. Die Mutterlauge wurde viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Im Anschluss erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 7:3). 1-(2-Hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**18**) konnte als gelber Feststoff (1.32 g, 5.83 mmol, 78 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[303]

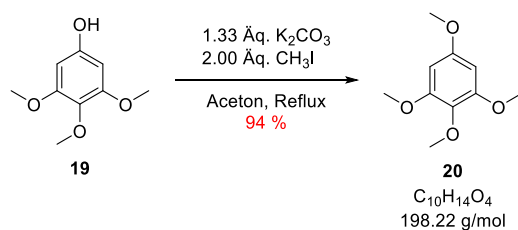
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 2.61 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 5.96 (s, 1H), 13.79 (s, 1H).

HPLC

t_R = 10.68 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

1,2,3,5-Tetramethoxybenzen (**20**)



Die Darstellung von 1,2,3,5-Tetramethoxybenzen (**20**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von BAI *et al.* durchgeführt.^[507]

In 75.0 mL Aceton wurden Antiarol (**19**) (3.00 g, 16.3 mmol, 1.00 Äq.) und wasserfreies Kaliumcarbonat (3.00 g, 21.7 mmol, 1.33 Äq.) vorgelegt. Zur Suspension wurde Iodmethan (4.62 g, 32.6 mmol, 2.00 Äq.) hinzugegeben und der Reaktionsansatz für 6 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 100 mL dest. Wasser aufgenommen und die wässrige Phase viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. Nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kiesel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (95:5 → 9:1) konnte 1,2,3,5-Tetramethoxybenzen (**20**) als farbloses Öl (3.02 g, 15.2 mmol, 94 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[507]

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.78 (d, $J = 0.7$ Hz, 6H), 3.84 (s, 6H), 6.15 (s, 2H).

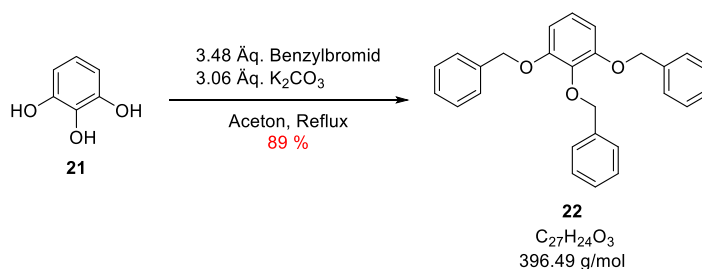
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 55.7, 56.4, 61.2, 92.3, 132.9, 154.0, 156.5.

HPLC

$t_R = 9.60$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

((Benzen-1,2,3-triyltris(oxy))tris(methylen))tribenzen (22**)**



Die Darstellung von ((Benzen-1,2,3-triyltris(oxy))tris(methylen))tribenzen (**22**) wurde nach einer Vorschrift von TISDALE *et al.* durchgeführt.^[311]

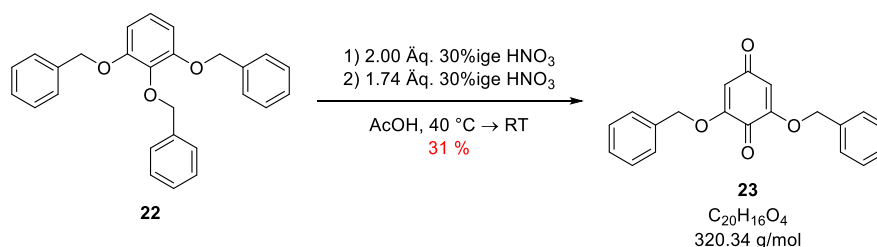
In 500 mL Aceton wurde 1,2,3-Trihydroxybenzen (**21**) (34.1 g, 270 mmol, 1.00 Äq.), Kaliumcarbonat (114 g, 830 mmol, 3.06 Äq.) und Benzylbromid (161 g, 940 mmol, 3.49 Äq.) für 16 h unter Rückfluss gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Niederschlag abgesaugt und mit Aceton gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt, der viskose Rückstand in 800 mL Methanol/Ethanol (4:1 v/v) gelöst und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abgesaugt und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt, der viskose Rückstand in 200 mL Methanol/Ethanol (4:1 v/v) gelöst und für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abgesaugt und mit Methanol gewaschen. ((Benzen-1,2,3-triyltris(oxy))tris(methylen))tribenzen (**22**) konnte als weißer Feststoff (95.0 g, 240 mmol, 89 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[311]

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 5.09 (s, 2H), 5.13 (s, 4H), 6.66 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.94 (dd, $J = 8.7, 7.9$ Hz, 1H), 7.26 – 7.50 (m, 15H).

HPLC $t_R = 18.82$ min (Methode 1) A.U.C = 97.2 %

2,6-Bis(benzyloxy)cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion (**23**)



Die Darstellung von 2,6-Bis(benzyloxy)cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion (**23**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von TISDALE *et al.* durchgeführt.^[311]

Zu einer Lösung von ((Benzen-1,2,3-triyltris(oxy))tris(methylen))tribenzen (**22**) (58.7 g, 148 mmol, 1.00 Äq.) in 400 mL Essigsäure wurde unter Rühren bei 40 °C langsam 30%ige Salpetersäure (46.0 mL, 296 mmol, 2.00 Äq.) hinzuge tropft. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit *n*-Hexan gewaschen. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingeeengt und der viskose Rückstand mit 100 mL Essigsäure verdünnt. Zu dieser Lösung wurde unter Rühren bei 40 °C langsam 30%ige Salpetersäure (40.0 mL, 258 mmol, 1.74 Äq.) hinzuge tropft und der Ansatz für 16 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mit *n*-Hexan gewaschen. Beide Niederschläge wurden vereint säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Diethylether (10:0 → 4:1) gereinigt.

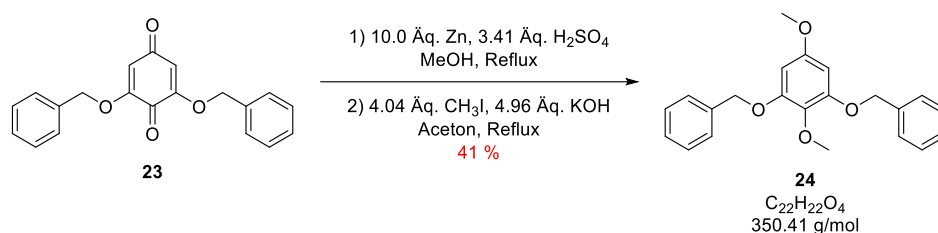
Bis(benzyloxy)cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion (**23**) konnte als gelber Feststoff (14.9 g, 46.6 mmol, 31 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[311]

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 5.03 (s, 4H), 5.87 (s, 2H), 7.33 – 7.41 (m, 10H).

HPLC t_R = 14.29 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

(((2,5-Dimethoxy-1,3-phenylen)bis(oxy))bis(methylen))dibenzen (24**)**



Die Darstellung von (((2,5-Dimethoxy-1,3-phenylen)bis(oxy))bis(methylen))dibenzen (**24**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von TISDALE *et al.* durchgeführt.^[311]

In einem Zweihalskolben wurde in 480 mL Methanol 2,6-Bis(benzyloxy)cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion (**21**) (14.8 g, 42.5 mmol, 1.00 Äq.) und Zinkpulver (30.2 g, 425 mmol, 10.0 Äq.) vorgelegt. Die Lösung wurde zum Rückfluss erhitzt und über einen Tropftrichter 25%ige Schwefelsäure (32.2 mL, 145 mmol, 3.41 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension über *Celite*[®] abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das Filtrat wurde mit 250 mL dest. Wasser verdünnt und die wässrige Phase viermal mit jeweils 200 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt (14.8 g, 42.5 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 300 mL Aceton gelöst und mit Kaliumhydroxid (11.8 g, 211 mmol, 4.96 Äq.) und Iodmethan (24.4 g, 172 mmol, 4.04 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension mit 400 mL dest. Wasser verdünnt und die wässrige Phase viermal mit jeweils 200 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel Dichlormethan gereinigt. (((2,5-Dimethoxy-1,3-phenylen)bis(oxy))bis(methylen))dibenzen (**24**) konnte als weißer Feststoff (6.14 g, 17.5 mmol, 41 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[311]

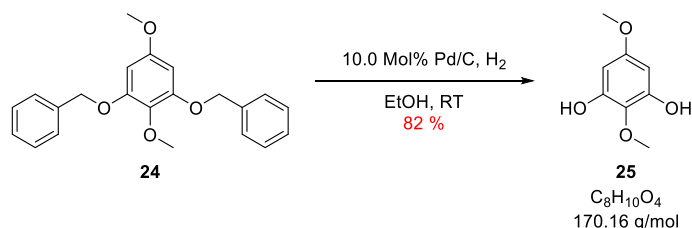
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.70 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 5.14 (s, 4H), 6.23 (s, 2H), 7.28 – 7.45 (m, 6H), 7.45 – 7.52 (m, 4H).

HPLC

t_R = 16.56 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diol (25**)**



Die Darstellung von 2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diol (**25**) wurde nach einer Vorschrift von TISDALE *et al.* durchgeführt.^[311]

In 175 mL Ethanol wurden (((2,5-Dimethoxy-1,3-phenylene)bis(oxy))bis(methylen))diphenyl (**24**) (6.10 g, 17.4 mmol, 1.00 Äq.) und Palladium auf Aktivkohle (10 Gew.-%, 185 mg, 1.74 mmol, 0.10 Äq.) vorgelegt. Die Hydrierapparatur und der Reaktionskolben wurden evakuiert und anschließend mit Wasserstoff geflutet. Dieser Prozess wurde dreimal wiederholt. Unter Wasserstoffatmosphäre wurde der Reaktionsansatz für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde über *Celite*[®] abfiltriert, mit Ethanol gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (4:1 → 7:3) gereinigt. 2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diol (**25**) konnte als weißer Feststoff (2.44 g, 14.3 mmol, 82 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[311]

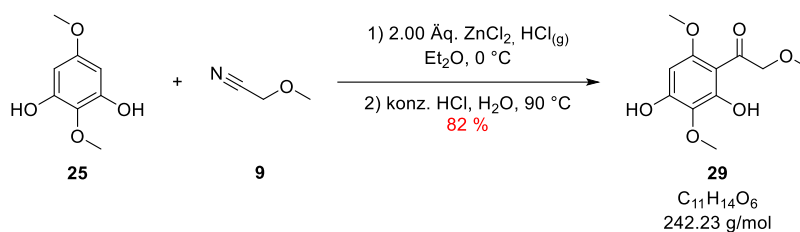
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.72 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 5.49 (br s, 2H), 6.11 (s, 2H).

HPLC

t_R = 5.16 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

1-(2,4-Dihydroxy-3,6-dimethoxyphenyl)-2-methoxyethan-1-on (29**)**



Die Darstellung von 1-(2,4-Dihydroxy-3,6-dimethoxyphenyl)-2-methoxyethan-1-on (**29**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von LÖWE *et al.* durchgeführt.^[315]

In 40.0 mL absolutem Diethylether wurde 2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diol (**25**) (2.80 g, 16.5 mmol, 1.00 Äq.), 2-Methoxyacetonitril (1.81 g, 25.2 mmol, 1.55 Äq.) und Zinkchlorid (4.49 g, 32.9 mmol, 2.00 Äq.) vorgelegt. Die Suspension wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und mit trockener Salzsäure gesättigt. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und in 50.0 mL dest. Wasser gelöst. Die wässrige Lösung wurde für 5 h bei 90 °C gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt abgesaugt und über Nacht unter Hochvakuum getrocknet. 1-(2,4-Dihydroxy-3,6-dimethoxyphenyl)-2-methoxyethan-1-on (**29**) konnte als beiger Feststoff (3.26 g, 13.5 mmol, 82 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 151.7 °C (Lit.: 150-151 °C)³¹¹

R_f 0.16 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

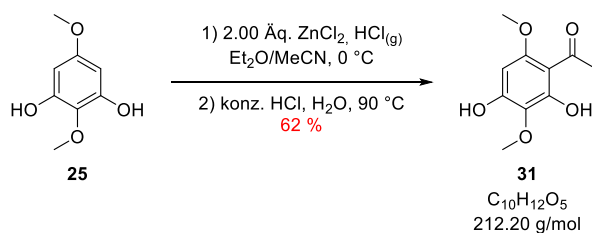
δ (ppm) = 3.50 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 4.59 (s, 2H), 6.01 (br s, 1H), 6.48 (s, 1H), 13.79 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 55.9, 59.6, 61.1, 78.3, 89.5, 104.4, 128.5, 155.8, 158.4, 159.1, 201.9.

HPLC t_R = 7.55 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

1-(2,4-Dihydroxy-3,6-dimethoxyphenyl)ethan-1-on (**31**)



Die Darstellung von 1-(2,4-Dihydroxy-3,6-dimethoxyphenyl)ethan-1-on (**31**) wurde analog zur Vorschrift von LÖWE *et al.* durchgeführt.^[315]

In 70.0 mL absolutem Diethylether und 50.0 mL absolutem Acetonitril wurde 2,5-Dimethoxybenzen-1,3-diol (**25**) (2.44 g, 14.3 mmol, 1.00 Äq.) mit Zinkchlorid (3.91 g, 28.7 mmol, 2.00 Äq.) vorgelegt. Die Suspension wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und mit trockener Salzsäure gesättigt. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 24 h gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und in 100 mL dest. Wasser gelöst. Die wässrige Lösung wurde für 5 h bei 90 °C gerührt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt abgesaugt und über Nacht unter Hochvakuum getrocknet. 1-(2,4-Dihydroxy-3,6-dimethoxyphenyl)ethan-1-on (**31**) konnte als weißer Feststoff (1.89 g, 8.91 mmol, 62 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[315]

Schmelzpunkt 129.2 °C (Lit.: 128 °C)^[315]

¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

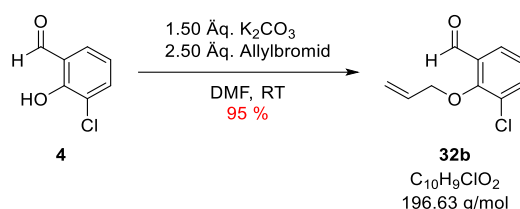
δ (ppm) = 2.61 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 6.02 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 14.14 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 33.3, 55.8, 61.0, 89.4, 106.2, 128.3, 155.4, 158.5, 159.4, 204.1.

HPLC t_R = 9.29 min (Methode 1) A.U.C = 98.5 %

2-(Allyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**32b**)



Die Darstellung von 2-(Allyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**32b**) wurde nach einer Vorschrift von CRAVEN *et al.* durchgeführt.^[508]

In 50.0 mL *N,N*-Dimethylformamid wurde Kaliumcarbonat (6.06 g, 43.9 mmol, 1.50 Äq.), 3-Chlor-2-hydroxybenzaldehyd (**4**) (4.58 g, 29.3 mmol, 1.00 Äq.) und Allylbromid (8.86 g, 73.3 mmol, 2.50 Äq.) vorgelegt. Die Suspension wurde für 4 h bei Raumtemperatur gerührt, mit 150 mL Essigsäureethylester verdünnt und sechsmal mit jeweils 100 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) gereinigt. 2-(Allyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**32b**) konnte als weißer Feststoff (5.45 g, 27.7 mmol, 95 %) erhalten

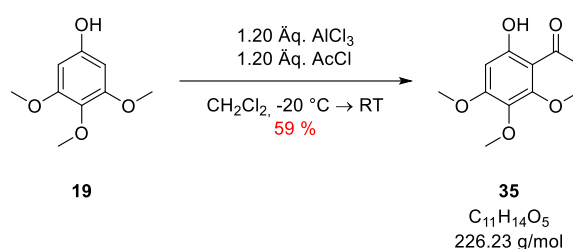
werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[508]

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 4.67 (ddd, $J = 6.1, 1.4, 1.0$ Hz, 2H), 5.36 (qd, 1H), 5.44 (dq, $J = 17.1, 1.4$ Hz, 1H), 6.14 (ddt, $J = 17.1, 10.3, 6.0$ Hz, 1H), 7.21 (td, $J = 7.8, 0.8$ Hz, 1H), 7.67 (dd, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, 1H), 10.40 (d, $J = 0.8$ Hz, 1H).

HPLC $t_R = 13.51$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

1-(6-Hydroxy-2,3,4-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**35**)



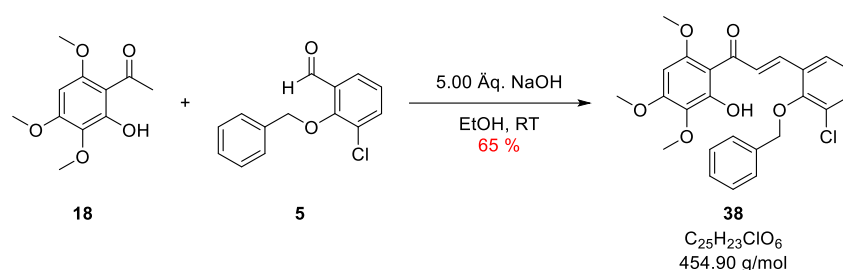
Die Darstellung von 1-(6-Hydroxy-2,3,4-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**35**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von ASAKAWA *et al.* durchgef\u00fchrt.^[333]

In 80.0 mL absolutem Dichlormethan wurde Aluminiumtrichlorid (8.00 g, 60.0 mmol, 1.20 \u00c5q.) vorgelegt und auf -20 °C abgek\u00fchlt. Dazu wurde eine L\u00f6sung von Acetylchlorid (4.35 mL, 60.0 mmol, 1.20 \u00c5q.) in 10.0 mL absolutem Dichlormethan hinzuge tropft und f\u00fcr 10 min bei -20 °C ger\u00fchrt. Anschließend wurde portionsweise 3,4,5-Trimethoxyphenol (**19**) (9.35 g, 50.8 mmol, 1.00 \u00c5q.) hinzugegeben, der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur aufw\u00e4rmen gelassen und f\u00fcr 16 h ger\u00fchrt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von eiskalter 40.0 mL 1 M Salzs\u00e4ure-L\u00f6sung beendet. Die w\u00e4ssrige Phase wurde dreimal mit jeweils 40.0 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen \u00fcber wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das L\u00f6sungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Im Anschluss erfolgte die s\u00e4ulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigs\u00e4ureethylester (9:1 \rightarrow 1:1). 1-(6-Hydroxy-2,3,4-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**35**) konnte als wei\u00dfer Feststoff (6.70 g, 29.6 mmol, 59 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen \u00fcber ein.^[509]

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 2.62 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 6.20 (s, 1H), 13.40 (s, 1H).

HPLC $t_R = 9.89$ min (Methode 1) A.U.C = 94.5 %

3-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-1-(2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**38**)


Die Darstellung von 3-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-1-(2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**38**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von DEODHAR *et al.* durchgeführt.^[510]

Zu einer Lösung von 1-(2-Hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)ethan-1-on (**18**) (1.47 g, 6.49 mmol, 1.00 Äq.) und 2-(Benzyloxy)-3-chlorbenzaldehyd (**5**) (1.60 g, 6.49 mmol, 1.00 Äq.) in 25.0 mL Ethanol wurde 5 M Natriumhydroxid-Lösung (6.49 mL, 32.4 mmol, 5.00 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 100 mL dest. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit 2 M Salzsäure-Lösung auf 5 eingestellt. Die wässrige Phase wurde viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen einmal mit 100 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Im Anschluss erfolgte die säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester mit 0.1 % Triethylamin (7:3 → 6:4). 3-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-1-(2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**38**) konnte als orangener Feststoff (1.91 g, 4.20 mmol, 65 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 98.7 °C

R_f 0.35 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

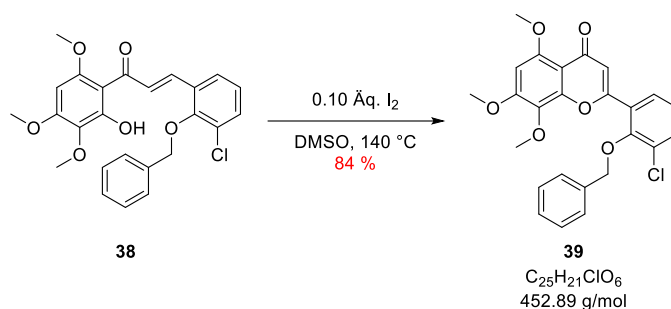
δ (ppm) = 3.79 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.99 (s, 2H), 5.96 (s, 1H), 7.12 (td, *J* = 7.9, 0.5 Hz, 1H), 7.29 – 7.42 (m, 3H), 7.44 (dd, *J* = 7.9, 1.6 Hz, 1H), 7.49 – 7.58 (m, 3H), 7.90 (d, *J* = 15.7 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H), 13.88 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.0, 56.2, 61.0, 76.2, 87.1, 107.0, 125.3, 127.1, 128.6, 128.7, 129.0, 129.4, 129.9, 131.0, 131.8, 131.9, 136.4, 137.0, 154.2, 158.7, 158.7, 159.5, 193.2.

HPLC *t_R* = 18.73 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**39**)



Die Darstellung von 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**39**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von NAYAK *et al.* durchgeführt.^[335]

3-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-1-(2-hydroxy-3,4,6-trimethoxyphenyl)prop-2-en-1-on (**38**) (4.82 g, 10.6 mmol, 1.00 Äq.) und Iod (0.27 g, 1.06 mmol, 0.10 Äq.) wurden in 40.0 mL Dimethylsulfoxid gelöst und die Lösung für 10 min mit Stickstoff entgast. Unter Stickstoffatmosphäre wurde der Reaktionsansatz auf 140 °C erwärmt und für 2 h 30 min gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde 50.0 mL gesättigte Natriumthiosulfat-Lösung und 50.0 mL Essigsäureethylester hinzugegeben. Die organische Phase wurde viermal mit jeweils 50.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert. 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**39**) konnte als gelbe Kristalle (4.05 g, 8.94 mmol, 84 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 170.2 °C

R_f 0.11 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:3)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.84 (s, 3H), 3.99 (s, 3H), 4.00 (s, 3H), 5.00 (s, 2H), 6.45 (s, 1H), 6.81 (s, 1H), 7.19 – 7.33 (m, 4H), 7.33 – 7.40 (m, 2H), 7.57 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H).

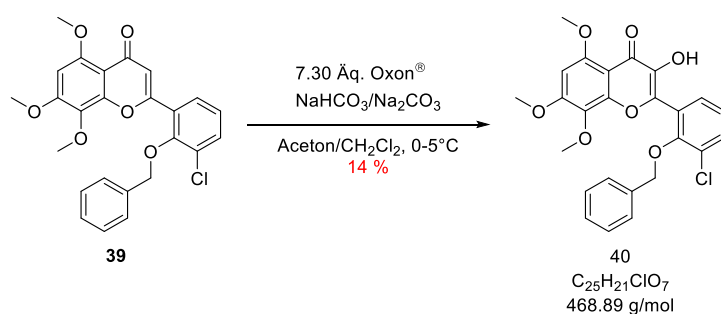
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.5, 56.8, 61.8, 75.8, 92.8, 109.1, 113.8, 125.4, 128.1, 128.6, 128.7, 128.8, 129.2, 129.9, 130.8, 133.1, 135.8, 152.3, 153.2, 156.5, 156.8, 158.4, 177.7.

MS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₅H₂₁ClNaO₆ [M+Na⁺]: 475.1; gefunden: 475.1.

HPLC *t_R* = 15.07 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-3-hydroxy-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**40**)



Die Darstellung von 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-3-hydroxy-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**40**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von VONGDETH *et al.* durchgeführt.^[340]

In 10 mL Aceton und 5 mL Dichlormethan wurde 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**39**) (100 mg, 221 μmol , 1.00 Äq.) gelöst. Bei 0-5 °C wurde dazu 10 mL eines Natriumhydrogencarbonat-Natriumbicarbonat-Puffersystems mit dem pH-Wert zwischen 8-9 und Oxon[®] (990 mg, 1.61 mmol, 7.30 Äq.) hinzugegeben. Der Ansatz wurde für 16 h bei 0-5 °C gerührt. Anschließend dreimal mit jeweils 20 mL Dichlormethan extrahiert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 10 mL Dichlormethan aufgenommen, 5 mg Toluol-4-sulfonsäure Monohydrat hinzugegeben und für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (6:4 \rightarrow 3:7) konnte 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-3-hydroxy-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**40**) als klares Öl (32.0 mg, 68.2 μmol , 14 %) erhalten.

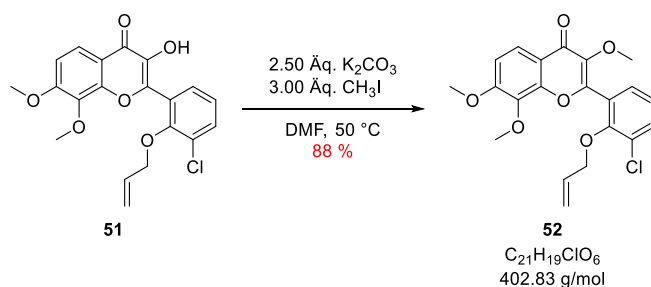
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.69 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 4.96 (s, 2H), 6.37 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 7.03 – 7.25 (m, 7H), 7.42 – 7.51 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.7, 56.7, 61.7, 76.1, 92.2, 106.8, 125.0, 128.3, 128.3, 128.5, 128.7, 128.9, 129.3, 130.0, 132.7, 136.5, 138.5, 141.8, 151.8, 153.5, 156.3, 156.8, 172.3.

2-(2-(Allyloxy)-3-chlorphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**52**)



Die Darstellung von 2-(2-(Allyloxy)-3-chlorphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**52**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von JUVALE *et al.* durchgeführt.^[331]

2-(2-(Allyloxy)-3-chlorphenyl)-3-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**51**) (3.47 g, 8.92 mmol, 1.00 Äq.), Kaliumcarbonat (3.08 g, 22.3 mmol, 2.50 Äq.) und Iodmethan (3.80 g, 26.8 mmol, 3.00 Äq.) wurden in 50.0 mL *N,N*-Dimethylformamid für 2 h bei 50 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension mit 150 mL Essigsäureethylester verdünnt und sechsmal mit jeweils 100 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus Ethanol umkristallisiert. 2-(2-(Allyloxy)-3-chlorphenyl)-3,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**52**) konnte als gelber Feststoff (3.15 g, 7.82 mmol, 88 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 102.7 °C

R_f 0.56 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

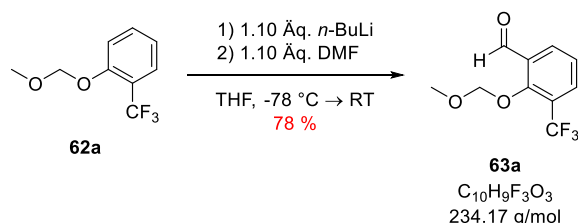
δ (ppm) = 3.80 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 4.55 (dt, *J* = 5.8, 1.4 Hz, 2H), 5.04 (dq, *J* = 10.4, 1.3 Hz, 1H), 5.21 (dq, *J* = 17.1, 1.5 Hz, 1H), 5.88 (ddt, *J* = 17.1, 10.3, 5.8 Hz, 1H), 7.05 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), 7.16 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.39 (dd, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.52 (dd, *J* = 8.0, 1.7 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = 56.6, 60.7, 61.7, 75.2, 110.2, 118.3, 119.5, 121.2, 124.7, 127.2, 128.9, 129.7, 132.8, 133.2, 136.8, 141.4, 150.0, 153.6, 154.9, 156.5, 174.5.

HPLC *t_R* = 15.71 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(Methoxymethoxy)-3-(trifluormethyl)benzaldehyd (**63a**)



Die Darstellung von 2-(Methoxymethoxy)-3-(trifluormethyl)benzaldehyd (**63a**) wurde nach der Vorschrift von DALY *et al.* durchgeführt.^[483]

1-(Methoxymethoxy)-2-(trifluormethyl)benzen (**62a**) (10.0 g, 48.5 mmol, 1.00 Äq.) wurde unter Stickstoffatmosphäre in 63.0 mL absolutem Tetrahydrofuran vorgelegt und mit einem Aceton/Trockeneis-Kältebad auf -78 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurde tropfenweise

n-Butyllithium (33.3 mL, 1.6 M in *n*-Hexan, 53.4 mmol, 1.10 Äq.) hinzugegeben und für 1 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus absolutem *N,N*-Dimethylformamid (3.90 g, 53.4 mmol, 1.10 Äq.) in 5.00 mL absolutem Tetrahydrofuran hinzugetropft und der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch die Zugabe von 50.0 mL dest. Wasser beendet und dreimal mit 50.0 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 30.0 mL 2 M Salzsäure-Lösung und 30.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und an Kieselgel adsorbiert. 2-(Methoxymethoxy)-3-(trifluormethyl)benzaldehyd (**63a**) konnte nach der säulenchromatographischen Reinigung mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) als klare Flüssigkeit (8.86 g, 37.8 mmol, 78 %) erhalten. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[483]

R_f 0.19 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 95:5)

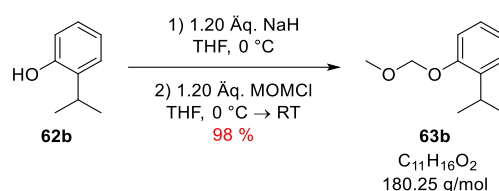
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.62 (s, 3H), 5.13 (d, *J* = 0.5 Hz, 2H), 7.37 (tp, *J* = 7.8, 0.8 Hz, 1H), 7.87 (ddq, *J* = 7.8, 1.9, 0.6 Hz, 1H), 8.06 (ddt, *J* = 7.7, 1.8, 0.6 Hz, 1H), 10.31 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H).

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -60.8.

1-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzen (**63b**)



Die Darstellung von 1-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzen (**63b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von YANG *et al.* durchgeführt.^[484]

Zu einer Lösung von 2-Isopropylphenol (**62b**) (5.00 g, 36.7 mmol, 1.00 Äq.) in 50.0 mL absolutem Tetrahydrofuran wurde unter Eiskühlung portionsweise Natriumhydrid (60%ige Dispersion in Mineralöl, 1.76 g, 44.1 mmol, 1.20 Äq.) hinzugegeben und der Ansatz für 30 min gerührt. Anschließend wurde (Chlormethyl)methylether (3.73 g, 44.1 mmol, 1.20 Äq.) hinzugetropft, der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 100 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet und dreimal mit jeweils 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel

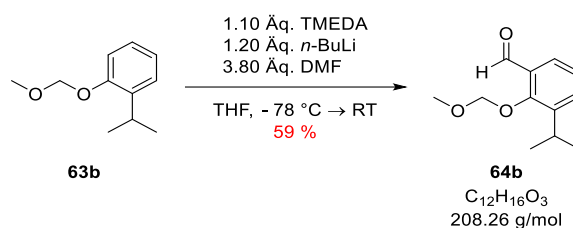
adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittel *n*-Hexan gereinigt. 1-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzen (**63b**) konnte als klare Flüssigkeit (6.50 g, 36.1 mmol, 98 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[484]

R_f 0.41 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)

δ (ppm) = 1.17 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H), 3.22 – 3.36 (m, 1H), 3.39 (s, 3H), 5.21 (s, 2H), 6.91 – 6.98 (m, 1H), 7.02 (dd, $J = 8.2, 1.3$ Hz, 1H), 7.12 (ddd, $J = 8.2, 7.2, 1.8$ Hz, 1H), 7.22 (dd, $J = 7.6, 1.8$ Hz, 1H).

3-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64b**)



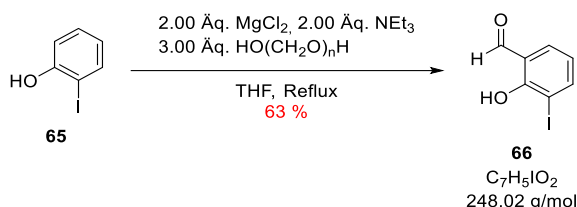
Die Darstellung von 3-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von KOBAYASHI *et al.* durchgeführt.^[511]

1-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzen (**63b**) (8.00 g, 44.4 mmol, 1.00 Äq.) wurde unter Stickstoffatmosphäre in 60.0 mL absolutem Tetrahydrofuran vorgelegt und mit einem Aceton/Trockeneis-Kältebad auf -78 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurde tropfenweise *N,N,N',N'*-Tetramethylethylendiamin (5.67 g, 48.8 mmol, 1.10 Äq.), *n*-Butyllithium (33.3 mL, 1.6 M in *n*-Hexan, 53.3 mmol, 1.20 Äq.) hinzugegeben und für 1 h bei -78 °C gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus absolutem *N,N*-Dimethylformamid (12.3 g, 169 mmol, 3.80 Äq.) in 25.0 mL absolutem Tetrahydrofuran hinzugetropft und der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 16 h wurde die Reaktion durch die Zugabe von 50.0 mL dest. Wasser beendet und dreimal mit 50.0 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 100 mL gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung und 100 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte 3-Isopropyl-2-(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64b**) als klare Flüssigkeit (5.45 g, 26.2 mmol, 59 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[511]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.17 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H), 3.39 (s, 3H), 5.21 (s, 2H), 6.90 – 6.98 (m, 1H), 7.02 (dd, *J* = 8.3, 1.3 Hz, 1H), 7.12 (ddd, *J* = 8.2, 7.2, 1.8 Hz, 1H), 7.22 (dd, *J* = 7.6, 1.8 Hz, 1H).

2-Hydroxy-3-iodbenzaldehyd (66)



Die Darstellung von 2-Hydroxy-3-iodbenzaldehyd (**66**) wurde nach der Vorschrift von BRADY *et al.* durchgeführt.^[399]

Vor der Verwendung wurde das Magnesiumchlorid und Paraformaldehyd für 24 h in einem evakuierten Exsikkator über wasserfreiem Phosphorpentoxid getrocknet. Zu einer Lösung von 2-Iodphenol (**65**) (2.00 g, 9.09 mmol, 1.00 Äq.) in 60.0 mL absolutem Tetrahydrofuran wurde Magnesiumchlorid (1.73 g, 18.2 mmol, 2.00 Äq.), Triethylamin (2.53 mL, 18.2 mmol, 2.00 Äq.) und Paraformaldehyd (0.81 g, 27.3 mmol, 3.00 Äq.) hinzugegeben. Die Suspension unter einer Stickstoffatmosphäre für 12 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Ansatz mit 140 mL Diethylether verdünnt, dreimal mit 50.0 mL 2 M Salzsäure-Lösung, einmal mit 50.0 mL dest. Wasser und einmal mit 50.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert. 2-Hydroxy-3-iodbenzaldehyd (**66**) konnte als gelbe Nadeln (1.43 g, 5.77 mmol, 63 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[399]

Schmelzpunkt 77.2 °C (Lit.: 78-79 °C)^[399]

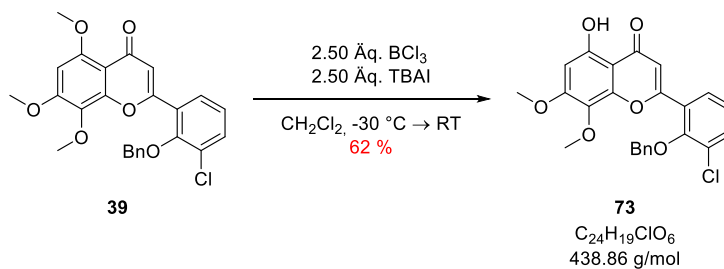
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 6.92 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.80 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 8.08 (dd, *J* = 7.7, 1.6 Hz, 1H), 9.94 (s, 1H), 11.54 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 86.6, 121.5, 122.0, 133.5, 145.6, 159.1, 196.3.

2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-on (73)



Die Darstellung von 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-one (**73**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von KOSAK *et al.* von BEATE LUNGERICH durchgeführt.^[512]

Unter Stickstoffatmosphäre wurden in 10.0 mL absolutem Dichlormethan 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5,7,8-trimethoxy-4*H*-chromen-4-on (**39**) (177 mg, 391 μmol , 1.00 $\text{\AA}q.$) und Tetrabutylammoniumiodid (361 mg, 978 μmol , 2.50 $\text{\AA}q.$) vorgelegt. Der Reaktionsansatz wurde mit einem Aceton-Kältebad auf $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt und 1 *M* Bortrichlorid in Dichlormethan (978 μL , 978 μmol , 2.50 $\text{\AA}q.$) hinzugegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 2 h gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 20.0 mL dest. Wasser beendet, dreimal mit jeweils 20.0 mL Chloroform extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (100:0 \rightarrow 85:15) gereinigt. 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-one (**73**) konnte als gelber Feststoff (107 mg, 244 μmol , 62 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 141.2 $^\circ\text{C}$

R_f 0.50 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 6:4)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.84 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 5.03 (s, 2H), 6.44 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 7.18 – 7.31 (m, 4H), 7.25 – 7.39 (m, 2H), 7.60 (dd, $J = 8.0, 1.7 \text{ Hz}$, 1H), 7.65 (dd, $J = 7.8, 1.7 \text{ Hz}$, 1H), 12.54 (br s, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3)

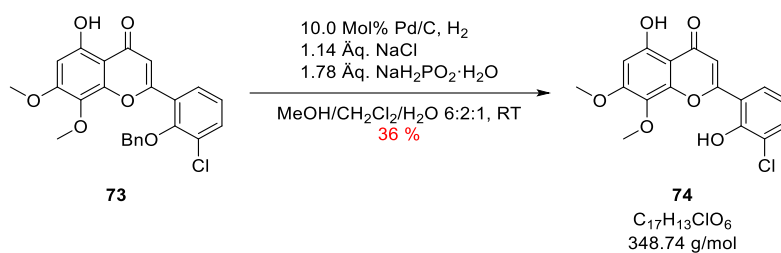
δ (ppm) = 56.5, 61.8, 76.2, 95.9, 105.0, 111.0, 125.5, 128.2, 128.6, 128.7, 128.7, 129.0, 130.0, 133.6, 135.8, 149.8, 153.3, 157.7, 158.8, 161.5, 182.7.

HPLC $t_R = 21.02 \text{ min}$ (Methode 1) A.U.C = >99 %

Elementaranalyse (%)

Berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{ClO}_6$: C 65.68, H 4.36, gefunden: C 65.54, H 4.39.

2-(3-Chlor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-one (**74**)



Die Darstellung von 2-(3-Chlor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-one (**74**) in Anlehnung an die Vorschrift von LI *et al.* von BEATE LUNGERICH durchgeführt.^[415]

In 28.0 mL Methanol/Dichlormethan/dest. Wasser (6:2:1 v/v) wurden 2-(2-(Benzyloxy)-3-chlorphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-one (**73**) (119 mg, 271 μmol , 1.00 Äq.), Natriumdihydrogenphosphat Monophosphat (58.0 mg, 483 μmol , 1.78 Äq.), Natriumchlorid (18.0 mg, 308 μmol , 1.14 Äq.) und Palladium auf Aktivkohle (10 Gew.-%, 12 mg, 27.1 μmol , 0.10 Äq.) vorgelegt. Die Hydrierapparatur und der Reaktionskolben wurden evakuiert und anschließend mit Wasserstoff geflutet. Dieser Prozess wurde dreimal wiederholt. Unter Wasserstoffatmosphäre wurde der Reaktionsansatz für 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Suspension wurde über *Celite*[®] abfiltriert, mit Dichlormethan gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (100:0 \rightarrow 95:5) gereinigt. 2-(3-Chlor-2-hydroxyphenyl)-5-hydroxy-7,8-dimethoxy-4*H*-chromen-4-one (**74**) konnte nach der anschließenden Umkristallisation aus Ethanol als gelber Feststoff (33.5 mg, 96.1 μmol , 36 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 288.6 °C

R_f 0.17 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.84 (t, $J = 1.9 \text{ Hz}$, 3H), 3.97 (t, $J = 1.6 \text{ Hz}$, 3H), 6.70 (t, $J = 1.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.02 (td, $J = 7.9, 3.0 \text{ Hz}$, 1H), 7.56 (t, $J = 1.5 \text{ Hz}$, 1H), 7.60 – 7.62 (m, 1H), 8.01 (dt, $J = 7.9, 1.6 \text{ Hz}$, 1H), 13.32 (s, 1H).

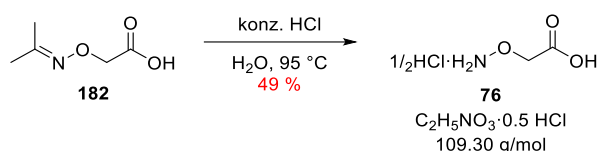
$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, Pyridin)

δ (ppm) = 56.7, 61.8, 96.7, 105.6, 111.1, 120.9, 122.5, 124.5, 128.6, 129.8, 133.4, 150.9, 154.2, 158.4, 159.6, 162.6, 183.8.

HPLC $t_R = 14.14 \text{ min}$ (Methode 1) A.U.C = 96.5 %

6.4 Synthesevorschriften: *KSK104* und *KSK104*-Analoge

O-(Carboxymethyl)hydroxylamin Hemihydrochlorid (**76**)



Die Darstellung von O-(Carboxymethyl)hydroxylamin Hemihydrochlorid (**76**) wurde nach einer Vorschrift von PFEIFFER *et al.* durchgeführt.^[513]

2-((Propan-2-ylidenoxy)oxy)essigsäure (**182**) (2.30 g, 17.5 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 23.0 mL 5 M Salzsäure gelöst und für 4 h bei 95 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 18.0 mL Propan-2-ol gelöst und über Nacht -20 °C stehen gelassen. Der Niederschlag wurde abgesaugt, zweimal mit jeweils 23.0 mL Diethylether gewaschen und unter Hochvakuum getrocknet. O-(Carboxymethyl)hydroxylamin Hemihydrochlorid (**76**) konnte als weißer Feststoff (0.93 g, 8.57 mmol, 49 %) erhalten werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[513]

Schmelzpunkt 160.2 °C (Lit.: 149-150 °C)^[424]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.37 (s, 2H), 9.90 (br s, 4H).

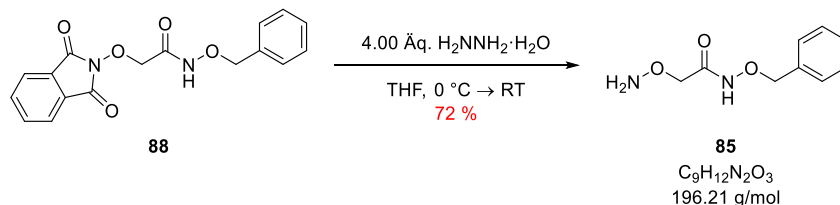
¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 71.0, 170.5.

Elementaranalyse (%)

Berechnet für C₂H₅NO₃·0.5 HCl: C 21.98, H 5.07, N 12.82 gefunden: C 21.75, H 5.27, N 12.87.

2-(Aminoxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**85**)



Die Darstellung von 2-(Aminoxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**85**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von STENZEL durchgeführt.^[420]

N-(Benzyloxy)-2-((1,3-dioxoisindolin-2-yl)oxy)acetamid (**88**) (1.74 g, 5.33 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 50.0 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Zu der Lösung wurde Hydrazin Monohydrat (1.03 mL, 21.3 mmol, 4.00 Äq.) hinzugegeben und für 1 h bei 0 °C gerührt. Anschließend wurde der viskose Niederschlag im Ultraschallbad suspendiert,

das suspendierte Nebenprodukt mittels Vakuumfiltration abfiltriert und das Lösungsmittelvolumen des Filtrats unter vermindertem Druck halbiert. Das Filtrat wurde für 16 h bei 7 °C stehengelassen, der Niederschlag mittels Vakuumfiltration filtriert und das Lösungsmittelvolumen des Filtrats unter vermindertem Druck halbiert. Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel nahezu vollständig unter vermindertem Druck entfernt und der viskose Rückstand beim Verreiben in 5.00 mL *n*-Hexan verfestigt. Der Niederschlag wurde mittels Vakuumfiltration abfiltriert und unter Hochvakuum getrocknet. 2-(Aminoxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**85**) konnte als weißer Feststoff (0.76 g, 3.86 mmol, 72 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 35.9 °C

R_f 0.45 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

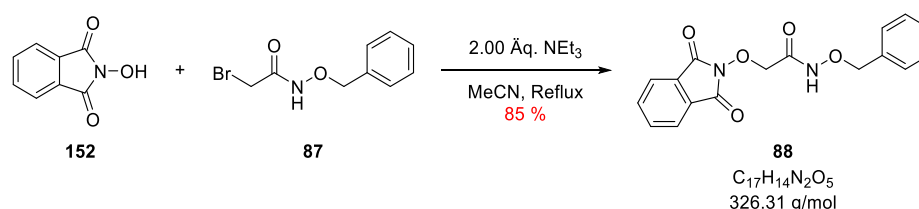
δ (ppm) = 3.96 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 6.31 (br s, 2H), 7.13 – 7.61 (m, 5H), 11.10 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 70.0, 77.2, 128.4, 128.8, 129.2, 135.7, 163.5.

HPLC *t_R* = 4.97 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 90.2 %

N-(Benzyloxy)-2-((1,3-dioxisoindolin-2-yl)oxy)acetamid (**88**)



Die Darstellung von *N*-(Benzyloxy)-2-((1,3-dioxisoindolin-2-yl)oxy)acetamid (**88**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von STENZEL durchgeführt.^[420]

In 350 mL Acetonitril wurden *N*-(Benzyloxy)-2-bromacetamid (**87**) (12.6 g, 51.6 mmol, 1.00 Äq.), *N*-Hydroxyphthalimid (**152**) (9.68 g, 59.3 mmol, 1.15 Äq.) und Triethylamin (6.01 g, 59.4 mmol, 1.15 Äq.) vorgelegt. Der Reaktionsansatz wurde für 4 h zum Rückfluss erhitzt, auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 300 mL Essigsäureethylester aufgenommen und erschöpfend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus Essigsäureethylester umkristallisiert. *N*-(Benzyloxy)-2-((1,3-dioxisoindolin-2-yl)oxy)acetamid (**88**) konnte als lila Nadeln (14.3 g, 43.9 mmol, 85 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 141.7 °C

R_f 0.14 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 6:4)

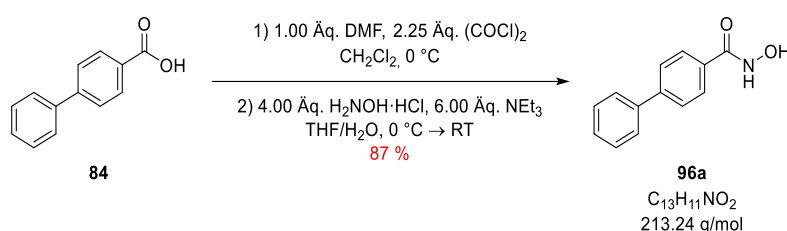
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.53 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 7.37 (ddt, *J* = 9.8, 5.0, 2.0 Hz, 5H), 7.89 (d, *J* = 1.3 Hz, 4H), 11.49 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 74.2, 76.9, 123.4, 128.3, 128.4, 128.8, 134.9, 135.7, 162.5, 162.7.

N-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96a**)



Die Darstellung von *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96a**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von FENG *et al.* durchgeführt.^[514]

Zu einer Lösung von Biphenyl-4-carbonsäure (**84**) (10.0 g, 50.0 mmol, 1.00 Äq.) und *N,N*-Dimethylformamid (3.87 mL, 50.0 mmol, 1.00 Äq.) in 150 mL absolutem Dichlormethan wurde unter Eiskühlung langsam Oxalylchlorid (9.50 mL, 113 mmol, 2.25 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 1 h bei 0 °C gerührt, dann zu einer Lösung von Hydroxylamin Hydrochlorid (8.30 g, 200 mmol, 4.00 Äq.) und Triethylamin (41.8 mL, 300 mmol, 6.00 Äq.) in 90.0 mL Tetrahydrofuran/dest. Wasser (5:1) hinzugetropft. Die Suspension wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt, der pH-Wert mit 2 M Salzsäure-Lösung auf 6 eingestellt und viermal mit jeweils 200 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus dest. Wasser/Ethanol umkristallisiert. *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96a**) konnte als weiße Nadeln (9.26 g, 43.4 mmol, 87 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[515]

Schmelzpunkt 197.6 °C (Lit.: 198-200 °C)^[515]

R_f 0.17 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

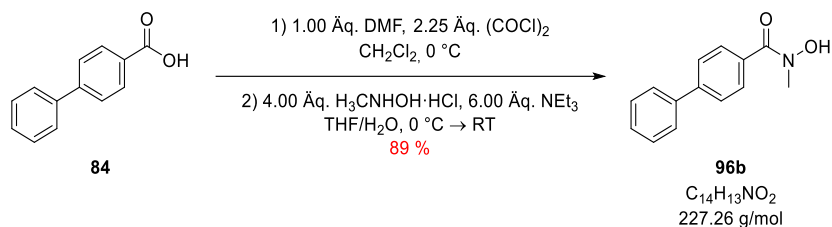
δ (ppm) = 7.36 – 7.44 (m, 1H), 7.45 – 7.54 (m, 2H), 7.68 – 7.79 (m, 4H), 7.82 – 7.89 (m, 2H), 9.06 (s, 1H), 11.28 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 126.6, 126.8, 127.5, 128.0, 129.0, 131.5, 139.1, 142.7, 163.8.

HPLC t_R = 9.08 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

***N*-Hydroxy-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96b**)**



Die Darstellung von *N*-Hydroxy-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von FENG *et al.* durchgeführt.^[514]

Zu einer Lösung von Biphenyl-4-carbonsäure (**84**) (3.00 g, 15.1 mmol, 1.00 Äq.) und *N,N*-Dimethylformamid (1.17 mL, 15.1 mmol, 1.00 Äq.) in 50.0 mL absolutem Dichlormethan wurde unter Eiskühlung langsam Oxalylchlorid (2.88 mL, 34.1 mmol, 2.25 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 1 h bei 0 °C gerührt, dann zu einer Lösung von *N*-Methylhydroxylamin Hydrochlorid (5.06 g, 60.5 mmol, 4.00 Äq.) und Triethylamin (12.7 mL, 90.8 mmol, 6.00 Äq.) in 45.0 mL Tetrahydrofuran/dest. Wasser (5:1) hinzugetropft. Die Suspension wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt, der pH-Wert mit 2 M Salzsäure-Lösung auf 6 eingestellt und viermal mit jeweils 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus Essigsäureethylester umkristallisiert. *N*-Hydroxy-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96b**) konnte als weißer Feststoff (3.04 g, 13.4 mmol, 89 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 135.2 °C

R_f 0.29 (n-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

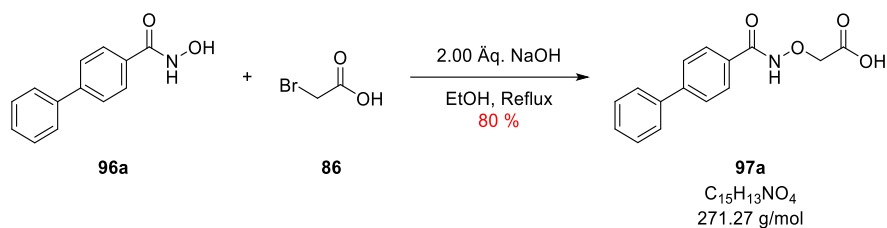
δ (ppm) = 3.28 (s, 3H), 7.35 – 7.44 (m, 1H), 7.44 – 7.54 (m, 2H), 7.68 – 7.75 (m, 6H), 10.05 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 37.8, 40.0, 40.1, 40.3, 40.4, 126.4, 127.3, 128.4, 129.5, 129.5, 134.1, 139.8, 142.2, 168.9.

HPLC t_R = 10.48 min (Methode 1) A.U.C = 98.6 %

2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)essigsäure (97a**)**



Die Darstellung von 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)essigsäure (**97a**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von McHALE *et al.* durchgeführt.^[424]

Eine Lösung von *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96a**) (7.38 g, 34.6 mmol, 1.00 Äq.), Bromoessigsäure (**86**) (4.81 g, 34.6 mmol, 1.00 Äq.) und Natriumhydroxid (2.77 g, 69.2 mmol, 2.00 Äq.) in 200 mL Ethanol wurde für 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 200 mL dest. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit 2 M Salzsäure-Lösung auf 4 eingestellt. Die wässrige Suspension wurde viermal mit jeweils 200 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Essigsäureethylester umkristallisiert und 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)essigsäure (**97a**) konnte als weiße Nadeln (7.53 g, 27.8 mmol, 80 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 191.8 °C

R_f 0.15 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

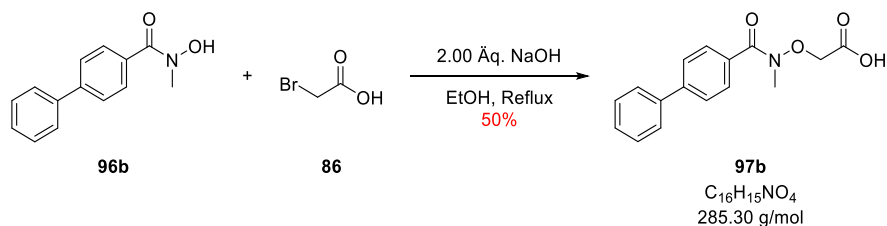
δ (ppm) = 4.53 (s, 2H), 7.37 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.55 (m, 2H), 7.68 – 7.74 (m, 2H), 7.74 – 7.81 (m, 2H), 7.82 – 7.92 (m, 2H), 12.07 (s, 1H), 12.99 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 71.8, 126.6, 126.8, 127.9, 128.1, 129.0, 130.5, 139.0, 143.2, 164.6, 170.0.

HPLC $t_R = 10.23$ min (Methode 1) A.U.C = 98.0 %

2-((*N*-Methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamido)oxy)essigsäure (**97b**)



Die Darstellung von 2-((*N*-Methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamido)oxy)essigsäure (**97b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von McHALE *et al.* durchgeführt.^[424]

Eine Lösung von *N*-Hydroxy-*N*-methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96b**) (2.00 g, 8.80 mmol, 1.00 Äq.), Bromessigsäure (**86**) (1.22 g, 8.80 mmol, 1.00 Äq.) und Natriumhydroxid (0.70 g, 17.6 mmol, 2.00 Äq.) in 60.0 mL Ethanol wurde für 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 100 mL dest. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit 2 M Salzsäure-Lösung auf 4 eingestellt. Die wässrige Suspension wurde viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und 2-((*N*-Methyl-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamido)oxy)essigsäure (**97b**) konnte als weißer Feststoff (1.25 g, 4.38 mmol, 50 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 129.5 °C

R_f 0.29 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

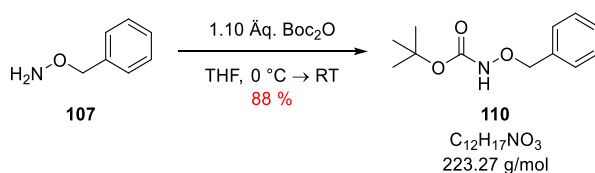
δ (ppm) = 3.34 (s, 3H), 4.47 (s, 2H), 7.37 – 7.45 (m, 1H), 7.45 – 7.55 (m, 2H), 7.64 – 7.79 (m, 6H), 13.04 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 36.2, 70.9, 126.4, 126.8, 128.0, 128.6, 129.0, 133.1, 139.1, 142.1, 169.3, 169.4.

HPLC $t_R = 10.82$ min (Methode 1) A.U.C = 94.0 %

tert-Butyl (Benzyloxy)carbamat (**110**)



Die Darstellung von *tert*-Butyl (Benzyloxy)carbamat (**110**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von BRANDÈS *et al.* durchgeführt.^[439]

Unter Eiskühlung wurde in 20.0 mL Tetrahydrofuran gelöstes Di-*tert*-butyldicarbonat (9.75 g, 44.7 mmol, 1.10 Äq.) zu einer Lösung von *O*-Benzyloxyhydroxylamin (**107**) (5.00 g, 40.6 mmol, 1.00 Äq.) in 30.0 mL Tetrahydrofuran hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 100 mL Essigsäureethylester aufgenommen. Die organische Phase wurde dreimal mit jeweils 50.0 mL dest. Wasser, einmal mit 50.0 mL 10%iger Zitronensäure-Lösung gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und

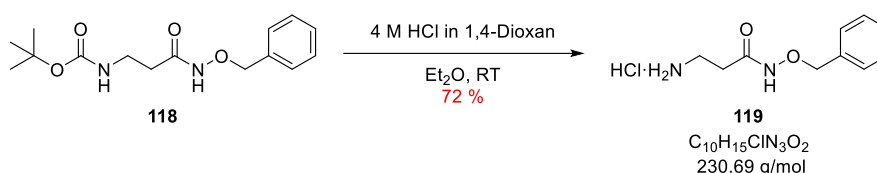
tert-Butyl (Benzyloxy)carbamat (**110**) konnte als weißer Feststoff (8.30 g, 35.7 mmol, 88 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[439]

Schmelzpunkt 47.3 °C (Lit.: 45-47 °C)^[516]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.08 (s, 9H), 4.76 (s, 2H), 7.00 – 7.77 (m, 5H), 10.86 (s, 1H).

3-Amino-*N*-(benzyloxy)propanamid Hydrochlorid (**119**)



Die Darstellung von 3-Amino-*N*-(benzyloxy)propanamid Hydrochlorid (**119**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von PÍCHA *et al.* durchgeführt.^[517]

In 100 mL absolutem Diethylether wurde *tert*-Butyl (3-((Benzyloxy)amino)-3-oxopropyl)carbamat (**118**) (6.11 g, 20.8 mmol, 1.00 Äq.) gelöst und mit 4 m Salzsäure in 1,4-Dioxan (26.0 mL, 104 mmol, 5.00 Äq.) versetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt und dann für 24 h bei -20 °C stehen gelassen. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde filtriert, der Filterkuchen dreimal mit jeweils 20.0 mL absolutem Diethylether gewaschen und unter Hochvakuum getrocknet. *Tert*-Butyl (Benzyloxy)carbamate Hydrochlorid (**119**) konnte als weißer Feststoff (3.45 g, 15.0 mmol, 72 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 153.2 °C

R_f 0.17 (Dichlormethan/Methanol 8:2)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 2.40 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.98 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H), 4.81 (s, 2H), 7.31 – 7.46 (m, 5H), 8.05 (br s, 3H), 11.37 (s, 1H).

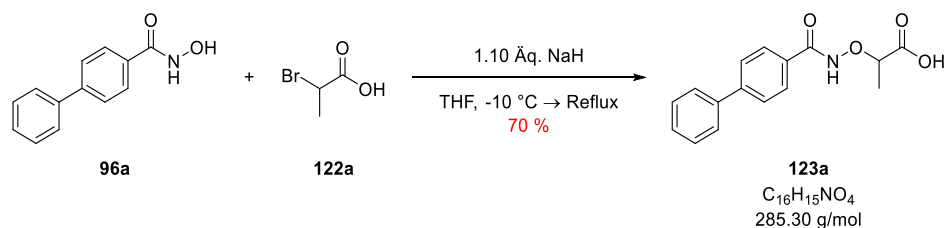
¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 29.6, 34.9, 77.0, 128.3, 128.3, 128.8, 135.9, 166.5.

MS (ESI): *m/z* berechnet für C₁₀H₁₅N₂O₂ [M+H⁺]: 195.1; gefunden: 195.1.

HPLC *t_R* = 4.75 min (Methode 1) A.U.C = 92.3 %

2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)propansäure (**123a**)



Die Darstellung von 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)propansäure (**123a**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von YUKIHISA *et al.* durchgeführt.^[518]

Unter Stickstoffatmosphäre wurde bei -10 °C zu einer Lösung von *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96a**) (1.00 g, 4.69 mmol, 1.00 Äq.) in 20.0 mL absolutem Tetrahydrofuran Natriumhydrid (60%ige Dispersion in Mineralöl, 0.21 g, 5.16 mmol, 1.10 Äq.) hinzugegeben und für 10 min gerührt. Dazu wurde eine Lösung von 2-Brompropansäure (**122b**) (0.72 g, 4.69 mmol, 1.00 Äq.) in 5.00 mL absolutem Tetrahydrofuran hinzugetropft. Der Reaktionsansatz wurde für 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50.0 mL dest. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit einer 2 m Salzsäure-Lösung auf 1 eingestellt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit jeweils 50.0 mL Essigsäureethylester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohrprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 \rightarrow 7:3) gereinigt. 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)propansäure (**123a**) konnte als hellgelber Feststoff (0.93 g, 3.26 mmol, 70 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 173.8 °C

R_f 0.16 (Dichlormethan/Methanol 95:5 + 0.1 % TFA)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

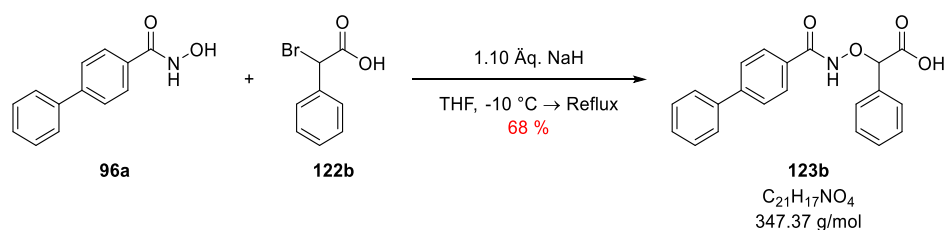
δ (ppm) = 1.41 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 4.54 (q, *J* = 6.9 Hz, 1H), 7.38 – 7.45 (m, 1H), 7.49 (dd, *J* = 8.4, 7.0 Hz, 2H), 7.69 – 7.75 (m, 2H), 7.74 – 7.80 (m, 2H), 7.83 – 7.89 (m, 2H), 11.94 (br s, 1H), 12.95 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 16.9, 79.1, 127.1, 127.3, 128.4, 128.6, 129.5, 131.0, 139.5, 143.7, 165.3, 173.3.

HPLC *t_R* = 12.22 min (Methode 1) A.U.C = 96.8 %

2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-phenylethylsäure (**123b**)



Die Darstellung von 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-phenylessigsäure (**123b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von YUKIHISA *et al.* durchgeführt.^[518]

Unter Stickstoffatmosphäre wurde bei -10 °C zu einer Lösung von *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**96a**) (1.00 g, 4.69 mmol, 1.00 Äq.) in 20.0 mL absolutem Tetrahydrofuran Natriumhydrid (60%ige Dispersion in Mineralöl, 0.21 g, 5.16 mmol, 1.10 Äq.) hinzugegeben und für 10 min gerührt. Dazu wurde eine Lösung von 2-Brom-2-phenylessigsäure (**122b**) (1.01 g, 4.69 mmol, 1.00 Äq.) in 5.00 mL absolutem Tetrahydrofuran hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50.0 mL dest. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit einer 2 m Salzsäure-Lösung auf 1 eingestellt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit jeweils 50.0 mL Essigsäureethylester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert und 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-phenylessigsäure (**123b**) konnte als hellgelber Feststoff (1.10 g, 3.17 mmol, 68 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 216.6 °C

R_f 0.17 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

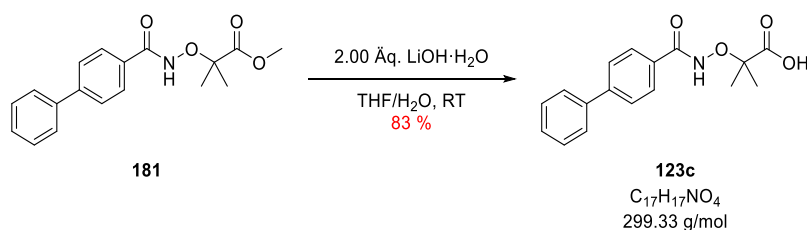
δ (ppm) = 5.50 (s, 1H), 7.37 – 7.47 (m, 4H), 7.47 – 7.56 (m, 4H), 7.69 – 7.74 (m, 2H), 7.75 – 7.79 (m, 2H), 7.81 – 7.88 (m, 2H), 12.06 (br s, 1H), 13.22 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 83.9, 126.6, 126.9, 127.9, 127.9, 128.2, 128.5, 129.0, 129.1, 130.5, 134.8, 139.0, 143.3, 165.0, 170.7.

HPLC t_R = 12.58 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-methylpropansäure (**123c**)



Zu einer Lösung von Methyl 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-methylpropanoat (**181**) in 54.0 mL Tetrahydrofuran wurde in 18.0 mL dest. Wasser gelöstes Lithiumhydroxid Monohydrat (0.64 g, 15.1 mmol, 2.00 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei 30 °C gerührt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 100 mL dest. Wasser gelöst. Mit 3 M Salzsäure wurde der pH-Wert der Lösung auf 4 eingestellt, das ausgefallene Reaktionsprodukt abgesaugt, mit dest. Wasser gewaschen und über Nacht unter Hochvakuum getrocknet. 2-([1,1'-Biphenyl]-4-carboxamidooxy)-2-methylpropansäure (**123c**) konnte als weißer Feststoff (1.89 g, 6.31 mmol, 83 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 182.6 °C

R_f 0.14 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

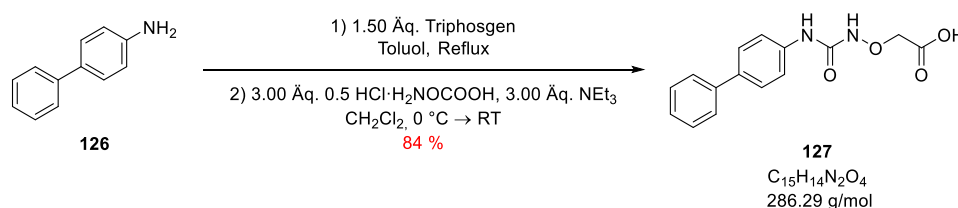
δ (ppm) = 1.44 (s, 6H), 7.38 – 7.45 (m, 1H), 7.49 (dd, *J* = 8.4, 7.0 Hz, 2H), 7.68 – 7.74 (m, 2H), 7.74 – 7.81 (m, 2H), 7.85 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 11.24 (s, 1H), 12.91 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 23.6, 83.8, 127.1, 127.3, 128.5, 128.6, 129.5, 131.3, 139.6, 143.7, 167.1, 174.6.

HPLC *t_R* = 11.30 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-((3-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ureido)oxy)essigsäure (**127**)



Die Darstellung von 2-((3-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ureido)oxy)essigsäure (**127**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von CHESWORTH *et al.* durchgeführt.^[443]

Unter Argonatmosphäre wurde 4-Aminobiphenyl (**126**) (214 mg, 1.26 mmol, 1.00 Äq.) und Triphosgen (563 mg, 1.90 mmol, 1.50 Äq.) in 40.0 mL absolutem Toluol vorgelegt. Der Reaktionsansatz wurde für 4 h zum Rückfluss erhitzt, nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der

Rückstand in 30.0 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Unter Eiskühlung wurde bei 0 °C O-(Carboxymethyl)hydroxylamin Hemihydrochlorid (415 mg, 3.79 mmol, 3.00 Äq.) und Triethylamin (529 µL, 3.79 mmol, 3.00 Äq.) hinzugegeben. Der Ansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50.0 mL dest. Wasser aufgenommen und dreimal mit jeweils 50.0 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (100:0 → 94:6) gereinigt. 2-((3-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ureido)oxy)essigsäure (**127**) wurde als weißer Feststoff (298 mg, 1.04 mmol, 84 %) erhalten.

R_f 0.10 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

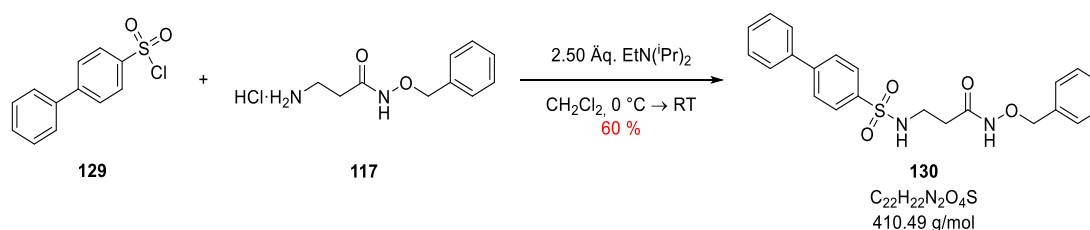
δ (ppm) = 4.43 (s, 2H), 7.28 – 7.36 (m, 1H), 7.39 – 7.48 (m, 2H), 7.62 (s, 5H), 7.65 (t, *J* = 1.7 Hz, 1H), 9.46 (s, 1H), 9.70 (s, 1H), 13.23 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 73.1, 119.2, 126.2, 127.0, 127.0, 128.9, 134.4, 138.4, 139.8, 157.3, 172.1.

HPLC *t_R* = 10.90 min (Methode 1) A.U.C = 97.9 %

3-([1,1'-Biphenyl]-4-sulfonamido)-*N*-(benzyloxy)propanamid (**130**)



Die Darstellung von 3-([1,1'-Biphenyl]-4-sulfonamido)-*N*-(benzyloxy)propanamid (**130**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von SJØLI *et al.* durchgeführt.^[519]

In 30.0 mL absolutem Dichlormethan wurde 3-Amino-*N*-(benzyloxy)propanamid Hydrochlorid (**117**) (254 mg, 1.31 mmol, 1.10 Äq.) und *N,N*-Diisopropylethylamin (520 µL, 2.97 mmol, 2.50 Äq.) vorgelegt und 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und in kleinen Portionen Biphenyl-4-sulfonsäurechlorid (300 mg, 1.19 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 30.0 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet und dreimal mit jeweils 30.0 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über

wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (8:2 → 3:7) gereinigt. 3-([1,1'-Biphenyl]-4-sulfonamido)-*N*-(benzyloxy)propanamid (**130**) konnte als weißer Feststoff (293 mg, 714 μmol, 60 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 143.4 °C

R_f 0.43 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

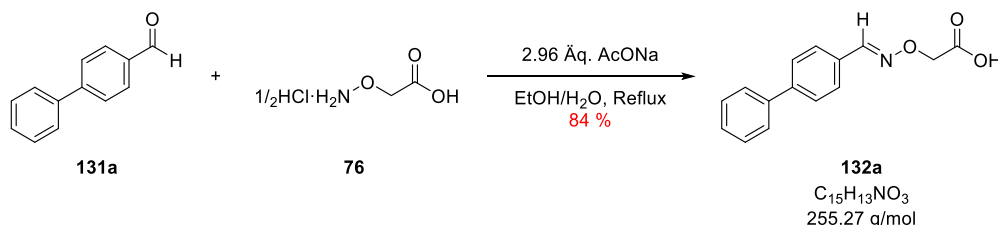
δ (ppm) = 2.17 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H), 2.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.77 (s, 2H), 7.29 – 7.41 (m, 5H), 7.41 – 7.48 (m, 1H), 7.51 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.68 – 7.79 (m, 3H), 7.88 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H), 11.07 (br s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 32.8, 38.9, 76.8, 127.1, 127.2, 127.4, 128.2, 128.3, 128.5, 128.8, 129.1, 135.9, 138.5, 139.0, 143.9, 166.9.

HPLC *t_R* = 12.78 min (Methode 1) A.U.C = 98.9 %

2-(((1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)essigsäure (**132a**)



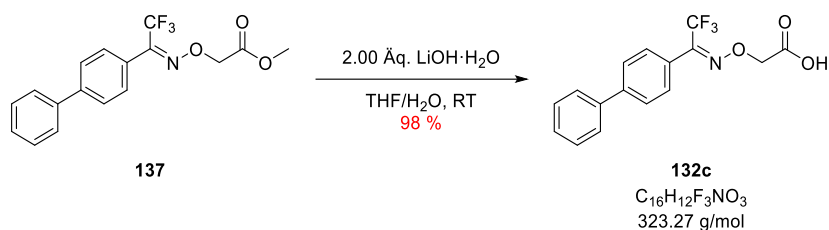
Die Darstellung von 2-(((1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)essigsäure (**132a**) wurde analog zur Vorschrift von van DIJK *et al.* durchgeführt.^[442]

4-Biphenylcarboxaldehyd (**131a**) (3.00 g, 16.5 mmol, 1.00 Äq.), *O*-(Carboxymethyl)hydroxylamin Hemihydrochlorid (**76**) (2.08 g, 19.0 mmol, 1.15 Äq.) und Natriumacetat (4.01 g, 48.9 mmol, 2.96 Äq.) wurden 30.0 mL Ethanol/Wasser (8:2 v/v) vorgelegt und für 5 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension unter Rühren auf 300 mL Eiswasser gegeben, mit 2 M Salzsäure-Lösung der pH-Wert auf 3 eingestellt und die wässrige Suspension dreimal mit jeweils 100 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester umkristallisiert. 2-(((1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)essigsäure (**132a**) konnte als weiße Nadeln (3.56 g, 13.9 mmol, 84 %) erhalten werden.

HPLC

$t_R = 13.72$ min (Methode 1) A.U.C = 95.7 %

2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethyliden)amino)oxy)essigsäure (**132c**)



Zu einer Lösung von Methyl 2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethyliden)amino)oxy)acetat (**137**) (0.65 g, 1.92 mmol, 1.00 Äq.) in 18.0 mL Tetrahydrofuran wurde in 6.00 mL dest. Wasser gelöstes Lithiumhydroxid Monohydrat (0.16 g, 3.83 mmol, 2.00 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 16 h bei 30 °C gerührt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 100 mL dest. Wasser gelöst. Mit 3 M Salzsäure wurde der pH-Wert der Lösung auf 4 eingestellt, das ausgefallene Reaktionsprodukt abgesaugt, mit dest. Wasser gewaschen und über Nacht unter Hochvakuum getrocknet. 2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethyliden)amino)oxy)essigsäure (**132c**) konnte als weißer Feststoff (0.60 g, 1.87 mmol, 98 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 176.6 °C

R_f 0.20 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 4.82 (s, 2H), 7.42 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.50 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.73 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 71.7, 120.3 (d, $^1J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = 274.8$ Hz), 124.7, 126.8, 126.9, 125.8 – 130.4 (m), 128.1, 128.8 – 129.0 (m), 138.9, 142.4, 146.1 (d, $^2J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = 31.9$ Hz), 169.8.

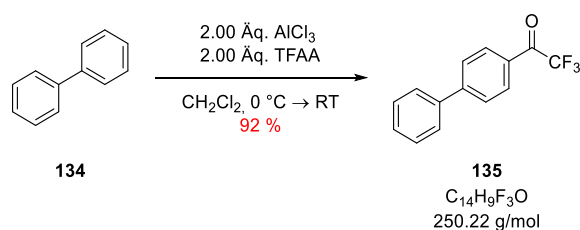
^{19}F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -65.1.

HPLC

$t_R = 14.48$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-on (**135**)



Die Darstellung von 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-on (**135**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von WANG *et al.* durchgeführt.^[445]

Unter Stickstoffatmosphäre wurde Aluminiumtrichlorid (2.72 g, 20.0 mmol, 2.00 Äq.) in 50.0 mL absolutem Dichlormethan suspendiert und mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Zu der Suspension wurde langsam Trifluoressigsäureanhydrid (2.78 mL, 20.0 mmol, 2.00 Äq.) in 15.0 mL absolutem Dichlormethan hinzugegeben und für 15 min gerührt. Anschließend wurde Biphenyl (**134**) (1.54 g, 10.0 mmol, 1.00 Äq.) gelöst in 10.0 mL absolutem Dichlormethan hinzugegeben, für 30 min gerührt und dann die Eiskühlung entfernt. Nach dem Aufwärmen auf Raumtemperatur wurde für weitere 60 min gerührt und die Reaktion durch die Zugabe von 150 g Eis, 150 mL dest. Wasser und 50.0 mL konz. Salzsäure beendet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden jeweils einmal mit 100 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung, 100 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) gereinigt. Im Anschluss folgte die Umkristallisation aus *n*-Hexan 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-on (**135**) konnte als weißer Feststoff (2.30 g, 9.19 mmol, 92 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[445]

Schmelzpunkt 51.1 °C (Lit.: 49.8-50.9 °C)^[520]

R_f 0.52 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

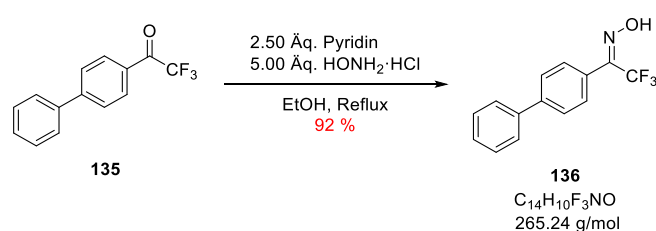
¹H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 7.42 – 7.48 (m, 1H), 7.48 – 7.55 (m, 2H), 7.63 – 7.69 (m, 2H), 7.73 – 7.82 (m, 2H), 8.09 – 8.22 (m, 2H).

¹⁹F NMR (565 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -71.3.

1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-onoxim (**136**)



Die Darstellung von 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-onoxim (**136**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von PROTASOVA *et al.* durchgeführt.^[445]

Eine Lösung von 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-on (**135**) (2.26 g, 9.03 mmol, 1.00 Äq.), Pyridin (1.83 mL, 22.6 mmol, 2.50 Äq.) und Hydroxylamin Hydrochlorid (3.14 g, 45.2 mmol, 5.00 Äq.) in 50.0 mL Ethanol wurde für 16 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde 150 mL dest. Wasser hinzugegeben und viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach der säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) konnte 1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-onoxim (**136**) als weißer Feststoff (2.18 g, 8.28 mmol, 92 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 194.5 °C

R_f 0.20 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 7.37 – 7.44 (m, 1H), 7.45 – 7.53 (m, 2H), 7.59 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.68 – 7.73 (m, 2H), 7.78 – 7.82 (m, 2H), 12.85 (br s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆)

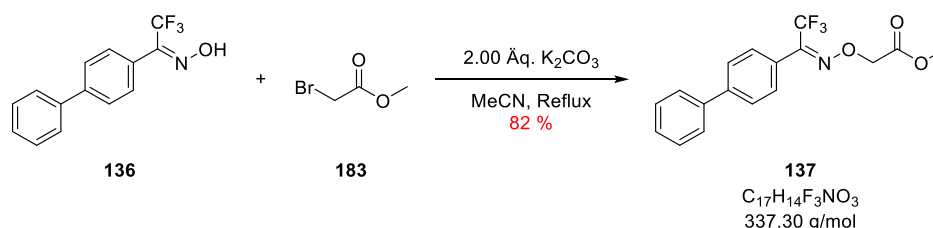
δ (ppm) = 121.1 (d, ¹*J*(¹³C,¹⁹F) = 274.0 Hz), 125.5, 126.8, 128.1, 128.7, 129.0, 129.1, 139.1, 141.8, 144.3 (d, ²*J*(¹³C,¹⁹F) = 31.1 Hz).

¹⁹F NMR (565 MHz, DMSO)

δ (ppm) = -64.69, -61.64.

HPLC *t*_R = 14.80 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

Methyl 2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethyliden)amino)oxy)acetat (**137**)



1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethan-1-onoxim (**136**) (1.55 g, 5.84 mmol, 1.00 Äq.), Methylbromacetat (**183**) (0.92 g, 5.84 mmol, 1.00 Äq.) und Kaliumcarbonat (1.62 g, 11.7 mmol, 2.00 Äq.) wurden in 60.0 mL Acetonitril vorgelegt und für 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50.0 mL Dichlormethan gelöst und mit 50.0 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem

Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) gereinigt. Methyl 2-(((1-[1,1'-Biphenyl]-4-yl)-2,2,2-trifluorethyliden)amino)oxy)acetat (**137**) konnte als weißer Feststoff (1.61 g, 4.77 mmol, 82 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 102.5 °C

R_f 0.43 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.82 (s, 3H), 4.79 (s, 2H), 7.35 – 7.43 (m, 1H), 7.43 – 7.53 (m, 2H), 7.56 – 7.75 (m, 6H).

¹³C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*)

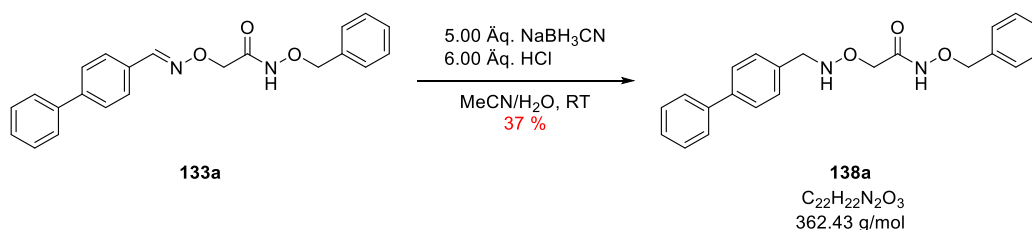
δ (ppm) = 52.2, 72.1, 120.6 (q, ¹J(¹³C, ¹⁹F) = 275.4 Hz), 125.5, 127.3, 127.4, 128.2, 129.1, 129.4, 140.3, 143.7, 148.2 (q, ²J(¹³C, ¹⁹F) = 32.6 Hz), 169.3.

¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃)

δ (ppm) = -66.2, -62.1.

HPLC *t_R* = 16.58 min (Methode 1) A.U.C = >99 %

2-(((1-[1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**138a**)



Die Darstellung von 2-(((1-[1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**138a**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von LIEW *et al.* durchgeführt.^[521]

2-(((1-[1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**133a**) (300 mg, 832 μmol, 1.00 Äq.) wurde 17.0 mL Acetonitril gelöst und mit 3.00 mL dest. Wasser verdünnt. Es folgte die Zugabe von Natriumcyanoborhydrid (130 mg, 2.08 mmol, 2.50 Äq.) und 3 M Salzsäure-Lösung (1.66 mL, 4.99 mmol, 6.00 Äq.). Die Suspension wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt, zusätzliches Natriumcyanoborhydrid (130 mg, 2.08 mmol, 2.50 Äq.) hinzugegeben und für weitere 1 h 30 min gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 50.0 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet, viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch

n-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 6:4) gereinigt. Im Anschluss erfolgte die Umkristallisation aus *n*-Hexan/Chloroform, 2-(((1-[1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**138a**) konnte als weiße Nadeln (113 mg, 312 µmol, 37 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 77.2 °C

R_f 0.55 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 3:7)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.98 (s, 2H), 4.00 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 4.82 (s, 2H), 7.14 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 7.32 – 7.38 (m, 4H), 7.38 – 7.41 (m, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.46 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.62 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.64 – 7.68 (m, 2H), 11.05 (s, 1H).

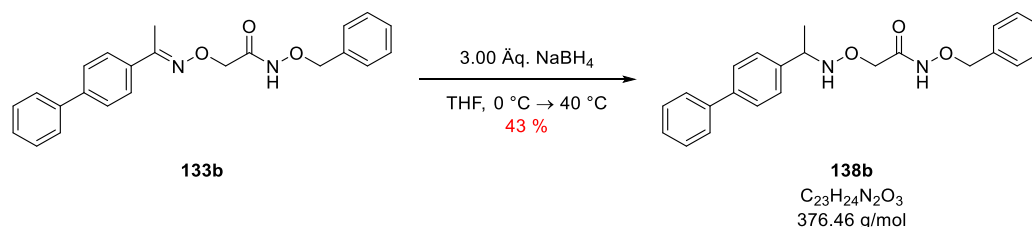
¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 54.8, 71.5, 76.9, 126.4, 126.6, 127.3, 128.2, 128.3, 128.8, 128.9, 129.3, 135.8, 137.4, 138.9, 140.0, 166.7.

MS (ESI): *m/z* berechnet für C₂₂H₂₃N₂O₃ [M+H⁺]: 363.2; gefunden: 363.3.

HPLC *t_R* = 13.40 min (Methode 1) A.U.C = 97.5 %

2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**138b**)



Die Darstellung von 2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**138b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von GINIYATULLINA *et al.* durchgeführt.^[522]

Unter Stickstoffatmosphäre wurde 2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ethyliden)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**133b**) (300 mg, 801 µmol, 1.00 Äq.) in 12.0 mL absolutem Tetrahydrofuran vorgelegt. Die Lösung wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt, Natriumborhydrid (45.6 mg, 1.20 mmol, 1.50 Äq.) hinzugegeben und der Reaktionsansatz auf 40 °C erwärmt. Nach 3 h wurde zusätzliches Natriumborhydrid (45.6 mg, 1.20 mmol, 1.50 Äq.) hinzugegeben und für weitere 2 h gerührt. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 50.0 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung beendet, viermal mit jeweils 50.0 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (7:3 → 6:4) gereinigt. Im

Anschluss erfolgte die Umkristallisation aus *n*-Hexan/Essigsäureethylester, 2-(((1-([1,1'-Biphenyl]-4-yl)ethyl)amino)oxy)-*N*-(benzyloxy)acetamid (**138b**) konnte als weißer Feststoff (129 mg, 344 μ mol, 43 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 117.1 °C

R_f 0.19 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 2:3)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

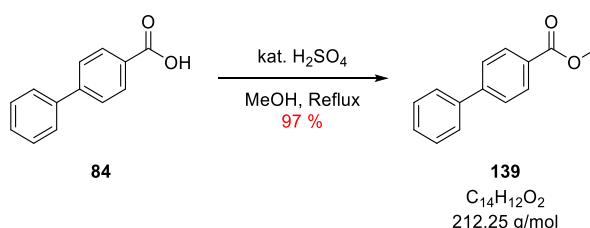
δ (ppm) = 1.26 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 3.96 (s, 2H), 4.13 (p, *J* = 6.6 Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 6.99 (d, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.32 – 7.38 (m, 4H), 7.38 – 7.42 (m, 2H), 7.42 – 7.48 (m, 4H), 7.61 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.65 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 11.00 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 19.6, 59.2, 72.0, 76.9, 126.5, 126.6, 127.3, 127.6, 128.2, 128.3, 128.8, 128.9, 135.8, 138.9, 140.0, 142.6, 166.6.

HPLC t_R = 14.28 min (Methode 1) A.U.C = 95.0 %

Methyl [1,1'-Biphenyl]-4-carboxylat (**139**)



Die Darstellung von Methyl [1,1'-Biphenyl]-4-carboxylat (**139**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von de OLIVEIRA *et al.* durchgeführt.^[523]

Zu einer Lösung von Biphenyl-4-carbonsäure (**84**) (3.00 g, 15.1 mmol, 1.00 Äq.) in 200 mL Methanol wurde aktiviertes 3 Å Molekularsieb (10.0 g) und 3 Tropfen konz. Schwefelsäure hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 8 h zum Rückfluss erhitzt, auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und anschließend abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 200 mL eiskaltem dest. Wasser suspendiert. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit dest. Wasser gewaschen und das Rohprodukt aus Methanol umkristallisiert. Methyl [1,1'-Biphenyl]-4-carboxylat (**139**) konnte als weiße Nadeln (3.13 g, 14.7 mmol, 97 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[524]

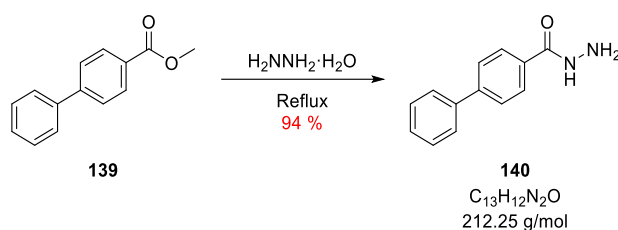
¹H NMR (300 MHz, Chloroform-*d*)

δ (ppm) = 3.95 (s, 3H), 7.34 – 7.43 (m, 1H), 7.47 (ddt, *J* = 8.1, 6.5, 1.1 Hz, 2H), 7.58 – 7.72 (m, 4H), 8.06 – 8.18 (m, 2H).

HPLC

$t_R = 15.95$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

[1,1'-Biphenyl]-4-carbohydrazid (**140**)



Die Darstellung von [1,1'-Biphenyl]-4-carbohydrazid (**140**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von RODRIGUES *et al.* durchgeführt.^[525]

Methyl [1,1'-Biphenyl]-4-carboxylat (**139**) (5.24 g, 24.7 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 60.0 mL Hydrazin Monohydrat suspendiert und für 8 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das ausgefallene Reaktionsprodukt abfiltriert, mehrfach mit eiskaltem dest. Wasser gewaschen und über Nach im Hochvakuum getrocknet. [1,1'-Biphenyl]-4-carbohydrazid (**140**) konnte als weiße Nadeln (4.90 g, 23.1 mmol, 94 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[525]

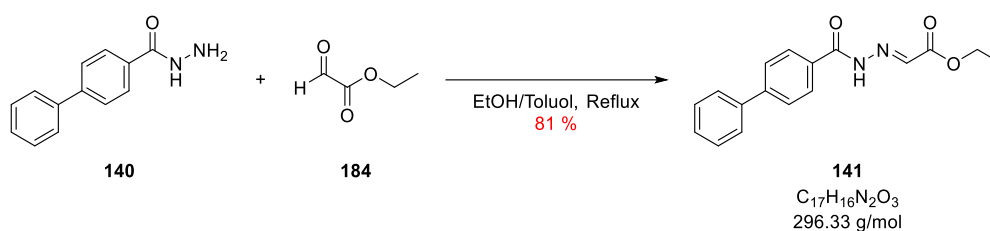
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.52 (s, 2H), 7.34 – 7.44 (m, 1H), 7.45 – 7.54 (m, 2H), 7.67 – 7.79 (m, 4H), 7.89 – 7.96 (m, 2H), 9.83 (s, 1H).

HPLC

$t_R = 8.00$ min (Methode 1) A.U.C = >99 %

Ethyl 2-(2-([1,1'-biphenyl]-4-carbonyl)hydrazineyliden)acetat (**141**)



[1,1'-Biphenyl]-4-carbohydrazid (**140**) (5.22 g, 24.6 mmol, 1.00 Äq.) und Ethylglyoxylat (**184**) (ca. 50 Gew.-% in Toluol, 5.02 g, 24.6 mmol, 1.00 Äq.) wurden in 50.0 mL Ethanol für 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz mit 200 mL dest. Wasser verdünnt und dreimal mit jeweils 100 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem

Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (3:2 → 1:1) konnte Ethyl 2-(2-([1,1'-biphenyl]-4-carbonyl)hydrazineyliden)acetat (**141**) als weißer Feststoff (5.93 g, 20.0 mmol, 81 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 156.3 °C

R_f 0.41 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 1:1)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

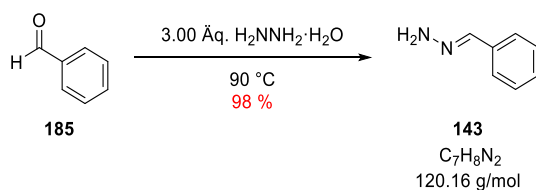
δ (ppm) = 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 4.26 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.38 – 7.47 (m, 1H), 7.47 – 7.57 (m, 2H), 7.70 – 7.80 (m, 2H), 7.82 (s, 1H), 7.83 – 7.90 (m, 2H), 8.01 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 12.35 (s, 1H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 14.1, 60.8, 126.7, 126.9, 128.3, 128.7, 129.0, 131.1, 137.6, 138.9, 143.9, 163.0, 163.5.

HPLC *t_R* = 12.80 min (Methode 1) A.U.C = 95.6 %

Benzylidenhydrazin (143)



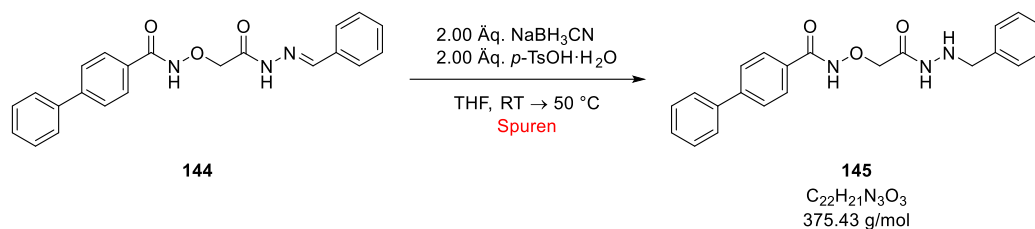
Die Darstellung von Benzylidenhydrazin (**143**) wurde nach einer Vorschrift von WITSCHER *et al.* durchgeführt.^[447]

In einem verschließbaren Druckrohr wurde Benzaldehyd (**185**) (5.88 g, 55.4 mmol, 1.00 Äq) langsam zu Hydrazin Monohydrat (8.00 mL, 155 mmol, 3.00 Äq.) hinzuge tropft. Nach dem Abklingen der exothermen Reaktion wurde das Druckrohr verschlossen und der Reaktionsansatz für 16 h bei 90 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Emulsion dreimal mit jeweils 15.0 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Benzylidenhydrazin (**143**) konnte als gelbe Flüssigkeit (6.52 g, 54.3 mmol, 98 %) erhalten werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 6.77 (s, 2H), 7.17 – 7.27 (m, 1H), 7.27 – 7.37 (m, 2H), 7.43 – 7.54 (m, 2H), 7.71 (s, 1H).

N-(2-(2-Benzylhydrazineyl)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**145**)



N-(2-(2-Benzylidenhydrazinyl)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**144**) (1.04 g, 2.77 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 100 mL Tetrahydrofuran vorgelegt. Nacheinander wurde Natriumcyanoborhydrid (174 mg, 2.77 mmol, 1.00 Äq.) und *para*-Toluolsulfonsäure Monohydrat (527 mg, 2.77 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und der Reaktionsansatz für 8 h bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde Natriumcyanoborhydrid (174 mg, 2.77 mmol, 1.00 Äq.) und *para*-Toluolsulfonsäure Monohydrat (527 mg, 2.77 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und für weitere 8 h bei 50 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 50 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gelöst und viermal mit jeweils 50 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, das Rohprodukt an Kieselgeld adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (1:1 \rightarrow 0:1) gereinigt. *N*-(2-(2-Benzylhydrazineyl)-2-oxoethoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-carboxamid (**145**) konnte in Spuren als farbloses Öl in verunreinigter Form erhalten werden.

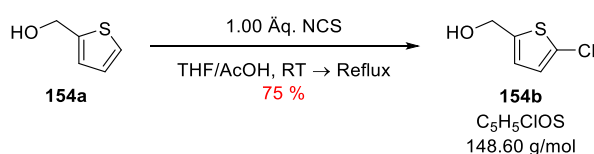
R_f 0.21 (Essigsäureethylester)

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 3.89 (dd, $J = 13.2, 7.6$ Hz, 1H), 4.27 (dd, $J = 13.2, 3.2$ Hz, 1H), 4.31 – 4.45 (m, 2H), 7.21 (q, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.25 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.35 – 7.46 (m, 3H), 7.50 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.73 – 7.79 (m, 2H), 7.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 10.08 (s, 1H), 10.85 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 12.14 (s, 1H).

HPLC $t_R = 13.22$ min (Methode 1) A.U.C = 83.5 %

(5-Chlorhiophen-2-yl)methanol (**154b**)



Die Darstellung von (5-Chlorhiophen-2-yl)methanol (**154b**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von PENGFEI *et al.* durchgeführt.^[526]

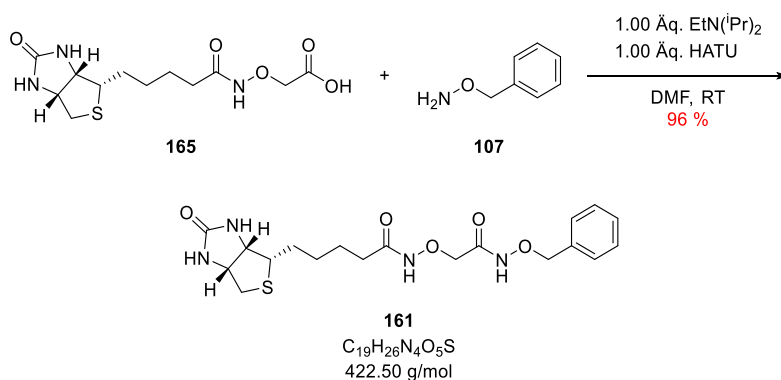
In 15.0 mL Tetrahydrofuran und 15.0 mL Essigsäure wurde 2-Thiophenmethanol (**154a**) (3.00 g, 26.3 mmol, 1.00 Äq.) und *N*-Chlorsuccinimid (3.51 g, 26.3 mmol, 1.00 Äq.) vorgelegt. Der Reaktionsansatz wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt und dann für 1 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde 50.0 mL Tetrahydrofuran hinzugegeben und dreimal jeweils 150 mL 3 M Natriumhydroxid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und nach der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 8:2) konnte (5-Chlorhiophen-2-yl)methanol (**154b**) als klare Flüssigkeit (2.93 g, 19.7 mmol, 75 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[527]

R_f 0.45 (*n*-Hexan/Essigsäureethylester 7:3)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 4.56 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H), 5.57 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 6.81 (dt, *J* = 3.7, 1.1 Hz, 1H), 6.94 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H).

N-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-5-((3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamid (**161**)



Die Darstellung von *N*-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-5-((3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamid (**161**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von PFLIEGER *et al.* durchgeführt.^[457]

Unter Stickstoffatmosphäre wurde in 10.0 mL absolutem *N,N*-Dimethylformamid 2-((5-((3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)oxy)essigsäure (**165**) (200 mg, 0.63 mmol, 1.00 Äq.) und *N,N*-Diisopropylethylamin (221 µL, 1.26 mmol,

2.00 Äq.) vorgelegt. Die Lösung wurde für 10 min bei Raumtemperatur gerührt und *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (240 mg, 0.63 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Nach 30 min wurde *O*-Benzylhydroxylamin (**107**) (78 mg, 0.63 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben und der Reaktionsansatz für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (100:0 → 95:5) gereinigt. *N*-(2-((Benzyloxy)amino)-2-oxoethoxy)-5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamid (**161**) wurde als weißer Feststoff (256 mg, 606 μmol, 96 %) erhalten.

Schmelzpunkt 85.9 °C

R_f 0.16 (Dichlormethan/Methanol 9:1)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.21 – 1.37 (m, 1H), 1.40 – 1.56 (m, 3H), 1.55 – 1.67 (m, 1H), 1.99 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.57 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 2.81 (dd, *J* = 12.4, 5.1 Hz, 1H), 3.09 (dt, *J* = 10.9, 5.4 Hz, 1H), 4.12 (ddd, *J* = 7.2, 4.6, 1.8 Hz, 1H), 4.23 (s, 2H), 4.29 (dd, *J* = 7.7, 5.1 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H), 6.36 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 7.33 – 7.44 (m, 5H), 11.33 (s, 1H), 11.47 (s, 1H).

¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

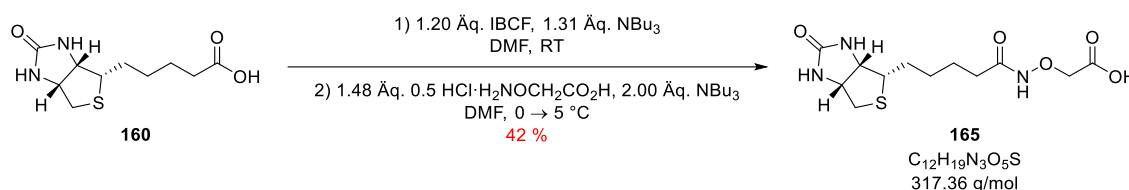
δ (ppm) = 25.3, 28.4, 28.5, 32.2, 40.3, 55.8, 59.6, 61.5, 73.5, 77.5, 128.8, 129.2, 136.2, 163.2, 165.3, 170.9.

HPLC *t_R* = 7.26 min (Methode 1) A.U.C (220 nm) = 96.2 %

Elementaranalyse (%)

Berechnet für C₁₉H₂₆N₄O₅S: C 54.01, H 6.20, N 13.26, S 7.59 gefunden: C 49.99, H 6.23, N 12.31, S 6.99.

2-((5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)oxy)essigsäure (**165**)



Die Darstellung von 2-((5-((3*aS*,4*S*,6*aR*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)oxy)essigsäure (**165**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von SKANDER *et al.* durchgeführt.^[468]

Zu einer Lösung von D(+)-Biotin (**160**) (500 mg, 2.01 mmol, 1.00 Äq.) und Tributylamin (0.64 mL, 2.69 mmol, 1.31 Äq.) in 40.0 mL absolutem *N,N*-Dimethylformamid wurde

Chlorameisensäureisobutylester (0.31 mL, 2.41 mmol, 1.20 Äq.) hinzugetropft. Nach 10 min rühren bei Raumtemperatur wurde die Lösung unter Eiskühlung langsam zu einer Suspension von *O*-(Carboxymethyl)hydroxylamin Hemihydrochlorid (**76**) (324 mg, 2.97 mmol, 1.48 Äq.) und Tributylamin (0.96 mL, 4.01 mmol, 2.00 Äq.) in 40.0 mL absolutem *N,N*-Dimethylformamid hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 2 h bei 0-5 °C gerührt, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 36.0 mL warmen dest. Wasser/Ethanol-Mischung (1:1) gelöst. Die Lösung wurde mit einer 2 M Salzsäure-Lösung auf einen pH-Wert von 2 eingestellt und für 16 h bei -17 °C stehen gelassen. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abfiltriert, dreimal mit jeweils 30.0 mL eiskaltem dest. Wasser gewaschen und über Nacht unter Hochvakuum getrocknet. 2-((5-((3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydro-1*H*-thieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl)pentanamido)oxy)essigsäure (**165**) konnte als weißer Feststoff (270 mg, 0.85 mmol, 42 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 172.2 °C

R_f 0.11 (Dichlormethan/Methanol 8:2)

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.19 – 1.67 (m, 6H), 1.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.57 (d, *J* = 12.4 Hz, 1H), 2.82 (dd, *J* = 12.4, 5.1 Hz, 1H), 3.09 (ddd, *J* = 8.5, 6.2, 4.4 Hz, 1H), 4.12 (ddd, *J* = 7.7, 4.5, 1.9 Hz, 1H), 4.30 (dd, *J* = 7.7, 5.1 Hz, 1H), 4.33 (s, 2H), 6.35 (s, 1H), 6.41 (s, 1H), 11.20 (s, 1H), 12.97 (s, 1H).

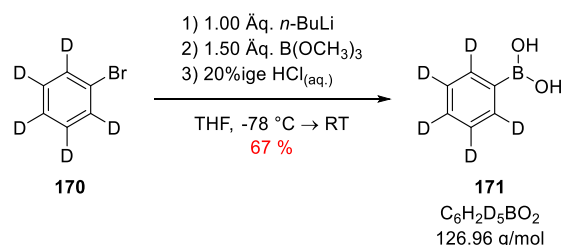
¹³C NMR (151 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 24.8, 27.9, 28.0, 31.7, 39.8, 55.3, 59.2, 61.0, 71.8, 162.7, 170.0, 170.3.

Elementaranalyse (%)

Berechnet für C₁₂H₁₉N₃O₅S: C 45.42, H 6.03, N 12.24, S 10.10 gefunden: C 44.64, H 6.25, N 12.81, S 10.15.

(Phenyl-*d*₅)boronsäure (**171**)^[45]



Die Darstellung von (Phenyl-*d*₅)boronsäure (**171**) wurde nach der Vorschrift von WANG *et al.* durchgeführt.^[528]

In einem Dreihalskolben wurde unter Argonatmosphäre Brombenzen-*d*₅ (**170**) (3.24 g, 20.0 mmol, 1.00 Äq.) in 50.0 mL absolutem Tetrahydrofuran vorgelegt und mit einem Aceton/Trockeneis-Kältebad auf -78 °C abgekühlt. Unter ständigem Rühren wurde die Lösung

tropfenweise mit *n*-Butyllithium (12.5 mL, 1.6 M in *n*-Hexan, 20.0 mmol, 1.00 Äq.) versetzt und für 2 h bei -78 °C gerührt. Dazu wurde eine Lösung von Borsäuretrimethylester (3.15 g, 30 mmol, 1.50 Äq.) in 5.00 mL absolutem Tetrahydrofuran hinzugetropft, der Reaktionsansatz auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 35.0 mL 20%iger Salzsäure-Lösung beendet, das Volumen der Lösung bei 30 °C mit einem Rotationsverdampfer um die Hälfte reduziert und dann mit 50.0 mL dest. Wasser verdünnt. Das resultierende zweiphasige Gemisch wurde zweimal mit je 25.0 mL Diethylether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen zweimal mit je 25.0 mL dest. Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der viskose Rückstand in 40.0 mL einer 10%igen Natriumhydroxid-Lösung aufgenommen und die Nebenprodukte mit 40.0 mL Diethylether extrahiert. Der pH-Wert der basischen, wässrigen Phase wurde bei 0 °C mit einer 10%igen Salzsäure-Lösung auf 7 eingestellt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abfiltriert und dreimal mit jeweils 30.0 mL dest. Wasser gewaschen. (Phenyl-*d*₅)boronsäure (**171**) konnte als weißer Feststoff (1.70 g, 13.4 mmol, 67 %) erhalten werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 8.00 (s, 2H).

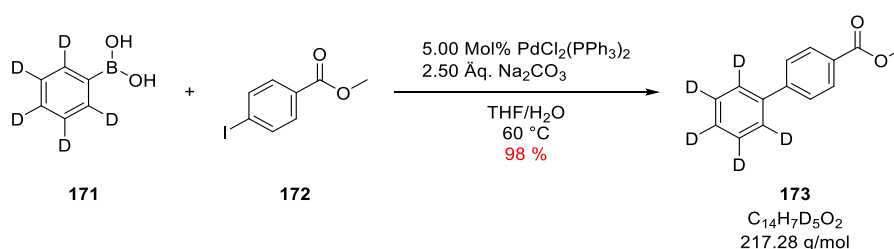
¹¹B NMR (193 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 29.2.

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 126.5, 126.8, 127.1, 133.3, 133.6, 133.9.

Methyl [1,1'-biphenyl]-4-carboxylat-2',3',4',5',6'-*d*₅ (173**)**



Die Darstellung von Methyl [1,1'-biphenyl]-4-carboxylat-2',3',4',5',6'-*d*₅ (**173**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von WANG *et al.* durchgeführt.^[528]

Zu einer Lösung von (Phenyl-*d*₅)boronsäure (**171**) (0.69 g, 5.46 mmol, 1.00 Äq.), Natriumcarbonat (1.45 g, 13.6 mmol, 2.50 Äq.) in 10.0 mL dest. Wasser und 10.0 mL Tetrahydrofuran wurde 4-Iodbenzoesäuremethylester (**172**) (1.43 g, 5.46 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde dreimal mit Argon entgast, Bis(triphenylphosphin)palladium(II)dichlorid (192 mg, 273 µmol, 5 Mol%) hinzugegeben und

das Reaktionsgefäß mit Argon geflutet. Der Reaktionsansatz wurde auf 60 °C erwärmt und für 5 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der Ansatz mit 20.0 mL dest. Wasser verdünnt und dreimal mit jeweils 30.0 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert. Methyl [1,1'-biphenyl]-4-carboxylat-2',3',4',5',6'-*d*₅ (**173**) konnte nach der säulenchromatographischen Reinigung mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (100:0 → 95:5) als weißer Feststoff (1.16 g, 5.34 mmol, 98 %) erhalten werden.

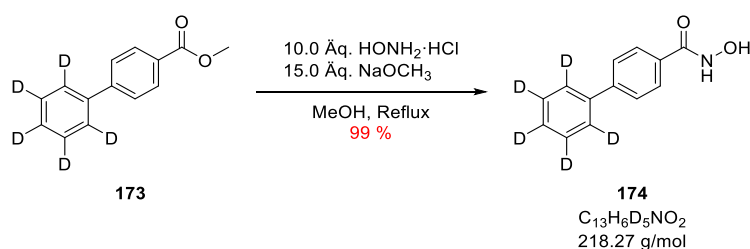
¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 3.88 (s, 3H), 7.80 – 7.86 (m, 2H), 8.01 – 8.07 (m, 2H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 52.1, 126.9, 128.4, 129.8, 144.6, 166.0.

N-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-2',3',4',5',6'-*d*₅-4-carboxamid (**174**)



Die Darstellung von *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-2',3',4',5',6'-*d*₅-4-carboxamid (**174**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von PFLIEGER *et al.* durchgeführt.^[457]

Zu einer Lösung von Methyl [1,1'-biphenyl]-4-carboxylat-2',3',4',5',6'-*d*₅ (**173**) (1.16 g, 5.34 mmol, 1.00 Äq.) und Hydroxylamin Hydrochlorid (3.71 g, 53.4 mmol, 10.0 Äq.) in 30.0 mL Methanol wurde eine methanolische Natriummethanolat-Lösung (30 Gew.-%, 14.3 mL, 80.1 mmol, 15.0 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit 70.0 mL dest. Wasser verdünnt, mit einem Eisbad gekühlt und dessen pH-Wert mit einer 6 M Salzsäure-Lösung auf 1 eingestellt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde abfiltriert und je dreimal mit 50.0 mL eiskaltem dest. Wasser gewaschen. *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-2',3',4',5',6'-*d*₅-4-carboxamid (**174**) wurde als weißer Feststoff (1.16 g, 5.31 mmol, 99 %) erhalten und ohne zusätzliche Reinigung verwendet.

Schmelzpunkt 193.5 °C

R_f 0.16 (Dichlormethan/Methanol 95:5)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 7.73 – 7.79 (m, 2H), 7.85 – 7.90 (m, 2H), 9.09 (s, 1H), 11.32 (s, 1H).

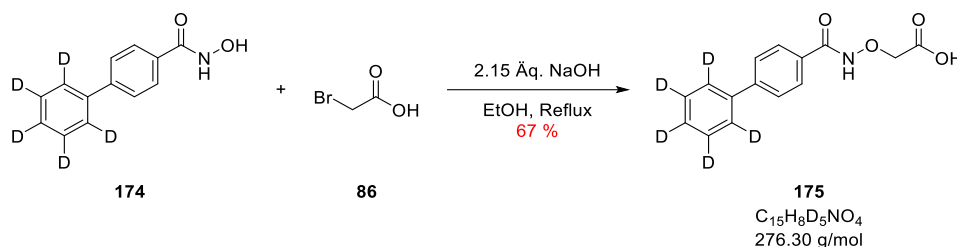
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 126.6, 127.5, 131.6, 139.0, 142.6, 163.9.

MS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{D}_5\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}^+]$: 219.1; gefunden: 219.1.

HPLC t_{R} = 9.00 min (Methode 1) A.U.C = 93.8 %

2-(((1,1'-Biphenyl]-4-carboxamid-2',3',4',5',6'- d_5)oxy)essigsäure (**175**)



Die Darstellung von 2-(((1,1'-Biphenyl]-4-carboxamido-2',3',4',5',6'- d_5)oxy)essigsäure (**175**) wurde in Anlehnung an die Vorschrift von McHALE *et al.* durchgeführt.^[424]

Zu einer Lösung von Natriumhydroxid (197 mg, 4.93 mmol, 2.15 Äq.) in 15.0 mL Ethanol wurde nacheinander Bromessigsäure (**86**) (350 mg, 2.52 mmol, 1.10 Äq.) und *N*-Hydroxy-[1,1'-biphenyl]-2',3',4',5',6'- d_5 -4-carboxamid (**174**) (500 mg, 2.29 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt, der Rückstand in 20.0 mL dest. Wasser gelöst und der pH-Wert der Lösung mit einer 2 M Salzsäure-Lösung auf 4 eingestellt. Die wässrige Suspension wurde viermal mit jeweils 20.0 mL Dichlormethan extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus *n*-Hexan/Ethanol umkristallisiert. 2-(((1,1'-Biphenyl]-4-carboxamido-2',3',4',5',6'- d_5)oxy)essigsäure (**175**) konnte als weiße Nadeln (424 mg, 1.53 mmol, 67 %) erhalten werden.

Schmelzpunkt 187.8 °C

R_f 0.26 (Dichlormethan/Methanol 95:5 + 0.1 % TFA)

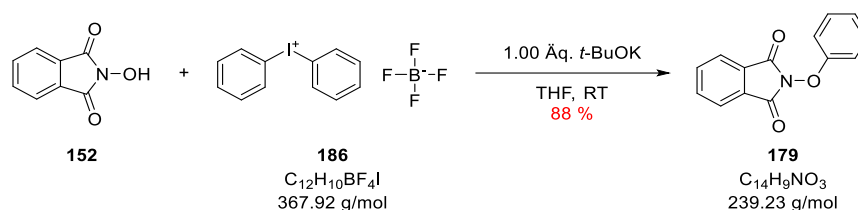
^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6)

δ (ppm) = 4.53 (s, 2H), 7.77 (d, J = 8.1 Hz, 2H), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 12.13 (s, 1H), 12.89 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO)

δ (ppm) = 71.8, 126.4, 126.6, 127.8, 128.1, 130.5, 138.8, 143.2, 170.1.

HPLC t_{R} = 10.19 min (Methode 1) A.U.C = 98.2 %

2-Phenoxyisoindolin-1,3-dion (**179**)


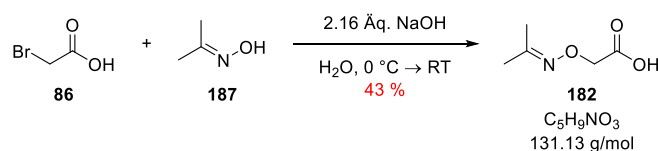
Die Darstellung von 2-Phenoxyisoindolin-1,3-dion (**179**) wurde nach einer Vorschrift von CASTRO *et al.* durchgeführt.^[529]

N-Hydroxyphthalimid (**152**) (2.00 g, 5.44 mmol, 1.00 Äq.) wurde in 50.0 mL Tetrahydrofuran gelöst und Kalium-*tert*-butanolat (0.62 g, 5.44 mmol, 1.00 Äq.) versetzt. Die Suspension wurde für 10 min bei Raumtemperatur gerührt und Diphenyliodonium Tetrafluoroborat (**186**) (0.89 g, 5.44 mmol, 1.00 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend über Kieselgel abfiltriert und mit 10.0 mL Tetrahydrofuran gewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch *n*-Hexan/Essigsäureethylester (9:1 → 7:3) gereinigt. 2-Phenoxyisoindolin-1,3-dion (**179**) konnte als weißer Feststoff (1.15 g, 4.81 mmol, 88 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[529]

Schmelzpunkt 140.8 °C (Lit.: 143.5-145 °C)^[530]

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 7.16 (tt, *J* = 7.2, 1.0 Hz, 1H), 7.22 – 7.28 (m, 2H), 7.36 – 7.42 (m, 2H), 7.90 – 7.99 (m, 4H).

 2-((Propan-2-ylidenamino)oxy)essigsäure (**182**)


Die Darstellung von 2-((Propan-2-ylidenamino)oxy)essigsäure (**182**) wurde nach einer Vorschrift von PFEIFFER *et al.* durchgeführt.^[513]

Bromessigsäure (**86**) (6.66 g, 48.0 mmol, 1.12 Äq.) wurde in 10.0 mL dest. Wasser gelöst und mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Unter Rühren wurde Natriumhydroxid-Lösung (3.50 mL, 50 mmol, 1.16 Äq., 40% w/w) hinzuge tropft, während die Temperatur unter 20 °C gehalten wurde. Anschließend wurde in 15.0 mL dest. Wasser gelöstes Acetoneoxim (**187**) (3.14 g, 43 mmol, 1.00 Äq.) und Natriumhydroxid-Lösung (3.00 mL, 43 mmol, 1.00 Äq., 40% w/w)

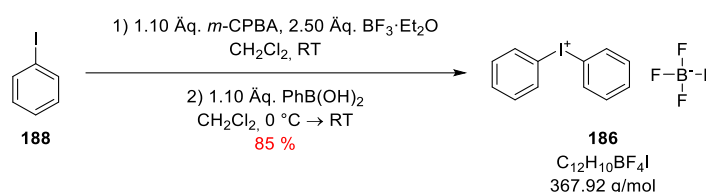
hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 16 h gerührt. Die wässrige Phase wurde mit 50.0 mL Diethylether extrahiert, dann mit 1 M Salzsäure-Lösung der pH-Wert auf 1 eingestellt und viermal mit jeweils 50.0 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. 2-((Propan-2-ylidenamino)oxy)essigsäure (**182**) konnte als farblose Kristalle (2.40 g, 18.3 mmol, 43 %) erhalten werden und wurde ohne weitere Reinigungsschritte für den nächsten Schritt verwendet. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[513]

Schmelzpunkt 74.5 °C (Lit.: 76-76.5 °C)^[531]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 1.79 (s, 3H), 1.82 (s, 3H), 4.44 (s, 2H), 12.65 (br s, 1H).

Diphenyliodonium Tetrafluorborat (**186**)



Die Darstellung von Diphenyliodonium Tetrafluorborat (**186**) wurde nach einer Vorschrift von BIELAWSKI *et al.* durchgeführt.^[532]

Vor der Verwendung wurde *meta*-Chlorperbenzoesäure für 1 h bei Raumtemperatur unter Hochvakuum getrocknet. Zu einer Lösung von Iodbenzen (**188**) (2.08 g, 10.0 mmol, 1.00 Äq.) und *meta*-Chlorperbenzoesäure (1.90 g, 11.0 mmol, 1.10 Äq.) in 30.0 mL absolutem Dichlormethan wurde Bortrifluorid-Diethyletherat (3.09 mL, 25.0 mmol, 2.50 Äq.) hinzugegeben. Die Lösung wurde für 30 min bei Raumtemperatur gerührt, dann mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und in kleinen Portionen Phenylboronsäure (1.37 g, 11.0 mmol, 1.10 Äq.) hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde auf Raumtemperatur aufwärmen gelassen und für 15 min gerührt. Anschließend wurde die Lösung über Kieselgel abfiltriert, mit 10.0 mL Dichlormethan gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde an Kieselgel adsorbiert und säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Laufmittelgemisch Dichlormethan/Methanol (100:0 → 95:5) gereinigt. Das Reaktionsprodukt wurde in 10.0 mL Diethylether suspendiert, für 15 min gerührt und dekantiert, dieser Prozess wurde zweimal wiederholt. Diphenyliodonium Tetrafluorborat (**186**) konnte als weißer Feststoff (3.14 g, 8.53 mmol,

85 %) erhalten werden. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in der Literatur angegebenen überein.^[532]

Schmelzpunkt 132.2 °C (Lit.: 133-135 °C)^[533]

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆)

δ (ppm) = 7.46 – 7.61 (m, 4H), 7.63 – 7.73 (m, 2H), 8.19 – 8.30 (m, 4H).

7 Literaturverzeichnis

- [1] B. Boddington, T. Rogall, T. Flohr, H. Blocker, E. C. Bottger, *J. Clin. Microbiol.* **1990**, 28, 1751–1759.
- [2] B. A. Forbes, G. S. Hall, M. B. Miller, S. M. Novak, M. C. Rowlinson, M. Salfinger, A. Somoskövi, D. M. Warshauer, M. L. Wilson, *Clin. Microbiol. Rev.* **2018**, 31, 1–66.
- [3] G. Delogu, M. Sali, G. Fadda, *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* **2013**, 5, DOI 10.4084/mjhid.2013.070.
- [4] S. Sreevatsan, X. Pan, K. E. Stockbauer, N. D. Connell, B. N. Kreiswirth, T. S. Whittam, J. M. Musser, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1997**, 94, 9869–9874.
- [5] V. Chernick, *Pediatr. Pulmonol.* **2004**, 38, 1.
- [6] I. Comas, M. Coscolla, T. Luo, S. Borrell, K. E. Holt, M. Kato-Maeda, J. Parkhill, B. Malla, S. Berg, G. Thwaites, D. Yeboah-Manu, G. Bothamley, J. Mei, L. Wei, S. Bentley, S. R. Harris, S. Niemann, R. Diel, A. Aseffa, Q. Gao, D. Young, S. Gagneux, *Nat. Genet.* **2013**, 45, 1176–1182.
- [7] L. Realini, K. De Ridder, J. C. Palomino, B. Hirschel, F. Portaels, *J. Clin. Microbiol.* **1998**, 36, 2565–2570.
- [8] G. M. Cook, M. Berney, S. Gebhard, M. Heinemann, R. A. Cox, O. Danilchanka, M. Niederweis, *Adv. Microb. Physiol.* **2009**, 55, 81–319.
- [9] S. M. Hingley-Wilson, V. K. Sambandamurthy, W. R. Jacobs, *Nat. Immunol.* **2003**, 4, 949–955.
- [10] D. Kaur, M. E. Guerin, H. Škovierová, P. J. Brennan, *Adv. Appl. Microbiol.* **2009**, 69, 23–78.
- [11] and C. K. Nicole Jung-Eun Kim, Victoria Breckwich Vásquez, Elizabeth Torrese, R. M., Bud Nicola, *Physiol. Behav.* **2017**, 176, 139–148.
- [12] M. Jackson, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2014**, 4, 1–22.
- [13] A. Ortalo-Magne, M. A. Dupont, A. Lemassu, A. B. Andersen, P. Gounon, M. Daffe, *Microbiology* **1995**, 141, 1609–1620.
- [14] J. Nigou, M. Gilleron, G. Puzo, *Biochimie* **2003**, 85, 153–166.
- [15] D. Chatterjee, K. H. Khoo, *Glycobiology* **1998**, 8, 113–120.
- [16] S. Pitarque, G. Larrouy-Maumus, B. Payré, M. Jackson, G. Puzo, J. Nigou, *Tuberculosis* **2008**, 88, 560–565.
- [17] M. L. Belcher Dufresne, C. D. Jorge, O. B. Clarke, W. A. Hendrickson, H. Santos, F. Mancia, *Biophys. J.* **2018**, 114, 236a.
- [18] E. North, M. Jackson, R. Lee, *Curr. Pharm. Des.* **2014**, 20, 4357–4378.
- [19] K. Takayama, C. Wang, G. S. Besra, *Society* **2005**, 18, 81–101.

- [20] C. E. Barry, R. E. Lee, K. Mdluli, A. E. Sampson, B. G. Schroeder, R. A. Slayden, Y. Yuan, *Prog. Lipid Res.* **1998**, *37*, 143–179.
- [21] L. S. Schlesinger, *J. Immunol.* **1993**, *150*, 2920–30.
- [22] C. E. Stamm, A. C. Collins, M. U. Shiloh, *Immunol. Rev.* **2015**, *264*, 204–219.
- [23] C. V. Harding, W. H. Boom, *Nat. Rev. Microbiol.* **2010**, *8*, 296–307.
- [24] V. Quesniaux, C. Fremond, M. Jacobs, S. Parida, D. Nicolle, V. Yeremeev, F. Bihl, F. Erard, T. Botha, M. Drennan, M. N. Soler, M. Le Bert, B. Schnyder, B. Ryffel, *Microbes Infect.* **2004**, *6*, 946–959.
- [25] R. Simeone, F. Sayes, O. Song, M. I. Gröschel, P. Brodin, R. Brosch, L. Majlessi, *PLoS Pathog.* **2015**, *11*, 1–24.
- [26] J. A. Armstrong, D. Hart, *J. Exp. Med.* **1971**, *134*, 713–740.
- [27] M. J. Harriff, G. E. Purdy, D. M. Lewinsohn, *Front. Immunol.* **2012**, *3*, 1–11.
- [28] J. L. Flynn, J. Chan, **2010**, 1–39.
- [29] E. H. Noss, R. K. Pai, T. J. Sellati, J. D. Radolf, J. Belisle, D. T. Golenbock, W. H. Boom, C. V. Harding, *J. Immunol.* **2001**, *167*, 910–918.
- [30] E. H. Noss, C. V. Harding, W. H. Boom, *Cell. Immunol.* **2000**, *201*, 63–74.
- [31] C. J. Queval, O. R. Song, J. P. Carralot, J. M. Saliou, A. Bongiovanni, G. Deloison, N. Deboosère, S. Jouny, R. Iantomasi, V. Delorme, A. S. Debrie, S. J. Park, J. C. Gouveia, S. Tomavo, R. Brosch, A. Yoshimura, E. Yeramian, P. Brodin, *Cell Rep.* **2017**, *20*, 3188–3198.
- [32] J. Wang, J. L. L. Teng, D. Zhao, P. Ge, B. Li, P. C. Y. Woo, C. H. Liu, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 1–13.
- [33] J. A. Philips, *Cell. Microbiol.* **2008**, *10*, 2408–2415.
- [34] P. B. Kang, A. K. Azad, J. B. Torrelles, T. M. Kaufman, A. Beharka, E. Tibesar, L. E. DesJardin, L. S. Schlesinger, *J. Exp. Med.* **2005**, *202*, 987–999.
- [35] J. A. L. Flynn, J. Chan, *Curr. Opin. Immunol.* **2003**, *15*, 450–455.
- [36] R. Simeone, A. Bobard, J. Lippmann, W. Bitter, L. Majlessi, R. Brosch, J. Enninga, *PLoS Pathog.* **2012**, *8*, DOI 10.1371/journal.ppat.1002507.
- [37] R. A. Fratti, J. Chua, I. Vergne, V. Deretic, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2003**, *100*, 5437–5442.
- [38] H. M. S. Algood, P. L. Lin, J. A. L. Flynn, *Clin. Infect. Dis.* **2005**, *41*, 189–193.
- [39] D. G. Russell, P. J. Cardona, M. J. Kim, S. Allain, F. Altare, *Nat. Immunol.* **2009**, *10*, 943–948.
- [40] B. M. Saunders, W. J. Britton, *Immunol. Cell Biol.* **2007**, *85*, 103–111.
- [41] D. R. Roach, A. G. D. Bean, C. Demangel, M. P. France, H. Briscoe, W. J. Britton, *J. Immunol.* **2002**, *168*, 4620–4627.
- [42] E. McElvania Tekippe, I. C. Allen, P. D. Hulseberg, J. T. Sullivan, J. R. McCann, M.

- Sandor, M. Braunstein, J. P. Y. Ting, *PLoS One* **2010**, *5*, DOI 10.1371/journal.pone.0012320.
- [43] T. Ulrichs, S. H. E. Kaufmann, *J. Pathol.* **2006**, *208*, 261–269.
- [44] E. Guirado, L. S. Schlesinger, *Front. Immunol.* **2013**, *4*, 1–7.
- [45] N. Kapoor, S. Pawar, T. D. Sirakova, C. Deb, W. L. Warren, P. E. Kolattukudy, *PLoS One* **2013**, *8*, DOI 10.1371/journal.pone.0053657.
- [46] J. L. Flynn, J. Chan, *Infect. Immun.* **2001**, *69*, 4195–4201.
- [47] J. Augenstreich, A. Arbues, R. Simeone, E. Haanappel, A. Wegener, F. Sayes, F. Le Chevalier, C. Chalut, W. Malaga, C. Guilhot, R. Brosch, C. Astarie-Dequeker, *Cell. Microbiol.* **2017**, *19*, 1–19.
- [48] L. Gerstenmaier, R. Pilla, L. Herrmann, H. Herrmann, M. Prado, G. J. Villafano, M. Kolonko, R. Reimer, T. Soldati, J. S. King, M. Hagedorn, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2015**, *112*, E687–E692.
- [49] T. M. Daniel, *Respir. Med.* **2006**, *100*, 1862–1870.
- [50] V. S. Daniel, T. M. Daniel, *Clin. Infect. Dis.* **1999**, *29*, 1557–1558.
- [51] I. Barberis, N. L. Bragazzi, L. Galluzzo, M. Martini, *J. Prev. Med. Hyg.* **2017**, *58*, E9–E12.
- [52] R. Koch, *Fortschr. Med.* **1882**, 428–445.
- [53] E. Cambau, M. Drancourt, *Clin. Microbiol. Infect.* **2014**, *20*, 196–201.
- [54] WHO, *Global Tuberculosis Report 2017: Leave No One behind - Unite to End TB*, **2017**.
- [55] *Global Tuberculosis Report 2020*, World Health Organization, **2020**.
- [56] J. Furin, H. Cox, M. Pai, *Lancet* **2019**, *393*, 1642–1656.
- [57] K. Lönnroth, E. Jaramillo, B. G. Williams, C. Dye, M. Raviglione, *Soc. Sci. Med.* **2009**, *68*, 2240–2246.
- [58] M. Pai, M. A. Behr, D. Dowdy, K. Dheda, M. Divangahi, C. C. Boehme, A. Ginsberg, S. Swaminathan, M. Spigelman, H. Getahun, D. Menzies, M. Raviglione, *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2016**, *2*, DOI 10.1038/nrdp.2016.76.
- [59] J. Y. Lee, *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*. **2015**, *78*, 47–55.
- [60] E. W. Tiemersma, M. J. van der Werf, M. W. Borgdorff, B. G. Williams, N. J. D. Nagelkerke, *PLoS One* **2011**, *6*, DOI 10.1371/journal.pone.0017601.
- [61] C. E. Barry, H. I. Boshoff, V. Dartois, T. Dick, S. Ehrt, J. A. Flynn, D. Schnappinger, R. J. Wilkinson, D. Young, *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 845–855.
- [62] J. D. Simmons, C. M. Stein, C. Seshadri, M. Campo, G. Alter, S. Fortune, E. Schurr, R. S. Wallis, G. Churchyard, H. Mayanja-Kizza, W. H. Boom, T. R. Hawn, *Nat. Rev. Immunol.* **2018**, *18*, 575–589.
- [63] M. R. Farhat, R. Sultana, O. Iartchouk, S. Bozeman, J. Galagan, P. Sisk, C. Stolte, H. Nebenzahl-Guimaraes, K. Jacobson, A. Sloutsky, D. Kaur, J. Posey, B. N. Kreiswirth,

- N. Kurepina, L. Rigouts, E. M. Streicher, T. C. Victor, R. M. Warren, D. Van Soolingen, M. Murray, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2016**, *194*, 621–630.
- [64] M. Pai, S. Kalantri, K. Dheda, *Expert Rev. Mol. Diagn.* **2006**, *6*, 413–422.
- [65] D. Menzies, A. Benedetti, A. Paydar, I. Martin, S. Royce, M. Pai, A. Vernon, C. Lienhardt, W. Burman, *PLoS Med.* **2009**, *6*, 1–18.
- [66] K. Konstantinou, A. Papavasiliou, S. Konstantopoulos, *Pneumon* **2012**, *25*, 99–106.
- [67] *Global Tuberculosis Report 2019*, World Health Organization, **2019**.
- [68] A. Zumla, J. Chakaya, R. Centis, L. D'Ambrosio, P. Mwaba, M. Bates, N. Kapata, T. Nyirenda, D. Chanda, S. Mfinanga, M. Hoelscher, M. Maeurer, G. B. Migliori, *Lancet Respir. Med.* **2015**, *3*, 220–234.
- [69] J. A. Caminero, G. Sotgiu, A. Zumla, G. B. Migliori, *Lancet Infect. Dis.* **2010**, *10*, 621–629.
- [70] *Treatment of Tuberculosis Guidelines Fourth Edition*, World Health Organization, **2010**.
- [71] *WHO Best-Practice Statement on the off-Label Use of Bedaquiline and Delamanid for the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis.*, World Health Organization, **2017**.
- [72] F. Conradie, A. H. Diacon, N. Ngubane, P. Howell, D. Everitt, A. M. Crook, C. M. Mendel, E. Egizi, J. Moreira, J. Timm, T. D. McHugh, G. H. Wills, A. Bateson, R. Hunt, C. Van Niekerk, M. Li, M. Olugbosi, M. Spigelman, *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 893–902.
- [73] R. A. Tang, J. Schiffman, R. A. Cruz, G. Corsi, *Expert Rev. Ophthalmol.* **2014**, *9*, 59–61.
- [74] M. Njire, Y. Tan, J. Mugweru, C. Wang, J. Guo, W. W. Yew, S. Tan, T. Zhang, *Adv. Med. Sci.* **2016**, *61*, 63–71.
- [75] B. P. Goldstein, *J. Antibiot. (Tokyo)*. **2014**, *67*, 625–630.
- [76] K. J. Seung, S. Keshavjee, M. L. Rich, *Cold Spring Harb Perspect Med* **2015**, *5*, 1–20.
- [77] *The End TB Strategy*, World Health Organization, **2015**.
- [78] R. Osborne, *Nat. Biotechnol.* **2013**, *31*, 89–91.
- [79] D. T. Hoagland, J. Liu, R. B. Lee, R. E. Lee, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2016**, *102*, 55–72.
- [80] B. Kwiatkowska, M. Maslinska, M. Przygodzka, J. Dmowska-Chalaba, J. Dabrowska, K. Sikorska-Siudek, *Adv. Biosci. Biotechnol.* **2013**, *04*, 91–101.
- [81] S. Luca, T. Mihaescu, *Maedica (Buchar)*. **2013**, *8*, 53–8.
- [82] J. Liu, V. Tran, A. S. Leung, D. C. Alexander, B. Zhu, *Hum. Vaccin.* **2009**, *5*, 70–78.
- [83] M. A. Behr, K. Schwartzman, M. Pai, *Lancet* **2013**, *381*, 2252–2253.
- [84] Y. Takahashi, T. Tatsuma, *Electrochemistry* **2014**, *82*, 749–751.
- [85] G. L. Patrick, *An Introduction to Medicinal Chemistry*, Oxford University Press, **2013**.
- [86] G. D. Wright, *BMC Biol.* **2010**, *8*, DOI 10.1186/1741-7007-8-123.
- [87] O. A. Bello, O. I. Ayanda, O. S. Aworunse, B. I. Olukanmi, *Phcog Rev* **2017**, *11*, 57–72.
- [88] J. Chen, S. Zhang, P. Cui, W. Shi, W. Zhang, Y. Zhang, *J. Antimicrob. Chemother.* **2017**,

- 72, 3272–3276.
- [89] G. A. Prosser, L. P. S. De Carvalho, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, 4, 1233–1237.
- [90] D. Evangelopoulos, G. A. Prosser, A. Rodgers, B. M. Dagg, B. Khatri, M. M. Ho, M. G. Gutierrez, T. Cortes, L. P. S. de Carvalho, *Nat. Commun.* **2019**, 10, 1–11.
- [91] Y. Zhang, M. M. Wade, A. Scorpio, H. Zhang, Z. Sun, *J. Antimicrob. Chemother.* **2003**, 52, 790–795.
- [92] Y. Zhang, W. Shi, W. Zhang, D. Mitchison, *Mol. Genet. Mycobact.* **2015**, 2, 479–491.
- [93] Y. Zhang, W. W. Yew, *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **2009**, 13, 1320–1330.
- [94] M. Lakshmanan, A. S. Xavier, *J. Young Pharm.* **2013**, 5, 112–115.
- [95] J. P. Sarathy, G. Gruber, T. Dick, *Antibiotics* **2019**, 8, DOI 10.3390/antibiotics8040261.
- [96] A. Hotra, P. Ragunathan, P. S. Ng, P. Seankongsuk, A. Harikishore, J. P. Sarathy, W. G. Saw, U. Lakshmanan, P. Sae-Lao, N. P. Kalia, J. Shin, R. Kalyanasundaram, S. Anbarasu, K. Parthasarathy, C. N. Pradeep, H. Makhija, P. Dröge, A. Poulsen, J. H. L. Tan, K. Pethe, T. Dick, R. W. Bates, G. Grüber, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2020**, 59, 13295–13304.
- [97] A. Koul, L. Vranckx, N. Dendouga, W. Balemans, I. Van Den Wyngaert, K. Vergauwen, H. W. H. Göhlmann, R. Willebrords, A. Poncelet, J. Guillemont, D. Bald, K. Andries, *J. Biol. Chem.* **2008**, 283, 25273–25280.
- [98] D. Bald, H. Noji, M. Yoshida, Y. Hirono-Hara, T. Hisabori, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 39505–39507.
- [99] W. Junge, N. Nelson, *Science (80-.)*. **2005**, 308, 642–644.
- [100] K. Andries, C. Villellas, N. Coeck, K. Thys, T. Gevers, L. Vranckx, N. Lounis, B. C. De Jong, A. Koul, *PLoS One* **2014**, 9, 1–11.
- [101] A. H. Diacon, P. R. Donald, A. Pym, M. Grobusch, R. F. Patientia, R. Mahanyele, N. Bantubani, R. Narasimooloo, T. De Marez, R. Van Heeswijk, N. Lounis, P. Meyvisch, K. Andries, D. F. McNeeley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, 56, 3271–3276.
- [102] B. Ogretmen, *Physiol. Behav.* **2019**, 176, 139–148.
- [103] W. Vollmer, U. Bertsche, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* **2008**, 1778, 1714–1734.
- [104] H. Barreteau, A. Kovač, A. Boniface, M. Sova, S. Gobec, D. Blanot, *FEMS Microbiol. Rev.* **2008**, 32, 168–207.
- [105] K. F. Kong, L. Schneper, K. Mathee, *Apmis* **2010**, 118, 1–36.
- [106] L. Balsalobre, A. Blanco, T. Alarcón, *Antibiot. Drug Resist.* **2019**, 57–72.
- [107] J. M. Monteiro, G. Covas, D. Rausch, S. R. Filipe, T. Schneider, H. G. Sahl, M. G. Pinho, *Sci. Rep.* **2019**, 9, 1–10.
- [108] C. Barna, D. H. Williams, *Ann. Rev. Microbiol.* **1984**, 38, 339–357.
- [109] V. Dinu, Y. Lu, N. Weston, R. Lithgo, H. Coupe, G. Channell, G. G. Adams, A. Torcello Gómez, C. Sabater, A. Mackie, C. Parmenter, I. Fisk, M. K. Phillips-Jones, S. E.

- Harding, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 1–12.
- [110] N. E. Allen, D. L. LeTourneau, J. N. Hobbs, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 66–71.
- [111] M. Gurumurthy, T. Mukherjee, C. S. Dowd, R. Singh, P. Niyomrattanakit, J. A. Tay, A. Nayyar, Y. S. Lee, J. Cherian, H. I. Boshoff, T. Dick, C. E. Barry, U. H. Manjunatha, *FEBS J.* **2012**, *279*, 113–125.
- [112] G. Singh, A. Kumar, P. Maan, J. Kaur, *Curr. Drug Targets* **2017**, *18*, 1904–1918.
- [113] F. Bardou, C. Raynaud, C. Ramos, M. A. Lanéeelle, G. Lanéeelle, *Microbiology* **1998**, *144*, 2539–2544.
- [114] G. S. Timmins, V. Deretic, *Mol. Microbiol.* **2006**, *62*, 1220–1227.
- [115] F. Wang, P. Jain, G. Gulsten, Z. Liu, Y. Feng, K. Ganesula, A. S. Motiwala, T. R. Ioerger, D. Alland, C. Vilchèze, W. R. Jacobs, J. C. Sacchettini, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 3776–3782.
- [116] A. Quémard, J. C. Sacchettini, A. Dessen, C. Vilcheze, R. Bittman, W. R. Jacobs, J. S. Blanchard, *Biochemistry* **1995**, *34*, 8235–8241.
- [117] P. R. Wheeler, P. M. Anderson, *Biochem. J.* **1996**, *318*, 451–457.
- [118] D. A. Rozwarski, G. A. Grant, D. H. R. Barton, W. R. Jacobs, J. C. Sacchettini, *Science (80-)*. **1998**, *279*, 98–102.
- [119] R. Goude, A. G. Amin, D. Chatterjee, T. Parish, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 4138–4146.
- [120] A. S. Xavier, M. Lakshmanan, *J. Pharmacol. Pharmacother.* **2014**, *5*, 222–224.
- [121] J. M. Lewis, D. J. Sloan, *Ther. Clin. Risk Manag.* **2015**, *11*, 779–791.
- [122] S. Arenz, D. N. Wilson, *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2016**, *6*, 1–14.
- [123] World Health Organization, *Global Tuberculosis Report 2020*, **2020**.
- [124] Y. S. Polikanov, N. A. Aleksashin, B. Beckert, D. N. Wilson, *Front. Mol. Biosci.* **2018**, *5*, 1–21.
- [125] D. Nešić, Y. Zhang, A. Spasic, J. Li, D. Provasi, M. Filizola, T. Walz, B. S. Coller, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2020**, *11*, 624–637.
- [126] K. K. Jain, *Trends Biotechnol.* **2006**, *24*, 143–145.
- [127] B. Bozdogan, P. C. Appelbaum, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2004**, *23*, 113–119.
- [128] D. N. Wilson, F. Schluenzen, J. M. Harms, A. L. Starosta, S. R. Connell, P. Fucini, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 13339–13344.
- [129] H. Aoki, L. Ke, S. M. Poppe, T. J. Poel, E. A. Weaver, R. C. Gadwood, R. C. Thomas, D. L. Shinabarger, M. C. Ganoza, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 1080–1085.
- [130] M. J. Pucci, C. Callebaut, A. Cathcart, K. Bush, *Comprehensive Medicinal Chemistry III*, Elsevier, **2017**.
- [131] L. Katz, G. W. Ashley, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 499–527.

- [132] W. S. Champney, R. Burdine, *Curr. Microbiol.* **1998**, *36*, 119–123.
- [133] M. P. Mingeot-Leclercq, Y. Glupczynski, P. M. Tulkens, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43*, 727–737.
- [134] F. Walter, Q. Vicens, E. Westhof, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 694–704.
- [135] K. M. Krause, A. W. Serio, T. R. Kane, L. E. Connolly, *Cold Spring Harb Perspect Med* **2016**, *6*, 1–18.
- [136] D. N. Wilson, *Nat. Rev. Microbiol.* **2014**, *12*, 35–48.
- [137] K. A. Cohen, K. E. Stott, V. Munsamy, A. L. Manson, A. M. Earl, A. S. Pym, **2020**, 1–10.
- [138] R. Vardanyan, V. Hruby, *Synthesis of Best-Seller Drugs*, Elsevier B.V, **2016**.
- [139] A. Z. Reeves, P. J. Campbell, R. Sultana, S. Malik, M. Murray, B. B. Plikaytis, T. M. Shinnick, J. E. Posey, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 1857–1865.
- [140] S. M. R. Hashemian, T. Farhadi, M. Ganjparvar, *Drug Des. Devel. Ther.* **2018**, *12*, 1759–1767.
- [141] R. Dietze, D. J. Hadad, B. McGee, L. P. D. Molino, E. L. N. Maciel, C. A. Peloquin, D. F. Johnson, S. M. Debanne, K. Eisenach, W. H. Boom, M. Palaci, J. L. Johnson, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2008**, *178*, 1180–1185.
- [142] D. Shinabarger, *Expert Opin. Investig. Drugs* **1999**, *8*, 1195–1202.
- [143] C. R. Rayner, L. M. Baddour, M. C. Birmingham, C. Norden, A. K. Meagher, J. J. Schentag, *Infection* **2004**, *32*, 8–14.
- [144] T. D. M. Pham, Z. M. Ziora, M. A. T. Blaskovich, *Medchemcomm* **2019**, *10*, 1719–1739.
- [145] D. C. Hooper, G. A. Jacoby, *Cold Spring Harb Perspect Med* **2016**, 1–21.
- [146] E. Pienaar, J. Sarathy, B. Prideaux, J. Dietzold, V. Dartois, D. E. Kirschner, J. J. Linderman, *PLoS Comput. Biol.* **2017**, *13*, e1005650.
- [147] A. D. Pranger, T. S. van der Werf, J. G. W. Kosterink, J. W. C. Alffenaar, *Drugs* **2019**, *79*, 161–171.
- [148] F. Maruri, T. R. Sterling, A. W. Kaiga, A. Blackman, Y. F. van der Heijden, C. Mayer, E. Cambau, A. Aubry, *J. Antimicrob. Chemother.* **2012**, *67*, 819–831.
- [149] H. G. Floss, T. W. Yu, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 621–632.
- [150] W. Wehrli, M. Staehelin, *Bacteriol. Rev.* **1971**, *35*, 290–309.
- [151] G. Hartmann, K. O. Honikel, F. Knüsel, J. Nüsch, *Biochim. Biophys. Acta* **1967**, *145*, 843–844.
- [152] M. Grobbelaar, G. E. Louw, S. L. Sampson, P. D. van Helden, P. R. Donald, R. M. Warren, *Infect. Genet. Evol.* **2019**, *74*, 103937.
- [153] W. R. McClure, C. L. Cech, *J. Biol. Chem.* **1978**, *253*, 8949–8956.
- [154] N. Maggi, C. R. Pasqualucci, R. Ballotta, P. Sensi, *Chemotherapy* **1966**, *11*, 285–292.
- [155] E. A. Campbell, N. Korzheva, A. Mustaev, K. Murakami, S. Nair, A. Goldfarb, S. A. Darst,

- Cell* **2001**, *104*, 901–912.
- [156] B. Coulombe, Z. F. Burton, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1999**, *63*, 457–478.
- [157] I. Chopra, *Antibiot. Chemother. Expert Consult* **2010**, 10–23.
- [158] B. G. R. Hartmann, P. Heinrich, M. C. Kollenda, B. Skrobranek, M. Tropschug, W. Weid, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **1985**, *24*, 1009–1014.
- [159] S. Löfmark, C. Edlund, C. E. Nord, *Clin. Infect. Dis.* **2010**, *50*, 16–23.
- [160] C. K. Stover, P. Warrener, D. R. VanDevanter, D. R. Sherman, T. M. Arain, M. H. Langhorne, S. W. Anderson, J. A. Towell, Y. Yuan, D. N. McMurray, B. N. Kreiswirth, C. E. Barry, W. R. Baker, *Nature* **2000**, *405*, 962–966.
- [161] C. W. Ang, A. M. Jarrad, M. A. Cooper, M. A. T. Blaskovich, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 7636–7657.
- [162] T. J. Silhavy, D. Kahne, S. Walker, *Cold Spring Harb Perspect Biol* **2010**, *2*, 1–16.
- [163] W. L. Duax, D. A. Langs, G. D. Smith, P. Grochulski, V. Pletnev, V. Ivanov, *Bioorg. Khim.* **1992**, *18*, 1341–1360.
- [164] Y. Li, F. Wang, L. Wu, M. Zhu, G. He, X. Chen, F. Sun, Q. Liu, X. Wang, W. Zhang, *Infect. Drug Resist.* **2019**, *12*, 721–731.
- [165] G. D. Wright, *Can. J. Microbiol.* **2014**, *60*, 147–154.
- [166] N. Johnston, T. Mukhtar, G. Wright, *Curr. Drug Targets* **2005**, *3*, 335–344.
- [167] L. Morrison, T. R. Zembower, *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* **2020**, *30*, 619–635.
- [168] N. Waglechner, G. D. Wright, *BMC Biol.* **2017**, *15*, 1–8.
- [169] J. O. Neill, *Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations*, HM Government Wellcome Trust, **2014**.
- [170] G. Cox, G. D. Wright, *Int. J. Med. Microbiol.* **2013**, *303*, 287–292.
- [171] J. M. A. Blair, M. A. Webber, A. J. Baylay, D. O. Ogbolu, L. J. V. Piddock, *Nat. Rev. Microbiol.* **2015**, *13*, 42–51.
- [172] W. A. Rosche, P. L. Foster, *Methods* **2000**, *20*, 4–17.
- [173] G. D. Wright, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4055–4061.
- [174] N. A. Lermينياux, A. D. S. Cameron, *Can. J. Microbiol.* **2019**, *65*, 34–44.
- [175] C. Johnston, B. Martin, G. Fichant, P. Polard, J. P. Claverys, *Nat. Rev. Microbiol.* **2014**, *12*, 181–196.
- [176] M. Juhas, *Crit. Rev. Microbiol.* **2015**, *41*, 101–108.
- [177] T. G. Villa, L. Feijoo-Siota, J. R. Rama, A. Sánchez-Pérez, M. Viñas, *Horizontal Gene Transfer*, Springer, Cham., **2019**.
- [178] H. Nebenzahl-Guimaraes, K. R. Jacobson, M. R. Farhat, M. B. Murray, *J. Antimicrob. Chemother.* **2014**, *69*, 331–342.
- [179] A. Telenti, M. Iseman, *Drugs* **2000**, *59*, 171–179.
- [180] S. Ramaswamy, J. M. Musser, *Tuber. Lung Dis.* **1998**, *79*, 3–29.

- [181] J. C. Palomino, A. Martin, *Antibiotics* **2014**, 3, 317–340.
- [182] C. J. L. Murray, et al., *Lancet Infect. Dis.* **2018**, 18, 1329–1349.
- [183] R. Osborne, *Nat. Biotechnol.* **2013**, 31, 89–91.
- [184] R. Mahajan, *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* **2013**, 3, 1.
- [185] A. Mai-Prochnow, M. Clauson, J. Hong, A. B. Murphy, *Sci. Rep.* **2016**, 6, 1–11.
- [186] P. A. Lambert, *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* **2002**, 92, 46–54.
- [187] A. D. Russell, *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* **2002**, 92, 1998–2000.
- [188] H. Nikaido, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2003**, 67, 593–656.
- [189] A. Kumar, H. P. Schweizer, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, 57, 1486–1513.
- [190] R. J. Ferreira, P. M. Kasson, *ACS Infect. Dis.* **2019**, 8, 2096–2104.
- [191] A. S. Taber, Harry W., Mueller, John P., Miller, Paul F., Arrow, *Microbiol. Rev.* **1987**, 51, 439–457.
- [192] H. Nikaido, E. Y. Rosenberg, *J. Gen. Physiol.* **1981**, 77, 121–135.
- [193] X. Z. Li, L. Zhang, K. Poole, *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, 45, 433–436.
- [194] J. Lowe, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1982**, 17, 119–127.
- [195] S. Cole, et al., *Nature* **1998**, 393, 537–544.
- [196] I. Escribano, J. C. Rodríguez, B. Llorca, E. García-Pachon, M. Ruiz, G. Royo, *Chemotherapy* **2007**, 53, 397–401.
- [197] X.-Z. Li, H. Nikaido, *Drugs* **2009**, 69, 1555–1623.
- [198] L. Amaral, M. Martins, M. Viveiros, *J. Antimicrob. Chemother.* **2007**, 59, 1237–1246.
- [199] D. Machado, I. Couto, J. Perdigão, L. Rodrigues, I. Portugal, P. Baptista, B. Veigas, L. Amaral, M. Viveiros, *PLoS One* **2012**, 7, DOI 10.1371/journal.pone.0034538.
- [200] D. Machado, T. S. Coelho, J. Perdigão, C. Pereira, I. Couto, I. Portugal, R. D. A. Maschmann, D. F. Ramos, A. von Groll, M. L. R. Rossetti, P. A. Silva, M. Viveiros, *Front. Microbiol.* **2017**, 8, 1–18.
- [201] A. M. Schmalstieg, S. Srivastava, S. Belkaya, D. Deshpande, C. Meek, R. Leff, N. S. C. Van Oers, T. Gumbo, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, 56, 4806–4815.
- [202] M. Viveiros, M. Martins, L. Rodrigues, D. Machado, I. Couto, J. Ainsa, L. Amaral, *Expert Rev. Anti. Infect. Ther.* **2012**, 10, 983–998.
- [203] A. M. Egorov, M. M. Ulyashova, M. Y. Rubtsova, **2018**, 10, 33–48.
- [204] G. D. Wright, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, 57, 1451–1470.
- [205] M. Fujiwara, M. Kawasaki, N. Hariguchi, Y. Liu, M. Matsumoto, *Tuberculosis* **2018**, 108, 186–194.
- [206] S. Sun, M. Selmer, D. I. Andersson, *PLoS One* **2014**, 9, 1–10.
- [207] M. I. Page, A. Badarau, *Bioinorg. Chem. Appl.* **2008**, 2008, DOI 10.1155/2008/576297.
- [208] S. Jana, J. K. Deb, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, 70, 140–150.
- [209] F. Sanz-García, E. Anoz-Carbonell, E. Pérez-Herrán, C. Martín, A. Lucía, L. Rodrigues,

- J. A. Aínsa, *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 1–11.
- [210] W. Quispe-Tintaya, *Physiol. Behav.* **2017**, *176*, 139–148.
- [211] C. Vilchèze, W. R. Jacobs JR., *Microbiol. Spectr.* **2014**, *2*, 1–21.
- [212] P. J. Stogios, G. Cox, P. Spanogiannopoulos, M. C. Pillon, N. Waglechner, T. Skarina, K. Koteva, A. Guarné, A. Savchenko, G. D. Wright, *Nat. Commun.* **2016**, *7*, DOI 10.1038/ncomms11343.
- [213] A. Telenti, P. Imboden, F. Marchesi, L. Matter, K. Schopfer, T. Bodmer, D. Lowrie, M. J. Colston, S. Cole, *Lancet* **1993**, *341*, 647–651.
- [214] Y. Pang, J. Lu, Y. Wang, Y. Song, S. Wang, Y. Zhao, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 893–900.
- [215] S. Okamoto, A. Tamaru, C. Nakajima, K. Nishimura, Y. Tanaka, S. Tokuyama, Y. Suzuki, K. Ochi, *Mol. Microbiol.* **2007**, *63*, 1096–1106.
- [216] T. Smith, K. A. Wolff, L. Nguyen, *Curr Top Microbiol Immunol.* **2013**, *374*, 53–80.
- [217] J. Piton, S. Petrella, M. Delarue, G. André-Leroux, V. Jarlier, A. Aubry, C. Mayer, *PLoS One* **2010**, *5*, DOI 10.1371/journal.pone.0012245.
- [218] C. G. Marshall, I. A. D. Lessard, I. S. Park, G. D. Wright, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 2215–2220.
- [219] D. Seleem, V. Pardi, R. M. Murata, *Arch. Oral Biol.* **2017**, *76*, 76–83.
- [220] V. Kumar, U. Suman, Rubal, S. K. Yadav, *Recent Trends Tech. Plant Metab. Eng.* **2018**, 19–45.
- [221] K. Yonekura-Sakakibara, Y. Higashi, R. Nakabayashi, *Front. Plant Sci.* **2019**, *10*, 1–16.
- [222] S. Quideau, *Flavonoids. Chemistry, Biochemistry and Applications.*, CRC Press Taylor & Francis, **2006**.
- [223] H. Harwoko, R. Hartmann, G. Daletos, E. Ancheeva, M. Frank, Z. Liu, P. Proksch, *ChemistrySelect* **2019**, *4*, 13054–13057.
- [224] M. Qiu, R. S. Xie, Y. Shi, H. Zhang, H. M. Chen, *Ann. Microbiol.* **2010**, *60*, 143–150.
- [225] J. F. Wang, S. S. Liu, Z. Q. Song, T. C. Xu, C. S. Liu, Y. G. Hou, R. Huang, S. H. Wu, *Molecules* **2020**, *25*, DOI 10.3390/molecules25215112.
- [226] R. Koes, W. Verweij, F. Quattrocchio, *Trends Plant Sci.* **2005**, *10*, 236–242.
- [227] A. P. Rauter, M. Ennis, K. H. Hellwich, B. J. Herold, D. Horton, G. P. Moss, I. Schomburg, *Nomenclature of Flavonoids (IUPAC Recommendations 2017)*, **2018**.
- [228] A. N. Panche, A. D. Diwan, S. R. Chandra, *J. Nutr. Sci.* **2016**, *5*, 1–15.
- [229] B. S. P. Nicole Cotelle, *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *1*, 569–590.
- [230] N. Kočevár, I. Glavač, S. Kreft, *Farm. Vestn.* **2007**, *58*, 145–148.
- [231] S. Kumar, A. K. Pandey, *ScientificWorldJournal.* **2013**, *2013*, 162750.
- [232] X. Chen, E. Mukwaya, M. S. Wong, Y. Zhang, *Pharm. Biol.* **2014**, *52*, 655–660.
- [233] L. H. Yao, Y. M. Jiang, J. Shi, F. A. Tomás-Barberán, N. Datta, R. Singanusong, S. S.

- Chen, *Plant Foods Hum. Nutr.* **2004**, *59*, 113–122.
- [234] P. Kes, N. Bašić-Jukić, *Acta Medica Croat.* **2009**, *63*, 3–6.
- [235] T. N. Kaul, E. Middleton, P. L. Ogra, *J. Med. Virol.* **1985**, *15*, 71–79.
- [236] R. H. Mir, M. H. Masoodi, *Curr. Bioact. Compd.* **2019**, *16*, 809–817.
- [237] M. Kawai, T. Hirano, S. Higa, J. Arimitsu, M. Maruta, Y. Kuwahara, T. Ohkawara, K. Hagihara, T. Yamadori, Y. Shima, A. Ogata, I. Kawase, T. Tanaka, *Allergol. Int.* **2007**, *56*, 113–123.
- [238] W. C. Hope, A. F. Welton, C. Fiedler-Nagy, C. Batula-Bernardo, J. W. Coffey, *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*, 367–371.
- [239] J. Reis, A. Gaspar, N. Milhazes, F. Borges, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 7941–7957.
- [240] R. S. Keri, S. Budagumpi, R. K. Pai, R. G. Balakrishna, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *78*, 340–374.
- [241] A. Gaspar, M. J. Matos, J. Garrido, E. Uriarte, F. Borges, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4960–4992.
- [242] R. DeSimone, K. Currie, S. Mitchell, J. Darrow, D. Pippin, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2012**, *7*, 473–493.
- [243] C. Duarte, E. Barreiro, C. Fraga, *Mini-Reviews Med. Chem.* **2007**, *7*, 1108–1119.
- [244] L. Costantino, D. Barlocco, *Curr Med Chem.* **2006**, *13*, 65–85.
- [245] M. Richards, A. E. Bird, J. E. Munden, *J. Antibiot.* **1969**, *22*, 388.
- [246] A. E. Bird, A. C. Marshall, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1969**, *18*, 2418–2420.
- [247] B. T. Martins, M. Correia da Silva, M. Pinto, H. Cidade, A. Kijjoa, *Nat. Prod. Res.* **2019**, *33*, 3260–3272.
- [248] N. C. Veitch, R. J. Grayer, *Nat. Prod. Rep.* **2011**, *28*, 1626–1695.
- [249] A. N. Yurchenko, E. V. Ivanets, O. F. Smetanina, M. V. Pivkin, S. A. Dyshlovoi, G. von Amsberg, S. S. Afiyatullo, *Chem. Nat. Compd.* **2017**, *53*, 747–749.
- [250] R. M. Sramkoski, T. G. Pretlow, J. M. Giaconia, T. P. Pretlow, S. Schwartz, M. S. Sy, S. R. Marengo, J. S. Rhim, D. Zhang, J. W. Jacobberger, *Vitr. Cell.Dev.Biol.-Animal* **1999**, *35*, 403–409.
- [251] N. Rehberg, H. S. Akone, T. R. Ioerger, G. Erlenkamp, G. Daletos, H. Gohlke, P. Proksch, R. Kalscheuer, *ACS Infect. Dis.* **2018**, *4*, 123–134.
- [252] J. A. McCourt, R. G. Duggleby, *Amino Acids* **2006**, *31*, 173–210.
- [253] Y. Liu, Y. Li, X. Wang, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2016**, *100*, 8633–8649.
- [254] A. N. Radhakrishnan, E. E. Snell, *J. Biol. Chem.* **1960**, *235*, 2316–2321.
- [255] H. E. Umbarger, B. Brown, *J Biol Chem.* **1958**, *233*, 1156–1160.
- [256] K. J. Choi, G. Y. Yeon, G. H. Hoh, J. Do Choi, M. Y. Yoon, *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 4903–4910.
- [257] A. Steinmetz, M. Vyazmensky, D. Meyer, Z. Barak, R. Golbik, D. M. Chipman, K.

- Tittmann, *Biochemistry* **2010**, *49*, 5188–5199.
- [258] K. Gokhale, B. Tilak, *Curr. Drug Targets* **2015**, *16*, 689–699.
- [259] R. G. Duggleby, S. S. Pang, *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* **2000**, *33*, 1–36.
- [260] S. Epelbaum, R. A. LaRossa, T. K. VanDyk, T. Elkayam, D. M. Chipman, Z. Barak, *J. Bacteriol.* **1998**, *180*, 4056–4067.
- [261] D. L. Shaner, *Rev. Toxicol.* **1997**, *1*, 69–110.
- [262] S. S. Pang, R. G. Duggleby, L. W. Guddat, *J. Mol. Biol.* **2002**, *317*, 249–262.
- [263] V. Gedi, M. Y. Yoon, *FEBS J.* **2012**, *279*, 946–963.
- [264] I. A. Baig, V. Gedi, S. C. Lee, S. H. Koh, M. Y. Yoon, *Enzyme Microb. Technol.* **2013**, *53*, 243–249.
- [265] R. S. Chaleff, C. J. Mauvais, *Science (80-)*. **1984**, *224*, 1443–1445.
- [266] H. Sohn, K. S. Lee, Y. K. Ko, J. W. Ryu, J. C. Woo, D. W. Koo, S. J. Shin, S. J. Ahn, A. R. Shin, C. H. Song, E. K. Jo, J. K. Park, H. J. Kim, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2008**, *31*, 567–571.
- [267] M. D. Garcia, A. Nouwens, T. G. Lonhienne, L. W. Guddat, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2017**, *114*, E1091–E1100.
- [268] R. A. McAdam, T. R. Weisbrod, J. Martin, J. D. Scuderi, A. M. Brown, J. D. Cirillo, B. R. Bloom, W. R. Jacobs, *Infect. Immun.* **1995**, *63*, 1004–1012.
- [269] I. Guleria, R. Teitelbaum, R. A. McAdam, G. Kalpana, W. R. J. Jr, B. R. Bloom, *Nat. Med.* **1996**, *2*, 334–337.
- [270] D. Awasthy, S. Gaonkar, R. K. Shandil, R. Yadav, S. Bharath, N. Marcel, V. Subbulakshmi, U. Sharma, *Microbiology* **2009**, *155*, 2978–2987.
- [271] R. A. Boigegrain, J. P. Liautard, S. Köhler, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 3922–3925.
- [272] J. A. Grandoni, P. T. Marta, J. V. Schloss, *J. Antimicrob. Chemother.* **1998**, *42*, 475–482.
- [273] V. Singh, D. Chandra, B. S. Srivastava, R. Srivastava, *Microbiology* **2011**, *157*, 29–37.
- [274] Y. Zohar, M. Einav, D. M. Chipman, Z. Barak, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2003**, *1649*, 97–105.
- [275] D. A. Smith, T. Parish, N. G. Stoker, G. J. Bancroft, *Infect. Immun.* **2001**, *69*, 1142–1150.
- [276] V. K. Sambandamurthy, W. R. Jacobs, *Microbes Infect.* **2005**, *7*, 955–961.
- [277] M. K. Hondalus, S. Bardarov, R. Russell, J. Chan, W. R. Jacobs, B. R. Bloom, *Infect. Immun.* **2000**, *68*, 2888–2898.
- [278] D. Wang, X. Zhu, C. Cui, M. Dong, H. Jiang, Z. Li, Z. Liu, W. Zhu, J. G. Wang, *J. Chem. Inf. Model.* **2013**, *53*, 343–353.
- [279] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–13.

- [280] X. Dong, Z. M. Zhang, F. Liu, W. Wang, F. Yu, Y. H. Lin, H. Y. Jiang, Z. Y. He, *Acta Petrol. Sin.* **2012**, *28*, 1765–1784.
- [281] D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, K. D. Kopple, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2615–2623.
- [282] R. Bognár, A. L. Tökés, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung* **1981**, *107*, 365–368.
- [283] S. Urgaonkar, J. T. Shaw, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4582–4585.
- [284] R. Kshatriya, V. P. Jejurkar, S. Saha, *Tetrahedron* **2018**, 811–833.
- [285] J. J. Li, *Name Reactions*, Springer International Publishing, **2003**.
- [286] C. C. Peng, T. Rushmore, G. J. Crouch, J. P. Jones, *Bioorganic Med. Chem.* **2008**, *16*, 4064–4074.
- [287] D. Ameen, T. J. Snape, *Synth.* **2015**, *47*, 141–158.
- [288] H. Krauch, W. Kunz, E. Nonnenmacher, *Reaktionen Der Organischen Chemie, 6., Neubearbeitete Auflage von Werner Kunz Und Eberhard Nonnenmacher*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2009**.
- [289] V. Online, D. Ferreira, E. V Brandt, D. G. Roux, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1975**, 1437–1446.
- [290] I. E. Serdiuk, A. D. Roshal, J. Błażejowski, *Chem. Heterocycl. Compd.* **2014**, *50*, 396–403.
- [291] P. Pii, W. Ivo, S. Gunduz, A. C. Goren, T. Ozturk, I. E. Serdiuk, A. D. Roshal, J. Błażejowski, *Chem. Heterocycl. Compd.* **1996**, *14*, 396–403.
- [292] X. Zhao, J. Liu, Z. Xie, Y. Li, *Synth.* **2012**, *44*, 2217–2224.
- [293] M. Proksch, P. Proksch, G. Weissenboeck, E. Rodriguez, *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1835–1836.
- [294] U. C. Pandey, A. K. Singhal, N. C. Barua, R. P. Sharma, J. N. Baruah, K. Watanabe, P. Kulanthaivel, W. Herz, *Phytochemistry* **1984**, *23*, 391–397.
- [295] H. S. Chung, L. C. Chang, S. K. Lee, L. A. Shamon, R. B. Van Breemen, R. G. Mehta, N. R. Farnsworth, J. M. Pezzuto, A. D. Kinghorn, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 36–41.
- [296] E. Wollenweber, D. Marx, J. Favre-Bonvin, B. Voirin, M. Kaouadji, *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2673–2676.
- [297] H. W. Chu, H. T. Wu, Y. J. Lee, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2647–2655.
- [298] L. H. Briggs, R. H. Locker, *J. Chem. Soc.* **1950**, 864–867.
- [299] E. J. Behrman, *Beilstein J. Org. Chem.* **2006**, *2*, 1–10.
- [300] P. G. M. Wuts, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 5th Edition*, John Wiley & Sons, Inc., **2014**.
- [301] T. Horie, Y. Kawamura, H. Yamamoto, K. Yamashita, *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 2054–2063.

- [302] T. Hark, M. Tsukayama, Y. Kawamura, M. Seno, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4702–4709.
- [303] M. Tsukayama, Y. Kawamura, T. Ishizuka, S. Hayashi, F. Torii, *Heterocycles* **2003**, *60*, 2775–2784.
- [304] P. D. Gardner, W. J. Horton, R. E. Pincock, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 2541–2543.
- [305] Y. Kawamura, H. Takatsuki, F. Torii, T. Horie, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 511–515.
- [306] S. K. Boovanahalli, D. W. Kim, D. Y. Chi, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3340–3344.
- [307] F. M. Dean, J. Goodchild, L. E. Houghton, J. A. Martin, R. B. Morton, B. Parton, A. W. Price, N. Somvichien, *Tetrahedron Lett.* **1966**, *35*, 4153–4159.
- [308] P. R. Brooks, M. C. Wirtz, M. G. Vetelino, D. M. Rescek, G. F. Woodworth, B. P. Morgan, J. W. Coe, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9719–9721.
- [309] Z. Fang, G. C. Zhou, S. L. Zheng, G. L. He, J. L. Li, L. He, D. Bei, *J. Mol. Catal. A Chem.* **2007**, *274*, 16–23.
- [310] Angela M. Bernard, M. R. Ghiani, P. P. Piras, A. Rivoldini, *Synthesis (Stuttg.)* **1989**, *4*, 287–289.
- [311] E. J. Tisdale, B. G. Vong, H. Li, S. H. Kim, C. Chowdhury, E. A. Theodorakis, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6873–6887.
- [312] W. Baker, R. Nodzu, R. Robinson, *J. Chem. Soc.* **1929**, 74–84.
- [313] R. Mondal, C. Guha, A. K. Mallik, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 86–89.
- [314] J. Wang, R. Ge, X. Qiu, X. Xu, L. Wei, Z. Li, J. Bian, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *140*, 421–434.
- [315] W. Löwe, P. V. Maske, W. Müller, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1994**, *327*, 255–259.
- [316] Y. L. Zhang, Y. Q. Wang, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 3255–3258.
- [317] E. Le Gall, F. Texier-Boulet, J. Hamelin, *Synth. Commun.* **1999**, *29*, 3651–3657.
- [318] L. Reichel, P. Pritze, H. Gragert, *Liebigs Ann. Chem.* **1972**, *757*, 79–86.
- [319] M. Bolte, G. Schütz, H. J. Bader, *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1996**, *52*, 2807–2809.
- [320] H.-J. Teube, G. Schitz, H. J. Bader, *Liebigs Ann. Chem.* **1977**, 1321–1334.
- [321] V. S. Nguyen, W. Li, Y. Li, Q. Wang, *Med. Chem. Res.* **2017**, *26*, 1585–1592.
- [322] V.-S. Nguyen, L. Shi, Y. Li, Q.-A. Wang, *Lett. Org. Chem.* **2014**, *11*, 677–681.
- [323] K. Misawa, Y. Gunji, S. Sato, *Carbohydr. Res.* **2013**, *374*, 8–13.
- [324] G. Pan, L. Zhao, N. Xiao, K. Yang, Y. Ma, X. Zhao, Z. Fan, Y. Zhang, Q. Yao, K. Lu, P. Yu, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *122*, 674–683.
- [325] Q. Wang, X. L. Liao, C. Xiang, J. Yang, *J. Chem. Res.* **2017**, *41*, 157–159.
- [326] A. Lahyani, M. Trabelsi, *Ultrason. Sonochem.* **2016**, *31*, 626–630.
- [327] M. Freitas, D. Ribeiro, S. M. Tomé, A. M. S. Silva, E. Fernandes, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 153–164.
- [328] T. H. Simpson, B. L. Shaw, *J. Chem. Soc.* **1952**, 5027–5032.

- [329] M. Lamba, J. K. Makrandi, *J. Chem. Res.* **2008**, 225–226.
- [330] R. Liu, Y. Zhhang, K. Xu, G. Tan, *Synth. Commun.* **2017**, 47, 1–9.
- [331] K. Juvale, K. Stefan, M. Wiese, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, 67, 115–126.
- [332] P. S. Kulkarni, D. D. Kondhare, R. Varala, P. K. Zubaidha, *J. Serbian Chem. Soc.* **2013**, 78, 909–916.
- [333] G. P. Rizzi, *Synth. Commun.* **1983**, 13, 1173–1179.
- [334] L. A. Alves Avelar, J. Held, J. A. Engel, P. Sureechatchaiyan, F. K. Hansen, A. Hamacher, M. U. Kassack, B. Mordmüller, K. T. Andrews, T. Kurz, *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2017**, 350, 1–11.
- [335] B. V. Nayak, S. Ciftci-Yabanoglu, S. Bhakat, A. K. Timiri, B. N. Sinha, G. Ucar, M. E. S. Soliman, V. Jayaprakash, *Bioorg. Chem.* **2015**, 58, 72–80.
- [336] I. B. Masesane, *Int. J. Chem. Stud.* **2015**, 3, 53–59.
- [337] R. W. Murray, *Chem. Rev.* **1989**, 89, 1187–1201.
- [338] W. H. Wallace, K. E. Bushway, S. D. Miller, C. A. Delcomyn, J. J. Renard, M. V. Henley, *Environ. Sci. Technol.* **2005**, 39, 6288–6292.
- [339] G. Q. Wang, L. L. Yan, Q. A. Wang, *Heterocycl. Commun.* **2018**, 24, 119–124.
- [340] K. Vongdeth, P. Han, W. Li, Q. A. Wang, *Chem. Nat. Compd.* **2019**, 55, 11–17.
- [341] J. Jian, J. Fan, H. Yang, P. Lan, M. Li, P. Liu, H. Gao, P. Sun, *J. Nat. Prod.* **2018**, 81, 371–377.
- [342] W. Adam, D. Golsch, L. Hadjarapoglou, T. Patonay, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 1041–1044.
- [343] D. C. M. Albanese, F. Foschi, M. Penso, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, 20, 129–139.
- [344] P. E. Stott, J. S. Bradshaw, W. W. Parish, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4810–4815.
- [345] D. Szamosvári, T. Schuhmacher, C. R. Hauck, T. Böttcher, *Chem. Sci.* **2019**, 10, 6624–6628.
- [346] R. W. Murray, R. Jeyaraman, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 2847–2853.
- [347] K. P. Zeller, M. Kowallik, P. Haiss, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 2310–2318.
- [348] J. K. Crandall, R. Curci, L. D'Accolti, C. Fusco, *Encycl. Reagents Org. Synth.* **2005**, 1–4.
- [349] R. M. Moriarty, O. Prakash, *J. Heterocycl. Chem.* **1985**, 22, 583–584.
- [350] T. E. Adams, M. El Sous, B. C. Hawkins, S. Hirner, G. Holloway, M. L. Khoo, D. J. Owen, G. Paul Savage, P. J. Seammells, M. A. Rizzacasa, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 1607–1616.
- [351] G. Shan, X. Yang, L. Ma, Y. Rao, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, 51, 13070–13074.
- [352] S. Ohno, J. Qiu, R. Miyazaki, H. Aoyama, K. Murai, J. Y. Hasegawa, M. Arisawa, *Org. Lett.* **2019**, 21, 8400–8403.
- [353] J.-C. Marié, Y. Xiong, G. K. Min, A. R. Yeager, T. Taniguchi, N. Berova, S. E. Schaus,

- J. A. P. Jr., *J Org Chem.* **2010**, *75*, 4584–4590.
- [354] T. Flessner, S. Doye, *J. fuer Prakt. Chemie - Pract. Appl. Chem.* **1999**, *341*, 186–190.
- [355] U. Banerjee, A. M. Deberardinis, M. K. Hadden, *Bioorganic Med. Chem.* **2015**, *23*, 548–555.
- [356] H. Sun, Y. Li, X. Zhang, Y. Lei, W. Ding, X. Zhao, H. Wang, X. Song, Q. Yao, Y. Zhang, Y. Ma, R. Wang, T. Zhu, P. Yu, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 4567–4571.
- [357] P. J. Kociejowski, *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag: Stuttgart, **2005**.
- [358] T. Gensch, M. N. Hopkinson, F. Glorius, J. Wencel-Delord, *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 2900–2936.
- [359] V. S. Thirunavukkarasu, S. I. Kozhushkov, L. Ackermann, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 29–39.
- [360] W. Liu, L. Ackermann, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3484–3486.
- [361] K. Kim, H. Choe, Y. Jeong, J. H. Lee, S. Hong, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2550–2553.
- [362] X. Y. Chen, S. Ozturk, E. J. Sorensen, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 6280–6283.
- [363] F. Mo, L. J. Trzepkowski, G. Dong, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2012**, *51*, 13075–13079.
- [364] P. Y. Choy, F. Y. Kwong, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 270–273.
- [365] Y. Yang, Y. Lin, Y. Rao, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2874–2877.
- [366] D. Gallego, E. A. Baquero, *Open Chem.* **2018**, *16*, 1001–1058.
- [367] L. Ackermann, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315–1345.
- [368] D. Lapointe, K. Fagnou, *Chem. Lett.* **2010**, *39*, 1118–1126.
- [369] D. L. Davies, S. M. A. Donald, S. A. Macgregor, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13754–13755.
- [370] Y. F. Yang, Y. She, *Int. J. Quantum Chem.* **2018**, *118*, 1–9.
- [371] C. Shan, L. Zhu, L. B. Qu, R. Bai, Y. Lan, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 7552–7576.
- [372] K. M. Engle, T.-S. Mei, M. Wasa, J.-Q. Yu, *Acc Chem Res.* **2012**, *45*, 788–802.
- [373] S. De Sarkar, W. Liu, S. I. Kozhushkov, L. Ackermann, *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 1461–1479.
- [374] K. Padala, M. Jeganmohan, *Chem. - A Eur. J.* **2014**, *20*, 4092–4097.
- [375] L. Ackermann, R. Vicente, H. K. Potukuchi, V. Pirovano, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5032–5035.
- [376] R. Manikandan, P. Madasamy, M. Jeganmohan, *ACS Catal.* **2016**, *6*, 230–234.
- [377] C. Arroniz, J. G. Denis, A. Ironmonger, G. Rassias, I. Larrosa, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 3509–3514.
- [378] X. Zheng, B. Song, B. Xu, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4376–4380.
- [379] B. Lantaño, A. Postigo, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, *15*, 9954–9973.
- [380] M. Leven, T. C. Knaab, J. Held, S. Duffy, S. Meister, C. Fischli, D. Meitzner, U.

- Lehmann, B. Lungerich, K. Kuna, P. Stahlke, M. J. Delves, M. Buchholz, E. A. Winzeler, V. M. Avery, B. Mordmüller, S. Wittlin, T. Kurz, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 6036–6044.
- [381] A. G. Hall, M. J. Tilby, *Blood Rev.* **1992**, *6*, 163–173.
- [382] R. J. Duhé, *Drug Design*, **2011**.
- [383] A. Bondi, *J Phys Chem* **1964**, *68*, 441–451.
- [384] H.-D. Höltje, G. Folkers, *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, VCH Verlagsgesellschaft MbH, Weinheim, **1996**.
- [385] A. M. Wassermann, *Future Med. Chem.* **2011**, *3*, 425–436.
- [386] G. A. Patani, E. J. LaVoie, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3147–3176.
- [387] Y. Lu, Y. Liu, Z. Xu, H. Li, H. Liu, W. Zhu, *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, *7*, 375–383.
- [388] K. C. Gross, P. G. Seybold, *Int. J. Quantum Chem.* **2001**, *85*, 569–579.
- [389] H. J. Böhm, D. Banner, S. Bendels, M. Kansy, B. Kuhn, K. Müller, U. Obst-Sander, M. Stahl, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 637–643.
- [390] W. Kantlehner, *European J. Org. Chem.* **2003**, 2530–2546.
- [391] G. A. Olah, L. Ohannesian, M. Arvanaghi, *Chem. Rev.* **1987**, *87*, 671–686.
- [392] V. Snieckus, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 879–933.
- [393] N. J. R. van E. Hommes, P. von R. Schleyer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 755–758.
- [394] L. A. Paquette, *Organic Reactions*, John Wiley & Sons, Inc., **1995**.
- [395] M. Schlosser, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44*, 376–393.
- [396] J. Epszajn, A. Jozwiak, A. Szczesniak, *Curr. Org. Chem.* **2006**, *10*, 1817–1848.
- [397] H. J. Reich, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 7130–7178.
- [398] F. Leroux, M. Schlosser, E. Zohar, I. Marek, *PATAI's Chemistry of Functional Groups*, John Wiley & Sons, Ltd., **2009**.
- [399] R. M. Brady, E. Hatzis, T. Connor, I. P. Street, J. B. Baell, G. Lessene, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5230–5237.
- [400] N. U. Hofsløkken, L. Skattebøl, *Acta Chem. Scand.* **1999**, *53*, 258–262.
- [401] T. V. Hansen, *Org. Synth.* **2012**, *89*, 220.
- [402] J. T. Hunt, C. Z. Ding, R. Batorsky, M. Bednarz, R. Bhide, Y. Cho, S. Chong, S. Chao, J. Gullo-Brown, P. Guo, Soong Hoon Kim, F. Y. F. Lee, K. Leftheris, A. Miller, T. Mitt, M. Patel, B. A. Penhallow, C. Ricca, W. C. Rose, R. Schmidt, W. A. Slusarchyk, G. Vite, V. Manne, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3587–3595.
- [403] N. A. Meanwell, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2529–2591.
- [404] T. Nogrady, D. F. Weaver, *Medicinal Chemistry: A Molecular and Biochemical Approach. Third Edition*, Oxford University Press, **2005**.
- [405] F. F. Fleming, L. Yao, P. C. Ravikumar, L. Funk, B. C. Shook, *J Med Chem.* **2010**, *53*, 7902–7917.

- [406] T. S. Reid, L. S. Beese, *Biochemistry* **2004**, *43*, 6877–6884.
- [407] L. J. Browne, C. Gude, H. Rodriguez, R. E. Steele, A. Bhatnager, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 725–736.
- [408] C. E. Mowbray, C. Burt, R. Corbau, S. Gayton, M. Hawes, M. Perros, I. Tran, D. A. Price, F. J. Quinton, M. D. Selby, P. A. Stuppel, R. Webster, A. Wood, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5857–5860.
- [409] T. Schareina, A. Zapf, M. Beller, *J. Organomet. Chem.* **2004**, *689*, 4576–4583.
- [410] D. Wang, L. Kuang, Z. Li, K. Ding, *Synlett* **2008**, 69–72.
- [411] T. Schareina, A. Zapf, M. Beller, *Chem. Commun.* **2004**, *4*, 1388–1389.
- [412] CLSI., *CLSI Doc. M07-A9*. **2012**, *32*, 1–88.
- [413] T. L. Riss, R. A. Moravec, A. L. Niles, S. Duellman, H. A. Benink, T. J. Worzella, L. Minor, *Assay Guid. Man.* **2004**, 1–25.
- [414] V. Aleshin, A. Artiukhov, H. Oppermann, A. Kazantsev, N. Lukashev, V. Bunik, *Cells* **2015**, *4*, 427–451.
- [415] J. Li, S. Wang, G. A. Crispino, K. Tenhuisen, A. Singh, J. A. Grosso, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4041–4043.
- [416] K. Mierzejewska, M. Bochtler, H. Czapinska, *Nucleic Acids Res.* **2016**, *44*, 485–495.
- [417] S. Ken-ichi, M. Shinji, T. Takanori, S. Masami, M. J. L., M. J. S., S. Yoshiteru, *Chem. Lett.* **1997**, *26*, 1071–1072.
- [418] M. Tredwell, V. Gouverneur, *Compr. Chirality* **2012**, *1*, 70–85.
- [419] Sigma Aldrich, *Certificate of Analysis*, **2012**.
- [420] K. Stenzel, Unveröffentlichte Forschungsergebnisse Katherina Stenzel, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Kurz, Heinrich-Heine-Universität, **2016**.
- [421] A. Bateman, *Nucleic Acids Res.* **2019**, *47*, D506–D515.
- [422] T. Burki, *Lancet Infect. Dis.* **2011**, *11*, 350–351.
- [423] L. Kisfaludy, L. Dancsi, A. Patthy, G. Fekete, I. Szabó, *Experientia* **1971**, *27*, 1055–1056.
- [424] D. McHale, J. Green, P. Mamalis, *J. Chem. Soc.* **1960**, 225–229.
- [425] E. Testa, B. J. R. Nicolaus, L. Mariani, G. Pagani, *Helv. Chim. Acta* **1963**, *46*, 766–780.
- [426] L. Kisfaludy, A. Patthy, L. Dancsi, G. Fekete, I. Szabo, *Neue Tuberkulostatisch Wirkende α -Aminoxy-Hydroxamsäurederivate Und Verfahren Zur Herstellung Derselben*, **1970**, P 20 63 996.7.
- [427] L. Kisfaludy, A. Patthy, L. Dancsi, G. Fekete, I. Szabo, *Neue Tuberkulostatisch Wirkende α -Aminoxy-Hydroxamsäurederivate Und Verfahren Zur Herstellung Derselben*, **1978**, 338 777.
- [428] E. Koltai, D. Bánfi, L. Kisfaludy, L. Dancsi, *J Label. Comp Radiopharm* **1978**, *14*, 341–347.

- [429] A. I. Artemenko, E. K. Anufriev, I. V. Tikunova, O. Éksner, *J. Appl. Spectrosc.* **1980**, *33*, 758–761.
- [430] B. García, S. Ibeas, J. M. Leal, F. Secco, M. Venturini, M. L. Senent, A. Niño, C. Muñoz, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 2908–2919.
- [431] J. Keth, T. Johann, H. Frey, *Biomacromolecules* **2020**, *21*, 2546–2556.
- [432] J. El Yazal, Y. P. Pang, *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 8346–8350.
- [433] E. Adiguzel, F. Yilmaz, M. Emirik, M. Ozil, *J. Mol. Struct.* **2017**, *1127*, 403–412.
- [434] B. L. Bauer, O. Exner, *Angew. Chem. Internat. Ed.* **1974**, *13*, 376–384.
- [435] A. Leggio, A. Liguori, A. Napoli, C. Siciliano, G. Sindona, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 2246–2250.
- [436] L. J. Hayes, J. E. Johnson, R. John, C. Cunningham, J. S. Hwang, D. L. McClagherty, *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 284–294.
- [437] J. D. Aubort, R. F. Hudson, *J. Chem. Soc.* **1970**, 938–939.
- [438] G. F. King, M. Mobli, *Compr. Nat. Prod. II Chem. Biol.* **2010**, *9*, 279–325.
- [439] S. Brandès, A. Sornosa-Ten, Y. Rousselin, M. Lagrelette, C. Stern, A. Moncomble, J. P. Cornard, M. Meyer, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *151*, 164–175.
- [440] A. B. Lutjen, M. A. Quirk, A. M. Barbera, E. M. Kolonko, *Bioorganic Med. Chem.* **2018**, *26*, 5291–5298.
- [441] C. J. Macuamule, E. T. Tjhin, C. E. Jana, L. Barnard, L. Koekemoer, M. De Villiers, K. J. Saliba, E. Strauss, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2015**, *59*, 3666–3668.
- [442] D. Diedrich, A. J. R. Moita, A. Rütger, B. Frieg, G. J. Reiss, A. Hoepfner, T. Kurz, H. Gohlke, S. Lüdeke, M. U. Kassack, F. K. Hansen, *Chem. - A Eur. J.* **2016**, *22*, 17600–17611.
- [443] R. Chesworth, W. K. Kuntz, J. E. Olhava, A. M. Patane, *Modulators of Histone Methyltransferase, and Methods of Use Thereof*, **2012**, WO 2012/082436 A2.
- [444] J. van Dijk, J. M. A. Zwagemakers, *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 1199–1206.
- [445] I. Protasova, B. Bulat, N. Jung, S. Bräse, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 34–37.
- [446] D. Geffken, M. A. Köllner, *Sci. Synth.* **2009**, *40*, 937–1082.
- [447] M. C. Witschel, M. Rottmann, A. Schwab, U. Leartsakulpanich, P. Chitnumsub, M. Seet, S. Tonazzi, G. Schwertz, F. Stelzer, T. Mietzner, C. McNamara, F. Thater, C. Freymond, A. Jaruwat, C. Pinthong, P. Riangrunroj, M. Oufir, M. Hamburger, P. Mäser, L. M. Sanz-Alonso, S. Charman, S. Wittlin, Y. Yuthavong, P. Chaiyen, F. Diederich, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 3117–3130.
- [448] A. E. F. Nassar, A. M. Kamel, C. Clarimont, *Drug Discov. Today* **2004**, *9*, 1020–1028.
- [449] S. Llona-minguez, A. Ghassemian, P. Baranczewski, M. Desroses, T. Koolmeister, P. Artursson, M. Scobie, T. Helleday, *Medchemcomm* **2017**, *8*, 1553–1560.
- [450] C. D. Johnson, *Compr. Heterocycl. Chem. II A Rev. Lit. 1982-1995* **1996**, *5*, 1–35.

- [451] A. Dick, S. Cocklin, *Pharmaceuticals* **2020**, *13*, 1–16.
- [452] M. Baumann, I. R. Baxendale, S. V. Ley, N. Nikbin, *Beilstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 442–495.
- [453] S. Pathania, R. K. Narang, R. K. Rawal, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *180*, 486–508.
- [454] E. Vitaku, D. T. Smith, J. T. Njardarson, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 10257–10274.
- [455] Y. Hamada, *Pyridine*, IntechOpen, **2018**.
- [456] C. Gambarotti, C. Punta, F. Recupero, M. Zlotorzynska, G. Sammis, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Ltd, **2013**.
- [457] M. Pflieger, A. Hamacher, T. Öz, N. Horstlick-Muche, B. Boesen, C. Schrenk, M. U. Kassack, T. Kurz, *Bioorganic Med. Chem.* **2019**, *27*, 115036.
- [458] L. Marek, A. Hamacher, F. K. Hansen, K. Kuna, H. Gohlke, M. U. Kassack, T. Kurz, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 427–436.
- [459] S. E. Ward, P. Beswick, *Expert Opin. Drug Discov.* **2014**, *9*, 995–1003.
- [460] W. Wohlleben, Y. Mast, E. Stegmann, N. Ziemert, *Microb. Biotechnol.* **2016**, *9*, 541–548.
- [461] M. Schenone, B. K. Wagner, P. A. Clemons, B. Program, *Nat. Chem. Biol.* **2017**, *9*, 232–240.
- [462] B. Lomenick, R. W. Olsen, J. Huang, *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 34–46.
- [463] J. L. Guesdon, T. Ternynck, S. Avrameas, *J. Histochem. Cytochem.* **1979**, *27*, 1131–1139.
- [464] X. Chen, Y. Wang, N. Ma, J. Tian, Y. Shao, B. Zhu, Y. K. Wong, Z. Liang, C. Zou, J. Wang, *Signal Transduct. Target. Ther.* **2020**, *5*, DOI 10.1038/s41392-020-0186-y.
- [465] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10827–10852.
- [466] S. Y. Han, Y. A. Kim, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2447–2467.
- [467] D. M. Shendage, R. Fröhlich, G. Haufe, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3675–3678.
- [468] M. Skander, N. Humbert, J. Collot, J. Gradinaru, G. Klein, A. Loosli, J. Sauser, A. Zocchi, F. Gilardoni, T. R. Ward, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14411–14418.
- [469] E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2009**, *48*, 6974–6998.
- [470] M. Breugst, H. U. Reissig, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2020**, *59*, 12293–12307.
- [471] L. Zhu, C. J. Brassard, X. Zhang, P. M. Guha, R. J. Clark, *Chem. Rec.* **2016**, 1501–1517.
- [472] B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science (80-.)*. **2013**, *340*, 457–461.
- [473] R. Ramapanicker, P. Chauhan, *Click React. Org. Synth.* **2016**, 1–24.
- [474] K. Hamill, J. D. Esko, L. McCoy, Y. Tor, *NOVEL POLYMYXIN DERIVED CELL PENETRATING SCAFFOLDS*, **2018**, US 2018 / 0099022 A1.
- [475] M. R. L. Stone, M. S. Butler, W. Phetsang, M. A. Cooper, M. A. T. Blaskovich, *Trends Biotechnol.* **2018**, *36*, 523–536.

- [476] S. C. Gad, C. B. Spainhour, C. Shoemake, D. R. S. Pallman, A. Stricker-Krongrad, P. A. Downing, R. E. Seals, L. A. Eagle, K. Polhamus, J. Daly, *Int. J. Toxicol.* **2016**, *35*, 95–178.
- [477] Y. Gao, J. K. Shen, E. Choy, Z. Zhang, H. J. Mankin, F. J. Hornicek, Z. Duan, *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 1–10.
- [478] Y. Cheng, G. C. Moraski, J. Cramer, M. J. Miller, J. S. Schorey, *PLoS One* **2014**, *9*, 1–8.
- [479] T. Yan, Z. K. Guo, R. Jiang, W. Wei, T. Wang, Y. Guo, Y. C. Song, R. H. Jiao, R. X. Tan, H. M. Ge, *Planta Med.* **2013**, *79*, 348–352.
- [480] V. S. N. Rao, E. G. Figueiredo, C. L. Melo, G. S. B. Viana, D. B. Menezes, M. S. F. Matos, E. R. Silveira, *Pharmacology* **1994**, *48*, 392–397.
- [481] G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* **2010**, *29*, 2176–2179.
- [482] S. Ohno, J. Qiu, R. Miyazaki, H. Aoyama, K. Murai, J. Y. Hasegawa, M. Arisawa, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 8400–8403.
- [483] A. M. Daly, D. G. Gilheany, *Tetrahedron Asymmetry* **2003**, *14*, 127–137.
- [484] D. Yang, X. Y. Ye, M. Xu, K. W. Pang, N. Zou, R. M. Letcher, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6446–6447.
- [485] C. Courtens, M. Risseeuw, G. Caljon, P. Cos, S. Van Calenbergh, *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 986–989.
- [486] A. E. Shouksmith, F. Shah, M. L. Grimard, J. M. Gawel, M. Geletu, A. Berger-becvar, E. D. De Araujo, H. A. Luchman, W. L. Heaton, D. Bakhshinyan, A. A. Adile, C. Venugopal, M. W. Deininger, S. K. Singh, S. F. Konieczny, S. Weiss, M. L. Fishel, P. T. Gunning, *J Med Chem.* **2019**, *62*, 2651–2665.
- [487] R. Grigg, Z. Rankovic, M. Thoroughgood, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8025–8032.
- [488] E. Yoshioka, S. Kohtani, K. Sawai, Kentefu, E. Tanaka, H. Miyabe, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 8588–8604.
- [489] M. A. Esteves, M. C. T. Vaz, M. L. S. S. Gonçalves, E. Farkas, M. A. Santos, *J. Chem. Soc., Dalt. Trans.* **1995**, 2565–2573.
- [490] D. Teze, M. Dion, F. Daligault, V. Tran, C. André-Miral, C. Tellier, *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 448–451.
- [491] M. De Villiers, C. Spry, C. J. Macuamule, L. Barnard, G. Wells, K. J. Saliba, E. Strauss, *ACS Infect. Dis.* **2017**, *3*, 527–541.
- [492] J. D. Eckelbarger, P. R. Schmitzer, C. N. Yerkes, T. A. Boebel, N. M. Satchivi, G. T. Whiteker, *N-Alkoxyamides of 6-(Trisubstitutedphenyl)-4-Aminopicolinates and Their Use as Selective Herbicides for Crops*, **2010**, US 2010/0222221 A1.
- [493] K. Komori, A. Ninomiya, S. Ushiyama, M. Shinohara, K. Ito, T. Kawaguchi, Y. Tokunaga,

- H. Kawada, H. Yamada, Y. Shiraishi, M. Kojima, M. Ito, T. Kimura, *Substituted Guanidine Derivate*, **2016**, EP 3 333 163 A1.
- [494] C. Deraeve, Z. Guo, R. S. Bon, W. Blankenfeldt, R. DiLucrezia, A. Wolf, S. Menninger, E. A. Stigter, S. Wetzel, A. Choidas, K. Alexandrov, H. Waldmann, R. S. Goody, Y. W. Wu, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7384–7391.
- [495] A. A. Failli, O. I. Bleyman, W. Kao, M. A. Abou-Gharbia, *Carbamates of Rapamycin*, **1996**, 5,489,680.
- [496] A. High, T. Prior, R. A. Bell, P. K. Rangachari, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *288*, 490–501.
- [497] W. P. Malachowski, M. Winters, J. B. Duhadaway, A. Lewis-ballester, S. Badir, J. Wai, M. Rahman, E. Sheikh, J. M. Lalonde, R. Yeh, G. C. Prendergast, A. J. Muller, *Eur J Med Chem.* **2016**, *108*, 564–576.
- [498] M. Z. Wang, H. Xu, T. W. Liu, Q. Feng, S. J. Yu, S. H. Wang, Z. M. Li, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1463–1472.
- [499] G. A. Stewart, *Estratriene Derivatives*, **2004**, WO 2004/101595 A1.
- [500] P. Mamalis, J. Green, D. McHale, *J. Chem. Soc.* **1960**, 229–238.
- [501] C. Laruelle, M. Lepant, B. Raynier, *Symmetrical O-Substituted Dioximes of Benzo-Fused β -Diketocyclo-Alkylenes, the Processes for Their Preparation and Their Application as Drugs*, **1989**, 4,804,684.
- [502] C. Baldoli, P. Del Buttero, S. Maiorana, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4049–4052.
- [503] I. Kleban, A. V. Tymtsunik, Y. V. Rassukana, O. O. Grygorenko, *Tetrahedron Asymmetry* **2017**, *28*, 1817–1822.
- [504] F. Wurm, J. Klos, H. J. Räder, H. Frey, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 7954–7955.
- [505] A. Katoh, M. Akiyama, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 1839–1842.
- [506] M. A. Casadei, B. di Rienzo, A. Inesi, F. M. Moracci, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1992**, 375–378.
- [507] Y. Bai, X. He, Y. Bai, Y. Sun, Z. Zhao, X. Chen, B. Li, J. Xie, Y. Li, P. Jia, X. Meng, Y. Zhao, Y. Ding, C. Xiao, S. Wang, J. Yu, S. Liao, Y. Zhang, Z. Zhu, Q. Zhang, Y. Zhao, F. Qin, Y. Zhang, X. Wei, M. Zeng, J. Liang, Y. Cuan, G. Shan, T. P. Fan, B. Wu, X. Zheng, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *183*, 111650.
- [508] P. Craven, A. Aimon, M. Dow, N. Fleury-Bregeot, R. Guilleux, R. Morgentin, D. Roche, T. Kalliokoski, R. Foster, S. P. Marsden, A. Nelson, *Bioorganic Med. Chem.* **2015**, *23*, 2629–2635.
- [509] A. H. E. Hassan, E. Choi, Y. M. Yoon, K. W. Lee, S. Y. Yoo, M. C. Cho, J. S. Yang, H. I. Kim, J. Y. Hong, J. S. Shin, K. S. Chung, J. H. Lee, K. T. Lee, Y. S. Lee, *Eur. J. Med. Chem.* **2019**, *161*, 559–580.
- [510] M. Deodhar, D. S. C. Black, N. Kumar, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5227–5235.

- [511] S. Kobayashi, K. Arai, H. Shimizu, Y. Ihori, H. Ishitani, Y. Yamashita, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2005**, *44*, 761–764.
- [512] T. M. Kosak, H. A. Conrad, A. L. Korich, R. L. Lord, *European J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 7460–7467.
- [513] H. Pfeiffer, T. Sowik, U. Schatzschneider, *J. Organomet. Chem.* **2013**, *734*, 17–24.
- [514] C. Feng, T. P. Loh, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2014**, *53*, 2722–2726.
- [515] G. Dettori, S. Gaspa, A. Porcheddu, L. De Luca, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 4582–4585.
- [516] R. Sulsky, J. P. Demers, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 31–34.
- [517] J. Pícha, B. Fabre, M. Buděšínský, J. Hajduch, M. Abdellaoui, J. Jiráček, *European J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 5180–5192.
- [518] Y. Shimada, K. Kikuzato, M. Narukawa, T. Asami, K. Soeno, *Auxin Biosynthesis Inhibitor*, **2012**, EP 2 682 383 A1.
- [519] S. Sjøli, E. Nuti, C. Camodeca, I. Bilotto, A. Rossello, J. O. Winberg, I. Sylte, O. A. Adekoya, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *108*, 141–153.
- [520] R. De Oliveira Lopes, A. S. De Miranda, B. Reichart, T. Glasnov, C. O. Kappe, R. C. Simon, W. Kroutil, L. S. M. Miranda, I. C. R. Leal, R. O. M. A. De Souza, *J. Mol. Catal. B Enzym.* **2014**, *104*, 101–107.
- [521] S. K. Liew, A. Holownia, D. B. Diaz, P. A. Cistrone, P. E. Dawson, A. K. Yudin, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 11237–11240.
- [522] G. V. Giniyatullina, O. B. Kazakova, *Chem. Nat. Compd.* **2018**, *54*, 913–916.
- [523] C. S. De Oliveira, B. F. Lira, V. D. S. Falcao-Silva, J. P. Siqueira-Junior, J. M. Barbosa-Filho, P. F. De Athayde-Filho, *Molecules* **2012**, *17*, 5095–5107.
- [524] J. W. B. Fyfe, N. J. Fazakerley, A. J. B. Watson, *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2017**, *56*, 1249–1253.
- [525] D. A. Rodrigues, F. S. Guerra, F. S. Sagrillo, P. de Sena M. Pinheiro, M. A. Alves, S. Thota, L. S. Chaves, C. M. R. Sant'Anna, P. D. Fernandes, C. A. M. Fraga, *ChemMedChem* **2020**, *15*, 539–551.
- [526] L. Pengfei, L. Shuang, M. Hongjuan, L. Chengli, S. B. Zhang, *A Kind of Cyclohexenone Compound Containing Five-Membered Heterocycle and Its Application*, **2016**, CN 105732570 A.
- [527] A. Randáková, D. Nelic, D. Ungerová, P. Nwokoye, Q. Su, V. Doležal, E. E. El-Fakahany, J. Boulos, J. Jakubík, *Br. J. Pharmacol.* **2020**, *177*, 2073–2089.
- [528] C. Wang, S. Rakshit, F. Glorius, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14006–14008.
- [529] L. C. Misal Castro, N. Chatani, *Synth.* **2014**, *46*, 2312–2316.
- [530] J. I. G. Cadogan, A. G. Rowley, *Synth. Commun.* **1977**, *7*, 365–366.
- [531] E. Borek, H. T. Clarke, *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 2020–2021.

[532] M. Bielawski, D. Aili, B. Olofsson, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4602–4607.

[533] J. M. Pérez, R. Cano, G. P. McGlacken, D. J. Ramón, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 36932–36941.