

5 Experimenteller Teil

5.1 Chemikalien

Die für die Synthesen benötigten Lösungsmittel und Chemikalien wurden von den Firmen Avocado, Aldrich, Lancaster oder Merck bezogen. Das bei der Säulenchromatographie verwendete Kieselgel 60-200 wurde von der Firma Merck bezogen.

5.2 Geräte

Schmelzpunkt – Bestimmung:

Lindström – Gerät (unkorrigiert)

Elementaranalysen:

Perkin – Elmer Elementaranalysator 240 C

IR-Spektren:

Perkin - Elmer 1420 Ratio Recording IR-Spectrophotometer

Die Frequenzangaben erfolgen in cm^{-1} .

^1H -NMR-Spektren:

Bruker Avance/DPX 400 in den angegebenen Lösungsmitteln.

Die chemische Verschiebung wird in ppm nach der δ_{TMS} -Skala angegeben.

^{13}C -NMR-Spektren:

Bruker Avance/DPX 400 in den angegebenen Lösungsmitteln.

Die chemische Verschiebung wird in ppm nach der δ_{TMS} -Skala angegeben.

Massenspektren:

EI-MS: CH-7A-Varian MAT (70 eV), in Klammern die Verdampfungstemperatur

FAB-MS: CH-5-DF-MAT-Varian (80 eV) in den angegebenen Lösungsmitteln.

Reaktandengas: Xenon

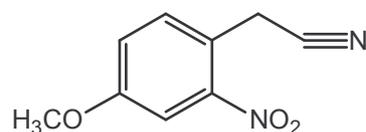
Hochaufgelöste EI-MS: MAT 711 (80 eV, 8 kV)

Dünnschichtchromatographie:

DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄-Platten der Firma Merck

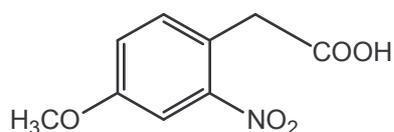
5.3 Synthesevorschriften und analytische Daten

(4-Methoxy-2-nitrophenyl)-acetonitril (1)



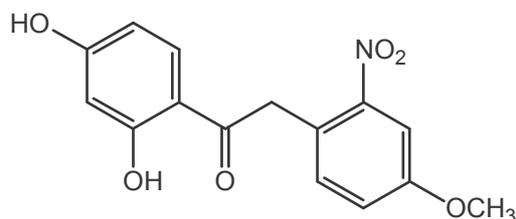
Zu einer Lösung aus 10.00 g Natriumhydrid (50 % Suspension in Mineralöl) in 100 mL DMF wird eine Lösung aus 30 mL (0.28 mol) Ethylcyanoacetat in 100 mL DMF bei Raumtemperatur getropft und 15 min gerührt. Nach der Zugabe von 0.50 g (3.29 mmol) Cäsiumfluorid wird eine Lösung von 25.00 g (0.13 mol) 4-Chlor-3-nitroanisol in 100 mL DMF hinzugegeben. Die Mischung wird 24 h bei 70°C erhitzt. Anschließend wird der Ansatz auf Raumtemperatur abgekühlt und in 200 mL Wasser dekantiert. Mit 10 N H₂SO₄ wird ein pH-Wert von 3-4 eingestellt. Es wird mit 3x 200 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird mit Diethylether/ n-Hexan (1+1) SC gereinigt. Das ölige Produkt wird anschließend mit gesättigter Na₂CO₃-Lösung bei 55°C über Nacht erhitzt und anschließend mit 3x 300 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten Ethylacetatphasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird durch Zugabe von Diethylether kristallisiert.

Beige Kristalle, Schmp. 151°C, Ausb. 5.50 g (22 %). C₉H₈N₂O₃ (192.17). –**CHN**: ber.: C 56.25 H 4.20 N 14.58 gef.: C 56.18 H 4.23 N 14.57. – **IR** (KBr): 2846 (ArOCH₃), 2248 (CN), 1531 (ArNO₂) cm⁻¹. –**¹H-NMR** ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 7.66 (d, ⁴J = 2.6 Hz, 1H, ArH₃), 7.63 (d, ³J = 8.6 Hz, 1H, ArH₆), 7.33 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.6 Hz, 1H, ArH₅), 4.20 (s, 2H, CH₂), 3.74 (s, 3H, OCH₃), –**MS** (EI, 60 °C): m/z = 192 (M⁺, 73.56 %).

(4-Methoxy-2-nitrophenyl)-essigsäure (2)

5.50 g (28.6 mmol) des Nitrils **1** werden mit 100 mL einer Mischung aus 40 mL konz. Na_2SO_4 und 60 mL Wasser 15 min rückfließend erhitzt. Der erkaltete Ansatz wird auf 200 mL Eis gegossen und der entstehende beigefarbene Niederschlag abfiltriert. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC (Ethylacetat).

Beige Kristalle, Schmp. 152°C , Ausb. 4.80 g (80 %). $-\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_5$ (211.17). $-\text{CHN}$: ber.: C 51.18 H 4.26 N 6.63 gef.: C 51.36 H 4.26 N 6.70. $-\text{IR}$ (KBr): 3454, 3430 (OH), 1698 (C=O), 1529 (ArNO_2) cm^{-1} . $-\text{HNMNR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.29 (s, 1H, COOH), 7.57 (d, $^4\text{J} = 2.6$ Hz, 1H, ArH_3), 7.45 (d, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 1H, ArH_6), 7.26 (dd, $^4\text{J} = 2.7$ Hz, $^3\text{J} = 8.5$ Hz, 1H, ArH_5), 3.92 (s, 2H, CH_2), 3.82 (s, 3H, OCH_3), $-\text{MS}$ (EI, 150°C): $m/z = 211$ (M^+ , 28.4 %).

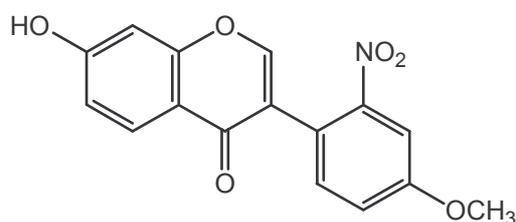
1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-2-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-ethanon (3)

Man löst 2.20 g (10.4 mmol) **2** und 1.10 g (9.99 mmol) Resorcinol in 100 mL (0.779 mol) Bortrifluoridetherat und erhitzt den Ansatz 90 min bei 100°C . Die Lösung wird in 1.0 L 12 %iger Natriumacetatlösung gegossen und nach Erkalten mit 150 mL Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird anschließend mit 100 mL gesättigter Natriumacetatlösung extrahiert und mit Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Das braune Öl wird durch SC [Ethylacetat/n-Hexan (1+1)] gereinigt und aus Ethylacetat/ n-Hexan umkristallisiert.

Hellgelbe Kristalle, Schmp. 155°C , Ausb. 2.1 g (67 %). $-\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{NO}_6$ (303.26). $-\text{CHN}$: ber.: C 61.34 H 3.51 N 4.57 gef.: C 59.31 H 4.33 N 4.61. $-\text{IR}$ (KBr): 3434, 3410 (OH), 2928

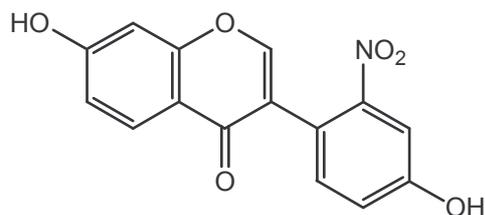
(CH_{aliph.}), 1630 (C=O), 1530 (ArNO₂) cm⁻¹. -¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.04 (s, 1H, 2,4-Di-OH-ArOH₂), 10.63 (s, 1H, 2,4-Di-OH-ArOH₄), 7.92 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₃), 7.61 (d, ⁴J = 2.6 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH), 7.47 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₆), 7.34 (dd, ⁴J = 2.6 Hz, ³J = 8.5 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₅), 6.41 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 8.8 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₅), 6.25 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₆), -**MS** (EI, 150 °C): m/z = 303 (M⁺, 2.6 %).

7-Hydroxy-3-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-4H-[1]benzopyran-4-on (4)



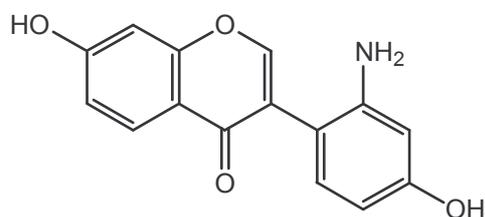
0.67 g (5.63 mmol) *N,N*-Dimethylformamidimethylacetal werden mit 0.67 g (2.2 mmol) **3** in 40 mL Tetrahydrofuran 1 h bei 80 °C erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird mit 50 mL 50 %iger Essigsäure 30 min rückfließend erhitzt. Das Rohprodukt wird abfiltriert und aus Ethanol/ Petrolether umkristallisiert.

Hellgelbe Kristalle, Schmp. 245 °C, Ausb. 0.58 g (84 %). -C₁₆H₁₁NO₆ (313.26). -**CHN**: ber.: C 61.34 H 3.51 N 4.47 gef.: C 61.17 H 3.78 N 4.41. -**IR** (KBr): 3432, 3391 (OH), 2845 (ArOCH₃), 1625 (C=O), 1534 (ArNO₂) cm⁻¹. -¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.86 (s, 1H, ChromonOH), 8.46 (s, 1H, ChromonH₂), 7.88 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, ChromonH₅), 7.58 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₃), 7.47 (d, ⁴J = 8.5 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₆), 7.37 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.5 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₅), 6.97 (dd, ⁴J = 2.1 Hz, ³J = 8.8 Hz, 1H, ChromonH₆), 6.85 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, ChromonH₈), 3.85 (s, 3H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArOCH₃), -**MS** (EI, 200 °C): m/z = 313 (M⁺, 0.4 %).

7-Hydroxy-3-(4-hydroxy-2-nitrophenyl)-4H-[1]benzopyran-4-on (5)

943 mg (3.0 mmol) **4** werden mit 45 mL 48 %iger HBr über Nacht rückfließend erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 50 mL Wasser aufgenommen und über Nacht gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und durch SC [Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt.

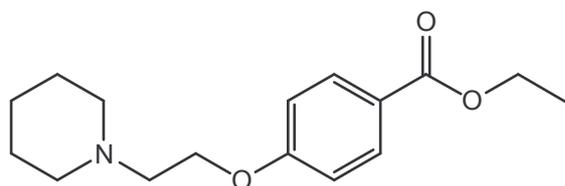
Gelbe Kristalle, Schmp, 285 °C, Ausb. 0.86 g (93 %). $-C_{15}H_9NO_6 \cdot 0.5H_2O$ (299.24·9.01). – **CHN**: ber.: C 58.45 H 3.27 N 4.54 gef.: C 58.35 H 3.04 N 4.39. –**IR** (KBr): 3454, 3418 (OH), 1623 (C=O), 1510 (ArNO₂) cm⁻¹. –**¹HNMR** ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.87 (s, 1H, ChromonOH), 10.51 (s, 1H, 2-NO₂-4-OH-ArOH), 8.41 (s, 1H, ChromonH₂), 7.87 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, ChromonH₅), 7.42 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OH-ArH₃), 7.33 (d, ³J = 8.3 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OH-ArH₆), 7.15 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.3 Hz, 1H, 2-NO₂-4-OH-ArH₅), 6.94 (dd, ⁴J = 8.7 Hz, ³J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH), 6.91 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₈). –**MS** (EI, 220 °C): m/z = 299 (M⁺, 0.4 %), 253 ([M-NO₂]⁺, 100.0 %).

3-(2-Amino-4-hydroxyphenyl)-7-hydroxy-4H-[1]benzopyran-4-on (6)

0.27 g (0.88 mmol) des 2'-Nitroisoflavons **5** werden mit 270 mg Pd/C (10%) und 2.45 g (29.69 mmol, 3 mL) Cyclohexen in 100 mL abs. Ethanol 4 h rückfließend erhitzt. Der Katalysator wird abfiltriert und gründlich mit Ethanol gewaschen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Aufreinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/Methanol (9+1)].

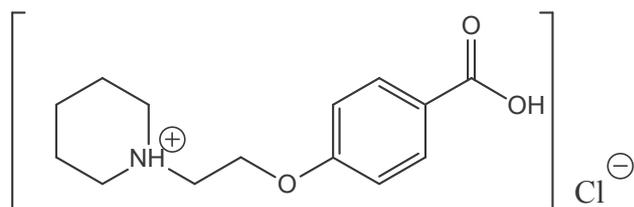
Beige Kristalle, Schmp. 220 °C, Ausb. 40 mg (17 %). $-C_{15}H_{11}NO_4$ (269.26). $-CHN$: ber.: C 66.91 H 4.12 N 5.20 gef.: C 66.78 H 4.15 N 5.03 $-IR$ (KBr): 3350, 3274 (OH, NH), 1625 (C=O) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 10.74 (s, 1H, ChromonOH₇), 9.02 (s, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArOH₄), 8.06 (s, 1H, ChromonH₂), 7.93 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, ChromonH₅), 6.92 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 8.72 Hz, 1H, ChromonH₆), 6.85 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.72 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArH₃), 6.16 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArH₆), 6.01 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ³J = 8.1 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArH₅), 4.67 (s, 2H, 2-NH₂-4-OH-ArNH₂). $-MS$ (EI, 270 °C): m/z = 269 (M^+ , 39.1 %).

Ethyl 4-(2-piperidinoethoxy)-benzoat (7)



Eine Suspension aus 3.00 g (18.05 mmol) Ethyl 4-hydroxybenzoat und 8.00 g K_2CO_3 wird in 90 mL DMF bei 100 °C erhitzt. 4.00 g (21.7 mmol) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid werden in kleinen Mengen zugegeben und 1.5 h bei 100 °C gerührt. Der Ansatz wird filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

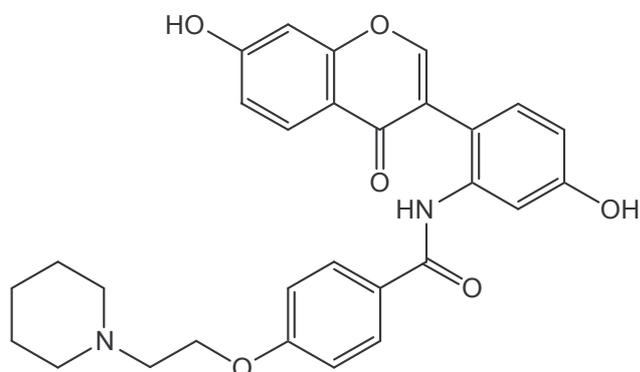
Gelbes Öl, Ausb. 3.86 g (77 %). $-C_{16}H_{23}NO_3$ (277.36). $-CHN$: ber.: C 69.29 H 8.36 N 5.05 gef.: C 69.25 H 8.28 N 4.92. $-IR$ (KBr): 2934 br ($CH_{aliphatic}$), 1712 (C=O) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 7.89 (d, ³J = 11.6 Hz, 2H, PhenylH_{2,6}), 7.01 (d, ³J = 11.5 Hz, 2H, PhenylH_{3,5}), 4.28 (q, ³J = 7.1 Hz, 2H, EthylCH₂), 4.12 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 2.67 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 2.34-2.48 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 1.43-1.54 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.33-1.43 (m, 2H, PiperidinH₄), 1.29 (t, ³J = 7.1 Hz, 3H, EthylCH₃). $-MS$ (EI, 35 °C): m/z = 277 (M^+ , 1.4 %).

1-[2-(4-Carboxy-phenoxy)-ethyl]-piperidiniumchlorid (8)

5.00 g (18.03 mmol) **7** werden in einer Mischung aus 60 mL 5 N NaOH und 180 mL Methanol 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das organische Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die verbleibende wässrige Lösung wird mit konz. HCl auf den pH 1 eingestellt. Das Volumen der wässrigen Lösung wird auf ein Viertel eingengt und der entstehende Niederschlag abgesaugt.

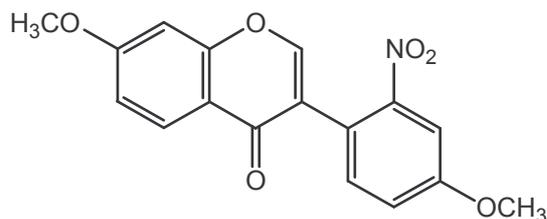
Weißer Nadeln, Schmp. 264 °C, Ausb. 4.51 g (88 %). $-C_{14}H_{20}ClNO_3 \cdot 0.5H_2O$ (285.77·9.01). – **CHN**: ber.: C 57.00 H 7.18 N 4.75 gef.: C 56.72 H 6.85 N 4.64. –**IR** (KBr): 3420 br (Säure), 2948 ($CH_{\text{aliph.}}$), 2682, 2660 (NH^+), 1713 ($C=O$) cm^{-1} . – **1H NMR** ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 12.70 (s, 1H, $COOH$), 11.04 (s, 1H, NH^+), 7.92 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, $ArH_{2,6}$), 7.08 (d, $^3J = 8.7$ Hz, 2H, $ArH_{3,5}$), 4.52 (t, $3J = 5.01$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 3.43-3.53 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 2.93-3.07 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 1.73-1.95 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.63-1.73 (m, 2H, Piperidin H_4). –**MS** (EI, 100 °C): $m/z = 249$ ($[M-HCl]^+$, 1.1 %).

N-[5-Hydroxy-2-(7-hydroxy-4-oxo-4*H*-benzopyran-3-yl)-phenyl]-4-(2-piperidinoethoxy)-benzamid (**9**)



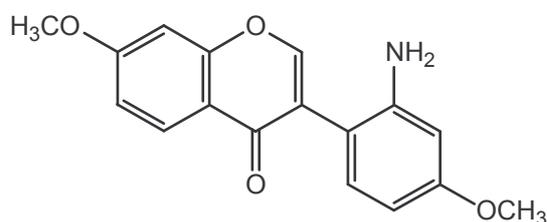
Eine Lösung von 0.20 g (0.38 mmol) des Benzamids **15** in 80 mL abs. Dichlormethan wird auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Zu der Lösung werden langsam 3 mL [3 mmol Bortribromid (1.0 M Lösung in Dichlormethan)] getropft. Es wird 15 min bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 18 h gerührt. Der nach Zugabe von 1 mL Methanol entstehende Niederschlag wird abfiltriert und durch SC [Dichlormethan/Ethanol (8+2)] gereinigt.

Hellgelbe Kristalle, Schmp. $191\text{ }^{\circ}\text{C}$, Ausb. 25 mg (13 %). $-\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$ (500.55·18.02). $-\text{CHN}$: ber.: C 67.17 H 5.83 N 5.40 gef.: C 66.70 H 6.18 N 5.08. $-\text{IR}$ (KBr): 3344, 3165 (OH, NH), 2950 ($\text{CH}_{\text{aliph.}}$), 1623 (C=O), 1251 (C-N) cm^{-1} . $-\text{H}^1\text{NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 400 MHz): δ (ppm): 10.86 (s, 1H, ChromonOH), 9.72 (s, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArOH), 9.60 (s, 1H, NH), 8.25 (s, 1H, ChromonH₂), 8.04 (d, $^3\text{J} = 8.7\text{ Hz}$, 1H, ChromonH₅), 7.72 (d, $^3\text{J} = 8.9\text{ Hz}$, 2H, BenzamidH_{2,6}), 7.29 (d, $^4\text{J} = 2.5\text{ Hz}$, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₆), 7.16 (d, $^3\text{J} = 8.4\text{ Hz}$, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₃), 6.99 (d, $^3\text{J} = 8.8\text{ Hz}$, 2H, BenzamidH_{3,5}), 6.97 (dd, $^4\text{J} = 2.2\text{ Hz}$, $^3\text{J} = 8.7\text{ Hz}$, 1H, ChromonH₆), 6.89 (d, $^4\text{J} = 2.1\text{ Hz}$, 1H, ChromonH₈), 6.67 (dd, $^4\text{J} = 2.5\text{ Hz}$, $^3\text{J} = 8.4\text{ Hz}$, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₄), 4.11 (t, $^3\text{J} = 5.7\text{ Hz}$, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 2.62-2.80 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 2.35-2.47 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 1.43-1.57 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.29-1.43 (m, 2H, PiperidinH₄). $-\text{MS}$ (FAB pos. [$\text{DMSO}/\text{m-NO}_2\text{-Benzyl-OH}$]): $m/z = 501$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 14.8 %).

7-Methoxy-3-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-4H-[1]benzopyran-4-on (10)

Eine Lösung aus 0.70 g (2.23 mmol) **4** in 150 mL Aceton wird mit 0.50 g (3.53 mmol, 0.22 mL) Jodmethan und 3 Spatelspitzen K_2CO_3 versetzt und 1 h rückfließend erhitzt. Anschließend wird das K_2CO_3 abfiltriert. Das Lösungsmittel wird abgedunstet und die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Ethylacetat/Ethanol (9+1)].

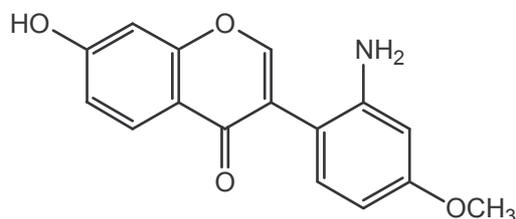
Gelbe Kristalle, Schmp. 191 °C, Ausb. 0.58 g (79 %). $-C_{17}H_{13}NO_6$ (327.29). $-CHN$: ber.: C 62.39 H 4.00 N 4.28 gef.: C 62.55 H 4.03 N 4.13. $-IR$ (KBr): 2966 ($CH_{aliph.}$), 2841 ($ArOCH_3$), 1645 ($C=O$), 1533 ($ArNO_2$) cm^{-1} . $-^1H NMR$ ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 8.55 (s, 1H, Chromon H_2), 7.95 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 1H, Chromon H_5), 7.62 (d, $^4J = 2.6$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4- OCH_3 -Ar H_3), 7.50 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4- OCH_3 -Ar H_6), 7.40 (dd, $^4J = 2.6$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4- OCH_3 -Ar H_5), 7.21 (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, Chromon H_8), 7.09 (dd, $^4J = 2.4$ Hz, $^3J = 8.9$ Hz, 1H, Chromon H_6), 3.87 (s, 6H, 2 x OCH_3). $-MS$ (EI, 130 °C): $m/z = 281$ ($[M-NO_2]^+$, 54.8 %).

3-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-7-methoxy-4H-[1]benzopyran-4-on (11)

Eine Lösung aus 0.62 g (2.19 mmol) **12** in 50 mL Aceton wird mit 0.50 g (3.53 mmol, 0.22 mL) Jodmethan und 2 Spatelspitzen K_2CO_3 versetzt und 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Das K_2CO_3 wird abfiltriert; das Lösungsmittel wird abgedunstet. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

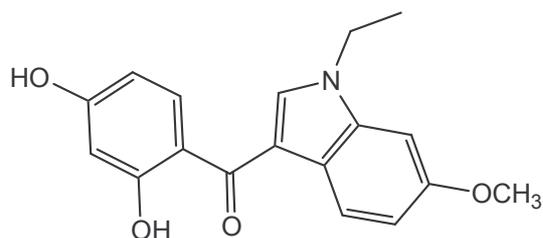
Schwachgelbe Kristalle, Schmp. 185 °C, Ausb. 0.51 g (78 %). $-C_{17}H_{15}NO_4$ (297.31). $-CHN$: ber.: C 68.68 H 5.09 N 4.71 gef.: C 68.92 H 5.36 N 4.75. $-IR$ (KBr): 3428, 3326 (NH), 2837 (ArOCH₃), 1625 (C=O) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 8.14 (s, 1H, ChromonH₂), 8.02 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, ChromonH₅), 7.17 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChromonH₈), 7.08 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ³J = 8.9 Hz, 1H, ChromonH₆), 6.86 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₆), 6.30 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₃), 6.12 (dd, ⁴J = 8.3 Hz, ³J = 2.5 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₅), 4.84 (s, 2H, NH₂), 3.91 (s, 3H, ChromonOCH₃), 3.67 (s, 3H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArOCH₃). $-MS$ (EI, 90 °C): m/z = 297 (M⁺, 36.5 %).

3-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-7-hydroxy-4H-[1]benzopyran-4-on (12)



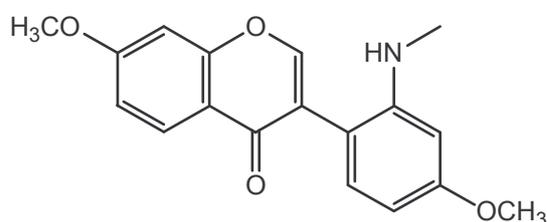
Eine Mischung aus 1.00 g (3.19 mmol) **4**, 2.45 g (29.69 mmol, 3 mL) Cyclohexen und 1.00 g Pd/C (10 %) wird in 120 mL Ethanol 2 h rückfließend erhitzt. Der Katalysator wird abfiltriert und gründlich mit Ethanol gewaschen. Anschließend wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Aufreinigung der Reaktionsmischung erfolgt durch Suspendierung des Ansatzes mit Dichlormethan/ Methanol (9+1) und anschließender Filtration des Rückstands.

Beige Kristalle, Schmp. 205 °C, Ausb. 0.41 g (45 %). $-C_{16}H_{13}NO_4$ (283.283). $-CHN$: ber.: C 67.84 H 4.63 N 4.94 gef.: C 67.77 H 4.40 N 4.80. $-IR$ (KBr): 3321 br, 3262 br (OH, NH), 2837 (ArOCH₃), 1623 (C=O) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.73 (s, 1H, ChromonOH₇), 8.08 (s, 1H, ChromonH₂), 7.94 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, ChromonH₅), 6.93 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 8.7 Hz, 1H, ChromonH₆), 6.87 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.85 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₆), 6.31 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₃), 6.19 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.3 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₅), 4.81 (s, 2H, NH₂), 3.70 (s, 3H, OCH₃). $-MS$ (EI, 180 °C): m/z = 283 (M⁺, 10.2 %).

(2,4-Dihydroxyphenyl)-(1-ethyl-6-methoxy-1*H*-indol-3-yl)-methanon (**13**)

Eine Mischung aus 0.20 g (0.64 mmol) **4**, 0.2 g Pd/C (10%) und 2.45 g (29.69 mmol, 3 mL) Cyclohexen wird in abs. Ethanol 4 h rückfließend erhitzt. Der Katalysator wird abfiltriert und gründlich mit Ethanol gewaschen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Aufreinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

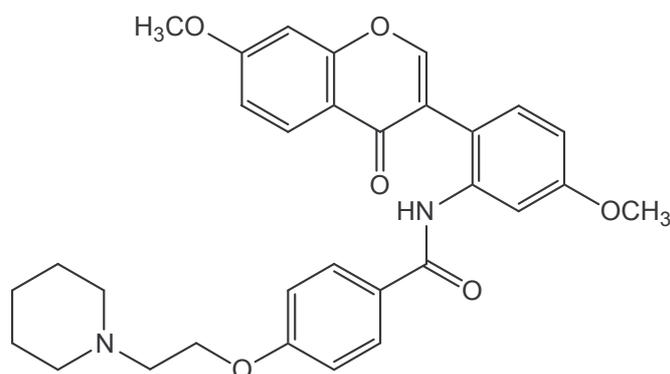
Grünliches Pulver, Schmp. 184°C, Ausb. 19 mg (10 %). –C₁₈H₁₇NO₄ (311.34). –CHN: ber.: C 69.44 H 5.50 N 4.50 gef.: C 69.38 H 5.70 N 4.44. –IR (KBr): 3404, 3191 br (OH), 2930 (CH_{aliph.}), 2855 (ArOCH₃), 1621 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.64 (s, 1H, 2,4-Di-OH-ArOH₂), 10.36 (s, 1H, 2,4-Di-OH-ArOH₄), 8.08 (s, 1H, IndolH₂), 8.00 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₆), 7.80 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H IndolH₄), 7.15 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, IndolH₇), 6.87 (dd, ⁴J = 2.1 Hz, ³J = 8.9 Hz, 1H, IndolH₅), 6.42 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ³J = 8.8 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₅), 6.30 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₃), 4.28 (q, ³J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 1.40 (t, ³J = 7.11 Hz, 3H, CH₃). –MS (EI, 130 °C): m/z = 311 (M⁺, 49.0 %).

7-Methoxy-3-[4-methoxy-2-(methylamino)-phenyl]-4*H*-[1]benzopyran-4-on (**14**)

Die Arbeitsvorschrift ist analog der Vorschrift für die Verbindung **11**, als zusätzliches Reaktionsprodukt kann die Verbindung **14** durch SC isoliert werden.

Gelbe Kristalle, Schmp. 115 °C, Ausb. 90 mg (13 %). –C₁₈H₁₇NO₄ (311.34). –CHN: ber.: C 69.44 H 5.50 N 4.50 gef.: C 69.40 H 5.72 N 4.40. –IR (KBr): 3382 (NH), 2937 (CH_{aliph.}), 2835 (ArOCH₃), 1627 (C=O), 1266, 1244 (C-N) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 8.11 (s, 1H, ChromonH₂), 7.99 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, ChromonH₅), 7.15 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ChromonH₈), 7.06 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ³J = 8.9 Hz, 1H, ChromonH₆), 6.84 (d, ³J = 8.14 Hz, 1H, 2-NHCH₃-4-OCH₃-ArH₆), 6.19 (dd, ⁴J = 2.4 Hz, ³J = 8.3 Hz, 1H, 2-NHCH₃-4-OCH₃-ArH₅), 6.06 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, 2-NHCH₃-4-OCH₃-ArH₃), 5.07 (q, 3J = 4.8 Hz, 1H, NH), 3.93 (s, 3H, ChromonOCH₃), 3.71 (s, 3H, 2-NHCH₃-4-OCH₃-ArOCH₃), 2.62 (q, ³J = 4.9 Hz, 3H, NCH₃). –MS (EI, 130 °C): m/z = 311 (M⁺, 36.1 %).

N-[5-Methoxy-2-(7-methoxy-4-oxo-4H-[1]benzopyran-3-yl)-phenyl]-4-(2-piperidinoethoxy)-benzamid (15)

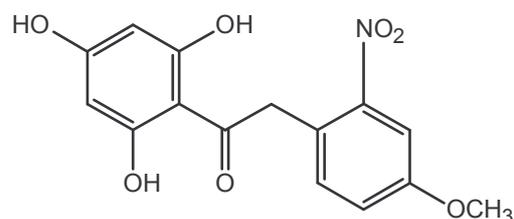


Mit einem Überschuss Thionylchlorid werden 220 mg (0.77 mmol) des Benzoesäurederivats **8** für 15 min bei 50 °C erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird im Vakuum entfernt. Das entstandene Säurechlorid wird sofort weiterverarbeitet, indem es in 100 mL 1,4-Dioxan gelöst und mit 230 mg (0.77 mmol) des Isoflavons **11** versetzt wird. Die Mischung wird 60 min bei 70 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand durch SC [Dichlormethan / Methanol (9+1)] gereinigt.

Beiges Pulver, Schmp. 130 °C, Ausb. 206 mg (51 %). –C₃₁H₃₂N₂O₆ (528.60). –CHN: ber.: C 70.44 H 6.10 N 5.30 gef.: C 70.46 H 6.14 N 5.06. –IR (KBr): 3433 br (NH), 2932 (CH_{aliph.}), 2848 (ArOCH₃), 1666, 1621, 1609 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 9.64 (s, 1H, NH), 8.33 (s, 1H, ChromonH₂), 8.08 (d, ³J = 9.0 Hz, 1H, ChromonH₅), 7.72 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, BenzamidH_{2,6}), 7.40 (d, ⁴J = 2.7 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₆), 7.30 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₃), 7.18 (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, ChromonH₈), 7.11

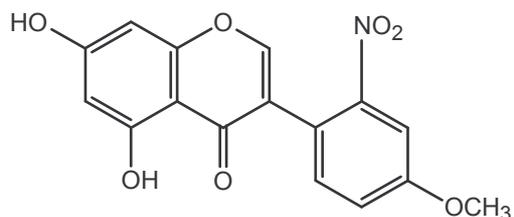
(dd, $^4J = 2.4$ Hz, $^3J = 9.0$ Hz, 1H, Chromon H_6), 6.97 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 2H, Benzamid $H_{3,5}$), 6.88 (dd, $^4J = 2.6$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH $_3$ -Ar H_4), 4.10 (t, $^3J = 5.9$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH $_2$), 3.91 (s, 3H, ChromonOCH $_3$), 3.80 (s, 3H, 2-Chromonyl-5-OCH $_3$ -ArOCH $_3$), 2.56-2.72 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH $_2$), 2.34-2.45 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 1.41-1.55 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.30-1.41 (m, 2H, Piperidin H_4). -MS (EI, 170 °C): m/z = 528 (M $^+$, 1.3 %).

2-(4-Methoxy-2-nitrophenyl)-1-(2,4,6-trihydroxyphenyl)-ethanon (16)



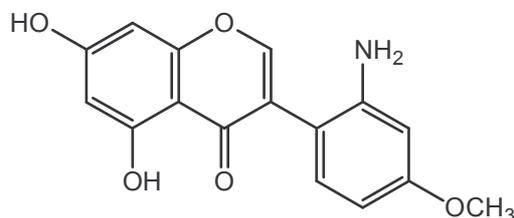
Eine Lösung aus 3.00 g (15.61 mmol) **1** in 110 mL Diethylether wird auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 2.80 g (20.87 mmol) Zinkchlorid wird 1.5 h lang Chlorwasserstoff eingeleitet. Zu dem Ansatz werden 1.40 g (11.1 mmol) Phloroglucinol gegeben. Der Ansatz wird unter Feuchtigkeitsausschluß über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird dekantiert und der Rückstand nach Zugabe von 60 mL Wasser 2 h bei 100 °C hydrolysiert. Der Ansatz wird mit 3x 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und mit Na $_2$ SO $_4$ getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

Braunes Pulver, Schmp. 214 °C, Ausb. 2.10 g (42 %). -C $_{15}$ H $_{13}$ NO $_7$ (319.27). -CHN: ber.: C 56.43 H 4.10 N 4.39 gef.: C 56.82 H 4.45 N 4.02. -IR (KBr): 3427, 3371, 3208 br (OH), 2939 (CH $_{aliph}$), 2841 (ArOCH $_3$), 1629 (C=O), 1529 (ArNO $_2$) cm $^{-1}$. - 1 HNMR ([D $_6$]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.09 (s, 2H, 2,4,6-Tri-OH-ArOH $_{2,6}$), 10.46 (s, 1H, 2,4,6-Tri-OH-ArOH $_4$), 7.59 (d, $^4J = 2.71$ Hz, 1H, 2-NO $_2$ -4-OCH $_3$ -Ar H_3), 7.44 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1H, 2-NO $_2$ -4-OCH $_3$ -Ar H_6), 7.30 (dd, $^4J = 2.7$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2-NO $_2$ -4-OCH $_3$ -Ar H_5), 5.84 (s, 2H, 2,4,6-Tri-OH-Ar $H_{3,5}$), 4.67 (s, 2H, CH $_2$), 3.86 (s, 3H, 2-NO $_2$ -4-OCH $_3$ -ArOCH $_3$). -MS (EI, 60 °C): m/z = 319 (M $^+$, 6.2 %).

5,7-Dihydroxy-3-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-4H-[1]benzopyran-4-on (17)

Zu einer Lösung aus 1.00 g (3.13 mmol) **16** in 100 mL DMF tropft man langsam 1.48 g (12.92 mmol, 1 mL) Methansulfonsäurechlorid, gelöst in 50 mL DMF, und eine Lösung aus 2 mL Bortrifluoridetherat (0.04 mmol) in 50 mL DMF. Die Lösung wird 1.5 h bei 100 °C erhitzt, nach Erkalten auf 100 mL Eis gegossen und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)] gereinigt.

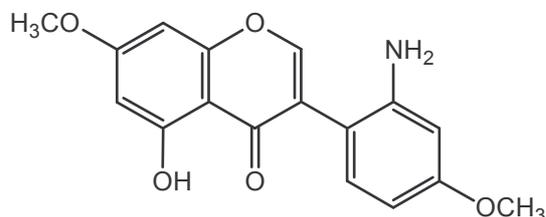
Gelbes Pulver, Schmp. 215 °C, Ausb. 0.65g (63 %). $-C_{16}H_{11}NO_7$ (329.27). $-CHN$: ber.: C 58.37 H 3.37 N 4.25 gef.: C 58.28 H 3.52 N 3.98. $-IR$ (KBr): 3422 br (OH), 2849 (ArOCH₃), 1655 (C=O), 1531 (ArNO₂) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.36 (s, 1H, ChromonOH₅), 11.03 (s, 1H, ChromonOH₇), 8.50 (s, 1H, ChromonH₂), 7.65 (d, $^4J = 2.6$ Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₃), 7.51 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₆), 7.41 (dd, $^4J = 2.7$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArH₅), 6.45 (d, $^4J = 2.1$ Hz, 1H, ChromonH₈), 6.25 (d, $^4J = 2.1$ Hz, 1H, ChromonH₆), 3.90 (s, 3H, 2-NO₂-4-OCH₃-ArOCH₃). $-MS$ (EI, 170 °C): $m/z = 329$ (M⁺, 34.4 %).

3-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-[1]benzopyran-4-on (19)

Eine Suspension aus 0.50 g (1.52 mmol) der Verbindung **17**, 0.50 g Pd/C (10%) und 2.45 g (3 mL, 29.72 mmol) Cyclohexen in 80 mL Ethanol wird unter kräftigem Rühren 4 h bei 80 °C erhitzt. Der Katalysator wird abfiltriert und gründlich mit viel Ethanol gewaschen. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wird das Rohprodukt in Dichlormethan/ Methanol (9+1) suspendiert und durch Filtration gesammelt.

Beiges Pulver, Schmp. 230 °C, Ausb. 0.25 g (55 %). $-C_{16}H_{13}NO_5$ (299.28). $-CHN$: ber.: C 64.21 H 4.38 N 4.68 gef.: C 64.17 H 4.50 N 4.65. $-IR$ (KBr): 3377, 3074 br (OH, NH), 2839 (ArOCH₃), 1654 (C=O) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.93 (s, 1H, ChromonOH₅), 10.80 (s, 1H, ChromonOH₇), 8.09 (s, 1H, ChromonH₂), 6.83 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₆), 6.37 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₈) 6.28 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₃) 6.22 (d, ⁴J = 2.1 Hz, ChromonH₆), 6.17 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.3 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₅), 4.96 (s, 2H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArNH₂), 3.68 (s, 3H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArOCH₃). $-MS$ (EI, 170 °C): m/z = 299 (M⁺, 1.3 %).

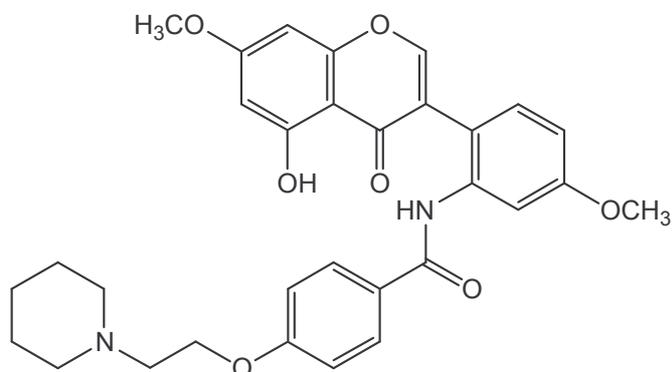
3-(2-Amino-4-methoxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-4H-[1]benzopyran-4-on (20)



Zu einer Lösung aus 190 mg (0.63 mmol) **19** in 40 mL Aceton gibt man 2 Spatelspitzen K₂CO₃ und 170 mg (1.20 mmol, 0.1 mL) Jodmethan und rührt 2 h bei Raumtemperatur. Nach der Entfernung des K₂CO₃ durch Filtration wird das Lösungsmittel abgedunstet. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch SC [Ethylacetat/Ethanol (9+1)].

Gelbe Kristalle, Schmp. 177 °C, Ausb. 80 mg (41 %). $-C_{17}H_{15}NO_5$ (313.31). $-CHN$: ber.: C 65.17 H 4.83 N 4.47 gef.: C 65.17 H 4.73 N 4.39. $-IR$ (KBr): 3419, 3380, 3353 (OH, NH), 2836 (ArOCH₃), 1656 (C=O) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.93 (s, 1H, ChromonOH₅), 8.19 (s, 1H, ChromonH₂), 6.85 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₆), 6.65 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.40 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChromonH₆), 6.27 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₃), 6.17 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.3 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArH₅), 4.97 (s, 2H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArNH₂), 3.87 (s, 3H, ChromonOCH₃), 3.68 (s, 2H, 2-NH₂-4-OCH₃-ArOCH₃). $-MS$ (EI, 160 °C): m/z = 313 (M⁺, 42.5 %).

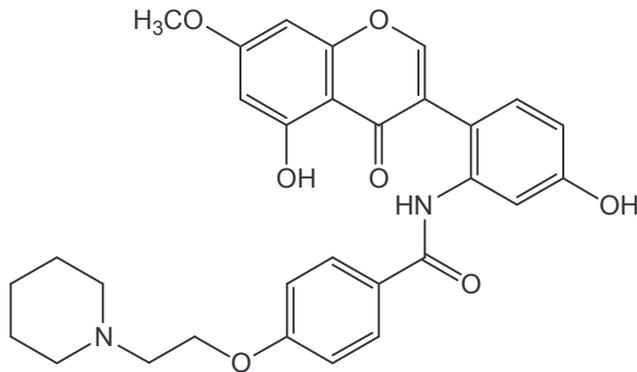
N-[2-(5-Hydroxy-7-methoxy-4-oxo-4*H*-[1]benzopyran-3-yl)-5-methoxyphenyl]-4-(2-piperidinoethoxy)-benzamid (**21**)



Für 15 min werden 220 mg (0.70 mmol) des Benzoessäurederivats **8** mit einem Überschuss Thionylchlorid bei 50 °C erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird im Vakuum entfernt und das entstandene Säurechlorid sofort weiterverarbeitet. Es wird in 25 mL 1,4-Dioxan gelöst und mit 220 mg (0.70 mmol) des Isoflavons **20** versetzt. Die Mischung wird 3 h bei 101 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in 50 mL 5 N NaOH gelöst und mit 3x 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wiederum im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

Beige Kristalle, Schmp. 167 °C, Ausb. 248 mg (64 %). –C₃₁H₃₂N₂O₇·0.5H₂O (544.60·9.01). –**CHN**: ber.: C 66.18 H 6.09 N 4.98 gef.: C 66.45 H 6.07 N 4.61. –**IR** (KBr): 3432 (OH, NH), 2936 (C_H_{aliph.}), 2851 (ArOCH₃), 1654 (C=O), 1254 (C-N) cm⁻¹. –**¹HNMR** ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.85 (s, 1H, ChromonOH₅), 9.63 (s, 1H, NH), 8.26 (s, 1H, ChromonH₂), 7.72 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, BenzamidH_{2,6}), 7.36 (d, ⁴J = 2.6 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₆), 7.27 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₃), 6.97 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, BenzamidH_{3,5}), 6.89 (dd, ⁴J = 2.7 Hz, ³J = 8.6 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₄), 6.65 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.42 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChromonH₆), 4.10 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 3.86 (s, 3H, ChromonOCH₃), 3.80 (s, 3H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArOCH₃), 2.58-2.71 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 2.35-2.46 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 1.43-1.54 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.33-1.43 (m, 2H, PiperidinH₄). –**MS** (EI, 40 °C): m/z = 544 (M⁺, 1.7 %).

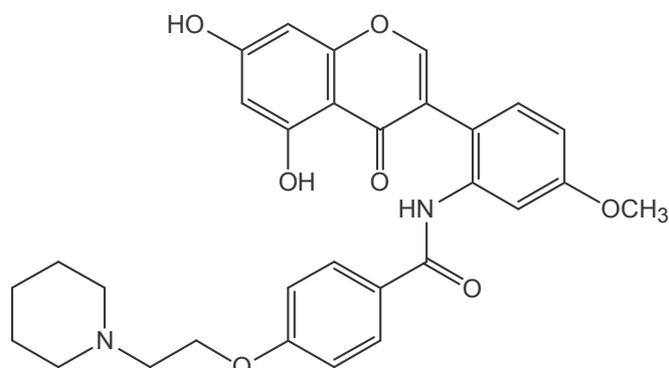
N-[2-(5-Hydroxy-7-methoxy-4-oxo-4H-[1]benzopyran-3-yl)-5-hydroxyphenyl]-4-(2-piperidinoethoxy)-benzamid (**22**)



Eine Lösung aus 0.21 g (0.38 mmol) des Benzamids **21** in 50 mL abs. Dichlormethan wird auf $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gekühlt. Zu der Lösung werden langsam 10 mL [10 mmol Bortribromid (1.0 M Lösung in Dichlormethan)] getropft. Es wird 15 min bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 18 h gerührt. Nach Zugabe von 2 mL Methanol wird der entstehende Niederschlag abfiltriert und durch SC [Dichlormethan/Methanol (9+1)] gereinigt.

Beige Kristalle, Schmp. $190\text{ }^{\circ}\text{C}$, Ausb. 96 mg (46 %). $-\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7 \cdot 1\text{H}_2\text{O}$ (530.58·18.02). **CHN**: ber.: C 65.68 H 5.88 N 5.11 gef.: C 65.58 H 5.82 N 5.37. **-IR** (KBr): 3428 br (OH, NH), 2936 ($\text{CH}_{\text{aliph.}}$), 2852 (ArOCH_3), 1654 ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} . **^1H NMR** ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$, 400 MHz): δ (ppm): 12.85 (s, 1H, ChromonOH₅), 9.70 (s, 1H, NH), 9.48 (s, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArOH₅), 8.23 (s, 1H, ChromonH₂), 7.71 (d, $^3\text{J} = 8.8\text{ Hz}$, 2H, BenzamidH_{2,6}), 7.20 (d, $^4\text{J} = 2.4\text{ Hz}$, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₆), 7.14 (d, $^3\text{J} = 8.3\text{ Hz}$, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₃), 6.97 (d, $^3\text{J} = 8.8\text{ Hz}$, 2H, BenzamidH_{3,5}), 6.71 (dd, $^4\text{J} = 2.5\text{ Hz}$, $^3\text{J} = 8.4\text{ Hz}$, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₄), 6.62 (d, $^4\text{J} = 2.3\text{ Hz}$, 1H, ChromonH₈), 6.39 (d, $^4\text{J} = 2.3\text{ Hz}$, 1H, ChromonH₆), 4.09 (t, $^3\text{J} = 5.8\text{ Hz}$, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 3.84 (s, 3H, ChromonOCH₃), 2.67 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 2.36-2.48 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 1.42-1.53 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.34 (m, 2H, PiperidinH₄). **-MS** (FAB pos. [$\text{DMSO}/m\text{-NO}_2\text{-Benzyl-OH}$]): $m/z = 531$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 63.6 %).

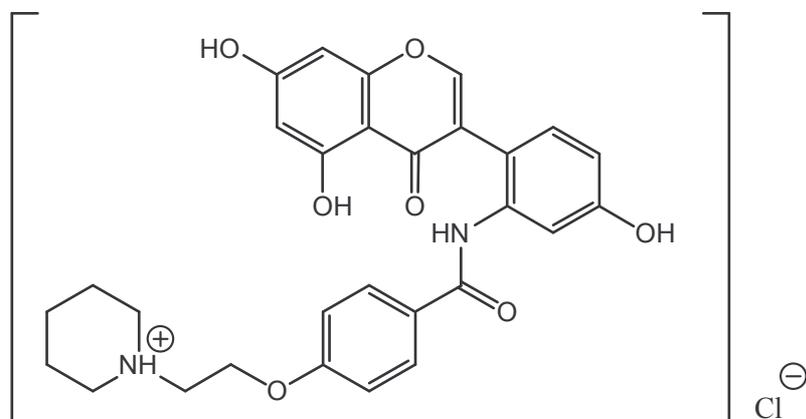
N-[5,7-Hydroxy-4-oxo-4*H*-[1]benzopyran-3-yl]-5-methoxyphenyl]-4-(2-piperidinoethoxy)-benzamid (**23**)



Eine Lösung aus 0.17 g (1.0 mmol) des Benzoesäurederivats **8** in einem Überschuss Thionylchlorid wird 15 min bei 50 °C erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird im Vakuum entfernt. Das entstandene Säurechlorid wird sofort weiterverarbeitet. Es wird in 30 mL 1,4-Dioxan gelöst und mit 0.18 g (0.60 mmol) des Isoflavons **19** versetzt. Die Mischung wird 60 min bei 70 °C erhitzt. Das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)] gereinigt.

Beiges Pulver, Schmp. 202 °C, Ausb. 0.15 g (46 %). $-C_{30}H_{30}N_2O_7 \cdot 0.5H_2O$ (530.57·9.01). – **CHN**: ber.: C 66.78 H 5.79 N 5.19 gef.: C 66.34 H 5.96 N 5.28. –**IR** (KBr): 3426 br (OH, NH), 2935 ($CH_{\text{aliph.}}$), 2853 ($ArOCH_3$), 1654, 1608 ($C=O$) cm^{-1} . –**¹HNMR** ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 12.87 (s, 1H, ChromonOH₅), 10.87 (s, 1H, ChromonOH₇), 9.66 (s, 1H, NH), 8.20 (s, 1H, ChromonH₂), 7.73 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, BenzamidH_{2,6}), 7.33 (d, ⁴J = 2.6 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₆), 7.27 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₃), 6.97 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, BenzamidH_{3,5}), 6.88 (dd, ⁴J = 2.7 Hz, ³J = 8.6 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArH₄), 6.37 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.22 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₆), 4.10 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 3.79 (s, 3H, 2-Chromonyl-5-OCH₃-ArOCH₃), 2.65 (t, ³J = 5.8 Hz, 3H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 2.35-2.46 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 1.43-1.54 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.19-1.28 (m, 2H, PiperidinH₄). –**MS** (FAB pos. $[DMSO/m-NO_2-Benzyl-OH]$): $m/z = 531$ ($[M+H]^+$, 81.4 %).

1-(2-{4-[2-(5,7-Dihydroxy-4-oxo-4*H*-[1]benzopyran-3-yl)-5-hydroxyphenylcarbamoyl]-phenoxy}-ethyl)-piperidiniumchlorid (**24**)

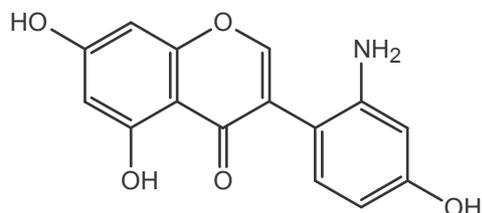


Eine Lösung aus 0.15 g (0.28 mmol) **23** in 30 mL abs. Dichlormethan wird auf 0 °C gekühlt. Es werden 5 mL [5 mmol (1 M in Dichlormethan)] Bortribromid zugetropft. Der Ansatz wird weitere 15 min bei 0 °C gerührt, anschließend langsam auf Raumtemperatur gebracht und weitere 18 h gerührt. Anschließend wird die Mischung in 120 mL gesättigte NaHCO₃-Lösung gegossen und 30 min gerührt. Die wässrige Lösung wird erst mit 3x 100 mL Dichlormethan, dann mit 3x 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird in Dichlormethan/ Methanol (9+1) suspendiert, abfiltriert und getrocknet. Um das Hydrochlorid der freien Base zu fällen, wird der Rückstand in 30 mL Ethanol gelöst und mit 2 mL etherischer HCl versetzt. Man vertreibt das Lösungsmittel nahezu vollständig und saugt den Niederschlag ab.

Hellgelbes Pulver, Schmp. 224 °C, Ausb. 50 mg (29 %). –C₂₉H₂₉N₂ClO₇·3H₂O (553.01·54.05). –CHN: ber.: C 57.38 H 5.81 N 4.61 gef.: C 58.04 H 5.88 N 4.65 –IR (KBr): 3432 br (OH, NH, Kristallwasser), 2942 (CH_{aliph.}), 2360, 2337 (NH⁺), 1647, 1616 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.84 (s, 1H, ChromonOH₅), 10.90 (s, 1H, ChromonOH₇), 9.70 (s, 1H, BenzamidNH), 9.53 (s, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArOH), 9.36 (s, 1H, NH⁺), 8.19 (s, 1H, ChromonH₈), 7.77 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, BenzamidH_{2,6}), 7.18 (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₆), 7.1 (d, ³J = 8.4 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₃), 7.04 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, BenzamidH_{3,5}), 6.69 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.4 Hz, 1H, 2-Chromonyl-5-OH-ArH₄), 6.37 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.22 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, ChromonH₆), 4.39 (t, ³J = 4.7 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 3.43-3.56 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 2.84-3.11

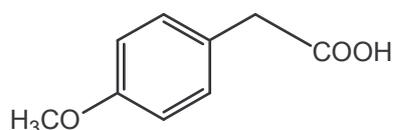
(m, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 1.60-1.75 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.17-1.32 (m, 2H, PiperidinH₄). -MS (FAB pos. [DMSO/m-NO₂-Benzyl-OH]): m/z = 517 ([M-Cl]⁺, 32.5 %).

3-(2-Amino-4-hydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-4H-[1]benzopyran-4-on (25)



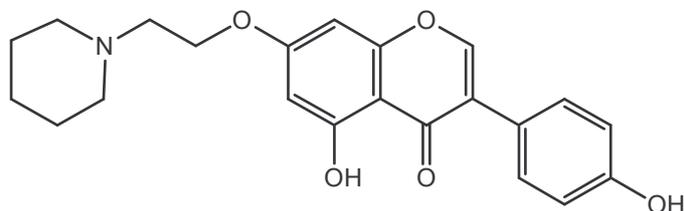
Eine Lösung aus 200 mg (0.67 mmol) **19** und 30 mL Dichlormethan wird auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung werden langsam 4 mL [4 mmol. (1 M in Dichlormethan)] Bortribromid getropft. Man rührt weitere 15 min bei 0 °C, dann erwärmt man die Lösung auf Raumtemperatur und lässt den Ansatz über Nacht rühren. Der Ansatz wird in 100 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gegossen und zuerst mit 3x 100 mL Dichlormethan, danach mit 3x 100 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten Ethylacetatphasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Hellgelbes Pulver, Schmp. 233 °C, Ausb. 137 mg (69 %). -C₁₅H₁₁NO₅·0.5H₂O (285.26·9.01). -CHN: ber.: C 61.23 H 3.89 N 4.91 gef.: C 60.86 H 4.24 N 4.57. -IR (KBr): 3314, 3076 (OH, NH), 1654 (C=O) cm⁻¹. -¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.75 (s, 1H, ChromonOH₅), 10.61 (s, 1H, ChromonOH₇), 8.86 (s, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArOH), 7.88 (s, 1H, ChromonH₂), 6.52 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArH₆), 6.18 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.02 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChromonH₆), 5.96 (d, ⁴J = 2.4 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArH₃), 5.83 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ³J = 8.1 Hz, 1H, 2-NH₂-4-OH-ArH₅) 4.65 (s, 2H, 2-NH₂-4-OH-ArNH₂). -MS (EI, 80 °C): m/z = 285 (M⁺, 38.6 %).

2-(4-Methoxyphenyl)-essigsäure (27)

Eine Mischung aus 5.00 g (34.0 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)-acetonitril, 40 mL konz. H₂SO₄ und 60 mL Wasser wird 15 min rückfließend erhitzt. Der erkaltete Ansatz wird auf 200 mL Eis gegossen und der weiße Niederschlag abfiltriert.

Weißer Kristalle, Schmp. 88°C, Ausb. 2.45 g (43 %). –C₉H₁₀O₃ (166.18). –CHN: ber.: C 65.05 H 6.07 N 0.00 gef.: C 65.11 H 6.05 N 0.00. –IR (KBr): 3362 (OH), 1720. 1698 (C=O), 1516 (ArNO₂) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 11.93 (s, 1H, COOH), 7.16 (d, ³J = 8.42 Hz, 2H, ArH₃H₅), 6.86 (d, ³J = 8.45 Hz, 2H, ArH₂H₆), 3.71 (s, 3H, OCH₃) 3.48 (s, 2H, CH₂). –MS (EI, 85 °C): m/z = 166 (M⁺, 27.7 %).

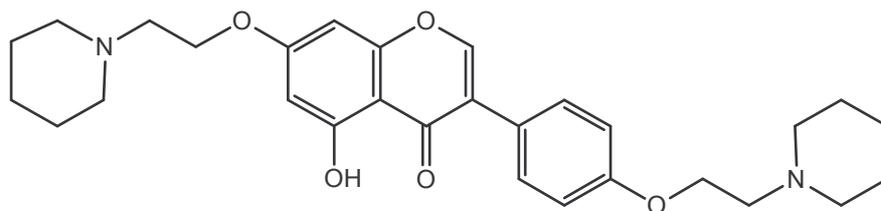
5-Hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-(2-piperidinoethoxy)-4H-[1]benzopyran-4-on (29)

20 mL Acetonitril werden mit 100 mg (0.39 mmol) Genistein, 80.0 mg (0.43 mmol) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid und 2 Spatelspitzen K₂CO₃ versetzt. Die resultierende Mischung wird 3.5 h rückfließend erhitzt. Das K₂CO₃ wird abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Ethylacetat/Ethanol/NH₃ (25 %) (80+20+1)].

Beiges Pulver, Ausb. 25 mg (17 %), –C₂₂H₂₃NO₅ (381.43). –IR (KBr): 3400 (OH), 2924 (CH_{aliph.}), 1658 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.91 (s, 1H, ChromonOH), 9.59 (s, 1H, 4-OH-ArOH), 8.43 (s, 1H, ChromonH₂), 7.37 (dd, ⁴J = 1.9 Hz, ³J = 6.7 Hz, 2H, 4-OH-ArH_{2,6}), 6.81 (dd, ⁴J = 1.9 Hz, ³J = 6.6 Hz, 2H, 4-OH-ArH_{3,5}), 6.67 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ChromonH₈), 6.40 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChromonH₆), 4.19 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H,

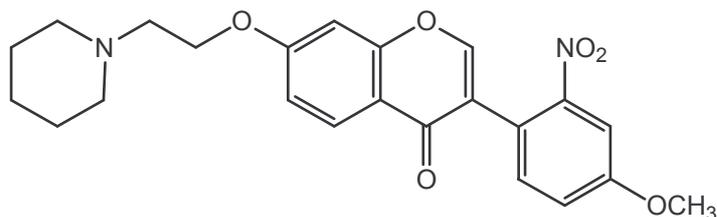
Piperidinoethoxy-1- CH_2), 2.63-2.69 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 2.37-2.45 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 1.44-1.54 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.30-1.44 (m, 2H, Piperidin H_4), -MS (FAB pos. [DMSO/ m-NO₂-benzyl-OH]): m/z = 382 ([M+H]⁺, 63.0 %).

5-Hydroxy-7-(2-piperidinoethoxy)-3-[4-(2-piperidinoethoxy)-phenyl]-4H-[1]benzopyran-4-on (30)



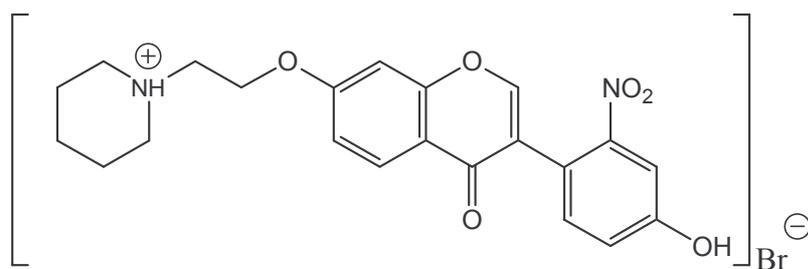
In 20 mL Acetonitril werden 0.10 g (0.39 mmol) Genistein, 0.15 g (0.81 mmol) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid und 2 Spatelspitzen K₂CO₃ gelöst und 18 h rückfließend erhitzt. Das K₂CO₃ wird abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Ethylacetat/Ethanol/NH₃ (25 %) (80+20+1)].

Hellgelbes Pulver, Schmp. 117 °C, Ausb. 0.15 g (78 %). -C₂₉H₃₆N₂O₅ (492.26). -CHN: ber.: C 70.71 H 7.36 N 5.69 gef.: C 70.75 H 7.41 N 5.56 -IR (KBr): 3399 (OH), 2939, 2926 (CH_{aliph.}), 1648 (C=O), 1250 (C-N) cm⁻¹. -¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.91 (s, 1H, ChromonOH), 8.45 (s, 1H, ChromonH₂), 7.50 (dd, ⁴J = 1.9 Hz, ³J = 6.7 Hz, 2H, PhenylH_{2,6}), 7.01 (dd, ⁴J = 2.0 Hz, ³J = 6.8 Hz, 2H, PhenylH_{3,5}), 6.68 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H ChromonH₈), 6.41 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ChromonH₆), 4.19 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H, PiperidinoethoxyChromon-1- CH_2), 4.09 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H, PiperidinoethoxyPhenyl-1- CH_2), 2.62-2.72 (m, 4H, PiperidinoethoxyChromon-2- CH_2 . PiperidinoethoxyPhenyl-2- CH_2), 2.36-2.47 (m, 8H, PiperidinChromonH_{2,6}, PiperidinPhenylH_{2,6}), 1.42-1.55 (m .8H, PiperidinChromonH_{3,5}. PiperidinPhenylH_{3,5}), 1.30-1.42 (m, 4H, PiperidinChromonH₄. PiperidinPhenylH₄). -MS (FAB pos. [DMSO/m-NO₂-Benzyl-OH]): m/z = 493 ([M+H]⁺, 83.0 %).

3-(4-Methoxy-2-nitrophenyl)-7-(2-piperidinoethoxy)-4H-[1]benzopyran-4-on (32)

Eine Mischung aus 0.5 g (1.60 mmol) **4**, 294 mg (1.60 mmol) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid und 2 Spatelspitzen K_2CO_3 in 70 mL Acetonitril wird 2 h bei 82 °C gerührt. Das K_2CO_3 wird abfiltriert. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

Hellgelbe Kristalle, Schmp. 144°C, Ausb. 630 mg (93 %). $-C_{23}H_{24}N_2O_6$ (424.45). $-CHN$: ber.: C 65.08 H 5.70 N 6.60 gef.: C 65.14 H 5.71 N 6.50. **-IR** (KBr): 2940 ($CH_{\text{aliph.}}$), 2851 ($ArOCH_3$), 1644, 1622 ($C=O$), 1533 ($ArNO_2$) cm^{-1} . **1H NMR** ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 8.55 (s, 1H, Chromon H_2), 7.93 (d, $^3J = 8.9$ Hz, 1H, Chromon H_5), 7.62 (d, $^4J = 2.7$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4- OCH_3 - ArH_3), 7.50 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4- OCH_3 - ArH_6), 7.40 (dd, $^4J = 2.6$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4- OCH_3 - ArH_5), 7.23 (d, $^4J = 2.3$ Hz, 1H, Chromon H_8), 7.09 (dd, $^4J = 2.3$ Hz, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, Chromon H_6), 4.24 (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 3.86 (s, 3H, 2- NO_2 -4- OCH_3 - $ArOCH_3$), 2.72 (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 2.39–2.48 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 1.44–1.56 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.32–1.44 (m, 2H, Piperidin H_4). **-MS** (EI, 130 °C): $m/z = 424$ (M^+ , 0.7 %).

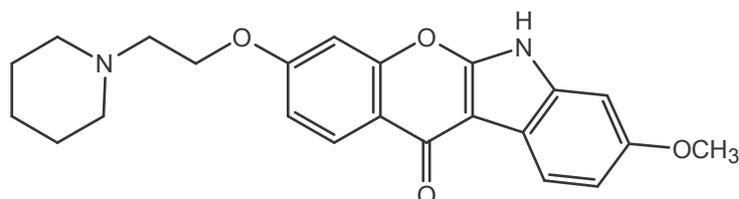
1-{2-[(3-(4-Hydroxy-2-nitrophenyl)-4-oxo-4H-[1]benzopyran-7-yl)oxy]-ethyl}-piperidiniumbromid (33)

Eine Lösung aus 1.115 g (2.63 mmol) **32** in 80 mL abs. Dichlormethan wird auf -70 °C gekühlt. Zu der Lösung werden langsam 18 mL [18 mmol (1.0 M Lösung in Dichlormethan)]

Bortribromid getropft. Es wird 15 min bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, anschließend langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 18 h gerührt. Nach Zugabe von 2 mL Methanol wird der entstehende Niederschlag abfiltriert, zur Reinigung in Dichlormethan/ Methanol (9+1) suspendiert und erneut filtriert.

Gelbes Pulver, Schmp. $245\text{ }^{\circ}\text{C}$, Ausb. 920 mg (71 %). $-\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{BrN}_2\text{O}_6$ (491.33). $-\text{CHN}$: ber.: C 53.78 H 4.72 N 5.70 gef.: C 53.93 H 4.74 N 5.61. $-\text{IR}$ (KBr): 3379, 3299 br (OH), 2948 ($\text{CH}_{\text{aliph.}}$), 2724, 2674 br (NH^+), 1627 (C=O), 1530 (ArNO_2) cm^{-1} . $-\text{H}^1\text{NMR}$ ($[\text{D}_6]$ DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.56 (s, 1H, 2- NO_2 -4-OH-Ar H_4), 9.33 (s, 1H, NH^+), 8.53 (s, 1H, Chromon H_2), 7.99 (d, $^3\text{J} = 8.9$ Hz, 1H, Chromon H_5), 7.45 (d, $^4\text{J} = 2.3$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4-OH-Ar H_3), 7.38 (d, $^3\text{J} = 8.4$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4-OH-Ar H_6), 7.31 (d, $^3\text{J} = 1.9$ Hz, 1H, Chromon H_8), 7.20 (dd, $^4\text{J} = 2.4$ Hz, $^3\text{J} = 8.4$ Hz, 1H, 2- NO_2 -4-OH-Ar H_5), 7.15 (dd, $^4\text{J} = 2.0$ Hz, $^3\text{J} = 9.0$ Hz, 1H, Chromon H_6), 4.52 (t, $^3\text{J} = 4.4$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 3.47–3.63 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 2.91–3.1 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 1.77–1.94 (m, 2H, Piperidin H_4), 1.16–1.29 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), $-\text{MS}$ (FAB pos [$\text{DMSO}/\text{m-NO}_2\text{-Benzyl-OH}$]): $m/z = 411$ ($[\text{M-Br}]^+$, 100.0 %).

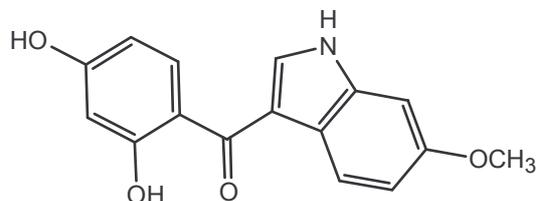
8-Methoxy-3-(2-piperidinoethoxy)-benzopyrano[2,3-b]indol-11-on (36)



Unter kräftigem Rühren werden 0.40 g (0.94 mmol) **32** und 0.80 g Zinkstaub in 25 mL Essigsäure (50 %) suspendiert und 2 h bei $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ erhitzt. Die Mischung wird auf 100 mL Eis gegossen und auf einen pH-Wert von 8 mit 10 N NaOH eingestellt. Die wässrige Phase wird zuerst mit 3x 100 mL mit Dichlormethan, anschließend mit 3x 100 mL mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

Weißes Pulver, Schmp. 263 °C, Ausb. 11 mg (3 %). $-C_{23}H_{24}N_2O_4 \cdot 1H_2O$ (392.45·18.02). – **CHN**: ber.: C 67.30 H 6.38 N 6.82 gef.: C 67.81 H 6.25 N 6.60. –**IR** (KBr): 3433 br (NH), 2933 ($CH_{\text{aliph.}}$), 2853 ($ArOCH_3$), 1630 ($C=O$) cm^{-1} . – **1H NMR** ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 12.64 (s, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolNH), 8.10 (d, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolH₄), 7.93 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolH₆), 7.25 (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolH₁), 7.09 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^3J = 8.8$ Hz, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolH₃), 6.98 (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolH₉), 6.88 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, Benzopyrano[2,3-b]indolH₇), 4.23 (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 3.81 (s, 3H, Benzopyrano[2,3-b]indolOCH₃), 2.72 (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 2.39–2.48 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 1.44–1.58 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.32–1.44 (m, 2H, PiperidinH₄). – **^{13}C NMR**: ($[D_6]DMSO$, 400 MHz), δ (ppm): 171.0, 161.8, 156.6, 155.3, 154.9, 132.8, 126.5, 120.9, 116.9, 115.4, 113.4, 110.2, 101.6, 98.2, 96.1, 66.3, 57.0, 55.3, 54.2, 25.4, 23.7. –**MS** (EI, 90 °C): $m/z = 392$ (M^+ , 8.4 %).

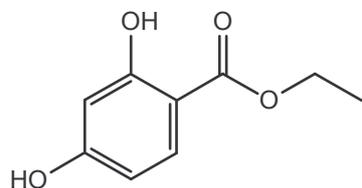
(2,4-Dihydroxyphenyl)-(6-methoxy-1H-indol-3-yl)-methanon (38)



0.20 g Magnesiumspäne und etwas Jod werden mit einer Mischung aus 2 mL abs. Diethylether und 1.37 g (0.6 mL, 9.64 mmol) Jodmethan versetzt. Wenn keine Gasentwicklung mehr erfolgt, werden 1.00 g (6.79 mmol) 6-Methoxyindol in 10 mL abs. Diethylether zugetropft. Währenddessen werden 1.60 g (6.72 mmol) 2,4-Diacetoxybenzoesäure mit 4.89 g (3 mL, 41.10 mmol) Thionylchlorid in 10 mL Benzol 60 min bei 90 °C erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird entfernt, das Säurechlorid in 5 mL abs. Diethylether aufgenommen und zu obiger Lösung getropft. Nach Beendigung der Zugabe wird der Ansatz 60 min bei 45 °C gerührt und anschließend auf 400 mL Eis gegossen. Der Diethylether wird abgetrennt und mit Na_2SO_4 getrocknet. Das organische Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der rote Rückstand durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)] gereinigt.

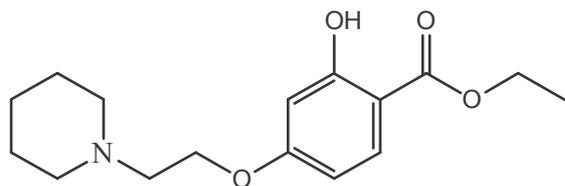
Grünliches Pulver, Schmp. 224 °C, Ausb. 20 mg (1 %). –C₁₆H₁₃NO₄ (283.28). –CHN: ber.: C 67.84 H 4.63 N 4.94 gef.: C 67.24 H 4.86 N 4.51. –IR (KBr): 3383, 3256 (OH, NH), 2838 (ArOCH₃), 1627 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 12.68 (s, 1H, 2,4-Di-OH-ArOH₂), 11.88 (s, 1H, NH), 10.35 (s, 1H, 2,4-Di-OH-ArOH₄), 7.96 (s, 1H, IndolH₂), 7.96 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₆), 7.80 (d, ³J = 8.7 Hz, 1H, IndolH₄), 6.98 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, IndolH₇), 6.84 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 8.7 Hz, 1H, IndolH₅), 6.40 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₅), 6.30 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, 2,4-Di-OH-ArH₃), 3.80 (s, 3H, IndolOCH₃). –MS (FAB pos. [DMSO/m-NO₂-Benzyl-OH]: m/z = 284 ([M+H]⁺, 51.5 %).

Ethyl 2,4-dihydroxybenzoat (41)



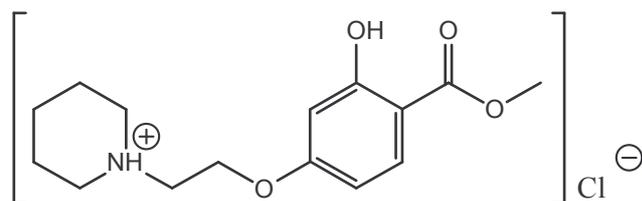
Unter Feuchtigkeitsausschluss werden 20.00 g (0.13 mol) 2,4-Dihydroxybenzoesäure mit 2.50 g konz. H₂SO₄ in 100 mL abs. Ethanol 18 h rückfließend erhitzt und anschließend auf 200 mL Eis gegeben. Die Lösung wird mit 10 N NaOH auf einen pH-Wert von 10 eingestellt und mit 3x 200 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Ethylacetat wird im Vakuum entfernt, um **41** zu erhalten.

Oranges Öl, Ausb. 12.67 g (54 %). –C₉H₁₀O₄ (182.18). –CHN: ber.: C 59.34 H 5.53 gef.: C 59.38 H 7.71. –IR (KBr): 3419 br (OH), 2983, 2986, 2942 (CH_{aliph.}), 1637 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.82 (s, 1H, 2-ArOH), 10.47 (s, 1H, 4-ArOH), 7.64 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, ArH₆), 6.38 (dd, ⁴J = 2.3 Hz, ³J = 8.8 Hz, 1H, ArH₅), 6.29 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ArH₃), 4.32 (q, ³J = 7.1 Hz, 2H, CH₂CH₃), 1.32 (t, ³J = 7.1 Hz, 3H, CH₂CH₃). –MS (EI, 25 °C): m/z = 182 (M⁺, 39.5 %).

Ethyl 2-hydroxy-4-(2-piperidinoethoxy)-benzoat (42)

Zu einer Suspension aus 4 Spatelspitzen K_2CO_3 in 100 mL Acetonitril werden 6.00 g (32.93 mmol) **41** und 6.00 g (32.59 mmol) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid gegeben und 18 h bei 82 °C gerührt. Das K_2CO_3 wird abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch SC [Ethylacetat/Ethanol (8+2)].

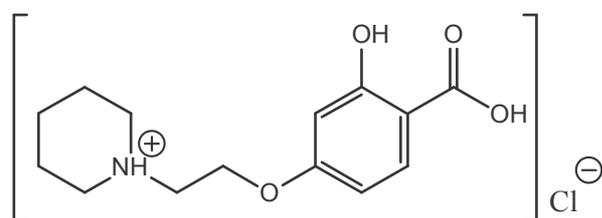
Oranges Öl, Ausb. 2.57 g (27 %). $-C_{16}H_{23}NO_4$ (293.36). $-CHN$: ber.: C 65.51 H 7.90 N 4.77 gef.: C 64.97 H 7.97 N 4.58. $-IR$ (KBr): 2938 ($CH_{aliph.}$), 3108 br (OH), 2854 ($ArOC_2H_5$), 1666 ($C=O$) cm^{-1} . $-^1H NMR$ ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 10.83 (s, 1H, $ArOH$), 7.70 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH_6), 6.55 (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H, ArH_3), 6.50 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H, ArH_5), 4.33 (q, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 4.10 (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 2.63 (t, $^3J = 5.8$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 2.31-2.47 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 1.42-1.55 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.35-1.42 (m, 2H, Piperidin H_4), 1.30 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3). $-MS$ (EI, 40 °C): $m/z = 293$ (M^+ , 6.7 %).

1-{2-[3-Hydroxy-4-(methoxycarbonyl)-phenoxy]-ethyl}-piperidiniumchlorid (43)

Zu einer Mischung aus 10 mL 10 N NaOH und 70 mL Methanol werden 7.40 g (25.22 mmol) **42** gegeben. Der Ansatz wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 50 mL Wasser verdünnt und mit konz. HCl auf einen pH-Wert von 1 eingestellt. Das Volumen wird im Vakuum stark eingengt und der anorganische weiße Niederschlag abfiltriert. Anschließend wird das restliche Lösungsmittel entfernt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

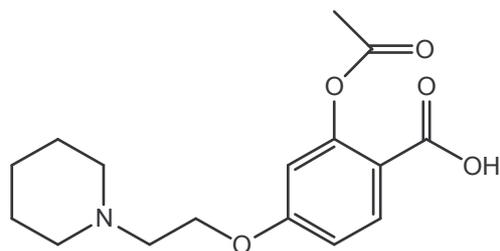
Gelbes Pulver, Schmp. 182 °C, Ausb. 4.94 g (60 %). $-C_{15}H_{22}ClNO_4 \cdot 0.5H_2O$ (315.80·9.01). – **CHN**: ber.: C 55.47 H 7.14 N 4.31 gef.: C 55.48 H 6.82 N 4.02. –**IR** (KBr): 3409 (OH), 2945 ($CH_{\text{aliph.}}$), 2639, 2523 br (NH^+), 1666 (C=O) cm^{-1} . –**¹HNMR** ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 10.79 (s, 1H, ArOH), 10.46 (s, 1H, NH^+), 7.76 (d, $^3J = 7.2$ Hz, 1H, Ar H_5), 6.57-6.63 (m, 2H, Ar $H_{2,6}$), 4.46 (t, $^3J = 5.1$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 3.88 (s, 3H, CH_3), 3.38-3.54 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 2.89-3.07 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 1.75-1.85 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.28-1.75 (m, 2H, Piperidin H_4). –**MS** (FAB pos. $[DMSO/m-NO_2\text{-Benzyl-OH}]$): $m/z = 280$ ($[M-Cl]^+$, 100.0 %).

1-[2-(4-Carboxy-3-hydroxyphenoxy)-ethyl]-piperidiniumchlorid (44)



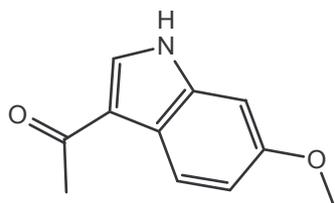
Zu einer Mischung aus 50 mL Ethanol und 2 mL 10 N NaOH werden 1.70 g (5.79 mmol) **42** gegeben. Der Ansatz wird 2 h rückfließend erhitzt. Die Lösung wird mit konz. HCl auf einen pH-Wert von 1 eingestellt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

Beiges Pulver, Schmp. 170 °C, Ausb. 0.81 g (46 %). $-C_{14}H_{20}ClNO_4$ (301.77). –**CHN**: ber.: C 55.72 H 6.68 N 4.64 gef.: C 55.73 H 6.95 N 4.48 –**IR** (KBr): 3408 br (Säure, OH), 2951 ($CH_{\text{aliph.}}$), 2731 (NH^+), 1662 (C=O) cm^{-1} . –**¹HNMR** ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 13.66 (s, 1H, COOH), 11.55 (s, 1H, ArOH), 10.30 (s, 1H, NH^+), 7.71 (d, $^3J = 9.5$ Hz, 1H, Ar H_5), 6.46-6.71 (m, 2H, Ar $H_{2,6}$), 4.45 (t, $^3J = 5.1$ Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1- CH_2), 3.43-3.54 (m, 4H, Piperidin $H_{2,6}$), 2.86-3.07 (m, 2H, Piperidinoethoxy-2- CH_2), 1.73-1.87 (m, 4H, Piperidin $H_{3,5}$), 1.60-1.73 (m, 2H, Piperidin H_4). –**MS** (FAB neg. $[DMSO/m-NO_2\text{-Benzyl-OH}]$): $m/z = 264$ ($[M-H]^-$, 22.5 %).

2-Acetoxy-4-(2-piperidinoethoxy)-benzoesäure (45)

Eine Lösung aus 0.50 g (1.66 mmol) **44** in 17 mL einer Acetanhydrid/ Pyridin-Mischung (1+1) wird 60 min bei 90 °C erhitzt. Anschließend wird die Lösung auf 50 mL Eis gegossen. Mit konz. HCl wird ein pH von 3-4 eingestellt. Die wässrige Lösung wird mit 3x 50 mL Ethylacetat extrahiert; die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Ethylacetat wird im Vakuum entfernt und das Rohprodukt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (95+5)] gereinigt.

Gelbliches Öl, Ausb. 0.35 g (65 %). –C₁₆H₂₁NO₅·1H₂O (307.35·18.02). –**CHN**: ber.: C 59.07 H 7.12 N 4.30 gef.: C 59.35 H 7.24 N 3.99. –**IR** (KBr): 3432 br (OH), 2954, 2924 (CH_{aliph.}), 1733, 1636 (C=O) cm⁻¹. –**¹HNMR** ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 13.57 (s, COOH), 7.89 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, ArH₆), 6.95 (dd, ⁴J = 2.5 Hz, ³J = 8.8 Hz, 1H, ArH₅), 6.83 (d, ⁴J = 2.5 Hz, 1H, ArH₃), 4.14 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-1-CH₂), 2.65 (t, ³J = 5.8 Hz, 2H, Piperidinoethoxy-2-CH₂), 2.37-2.45 (m, 4H, PiperidinH_{2,6}), 2.26 (s, 3H, AcetylCH₃), 1.45-1.53 (m, 4H, PiperidinH_{3,5}), 1.31-1.42 (m, 2H, PiperidinH₄). –**MS** (EI, 70 °C): m/z = 306 (M⁺, 0.9 %).

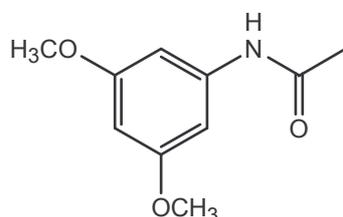
1-(6-Methoxy-1H-indol-3-yl)-ethanon (46)

0.20 g Magnesiumspäne und etwas Jod werden mit einer Mischung aus 2 mL abs. Diethylether und 1.37 g (0.6 mL, 9.64 mmol) Jodmethan versetzt. Wenn keine Gasentwicklung mehr erfolgt, werden 1.00 g (6.79 mmol) 6-Methoxyindol in 10 mL abs.

Diethylether zugetropft. Währenddessen werden 1.60 g (6.72 mmol) 2,4-Diacetoxybenzoesäure mit 4.89 g (3 mL, 41.10 mmol) Thionylchlorid in 10 mL Benzen 60 min bei 90 °C erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird entfernt. Das Säurechlorid wird in 5 mL abs. Diethylether aufgenommen und zu obiger Lösung zugetropft. Nach Beendigung der Zugabe wird der Ansatz 60 min bei 45 °C gerührt und anschließend auf 400 mL Eis gegossen. Der Diethylether wird abgetrennt und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das organische Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der rote Rückstand durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)] gereinigt.

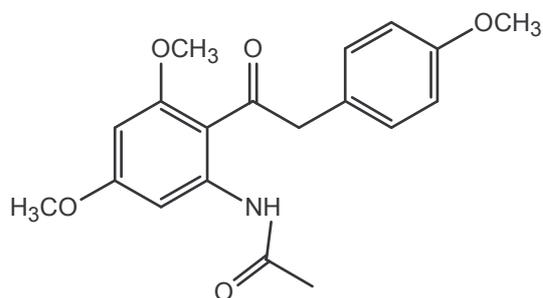
Grünliches Pulver, Schmp. 209 °C, Ausb. 0.35 g (27 %). –C₁₁H₁₁NO₂ (189.21). –CHN: ber.: C 69.83 H 5.86 N 7.40 gef.: C 68.08 H 5.86 N 7.29. –IR (KBr): 3424, 3403 (NH), 1626 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.47 (s, 1H, NH), 7.06 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, IndolH₂), 6.95 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H, IndolH₄), 6.73 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, IndolH₇), 6.32 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ³J = 8.8 Hz, 1H, IndolH₅), 3.64 (s, 3H, IndolOCH₃), 1.72 (s, 3H, AcetylOCH₃). –MS (FAB pos. [DMSO/m-NO₂-Benzyl-OH]): m/z = 188 ([M-H]⁺, 59.6 %).

N-(3,5-Dimethoxyphenyl)-acetamid (51)



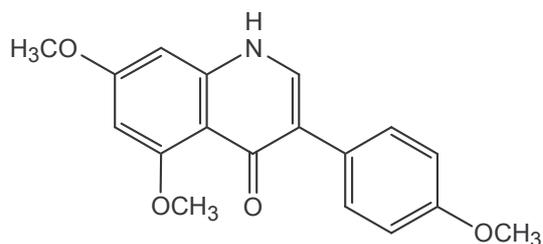
Eine Lösung aus 10.00 g (65.28 mmol) 3,5-Dimethoxyanilin in 50 mL Acetanhydrid wird 45 min bei 100 °C erhitzt. Der Ansatz wird auf Eis gegossen und der entstehende Niederschlag wird abgesaugt.

Beiges Pulver, Schmp. 149 °C, Ausb. 11.60 g (91 %). –C₁₀H₁₃NO₃ (195.22). –CHN: ber.: C 61.53 H 6.7 N 7.17 gef.: C 61.39 H 6.51 N 7.13. –IR (KBr): 3270 (NH), 2841 (ArOCH₃), 1662, 1604, 1560 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 9.87 (s, 1H, NH), 6.82 (s, 2H, ArH_{2,6}), 6.19 (s, 1H, ArH₄), 3.70 (s, 6H, 2x OCH₃), 2.01 (s, 3H, COCH₃). –MS (EI, 95 °C): m/z = 195 (M⁺, 100.0 %).

N-{3,5-Dimethoxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)-acetyl]-phenyl}-acetamid (**52**)

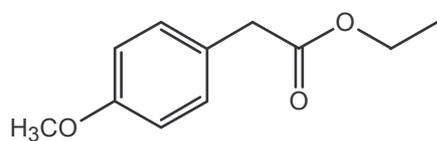
Eine Lösung aus 1.00 g (6.02 mmol) 4-Methoxyphenylessigsäure in einem Überschuss Thionylchlorid wird 30 min bei 60 °C erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wird im Vakuum entfernt und das Säurechlorid in 50 mL Dichlormethan gelöst. Die Lösung wird langsam zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung aus 1.00 g (5.12 mmol) **51** und 2.20 g (1 mL, 8.55 mmol) Zinn(IV)-chlorid in 70 mL Dichlormethan getropft und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Ansatz wird auf Eis gegossen und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet; das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird durch SC [Toluol/ Ethylacetat (6+4)] gereinigt.

Beiges Pulver, Schmp. 90 °C, Ausb. 0.30 g (17 %). –C₁₉H₂₁NO₅ (343.38). –CHN: ber.: C 66.36 H 6.30 N 4.07 gef.: C 66.41 H 6.22 N 4.07. –IR (KBr): 3420 (NH), 2834 (ArOCH₃), 1690, 1612 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.20 (s, 1H, NH), 7.12 (d, ³J = 8.6. 2H, 4-OCH₃-ArH_{3,5}), 7.05 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, 3,5-Di-OCH₃-ArH₆), 6.84 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{2,6}), 6.43 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, 3,5-Di-OCH₃-ArH₄), 4.11 (s, 2H, CH₂) 3.85 (1s, 3H, 3,5-Di-OCH₃-3-ArOCH₃), 3.79 (s, 3H, 3,5-Di-OCH₃-5-OCH₃), 3.71 (s, 3H, 4-OCH₃-ArOCH₃), 1.98 (s, 3H, CH₃). –MS (EI, 70 °C): m/z = 343 (M⁺, 2.6 %).

5,7-Dimethoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1,4-dihydrochinolin-4-on (53)

Bei 250 °C werden 2.13 g (5.96 mmol) **58** in kleinen Portionen zu 20 mL Dowtherm A gegeben und 10 min bei der Temperatur gerührt. Nach Erkalten wird der Ansatz in 40 mL n-Hexan gegeben. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und vorsichtig mit Dichlormethan gewaschen.

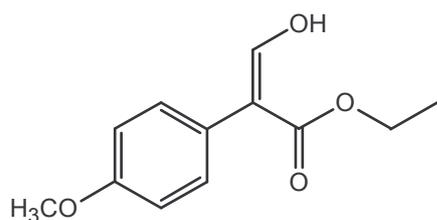
Weißer Kristalle, Schmp. 248 °C, Ausb. 0.74 g (39 %). $-C_{18}H_{17}NO_4 \cdot 0.5H_2O$ (311.34·9.01). – **CHN**: ber.: C 67.49 H 5.66 N 4.50 gef.: C 67.74 H 5.41 N 4.26. –**IR** (KBr): 3432 (NH), 2837 (ArOCH₃), 1625 (C=O) cm⁻¹. –**¹HNMR** ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 11.40 (s, 1H, NH), 7.73 (s, 1H, ChinolinonH₂), 7.49-7.56 (m, 2H, 4-OCH₃-ArH_{2,6}), 6.86-6.94 (m, 2H, 4-OCH₃-ArH_{3,5}), 6.48 (d, ⁴J = 1.8 Hz, 1H, ChinolinonH₆), 6.30 (d, ⁴J = 1.8 Hz, 1H, ChinolinonH₈), 3.82 (s, 3H, Chinolinon-5-OCH₃), 3.77 (s, 6H, Chinolinon-7-OCH₃, 4-OCH₃-ArOCH₃), –**¹³CNMR**: ([D₆]DMSO, 400 MHz), δ (ppm): 174.28, 161.60, 161.30, 157.70, 143.38, 134.83, 129.54, 128.66, 121.26, 112.98, 111.26, 94.30, 91.04, 55.55, 55.16, 54.93. –**MS** (EI, 35 °C): m/z = 311 (M⁺, 100.0 %).

Ethyl (4-methoxyphenyl)-essigsäureester (54)

In 71.00 g Ethanol werden 100.00 g (0.60 mol) 4-Methoxyphenylessigsäure und 5.00 g konz. Schwefelsäure gelöst und 2 h rückfließend erhitzt. Der Ansatz wird auf Eis gegossen, mit gesättigter Natriumcarbonatlösung neutralisiert und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

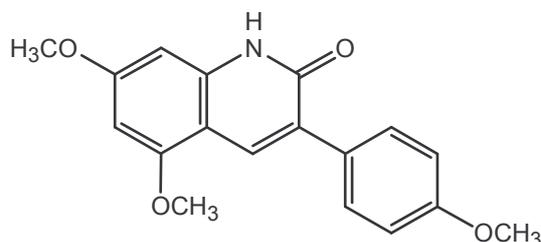
Gelbes Öl, Ausb. 105.20 g (90 %). –C₁₁H₁₄O₃ (194.23). –CHN: ber.: C 68.02 H 7.26 gef.: C 68.18 H 7.32. –IR (KBr): 2981. 2936. 2907 (CH_{aliph.}), 2836 (ArOCH₃), 1733 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 7.17 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, ArH_{3,5}), 6.87 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, ArH_{2,6}), 4.06 (q, ³J = 7.1 Hz, 2H, CH₂CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (s, 2H, ArCH₂), 1.18 (t, ³J = 7.1 Hz, 3H, CH₂CH₃). –MS (EI, 35 °C): m/z = 194 (M⁺, 23.6 %).

Ethyl 3-hydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-acrylat (55)



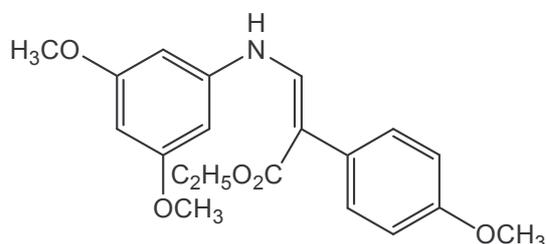
In 20 mL abs. Diethylether werden 4.00 g (20.59 mmol) **54** und 1.32 g (17.82 mmol) Ethylformiat gelöst. Zu dem Ansatz gibt man 0.47 g (20.62 mmol) frisch gepressten Natriumdraht und rührt unter Feuchtigkeitsausschluss 14 h bei Raumtemperatur. Der Ansatz wird mit 100 mL Wasser extrahiert. Die vereinigten Wasserphasen werden mit konz. HCl auf einen pH-Wert von 1 eingestellt und mit 3x 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Gelbes Öl, Ausb. 2.55 g (56 %). –C₁₂H₁₄O₄ (222.24). –CHN: ber.: C 64.85 H 6.35 gef.: C 64.68 H 6.21. –IR (KBr): 3293 (OH), 2929 (CH_{aliph.}), 2852 (ArOCH₃), 1716, 1703 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 10.72 (s, 1H, OH), 7.83 (s, 1H, C=CH), 7.23 (d, ³J = 7.0 Hz, 2H, ArH_{2,6}), 6.86 (d, ³J = 7.0 Hz, 2H, ArH_{3,5}), 4.09 (q, ³J = 7.1 Hz, 2H, CH₂CH₃), 3.71 (s, 3H, ArOCH₃), 1.18 (t, 7.1 Hz, 3H, CH₂CH₃). –MS (EI, 30 °C): m/z = 222 (M⁺, 21.5 %).

5,7-Dimethoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1*H*-Chinolin-2-on (56)

Eine Mischung aus 1.00 g (4.50 mmol) **55** und 0.69 g (4.50 mmol) 3,5-Dimethoxyanilin wird bei Raumtemperatur 5 h gerührt und anschließend 10 Min bei 200 °C erhitzt. Die erstarrte Schmelze wird in Ethylacetat suspendiert und das Produkt wird abfiltriert.

Hellgelbes Pulver, Schmp. 242 °C, Ausb. 150 mg (11 %). –C₁₈H₁₇NO₄ (311.34). –CHN: ber.: C 69.44 H 5.50 N 4.50 gef.: C 69.27 H 5.47 N 4.44. –IR (KBr): 2834 (ArOCH₃), 1648 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 11.76 (s, 1H, NH), 7.96 (s, 1H ChinolinonH₄), 7.68 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{2,6}), 6.94 (d, ³J = 8.9 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{3,5}), 6.45 (d, ⁴J = 2.0 Hz, 1H, ChinolinonH₈), 6.35 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChinolinonH₆), 3.90 (s, 3H, Chinolinon-7-OCH₃), 3.82 (s, 3H, Chinolinon-5-OCH₃), 3.77 (s, 3H, 4-OCH₃-ArOCH₃), –¹³CNMR: ([D₆]DMSO, 400 MHz), δ (ppm): 162.1, 161.7, 158.8, 156.8, 140.7, 130.3, 129.72, 129.2, 126.7, 113.5, 104.8, 93.2, 90.2, 56.1, 55.6, 55.3. –MS (EI, 40 °C): m/z = 311 (M⁺, 100.0 %).

Ethyl 3-[3,5-dimethoxyphenyl-amino]-2-(4-methoxyphenyl)-acrylat (58)

Eine Lösung aus 8.00 g (52.23 mmol) 3,5-Dimethoxyanilin und 12.00 g (54.0 mmol) **55** in 120 mL Toluol wird 18 h rückfließend erhitzt und nach Abkühlen mit 100 mL Toluol verdünnt. Man extrahiert die organische Phase mit 3x 100 mL 5 N HCl und trocknet sie mit Na₂SO₄. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt durch SC (Dichlormethan).

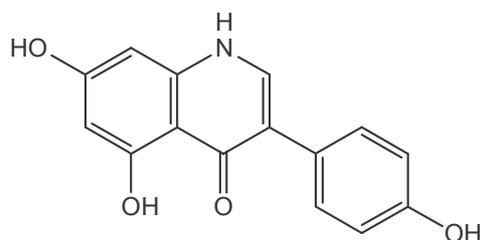
Gelbe Kristalle, Schmp. 95°C, Ausb. 8.41 g (44 %). $-C_{20}H_{23}NO_5$ (357.41). $-CHN$: ber.: C 67.21 H 6.49 N 3.92 gef.: C 67.18 H 6.76 N 3.65 $-IR$ (KBr): 3434 (NH), 2986, 2936 ($CH_{aliph.}$), 2839 ($ArOCH_3$), 1667 ($C=O$) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 10.20 (d, $^3J = 12.7$ Hz, 1H, NH), 7.59 (d, $^3J = 12.6$ Hz, 1H, $C=CH$), 7.22-7.29 (m, 2H, 4-O CH_3 - $ArH_{2,6}$), 6.78-6.93 (m, 2H, 4-O CH_3 - $ArH_{3,5}$), 6.43 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 2H, 3,5-Di-OH- $ArH_{2,6}$), 6.12 (t, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, 3,5-Di-OH- ArH_4), 4.16 (q, $^3J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 3.76 (s, 3H, 4-O CH_3 - $ArOCH_3$), 3.72 (s, 6H, 2 x 3,5-Di-OH- $ArOCH_3$), 1.17 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3). $-MS$ (EI, 51 °C): $m/z = 357$ (M^+ , 0.4 %).

Demethylierung der 4-Chinolone (59, 60, 61)

Allgemeine Arbeitsvorschrift

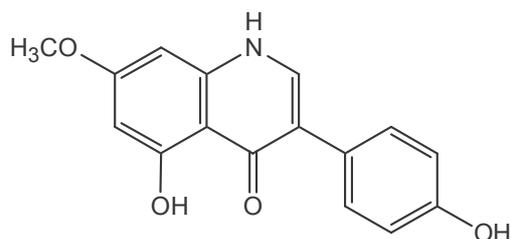
Eine Mischung aus 3.12 mmol des 4-Chinolinons **53** und 60.57 mmol Pyridinhydrochlorid wird 30 min rückfließend erhitzt. Nach Erstarren wird die Schmelze in 70 mL Wasser suspendiert und der Niederschlag abfiltriert. Die Reinigung des Rückstands erfolgt durch SC [Dichlormethan/ Methanol (9+1)].

5,7-Dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydrochinolin-4-on (59)



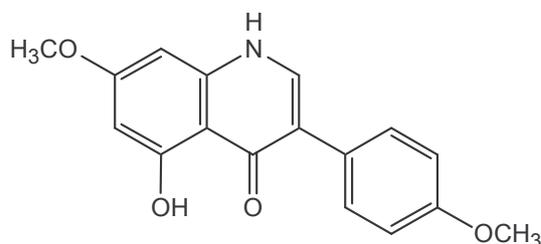
Aus 1.00 g (3.12 mmol) **53** und 7.00 g (60.57 mmol) Pyridinhydrochlorid.

Hellgelbe Kristalle, Schmp. >320 °C, Ausb. 0.45 g (52 %). $-C_{15}H_{11}NO_4 \cdot 0.5H_2O$ (269.26·9.01). $-CHN$: ber.: C 64.75 H 4.35 N 5.03 gef.: C 65.65 H 4.36 N 5.19 $-IR$ (KBr): 3445, 3295 br (OH, NH), 1654 ($C=O$) cm^{-1} . $-^1HNMR$ ($[D_6]DMSO$, 400 MHz): δ (ppm): 14.97 (s, 1H, ChinolinonOH₅), 12.01 (s, 1H, NH), 10.17 (s, 1H, ChinolinonOH₇), 9.36 (s, 1H, 4-OH- $ArOH$), 7.93 (s, 1H, ChinolinonH₂), 7.45 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, 4-OH- $ArH_{2,6}$), 6.77 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 2H, 4-OH- $ArH_{3,5}$), 6.28 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, ChinolinonH₈), 5.99 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 1H, ChinolinonH₆). $-MS$ (EI, 300 °C): $m/z = 269$ (M^+ , 100.0 %).

5-Hydroxy-7-methoxy-3-(4-hydroxyphenyl)-1,4-dihydrochinolin-4-on (60)

Die Arbeitsvorschrift ist analog der Vorschrift für die Verbindung **59**. Das Chinolon **61** kann als zusätzliches Reaktionsprodukt durch SC isoliert werden.

Weißer Kristalle, Schmp. 210 °C, Ausb. 70 mg (8 %). –C₁₆H₁₃NO₄ (283.28). –CHN: ber.: C 67.84 H 4.63 N 4.94 gef.: C 67.76 H 4.53 N 5.10. –IR (KBr): 3431 br (OH, NH), 2854 (ArOCH₃), 1648 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 15.03 (s, 1H, ChinolinonOH), 12.21 (s, 1H, NH), 9.39 (s, 1H, 4-OCH₃-ArOH), 8.02 (s, 1H, ChinolinonH₂), 7.48 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{2,6}), 6.79 (d, ³J = 8.6 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{3,5}), 6.42 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ChinolinonH₈), 6.17 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H, ChinolinonH₆), 3.83 (s, 3H, ChinolinonOCH₃). –MS (EI, 60 °C): m/z = 283 (M⁺, 100.0 %).

5-Hydroxy-7-methoxy-3-(4-methoxyphenyl)-1,4-dihydrochinolin-4-on (61)

Aus 0.30 g **53** (0.94 mmol) und 2.00 g Pyridiniumchlorid (17.31 mmol). Die Mischung wird nur 15 min erhitzt und anschließend mit 30 mL Wasser suspendiert.

Weißer Kristalle, Schmp. >320 °C, Ausb. 130 mg (47 %). –C₁₇H₁₅NO₄ (297.31). –CHN: ber.: C 68.68 H 5.09 N 4.71 gef.: C 68.52 H 5.11 N 4.77. –IR (KBr): 3435, 3211 (OH, NH), 2839 (ArOCH₃), 1655 (C=O) cm⁻¹. –¹HNMR ([D₆]DMSO, 400 MHz): δ (ppm): 14.97 (s, 1H, ChinolinonOH), 12.37 (s, 1H, NH), 8.05 (s, 1H, ChinolinonH₂), 7.60 (d, ³J = 8.8 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{2,6}), 6.95 (d, ³J = 8.7 Hz, 2H, 4-OCH₃-ArH_{3,5}), 6.43 (d, ⁴J = 2.3 Hz, 1H, ChinolinonH₈), 6.17 (d, ⁴J = 2.1 Hz, 1H, ChinolinonH₆), 3.84 (s, 3H, ChinolinonOCH₃), 3.75 (s, 3H, 4-OCH₃-ArOCH₃). –MS (EI, 100 °C): m/z = 297 (M⁺, 87.6 %).

5.4 Pharmakologische Testungen

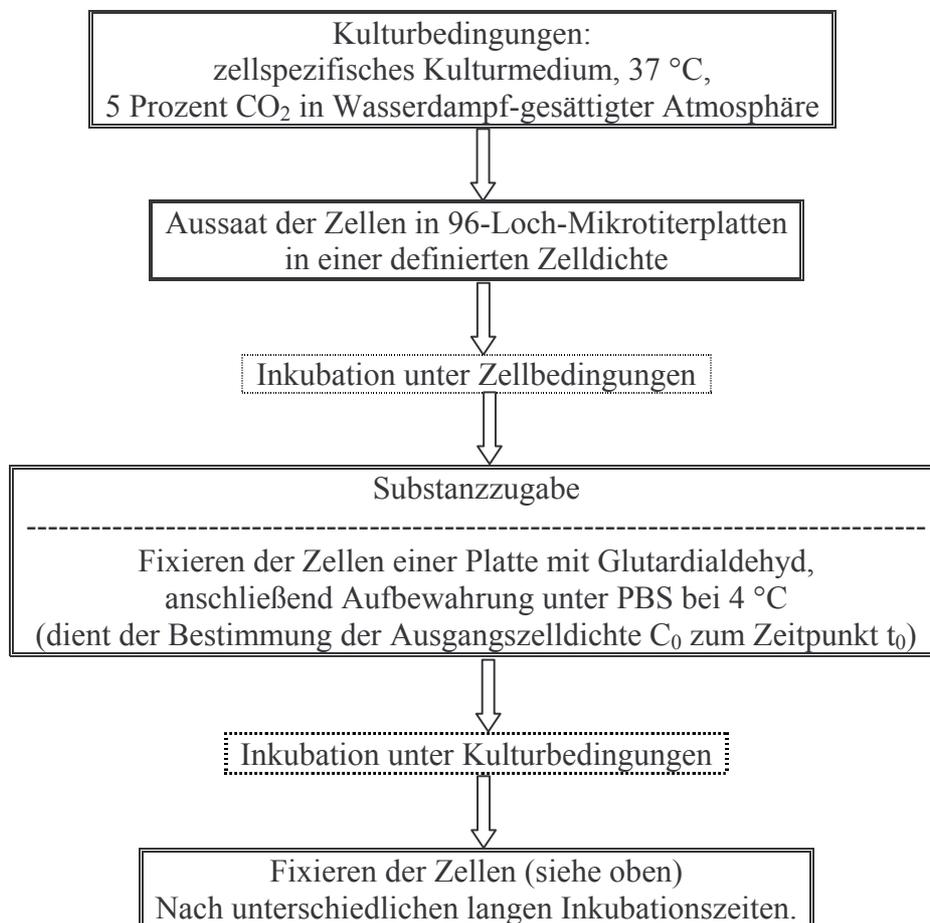
5.4.1 Zytotoxizitätstest

Die Bestimmungen der zytotoxischen Eigenschaften wurden von Frau S. Bergemann (Arbeitskreis Prof. Dr. R. Gust) an der hormonabhängigen MCF-7-Zelllinie durchgeführt.

5.4.1.1 Kristallviolett-Assay in Mikrotiterplatten

Das verwendete Testmodell zur Bestimmung der zytotoxischen Eigenschaften ist der Kristallviolett-Assay in Mikrotiterplatten. Untersucht wird dabei das Zellwachstum in Gegenwart und in Abwesenheit des zu testenden Wirkstoffs. Zur Quantifizierung der zytotoxischen Wirkung muss die Änderung der Zellmenge in Bezug zur Ausgangszellmenge bestimmt werden.

Die Abbildung 5.1 zeigt die einzelnen Arbeitsschritte des Kristallviolett-Assays [208, 209].



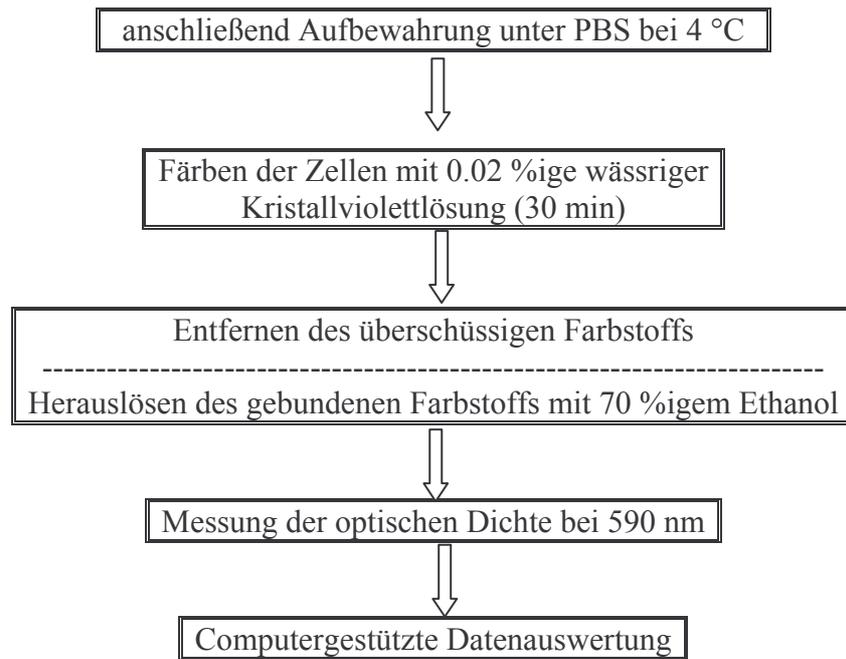


Abb. 5.1: Flussdiagramm für den Testablauf des Zytotoxizitätstests (Kristallviolett-Assay)

Die Aussaat der Zellen erfolgt in einer definierten Zelldichte in den Mikrotiterplatten. Die Zelldichte pro Milliliter wird mikroskopisch bestimmt. Gegebenenfalls wird die gewünschte Dichte durch Verdünnung mit Medium eingestellt. Nach einer definierten Inkubationszeit erfolgt die Substanzzugabe. Nach der Entfernung des alten Mediums werden die Substanzen in unterschiedlichen Konzentrationen in frischem Medium auf die Zellen pipettiert. Nach unterschiedlichen Inkubationszeiten werden die Zellen fixiert und bis zur Aufarbeitung bei 4 °C gelagert.

Zeitgleich werden die Kulturen einer kompletten Mikrotiterplatte auf dem Boden der Löcher fixiert. Die Fixierung erfolgt nach der Entfernung des Kulturmediums mit Glutardialdehydlösung. Eventuell vorhandene tote Zellen werden mit dem Medium entfernt. Im Anschluss werden die Zellen mit PBS (phosphate-buffered saline: 8.0 g NaCl, 0.2 g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄·2H₂O, 0.2 g KH₂PO₄/ 1000 mL Aqua Purificata) überschichtet und bei 4 °C bis zur Aufarbeitung gelagert. Die durchschnittliche Zellmenge der Kulturen dieser Platte dient als Ausgangszelldichte C₀ bei der Testauswertung.

Auf jeder Mikrotiterplatte werden neben den behandelten Kulturen auch Kontrollkulturen mitgeführt, denen nur Medium mit Lösungsmittel zugeführt wird. Dieser Umstand ist notwendig für die Ermittlung der antineoplastischen Aktivität der Testsubstanz (T/C_{korrr.}-Werte), da die daraus ermittelte Wachstumskinetik der Kontrollkulturen (C*) neben der von den behandelten Kulturen (T*) in die Berechnung einfließt.

Die Aufarbeitung erfolgt durch Anfärben der Zellen mit Kristallviolettlösung zeitgleich für alle Mikrotiterplatten.

Kristallviolett färbt vor allem Nukleoproteine. Durch Wässern wird der überschüssige Farbstoff entfernt. Das in den Zellen gebundene Kristallviolett wird mit 70 %ige Ethanol herausgelöst und die Lösung anschließend photometrisch vermessen. Die Absorption der Kristallviolett-Lösungen korreliert dabei sehr gut mit der Zellzahl.

Aus den gemessenen Absorptionen (=Zelldichten, C_0 , C^* , T^*) werden computergestützt die $T/C_{\text{korrr.}}$ -Werte (zytotoxischer Effekt in %) berechnet [208, 209].

$$T/C_{\text{korrr.}} = [(T^* - C_0) / (C^* - C_0)] \times 100 [\%]$$

C_0 : Mittelwert der optischen Dichte der Kulturen zum Zeitpunkt der Substanzzugabe

T^* : Mittelwert der optischen Dichte der behandelten Kulturen

C^* : Mittelwert der optischen Dichte der Kontrollkulturen

Gleichung 1: Gleichung zur Ermittlung des zytotoxischen Effekts

5.4.2 Der Luciferase-Assay

5.4.2.1 Allgemeine zellbiologische Arbeitsmethoden

5.4.2.1.1 MCF-7-2a Zelllinie

Der Luciferase-Assay wird an der humanen Brustkrebszelllinie MCF-7-2a durchgeführt, Diese enthält stabil transfiziertes Plasmid ERE_{wtc} luc [211]. Die Zellen besitzen sowohl ER als auch ERE.

Der Luciferase-Assay wird nach einer Arbeitsvorschrift von *Gust, Busch et al.* durchgeführt [216].

Die Zellen wachsen als Monolayer in 250 mL Kulturflaschen mit 75 cm² Wachstumsfläche in wasserdampfgesättigter 5 % CO₂-haltiger Atmosphäre bei 37 °C. Alle Arbeitsgänge mit Zellen werden unter Laminar-Airflow-Bedingungen durchgeführt.

Das Medium ist Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ohne Phenolrot. Es wird mit 5 % FCS (fetales Kälberserum), 1 % Penicillin/ Streptomycin-StammLösung (10000 IE

Penicillin/ mL, 10 mg Streptomycin/ mL), 1 % L-Glutaminlösung und Geneticinlösung (Geneticinlösung: 35.71 mg/ mL PBS) zugesetzt werden.

Da die Testung durch im Kulturmedium enthaltenen Estrogene verfälscht wird, muss sichergestellt werden, dass diese aus dem Medium entfernt werden. Dies geschieht mit dextranbeschichteter Aktivkohle, die die in dem FCS enthaltenen endogenen Steroide entzieht. Während der Testphase wird DMEM mit ct-FCS (charcoal treated FCS) als Medium verwendet. Die Zellen werden 1 Woche vor Testbeginn auf ct-FCS umgestellt, um vorhandenes Estradiol in den Zellen abzubauen. Da durch das „Dextran Coated Charcoal Verfahren“ dem Serum auch Wachstumsfaktoren verloren gehen, ist es ratsam, die Zellen nicht länger als ein bis zwei Wochen für Versuche zu verwenden und ständig neue Zellen von unbehandeltem FCS auf ct-FCS umzustellen.

5.4.2.1.2 Einfrieren und Auftauen von Zellen

Zum Einfrieren werden die kurz vor der Konfluenz stehenden Zellen tryptinisiert und in 5 mL Medium pro 75 cm² Kulturflasche aufgenommen. Die Zellsuspension wird in konischen Zentrifugenröhrchen 5 min in einer Tischzentrifuge bei 2000 min⁻¹ zentrifugiert. Anschließend nimmt man das Pellet in 1 mL Einfriermedium (80 % unpräpariertes Medium, 10 % Serum, 10 % DMSO) pro Kulturflasche auf. Man füllt jeweils 1 mL der entstandenen Zellsuspension in sterile Kryoröhrchen und wickelt diese in Zellstoff ein. Die Päckchen werden bei -80 °C eingefroren und anschließend bei -196°C in flüssigem Stickstoff aufbewahrt.

Zum Auftauen werden die Kryoröhrchen in einem mit Isopropanol gefüllten Becherglas bei 37°C im Wasserbad geschüttelt. Wenn das gesamte Medium aufgetaut ist, wird der Inhalt mit einer Serumpipette entnommen. Die Suspension wird in 10 mL Medium aufgenommen und mit einer Tischzentrifuge bei 2000 min⁻¹ zentrifugiert. Das Pellet wird wieder in 10 mL Medium aufgenommen, in eine 75 cm² Kulturflasche überführt und im Brutschrank inkubiert.

5.4.2.1.3 Herstellung von ct-FCS

10 g Aktivkohle Norit A werden mit Tris-Puffer (pH 7.4) ca. eine Minute in einem Mörser verrieben, anschließend in ein Becherglas überführt und mit dem Rest von insgesamt 200 mL

Tris-Puffer versetzt. Man rührt die Suspension 4 h bei 4 °C und lässt sie im Kühlraum über Nacht stehen, wobei sich die Aktivkohle absetzt. Die nicht benetzte Aktivkohle kann von der Oberfläche abgesaugt werden.

Nach der Zugabe von 100 mg Dextran wird für 20 min bei 4 °C gerührt. Die Kohlesuspension wird auf zwei Zentrifugenbehälter aufgeteilt und 10 min bei 4000 min⁻¹ bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert.

Ein Kohlepellet wird mit 500 mL FCS versetzt. Das FCS wurde zuvor 45 min bei 56 °C im Wasserbad inaktiviert. Die Mischung wird 3 h bei 4 °C gerührt und wiederum bei 10000 g (20 min, 4 °C) zentrifugiert. Der Überstand wird zu dem zweiten Kohlepellet gegeben und die Prozedur wiederholt.

Der Überstand, das ct-FCS, wird sterilfiltriert (0.2 µm Membranfilter) und anschließend bei -20 °C gelagert.

5.4.2.2 Testung auf estrogene Wirkung im Luciferase-Assay

5.4.2.2.1 Kultivierung der Zelllinie

Das Passagieren der MCF-7-2a-Zelllinie wird mit Trypsin/ EDTA durchgeführt. Kurz vor Erreichen der Konfluenz wird das Medium abgesaugt und die Zellen mit 10 mL PBS gewaschen. Daraufhin werden 2-3 mL Trypsin/ EDTA-Lösung auf die Zellen pipettiert, diese 15-20mal geschwenkt und die Lösung wieder abgesaugt. Man inkubiert 2 min im CO₂-Brutschrank bei 37 °C und nimmt die Zellen in 5 mL frischem Medium auf. Die Zellsuspension wird ca. 1:10 auf neue Kulturflaschen (10 mL Medium) ausgesät. Konfluenz ist nach 5-7 Tagen erreicht.

Für die Testung im Luciferase-Assay wird auf DMEM, das ct-FCS enthält, umgestellt. Dazu werden die trypsinbehandelten Zellen in diesem Medium aufgenommen und auf Kulturflaschen (10 mL ct-Medium) verteilt. Kurz vor Konfluenz wird nochmals passagiert und die Zellsuspension in gleichen Teilen auf zwei Kulturflaschen verteilt. Nach drei Tagen kann die Aussaat für den Test beginnen.

5.4.2.2.2 Aussaat der Zellen

Die Zellen werden von den 75 cm² Kulturflaschen auf sechzig innere Wells von weißen 96-Well-Mikrotiterplatten ausgesät. Die Randwells werden mit 200 µL einer isoosmotischen Flüssigkeit (z.B. Medium, PBS) gefüllt [216].

5.4.2.2.3 Substanzzugabe

Die Testsubstanzen werden zu 0.1 % ethanolschen Lösungen gelöst, die als Stammlösungen für Verdünnungsreihen dienen. Die Zellen sind 24 h nach der Aussaat bei 30–40 % Konfluenz festgewachsen. Das Medium wird durch 180 µL ct-Medium und 20 µL Medium, das entweder Estradiol (10^{-7} - 10^{-12} M) oder die Testsubstanzen (10^{-5} - 10^{-10} M) enthält, ersetzt. Hierauf werden die Zellen im Brutschrank inkubiert. Die Estradiol-Konzentrations-Wirkungskurve dient bei jedem Versuch als Kontrolle. Auf ihr Plateau werden die einzelnen Messwerte bezogen.

5.4.2.2.4 Zellernte und Zellyse

50 h nach der Zugabe der Lösungen wird das Maximum der Luciferaseexpression erreicht. Der Versuch wird dann beendet. Das Medium wird abgesaugt, und 50 µL des „cell culture lysis reagents“ werden in jedes Well hinzugefügt. Die Platte wird unter Schütteln (600 rpm, TiMix, Thistle Scientific Uddingston, Glasgow, Scotland) bei Raumtemperatur inkubiert.

5.4.2.2.5 Messung der Lumineszenz

Die Luciferase wird mit Hilfe des Promega Luciferase-Assay-Reagenzes bestimmt. 50 µL des Reagenzes werden in jedes Well gegeben. Die Lumineszenz wird nach 10 Sekunden mit Hilfe eines Microlumats (Bethold Technologies, Bad Wildungen) bestimmt. Die Angabe erfolgt in „relative light units“ (RLU_{10s}). Die Messwerte werden auf die vermessenen Zellmasse bezogen.

5.4.2.2.6 Bestimmung der Zellmasse

Die Zellmasse wird in einem parallelen Ansatz mit Hilfe eines Kristallviolett-Assay in 96-Well-Platten bestimmt [217, 218]. Nach einer Inkubationszeit von 50 h wird das Zellmedium entfernt und Glutardialdehyd (1% in PBS, 100 μL / Well) zur Fixierung hinzugefügt. Nach 15 min wird die Aldehydlösung durch 180 μL PBS/ Well ersetzt. Die Platten werden bis zur Färbung bei 4 °C aufbewahrt. Bei der Färbung werden die Zellen 30 min mit 100 μL wässriger 0.02 % Kristallviolettlösung behandelt. Nach dem Dekantieren der überschüssigen Kristallviolettlösung werden die Zellen mehrmals mit Wasser gewaschen, um die anheftende Farbe zu entfernen. Nach Zugabe von 180 μL 70 %igem Ethanol werden die Platten für 4 h geschüttelt. Die optische Dichte jedes Wells wird bei 590 nm gemessen.

5.4.2.2.7 Auswertung

Zur Auswertung des Assays wird der Quotient aus $\text{RLU}_{10\text{s}}$ und der Absorption bei 590 nm gebildet. Die Angabe der estrogenen Wirkung erfolgt in Prozent Aktivierung des Mittelwerts des Estradiolplateaus der Kontrolle (100%).

5.4.2.3 Testung auf antiestrogene Wirkung

Die Messung der antagonistischen Wirkung einer Testsubstanz beruht auf der kompetitiven Hemmung einer estradiolbedingten Luciferaseexpression. Der Test erfolgt wie oben beschrieben. Die Zellen werden jedoch mit einer festgelegten Estradiolkonzentration (10^{-9} M) und den jeweilig zu vermessenden Konzentrationen der Antagonisten (10^{-5} - 10^{-10} M) inkubiert. Die Substanzzugabe, Inkubation und Aufarbeitung erfolgen wie bei der Testung auf estrogenen Wirkung.