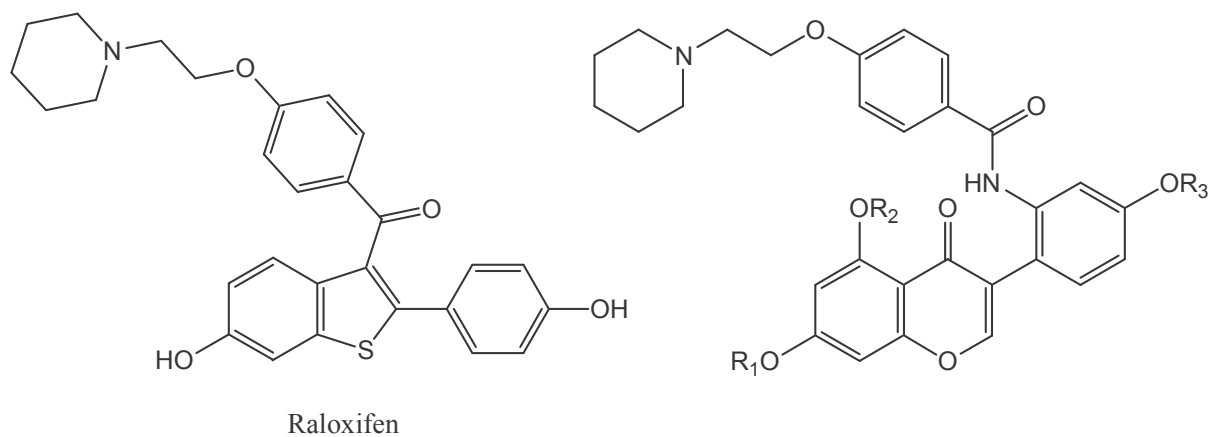


3 Chemischer Teil

3.1 Synthese von 2'-Aminoisoflavonderivaten

Durch die Einführung der basischen Seitenkette des Raloxifens in Phytoestrogene mit Isoflavonstruktur soll versucht werden, diese von einem Agonisten in einen Antagonisten bzw. in ein SERM umzuwandeln.

Eine geeignete Position für die Einführung der Seitenkette erscheint die Position 2' der Isoflavone zu sein. Durch Verknüpfung über eine Amidfunktion erhält die Seitenkette eine räumliche Orientierung, die der des Raloxifens ähnelt (Abb. 3.1).



Derivat des	R ₁	R ₂	R ₃
Genisteins	OH	OH	OH
Biochanin A	OH	OH	CH ₃
Prunetins	CH ₃	OH	OH
Daidzeins	OH	H	OH
Formononetins	OH	H	CH ₃

Abb. 3.1: Strukturen des SERM Raloxifen und wichtiger Phytoestrogene

Die Seitenkette ist durch eine WBB zwischen der Amidfunktion und der Keto-Gruppe des Chromons fixiert. Es ist jedoch anzunehmen, dass diese Bindung bei der Einlagerung in die Rezeptorbindungstasche der ER aufgehoben werden kann und die Seitenkette sich dann optimal in der Tasche ausrichten kann. Die WBB wird über einen Pseudo-7-Ring ausgebildet, dessen Stabilität gering ist.

Pike gelang es, Raloxifen, Estradiol und Genistein zusammen mit ER- β zu kristallisieren und dadurch Einblicke in den Aufbau der Ligandenbindungstasche des Rezeptors zu gewinnen [124].

Angelehnt an die schematische Darstellung des Raloxifens in der Ligandenbindungstasche des ER- β (Abb. 1.6) wird deshalb versucht, das Genisteinderivat **24** (Abb. 3.14) in die Ligandenbindungstasche des ER- β einzufügen (Abb. 3.2). Die Bezifferung der Aminosäuren entspricht der Bezifferung der Aminosäuren des Estrogenrezeptors- β . Die Bezifferung der entsprechenden Aminosäuren des ER- α ist im nachfolgenden Text in Klammern angegeben.

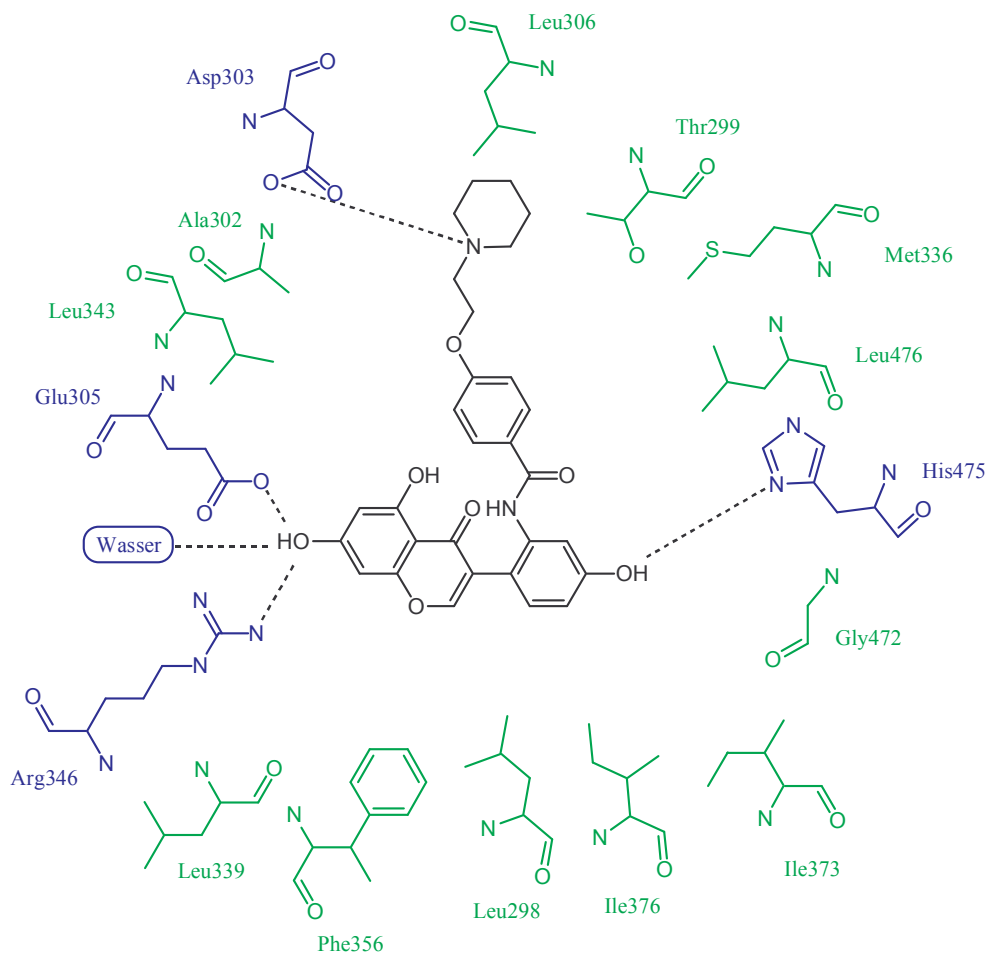


Abb. 3.2: Schematische Darstellung eines möglichen Bindungsmodells des Benzamids **24** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Raloxifens am ER- β von *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.6) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet; die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt. Die Ausrichtung des Moleküls ist an der Ausrichtung des Raloxifens in der Ligandenbindungstasche orientiert.

Auf Grund der Strukturähnlichkeit des Isoflavons **24** zu Raloxifen ist eine ähnliche räumliche Orientierung beider Verbindungen innerhalb der Ligandenbindungstasche des Rezeptors zu erwarten.

Neben der Ausbildung von WBB zwischen Glutamin 305 (353), Arginin 346 (394) und einem Molekül Wasser mit der 7-OH-Gruppe des Isoflavons und von einer WBB zwischen Histidin 475 (524) und der 4'-OH-Gruppe des Isoflavons ist die Interaktion des Piperidin-Stickstoffs der basischen Seitenkette mit der Aminosäure Asparaginsäure 303 in Form einer weiteren WBB besonders wichtig. Die Aminosäure Asparaginsäure 303 (351) des ER- β spielt für die modulierenden Eigenschaften der SERM eine wichtige Rolle. Sie ändert die Konformation der ER durch Neupositionierung der Helix H12 bei der Bindung eines SERM [124].

Durchaus denkbar ist allerdings auch eine andere räumliche Orientierung von **24** in der Ligandenbindungstasche des ER- β . Wie *Pike* zeigen konnte, liegt Genistein innerhalb der Tasche so vor, dass die 4'-OH-Gruppe WBB mit den Aminosäuren Glutaminsäure 305, Arginin 346 und einem Molekül Wasser ausbildet, wohingegen die 7-OH-Gruppe mit Histidin 475 interagiert (Abb. 1.7) [124]. Der Versuch, die Verbindung **24** in dieser räumlichen Orientierung in die Ligandenbindungstasche einzufügen, gelingt ebenfalls (Abb. 3.3). Die Verbindung **24** könnte wie Genistein WBB mit Glutaminsäure 305, Arginin 346 und Histidin 475 ausbilden. Darüber hinaus träte wiederum der Piperidin-Stickstoff der Seitenkette mit Asparaginsäure 303 in Wechselwirkung.

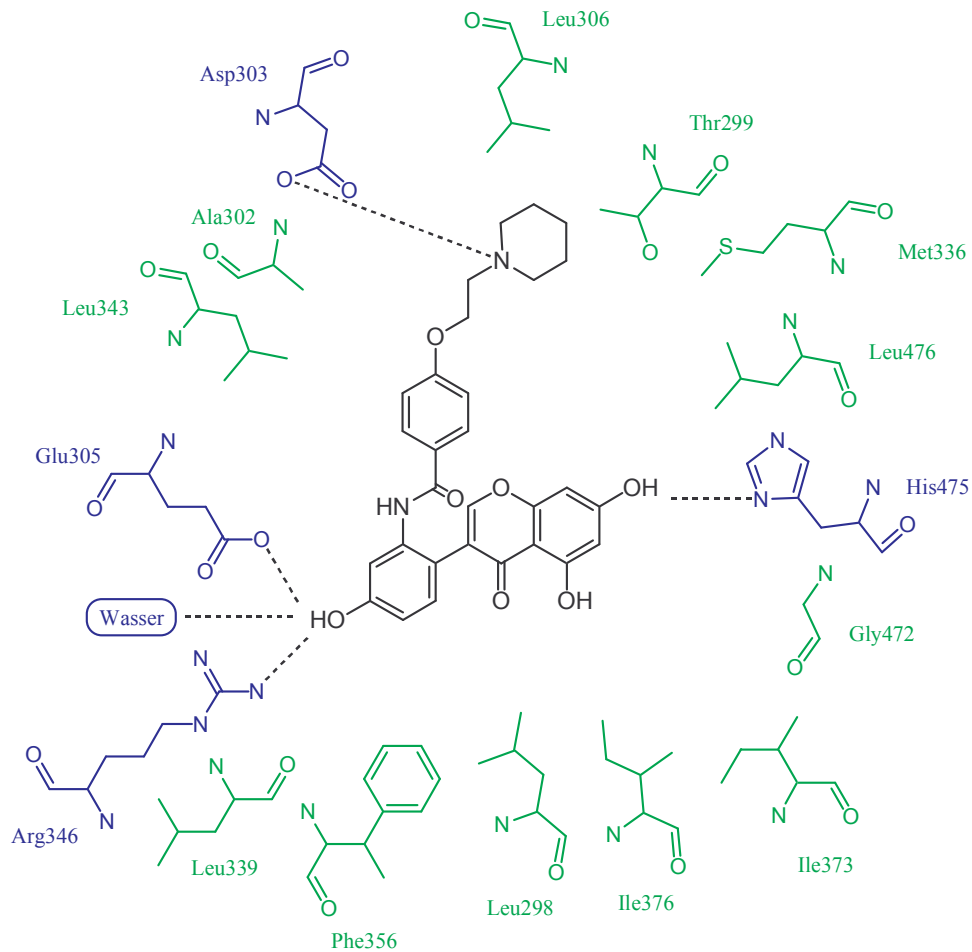


Abb. 3.3: Schematische Darstellung eines weiteren möglichen Bindungsmodells des Benzamids **24** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Genisteins am ER- β nach *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.7) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet; die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt. Die Ausrichtung des Moleküls ist an der Ausrichtung des Genisteins in der Ligandenbindungstasche des ER- β orientiert.

In welcher der beiden oben aufgezeigten Orientierungen sich das Isoflavonderivat **24** in der Ligandenbindungstasche anordnet, lässt sich ohne weitere Untersuchungen nicht klären.

Im Rahmen der nächsten Kapitel wird der Versuch unternommen, klassische Isoflavone durch Strukturabwandlungen in selektive Estrogenrezeptor-Modulatoren umzuwandeln.

3.1.1 Synthese des Daidzeinderivats **9**

Zunächst soll versucht werden, das Benzamid **9** herzustellen (Abb. 3.4). Die Verbindung **9** ist ein Derivat des Phytoestrogens Daidzein.

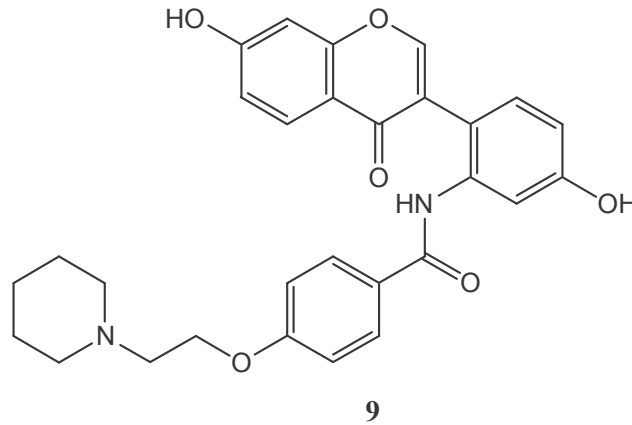


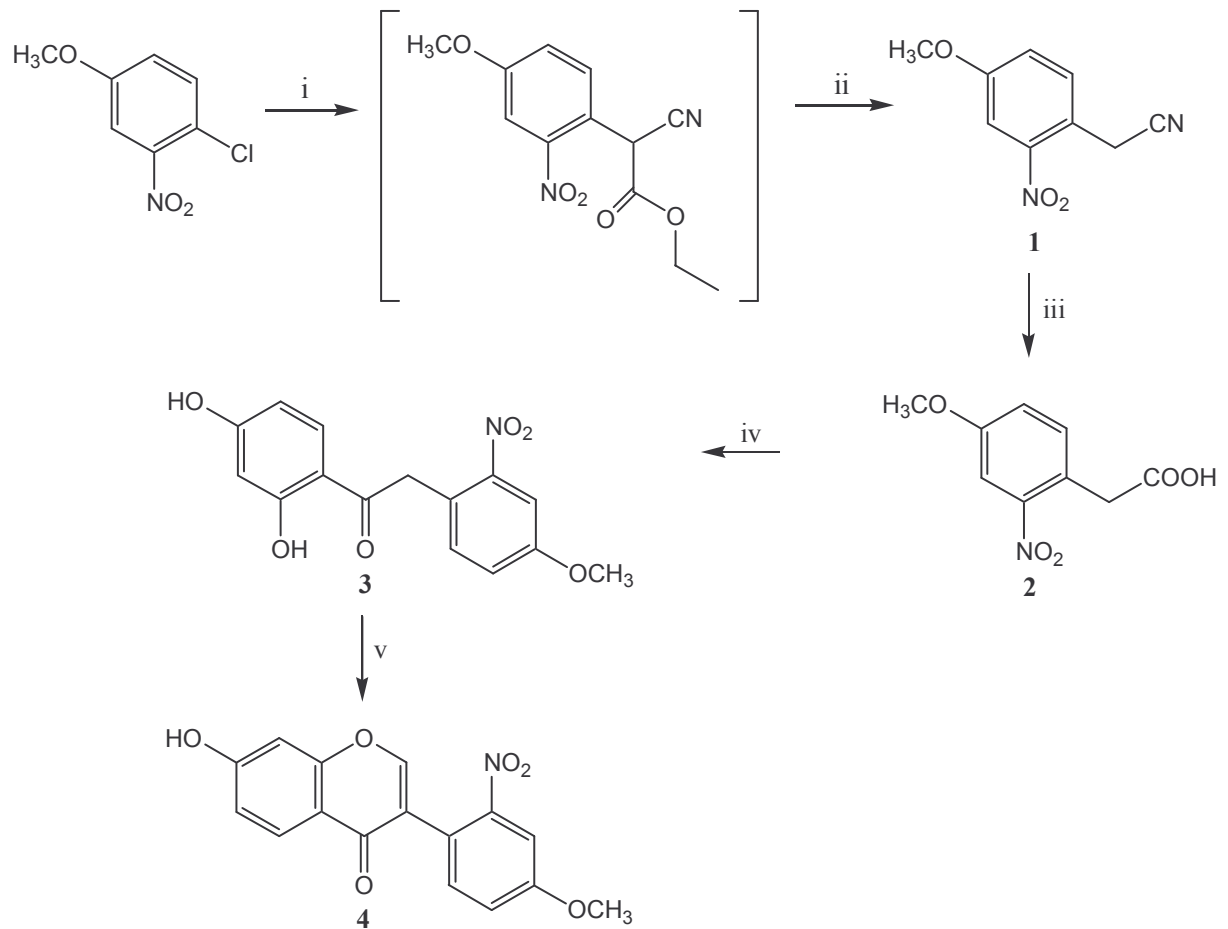
Abb. 3.4: Struktur des Benzamids **9**

Da sich das Benzamid **9** nur durch das Fehlen einer OH-Gruppe in Position 5 der Isoflavonstruktur von dem Genisteinderivat **24** unterscheidet, ist eine ähnliche Ausrichtung des Benzamids **9** in der Ligandenbindungstasche der ER zu erwarten.

3.1.1.1 Herstellung des 7-Hydroxy-4'-methoxy-2'-nitroisoflavons **4**

Eine zentrale Rolle auf dem Weg zum Benzamid **9** spielt das Isoflavon **4**, dessen Synthese nach einer Offenlegungsschrift von Löwe *et al.* ausgehend von dem Nitril **1** erfolgt (Abb. 3.5) [179].

Die Synthese des Nitrils **1** beginnt mit 4-Chlor-3-nitroanisol, das mit Ethyl cyanoacetat in Gegenwart von Natriumhydrid zum Ethyl cyano-(4-methoxy-2-nitrophenyl)-acetat reagiert [180]. Der Ester wird *in situ* mit gesättigter Natriumcarbonatlösung verseift, decarboxyliert und liefert die Verbindung **1**.



i) Natriumhydrid, Ethylcyanoacetat, DMF, Cäsiumfluorid, ΔT , dann Wasser, konz. Schwefelsäure bis pH 3-4; ii) gesättigte Natriumcarbonatlösung, ΔT ; iii) konz. Schwefelsäure/Wasser (4:6), ΔT ; iv) Resorcin, Bortrifluorid-Diethylether-Komplex, ΔT ; v) *N,N*-Dimethylformamididimethylacetal, THF, ΔT , anschließend 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.5: Synthese des Isoflavons 4

Anschließend wird das Nitril **1** zu der gewünschten Phenyllessigsäure **2** hydrolysiert.

Die Phenyllessigsäure **2** wird dann in einer Friedel-Crafts-Alkanoylierung mit Resorcin in Gegenwart von Bortrifluorid-Diethylether-Komplex zu dem entsprechenden Ethanon **3** umgesetzt.

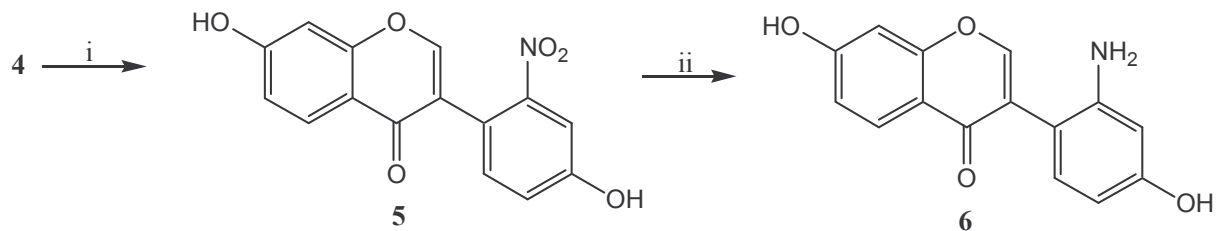
Der Ringschluss zum 2'-Nitroisoflavon **4** erfolgt in einer modifizierten Knoevenagel-Reaktion mit *N,N*-Dimethylformamididimethylacetal in THF. Durch Aufkochen in 50 %iger Essigsäure wird Dimethylamin gespalten [181]. Das Isoflavon **4** kristallisiert in der Kälte aus und kann abgetrennt werden.

3.1.1.2 Versuche zur Herstellung des Benzamids 9

3.1.1.2.1 Herstellung des 2'-Aminodaidzeins 6

Um das gewünschte Benzamid 9 aus dem Isoflavon 4, einem Derivat des Formononetins, zu synthetisieren, wird zunächst die Spaltung der 4'-Methoxy-Gruppe von 4 durch Erhitzen in 48 %iger Bromwasserstoffsäure durchgeführt (Abb. 3.6) [182].

Um anschließend die basische Seitenkette einführen zu können, ist es zuvor notwendig, die Nitrofunktion des Daidzeinderivats 5 zum Amin zu reduzieren (Abb. 3.6). Als Verfahren bietet sich die Reduktion mit 10 %iger Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen an [183].



i) 48 %ige Bromwasserstoffsäure, ΔT , dann Wasser; ii) Palladiumkohle, Cyclohexen, Ethanol, ΔT

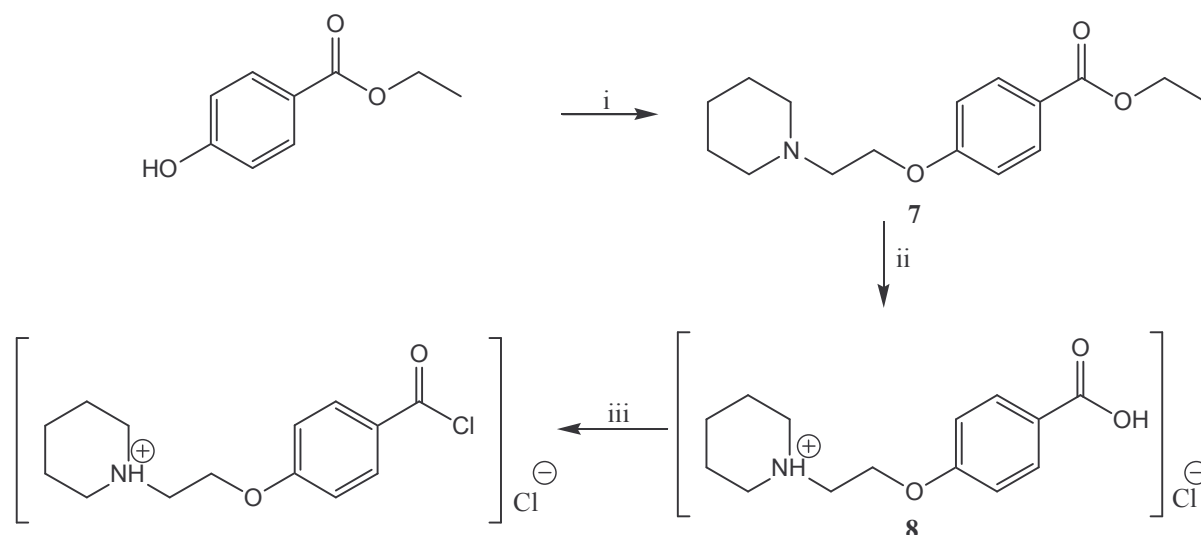
Abb. 3.6: Herstellung des Daidzeinderivats 6

Bei diesem Verfahren erhält man allerdings nur geringe Ausbeuten an 6. Die Ausbeute kann gesteigert werden, wenn pro Ansatz weniger als 0.5 g 2'-Nitroisoflavon 5 umgesetzt werden und sichergestellt wird, dass der Ansatz während der Reaktion stark siedet.

Das 2'-Aminodaidzein 6 ist zudem in polaren und unpolaren Lösungsmitteln schwer löslich. Dieser Umstand erschwert eine weitere Umsetzung zu dem Benzamid 9.

3.1.1.2.2 Herstellung des 1-[2-(4-Carboxy-phenoxy)-ethyl]-piperidiniumchlorids (**8**)

Für die Herstellung des Benzamids **9** ist es zuerst notwendig, die Seitenkette **8** aufzubauen und diese in ein Säurechlorid zu überführen (Abb. 3.7).



i) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid, Kaliumcarbonat, DMF, ΔT ; ii) 5N NaOH, Methanol, ΔT , dann pH 1 mit konz. HCl; iii) Thionylchlorid, ΔT

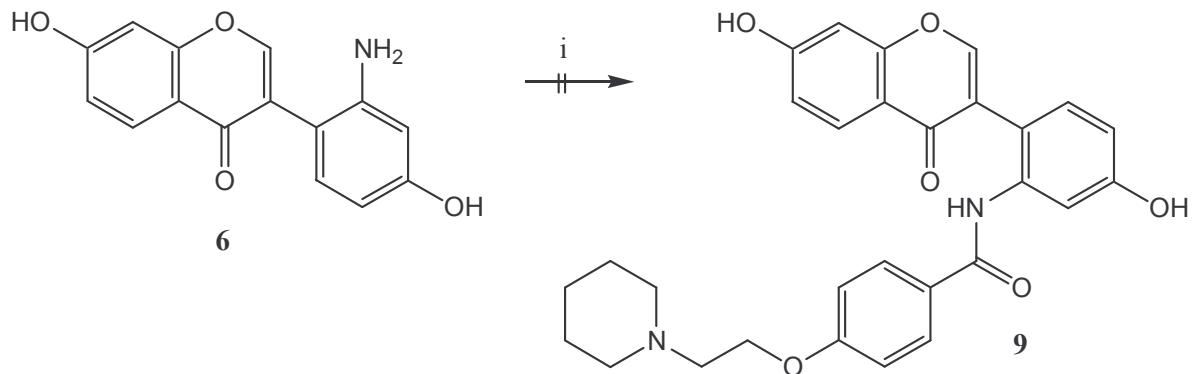
Abb. 3.7: Synthese des Säurechlorids der Verbindung **8**

Dazu wird Ethyl 4-hydroxybenzoat in einer modifizierten Williamson-Synthese zu der Verbindung **7** verethert. Die Reaktion gelingt mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid in DMF [184].

Der Ester **7** wird anschließend mit methanolischer NaOH verseift. Nach der Zugabe von HCl wird die freie Säure **8** gefällt und kann abgetrennt werden. Die Reaktion mit Thionylchlorid überführt **8** in das korrespondierende Säurechlorid.

3.1.1.2.3 Versuch der Umsetzung des 2'-Aminodaidzeins **6** mit dem Benzoesäurederivat **8**

Die Umsetzung des Säurechlorids der Verbindung **8** mit dem 2'-Aminodaidzein **6** führt jedoch nicht zu dem gewünschten Benzamidderivat **9**. Es kann keine Umsetzung des Daidzeinderivats **6** beobachtet werden (Abb. 3.8).

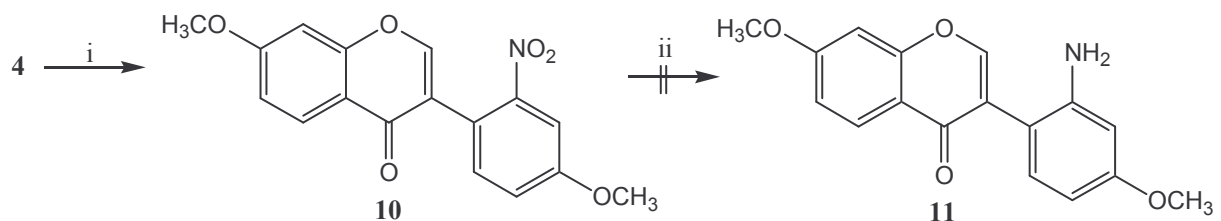


i) Säurechlorid der Verbindung **8**, 1,4-Dioxan, ΔT

Abb. 3.8: Umsetzung des Isoflavons **6**

3.1.1.2.4 Versuch der Herstellung des 2'-Amino-4',7-dimethoxyisoflavons **11**

Da der direkte Weg der Herstellung des Benzamids **9** ausgehend von dem 2'-Nitroformononetin **4** über das 2'-Aminodaidzein **6** nicht beschriftet werden kann, wird alternativ versucht, zuerst das 4',7-Dimethoxyderivat der Verbindung **4** herzustellen und anschließend die Reduktion der Nitro-Gruppe durchzuführen (Abb. 3.9). Die Einführung einer Methoxy-Gruppe in Position 7 soll eine Reaktion des Säurechlorids der Verbindung **8** mit der 7-OH-Gruppe verhindern.



i) Jodmethan, Kaliumcarbonat, Aceton, ΔT ; ii) Palladiumkohle, Cyclohexan, Ethanol, ΔT bzw. Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.9: Herstellung der Verbindungen **10** und **11**

Die Methylierung der 7-OH-Gruppe von **4** gelingt quantitativ durch Umsetzung mit Jodmethan in Aceton [185]. Es entsteht das dimethoxylierte Isoflavon **10**.

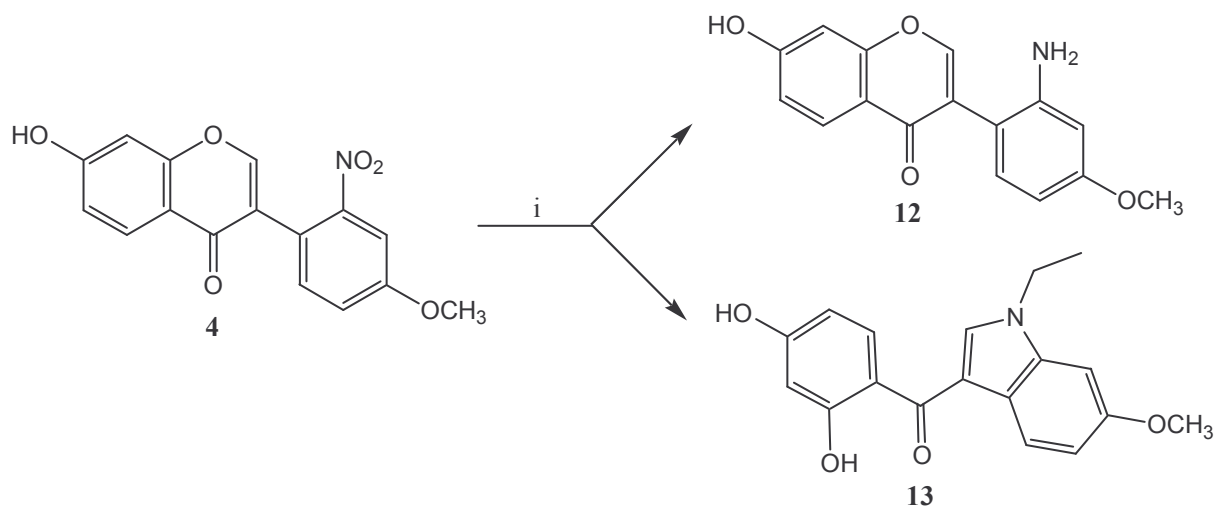
Die anschließende Reduktion von **10** mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen bleibt jedoch erfolglos.

Auch die Umsetzung dieser Verbindung mit Zinkstaub in 50 %iger Essigsäure führt nicht zu dem 2'-Aminoisoflavon **11**. Variationen der Reaktionszeit und der Reaktionstemperatur bringen ebenfalls nicht den gewünschten Erfolg. Unter den gewählten Reaktionsbedingungen scheint **10** sich vielmehr zu zersetzen.

3.1.1.2.5 Herstellung des 2'-Amino-7-hydroxy-4'-methoxyisoflavons **12**

Da die Herstellung des 2'-Amino-4',7-dimethoxyisoflavons **11** auf dem geschilderten Weg nicht gelingt, wird nun alternativ versucht, die Reduktion der Nitro-Gruppe auf der Stufe des 2'-Nitroformononetins **4** durchzuführen (Abb. 3.10). Die Methylierung der 7-OH-Gruppe soll erst im Anschluss an die Reduktion erfolgen.

Das Reduktionsmittel der Wahl ist hier wiederum Palladiumkohle mit Cyclohexen [183]. Als Reaktionsprodukt kann jedoch nicht nur das gewünschte 2'-Aminoisoflavon **12** gefasst werden; überraschenderweise entsteht auch das *N*-ethylierte Salicyloylindol **13**.



i) Palladiumkohle, Cyclohexen, Ethanol, ΔT

Abb. 3.10: Reduktion des Isoflavons **4**

Den Strukturbeweis für die Entstehung des Salicyloylindols **13** liefert das Kernresonanzspektrum. Die Anwesenheit von zwei Signalen bei 12.64 und 10.36 ppm spricht für das Vorhandensein von zwei OH-Gruppen. Das Fehlen eines Signals bei 11.88 ppm weist auf die *N*-Ethylierung hin. Zusätzlich kann man Resonanzen für die Ethyl-Gruppe bei 4.28 und 1.40 ppm erkennen.

Das Protonenresonanzspektrum des Isoflavons **12** belegt die erfolgreiche Herstellung eines primären aromatischen Amins durch das Auftreten eines Signals bei 4.81 ppm, das den NH₂-Protonen zugeordnet werden kann.

Die Nebenreaktion zu einem Salicyloylindol im Rahmen der Reduktion von 2'-Nitroisoflavonen konnte in unserer Arbeitsgruppe schon von *Löwe* und *Witzel* beobachtet werden [179, 186]. Auf den Mechanismus der vermuteten Ringtransformation wird in Kapitel 3.3.1.1 näher eingegangen.

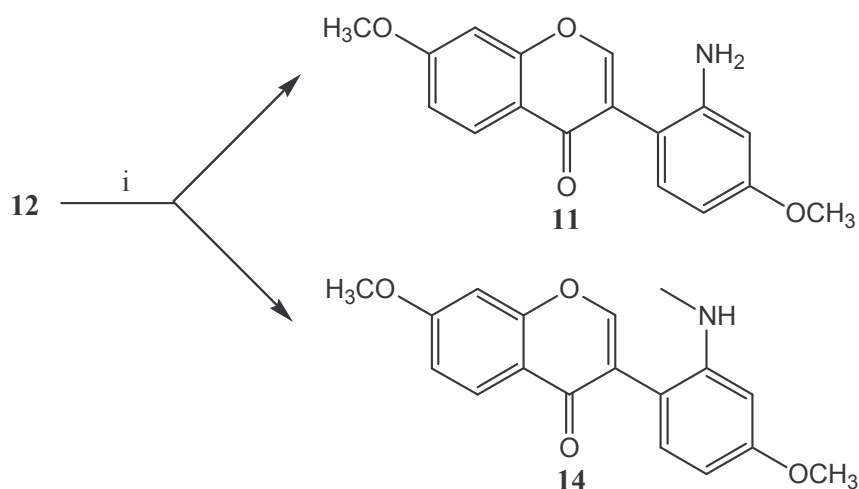
Bei der Reduktion von **4** mit Palladiumkohle wird entweder die Bildung des 2'-Aminoisoflavons **12** oder des Salicyloylindols **13** je nach Reaktionsdauer begünstigt. Eine Reduktionszeit von rund 2 Stunden führt nahezu ausschließlich zu der Bildung von **12**.

Interessant ist die Beobachtung, dass bei der Reduktion des 2'-Nitroisoflavons **4** das *N*-ethylierte Indolderivat **3** entsteht; ein entsprechendes Salicyloylindol ohne einen *N*-Substituenten kann nicht isoliert werden.

3.1.1.2.6 Herstellung des 2'-Amino-4',7-dimethoxyisoflavons **11**

Um zu dem Dimethoxy-Isoflavon **11** zu gelangen, wird das Aminoisoflavon **12** mit Jodmethan umgesetzt (Abb. 3.11). Neben der Methylierung der 7-OH-Gruppe des Isoflavons erfolgt in geringem Maße eine Monomethylierung der Amino-Gruppe.

Eine direkte Umsetzung von **12** mit dem Säurechlorid der Verbindung **8** wird nicht versucht, da auch hier vermutet wird, dass das Säurechlorid sowohl mit der Aminofunktion als auch mit der freien phenolischen OH-Gruppe reagiert.



i) Jodmethan, Kaliumcarbonat, Aceton, ΔT bzw. RT

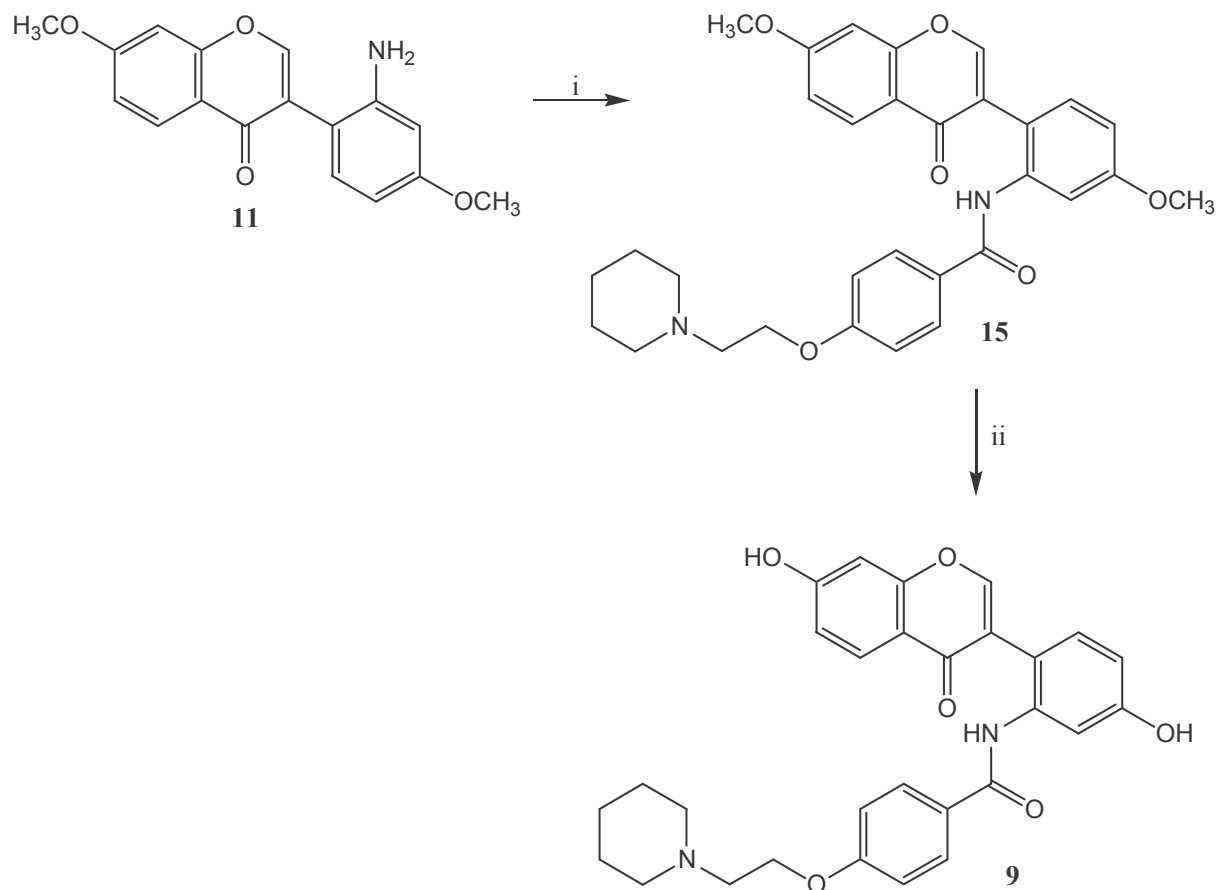
Abb. 3.11: Methylierung der Verbindung **12**

Eine Verminderung der Gesamtmenge des zugesetzten Jodmethans und Umsetzung bei Raumtemperatur führen nicht zur ausschließlichen Bildung des Isoflavons **11**.

Das *N*-Methyl-isoflavon **14** entsteht immer als Nebenprodukt. Es kann jedoch durch SC von **11** abgetrennt werden.

3.1.1.2.7 Herstellung des Benzamids 9

Das Isoflavon **11** wird anschließend mit dem Säurechlorid des Benzoessäurederivats **8** in 1,4-Dioxan umgesetzt (Abb. 3.12). Dabei erhält man das Benzamid **15** in akzeptablen Ausbeuten.



i) Säurechlorid der Verbindung **8**, 1,4-Dioxan, ΔT ; ii) Bortribromid in Dichlormethan, $-70\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$

Abb. 3.12: Herstellung der Verbindung **9**

Um zu dem gewünschten Benzamid **9** zu gelangen, werden die Methoxy-Gruppen von **15** mit Bortribromid in Dichlormethan bei $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gespalten [187].

Nach der Reinigung des Daidzeinderivats **9** durch SC fällt die Verbindung in Form hellgelber Kristalle an.

Die Entstehung des Benzamids **9** kann durch das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bestätigt werden (Abb. 3.13).

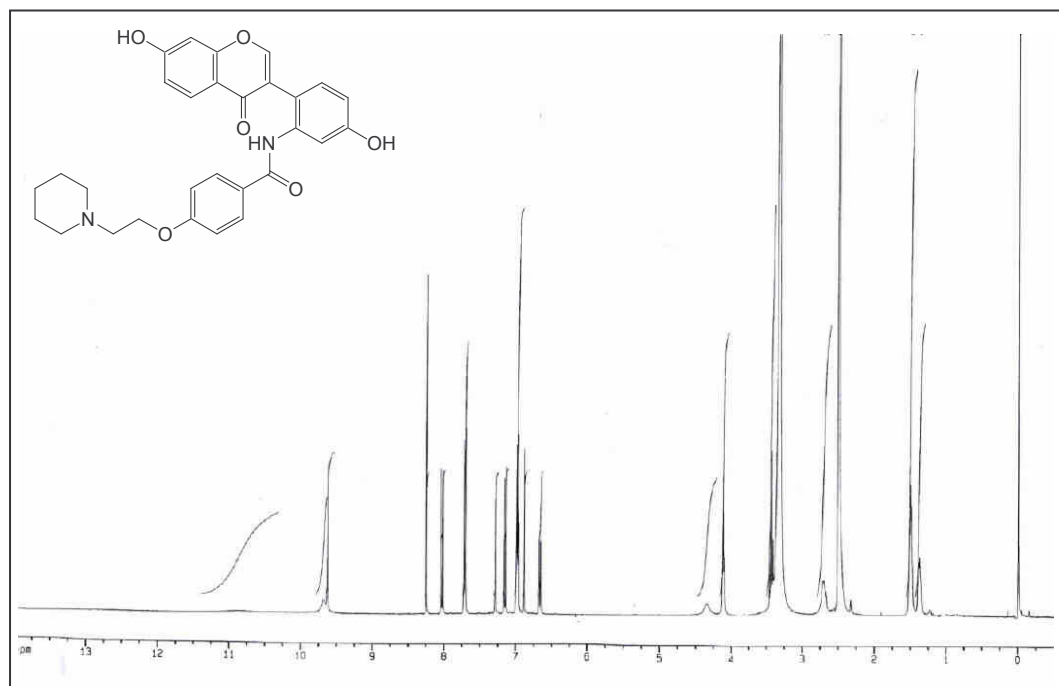


Abb. 3.13: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) des Benzamids **9**

Bei 10.86, 9.72 und 9.60 ppm erscheinen die Signale der Protonen der beiden OH-Gruppen und der NH-Funktion. Das Fehlen einer Resonanz bei 4 ppm belegt die erfolgreiche Spaltung der Methoxy-Gruppe. Im Bereich von 4.11 bis 1.29 ppm treten die Protonen der basischen Seitenkette in Resonanz.

Das IR-Spektrum des Benzamids **9** weist eine breite Bande bei 3344 cm^{-1} auf, die durch die Hydroxy-Gruppen, durch die Benzamidfunktion und durch vorhandenes Kristallwasser verursacht wird. Das Fehlen einer Bande im Bereich von 2850 cm^{-1} belegt ebenso, dass die Spaltung der Methoxy-Gruppen erfolgreich gelungen ist.

3.1.2 Synthese des Genisteinderivats 24

Nach der erfolgreichen Herstellung des Daidzeinderivats **9** soll nun versucht werden, Genistein in gleicher Weise strukturell zu der Verbindung **24** abzuwandeln (Abb. 3.14).

Das Genisteinderivat **24** unterscheidet sich nur in der zusätzlichen 5-OH-Gruppe von dem Daidzeinderivat **9**.

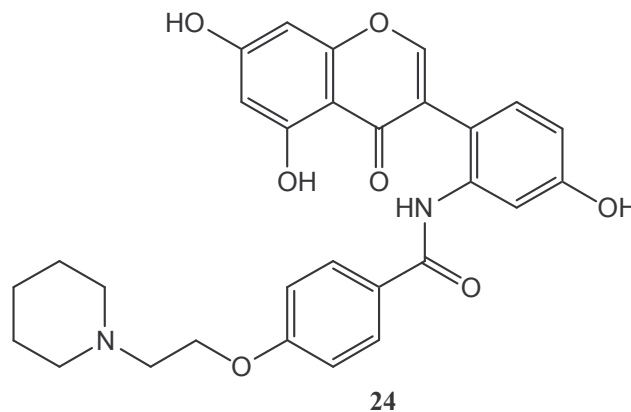


Abb. 3.14: Struktur des Benzamids **24**

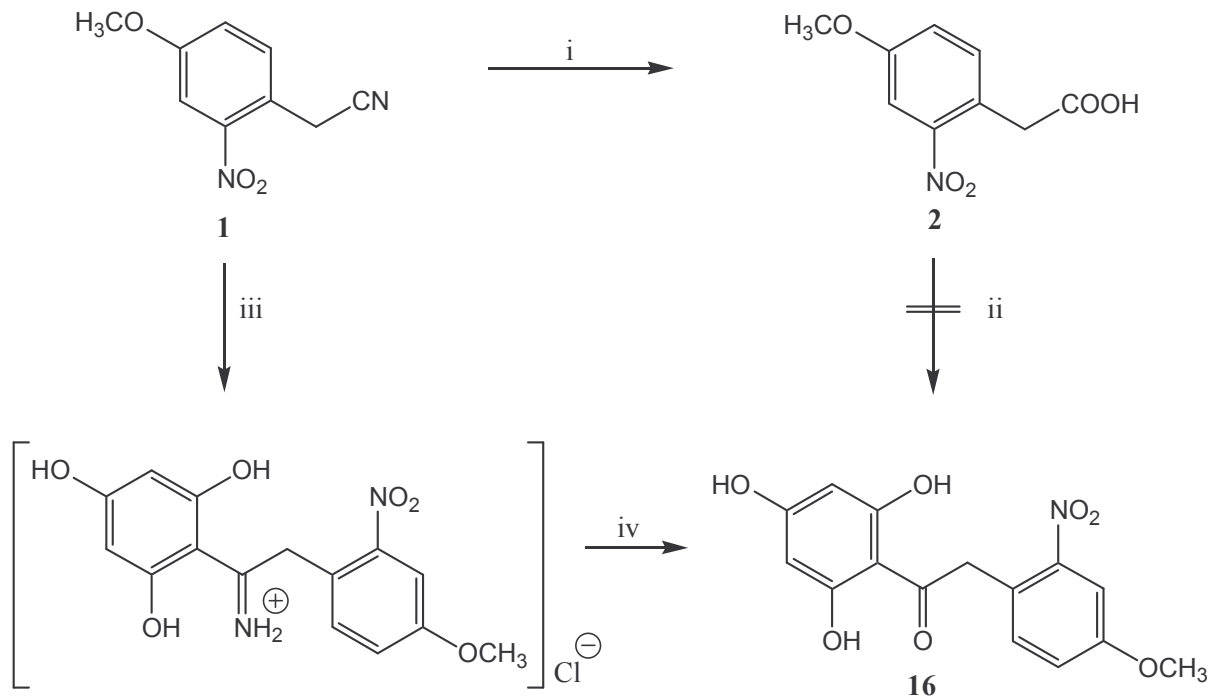
3.1.2.1 Herstellung des 2'-Amino-5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavons **19**

3.1.2.1.1 Herstellung des Ethanons **16**

Die Synthese des Benzamids **24** erfolgt über die zentrale Verbindung **19**, ein 2'-Aminoisoflavon, welches vom Nitril **1** aus aufgebaut wird.

Ausgehend von **1** soll das Ethanon **16** über die korrespondierende Phenylessigsäure **2** in einer Friedel-Crafts-Alkanoylierung synthetisiert werden.

Die Friedel-Crafts-Alkanoylierung gelingt jedoch nicht. Es findet keine Umsetzung von **2** zum Ethanon **16** statt (Abb. 3.15).



i) konz. Schwefelsäure/Wasser (4:6), ΔT ; ii) Phloroglucin, Bortrifluorid-Diethylether-Komplex, ΔT ; iii) Chlorwasserstoff, Zink(II)chlorid, abs. Ether, 0 °C, Phloroglucinol, RT; iv) Wasser, ΔT

Abb. 3.15: Versuche zur Herstellung des Ethanons **16**

Alternativ wird nun versucht, das Ethanon **16** im Rahmen einer Houben-Hoesch-Synthese herzustellen [188, 189].

Dabei wird das Nitril **1** mit Chlorwasserstoff zum Imidsäurechlorid umgesetzt, welches in Gegenwart von Zinkchlorid als Lewis-Säure mit Phloroglucinol in einer elektrophilen aromatischen Substitution reagiert.

Das Iminium-Ion wird *in situ* in einem zweiten Schritt zu dem Ethanon **16** hydrolysiert.

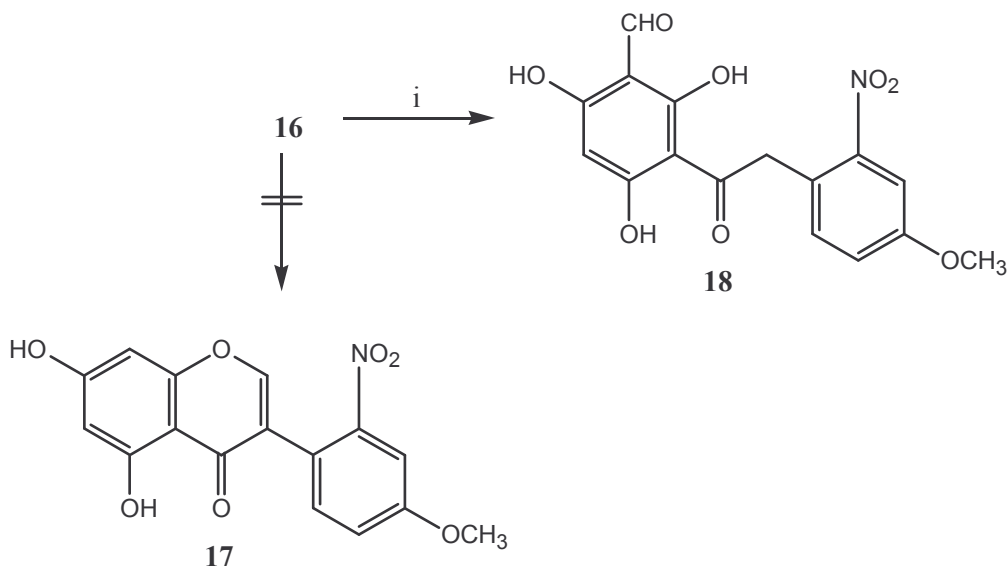
3.1.2.1.2 Herstellung des 5,7-Dihydroxy-4'-methoxy-2'-nitroisoflavons 17

Der Ringschluss des Ethanons **16** zu dem gewünschten 2'-Nitroisoflavon **17**, einem Derivat des Biochanin A, erweist sich als schwieriger als der der Verbindung **3** zu dem Formononetinderivat **4**.

Zunächst wird der Ringschluss mit *N,N*-Dimethylformamiddimethylacetal in THF in einer modifizierten Knoevenagel-Reaktion versucht, bleibt aber erfolglos.

Auch kurzzeitiges Erhitzen in einem Überschuss von *N,N*-Dimethylformamiddimethylacetal ohne weiteren Lösungsmittelzusatz bringt nicht das gewünschte Ergebnis.

Arbeitet man hingegen mit DMF und Methanol als Lösungsmittel, so erhält man überraschenderweise das am 2,4,6-Trihydroxyphenylrest formylierte Ethanon **18** als Reaktionsprodukt (Abb. 3.16).



i) *N,N*-Dimethylformamiddimethylacetal, Methanol, Δ T

Abb. 3.16: Umsetzung des Ethanons **16** mit *N,N*-Dimethylformamiddimethylacetal in Methanol

Das Kernresonanzspektrum belegt die Formylierung durch das Auftreten eines Aldehyd-Signals bei 10.02 ppm (Abb. 3.17). Da nur noch ein Peak im Bereich der aromatischen Protonen erscheint, ist eine Substitution am 2,4,6-Trihydroxyphenylrest bewiesen.

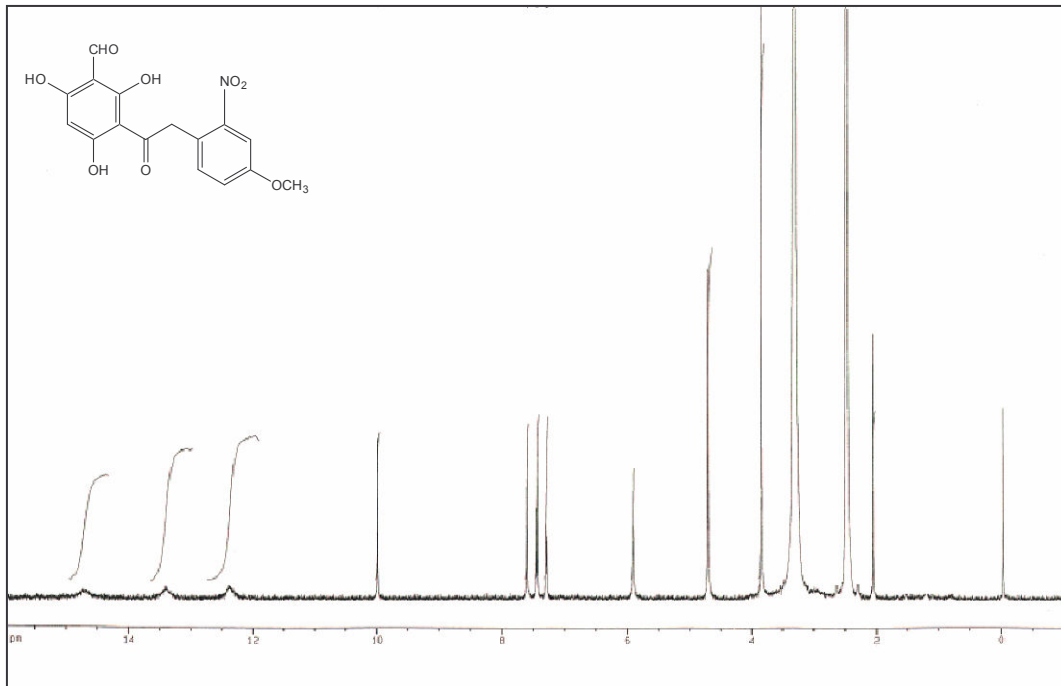


Abb. 3.17: ¹H-NMR-Spektrum (D₆-DMSO) des formylierten Ethanons **18**

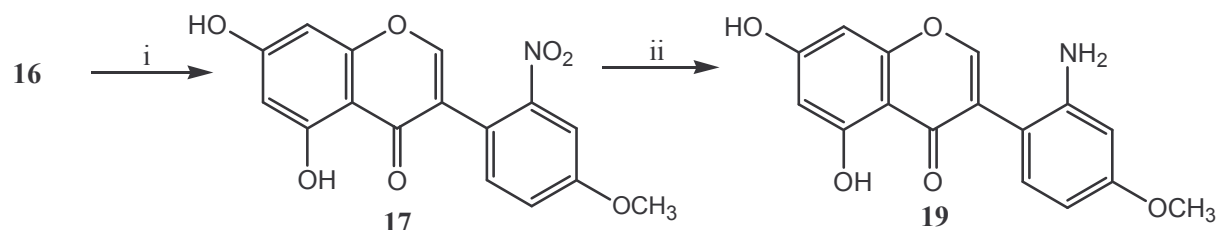
Letztendlich kann der Ringschluss zum 2'-Nitroisoflavon **17** auf ungewöhnliche Weise erreicht werden.

Die Umsetzung des Ethanons **16** mit Methansulfonsäurechlorid in DMF führt zu dem gewünschten Isoflavon **17** (Abb. 3.18) [190].

Das Kernresonanzspektrum der Verbindung **17** belegt den erfolgreichen Ringschluss durch das Auftreten von zwei Signalen bei 12.36 und 11.03 ppm, die den beiden OH-Gruppen zugeordnet werden können. Zudem fehlt eine Resonanz für die CH₂-Gruppe des Ethanons **16** bei 4.67 ppm.

3.1.2.1.3 Reduktion des 2'-Nitroisoflavons **17** zu dem 2'-Aminoisoflavon **19**

Der erfolgreichen Herstellung des 2'-Nitroisoflavons **17** folgt die Reduktion der Nitro-Gruppe wiederum mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen (Abb. 3.18) [183].



i) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex, Methansulfonsäurechlorid, DMF, ΔT , Eis; ii) Palladiumkohle, Cyclohexen, Ethanol, ΔT

Abb. 3.18: Synthese der Isoflavone **17** und **19**

Das Kernresonanzspektrum belegt die erfolgreiche Reduktion von **19** durch das Auftreten eines Signals bei 4.96 ppm, das den Aminoprotonen zugeordnet werden kann.

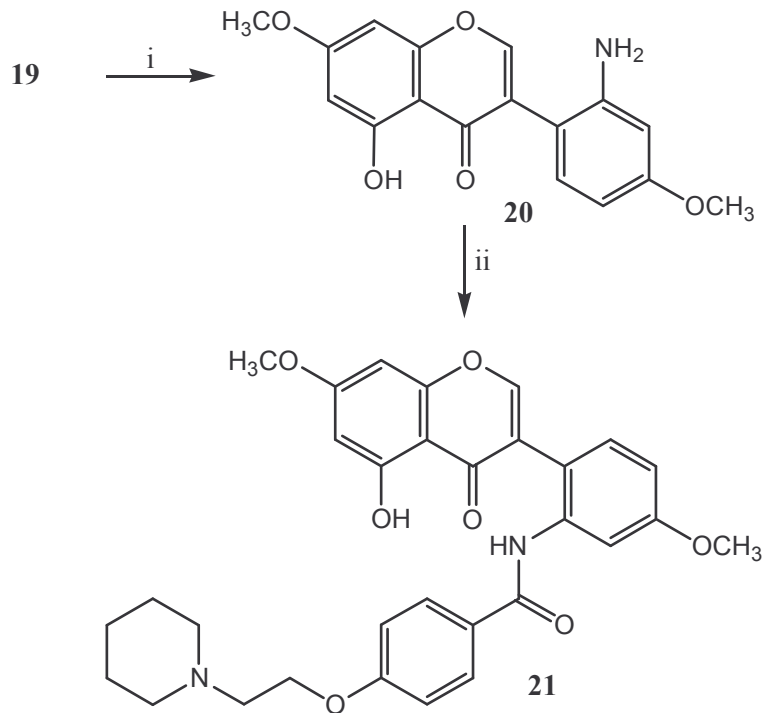
3.1.2.2 Versuche zur Herstellung des Benzamids **24**

Die weitere Umsetzung des Isoflavons **19** zu dem Benzamidderivat **24** soll über das Dimethoxy-Isoflavon **20** erfolgen. Die freie phenolische 7-OH-Gruppe von **19** wird verethert, um Nebenreaktionen der Hydroxy-Gruppe mit dem Säurechlorid der Verbindung **8** zu verhindern.

3.1.2.2.1 Herstellung des Benzamids **21**

Aus diesem Grund wird **19** mit Jodmethan umgesetzt (Abb. 3.19) [185].

Im Gegensatz zu der Umsetzung des Isoflavons **11** mit Jodmethan erfolgt hier überraschenderweise keine Methylierung der Aminofunktion. Man erhält nur das dimethoxylierte Isoflavon **20**.



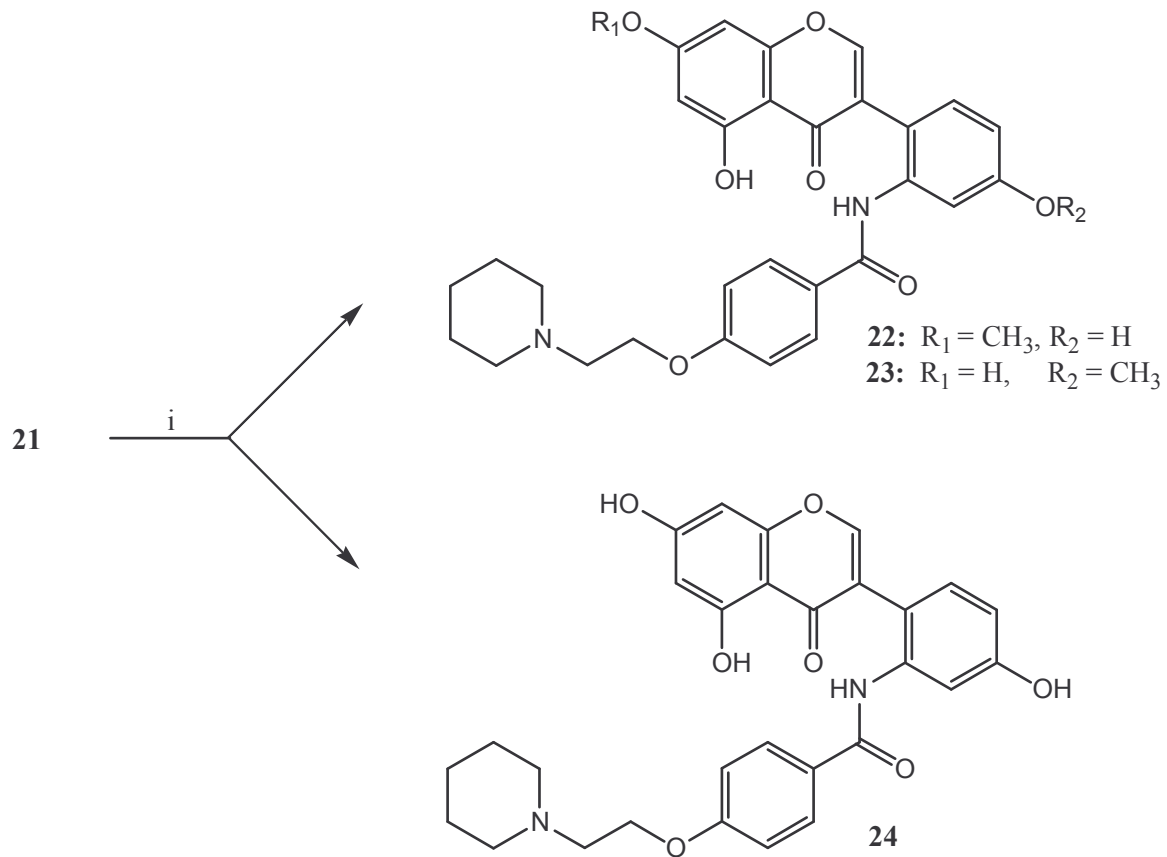
i) Jodmethan, Kaliumcarbonat, Aceton; ii) Säurechlorid der Verbindung **8**, 1,4-Dioxan, ΔT

Abb. 3. 19: Herstellung des Benzamids **21**

Das Isoflavon **20** wird mit dem Säurechlorid von **8** zum Benzamid **21** umgesetzt (Abb. 3.19). Die erfolgreiche Einführung der basischen Seitenkette wird durch das Protonenresonanzspektrum der Verbindung **21** belegt. Im Bereich von 2.71 bis 1.33 ppm treten die Resonanzen der CH_2 -Gruppen der Seitenkette auf. Im Massenspektrum von **21** findet sich zusätzlich der Molpeak mit einer Masse von $m/z = 544$.

3.1.2.2.2 Spaltung der Methoxy-Gruppen des Benzamids **21**

Um das gewünschte Genisteinderivat **24** zu erhalten, ist es erforderlich, die Methoxy-Gruppen des Benzamids **21** zu spalten. Dazu wird die Verbindung **21** bei $-70\text{ }^\circ\text{C}$ in Dichlormethan gelöst und mit Bortribromid versetzt [187]. Der Ansatz wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und über Nacht gerührt. Nach der Zugabe von Methanol kommt die Reaktion zum Stillstand. Überraschenderweise wird die Wunschverbindung **24** jedoch nur in sehr geringen Ausbeuten erhalten (Abb. 3.20).



i) Bortribromid in Dichlormethan, $-70\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$

Abb. 3.20: Demethylierung des Benzamids **21**

Das Hauptprodukt der Reaktion ist ein Monomethoxy-Derivat der Verbindung **21**. Es handelt sich dabei entweder um das Prunetinderivat **22** oder das Biochanin A-Derivat **23**.

Ob sich diese Methoxy-Gruppe in Position 7 oder 4' der Isoflavonstruktur befindet, kann durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie zunächst nicht eindeutig geklärt werden. Eine Klärung der Lage der Methoxy-Gruppe ist jedoch durch die Hochauflösung der Massenspektren möglich.

Die beiden möglichen monomethoxylierten Reaktionsprodukte **22** und **23** liefern ähnliche Abbaureaktionen im Rahmen der massenspektrometrischen Untersuchung (Abb. 3.21). Die Verbindungen können jedoch anhand der entstehenden Fragmente unterschieden werden.

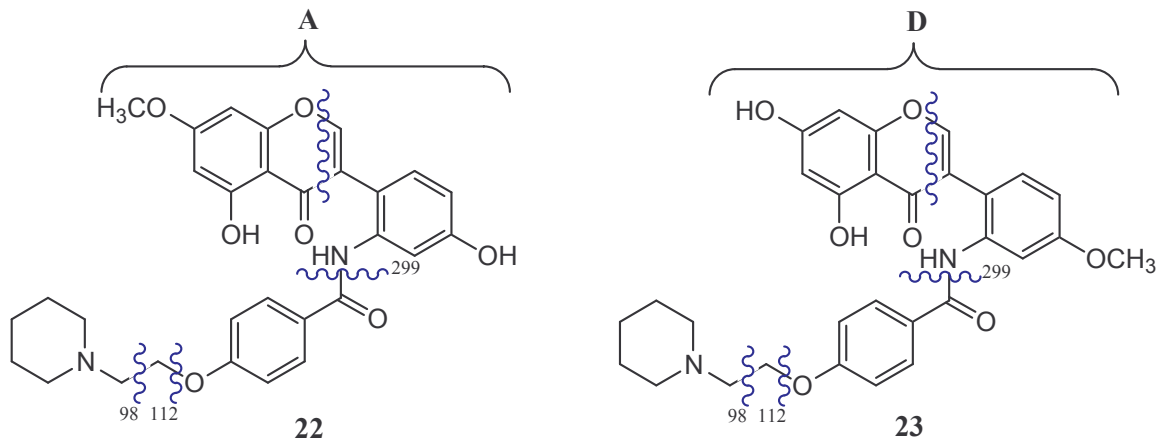


Abb. 3.21: Die möglichen Sollbruchstellen und relativen Massen der Fragmente des Prunetinderivats **22** und des Biochanin A-Derivats **23**

Beide Benzamidderivate weisen die gleichen Sollbruchstellen auf.

Zwei signifikante Bruchstücke mit den Massen $m/z = 98$ bzw. $m/z = 112$ entstehen durch Spaltung innerhalb der Piperidinoethoxy-Einheit. Ebenso wird die Amidverknüpfung innerhalb der Seitenkette gespalten. Die beiden Benzamide **22** und **23** weisen das Fragment mit der Masse $m/z = 299$ auf, das der 2'-Aminoisoflavonstruktur ohne Seitenkette entspricht. Die Benennung dieser Bruchstücke mit den Buchstaben A bzw. D dient der Vereinfachung der weiteren Diskussion.

Der weitere Zerfall der Ionen A und D ist interessant für die Unterscheidung zwischen dem Prunetinderivat **22** und dem Biochanin A-Derivat **23**. Durch die unterschiedliche Lage der Methoxy-Gruppen sind verschiedene Fragmente zu erwarten, die eine eindeutige Bestimmung der Position der Methoxy-Gruppe erlauben.

Dieser mögliche Fragmentierungsmechanismus ist in Abbildung 3.22 am Beispiel des Ions A des Prunetinderivats **22** formuliert.

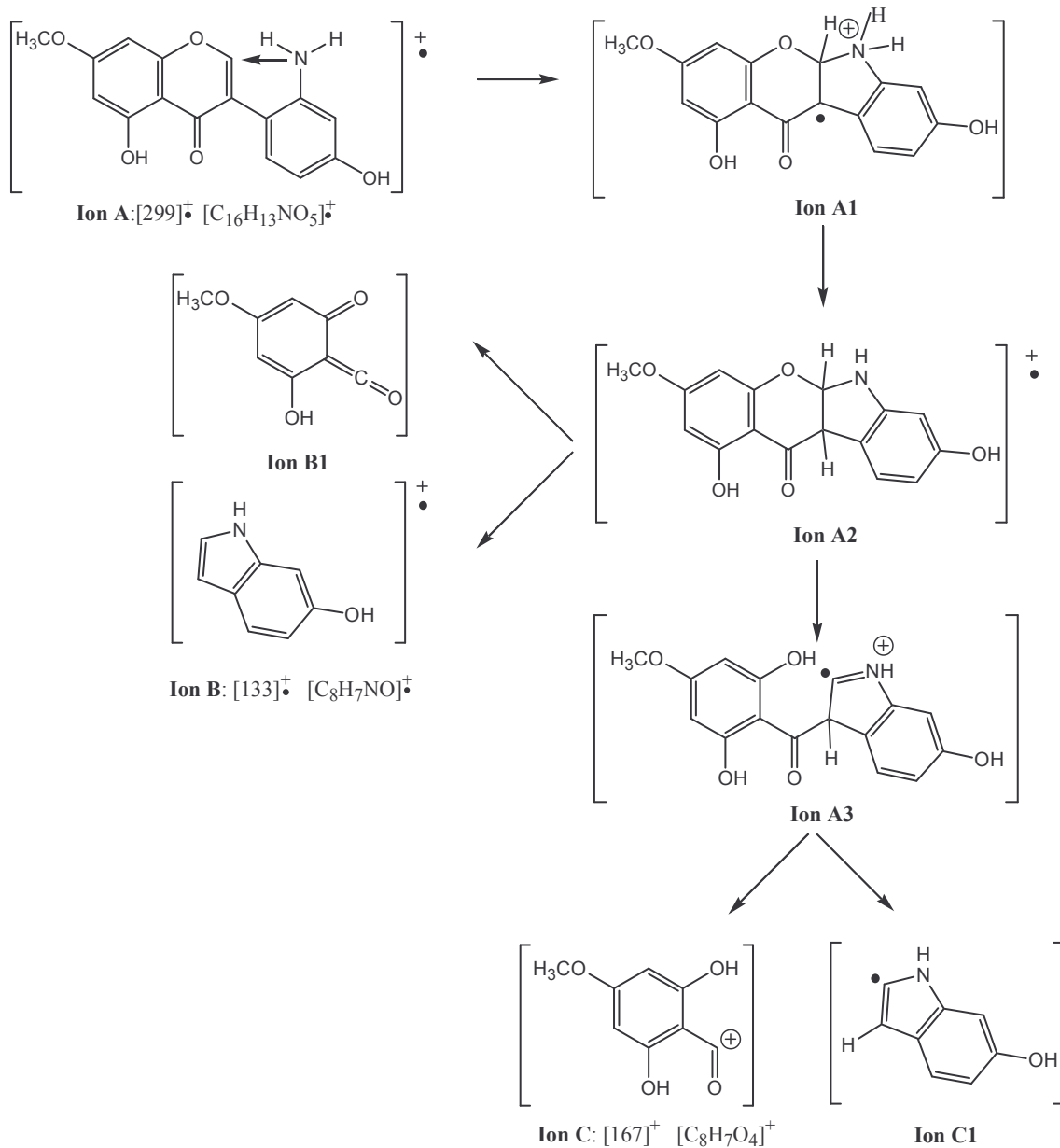


Abb. 3.22: Möglicher Fragmentierungsmechanismus des Ions A des Benzamids **22**

Durch intramolekulare Anlagerung der Aminofunktion des Ions A an die Doppelbindung der Pyronstruktur entsteht das tetrazyklische Radikalkation A1, welches sich durch [1,3-H]-Wanderung in das Ion A2 umlagert.

Das nicht fassbare Neutralteil B1 und das 6-Hydroxyindol-Radikalkation B bilden sich aus dem Ion A2 im Rahmen einer Retro-Diels-Alder-Reaktion durch [2+4]-Cycloreversion nach Woodward-Hoffmann. Des Weiteren kommt es zu der Bildung des Salicyloylindol-Radikalkations A3 durch protolytische Ringöffnung des Ions A2.

Das Radikalkation A3 zerfällt durch α -Spaltung in das Benzoylkation C und in das nicht fassbare Radikal C1 [191].

Die oben dargelegte Zerfallsreaktion kann ebenfalls für das Ion D der Verbindung **23** formuliert werden (Abb. 3.23). Hier würde jedoch das 6-Methoxy-Radikalkation als Fragment entstehen.

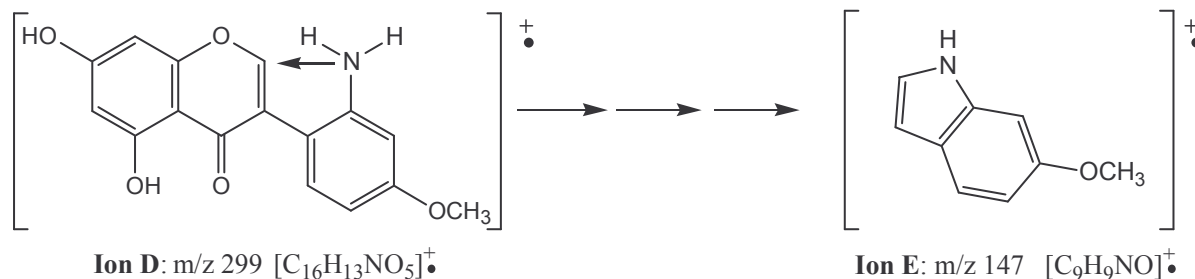


Abb. 3.23: Mögliches Fragment des Ions D

Die Hochauflösung des EI-Spektrums der getesteten Verbindung belegt eindeutig die Lage der Methoxy-Gruppe in Position 7 der Isoflavonstruktur. Das Hauptprodukt der Demethylierungsreaktion des Benzamids **21** ist somit das Prunetinderivat **22**.

Der in der Abbildung 3.22 postulierte Fragmentierungsmechanismus wird durch die Ergebnisse der Hochauflösung bestätigt. Es entsteht sowohl das Ion A als auch die Ionen B und C. Nicht zu finden ist jedoch das Ion E, das 6-Methoxyindol-Radikalkation, das für eine Lage der Methoxy-Gruppe in Position 4' sprechen würde (Tab. 3.1) [191].

Referenzmasse	Dekade	Gefundene Masse	Berechnete Masse	Summenformel	Zuordnung
542,966505	1,024069	530,20477	530,205302	¹² C ₃₀ ¹ H ₃₀ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₇	M ⁺
304,982455	1,019740	299,07855	299,079373	¹² C ₁₆ ¹ H ₁₃ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₅	Ion A
168,988835	1,0116896	167,03624	167,034434	¹² C ₈ ¹ H ₇ ¹⁶ O ₄	Ion C
130,992025	1,015752	133,05534	133,052764	¹² C ₈ ¹ H ₇ ¹⁴ N ₁ ¹⁶ O ₁	Ion B

Tab. 3.1: Tabellarische Darstellung der Daten der Hochauflösung des Massenspektrums der Verbindung **22**

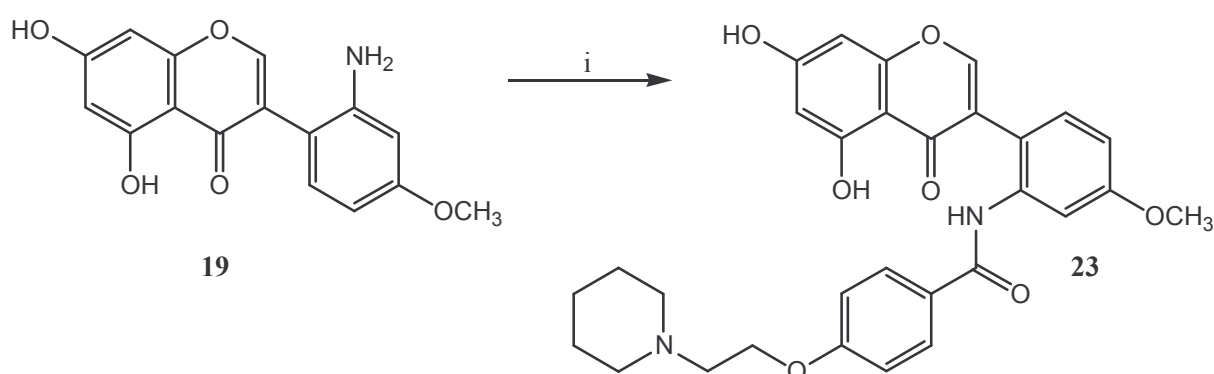
Die Demethylierung des dimethoxylierten Benzamids **21** führt somit hauptsächlich zu dem monomethoxylierten Benzamid **22** und nur in geringen Anteilen zu dem gewünschten demethylierten Benzamid **24**.

3.1.2.2.3 Herstellung des Benzamids 23

Da die Synthese des gewünschten Benzamids **24** über die Verbindung **21** nur mit sehr geringen Ausbeuten gelingt, wird nun versucht, das Isoflavon **19** direkt mit dem Benzoessäurederivat **8** zu dem Benzamid **23** umzusetzen.

Zudem ist ein Vergleich der beiden monomethoxylierten Benzamide **22** und **23** interessant, um die beiden Verbindungen eindeutig gegeneinander abgrenzen zu können.

Das Isoflavon **19** wird zusammen mit dem Säurechlorid der Verbindung **8** in 1,4-Dioxan erhitzt (Abb. 3.24).



i) Säurechlorid der Verbindung **8**, 1,4-Dioxan, ΔT

Abb. 3.24: Herstellung des Benzamids **23**

Die Reaktion führt ausschließlich zu dem gewünschten Benzamidderivat **23**. Es tritt keine Substitution der 7-OH-Gruppe durch das Säurechlorid der Verbindung **8** auf, wie zuvor befürchtet wurde.

Um das Benzamid **23** von dem ebenfalls monomethoxylierten Benzamid **22** abzugrenzen, wird nun **23** nun massenspektrometrisch untersucht (Tab. 3.2).

Referenzmasse	Dekade	Gefundene Masse	Berechnete Masse	Summenformel	Zuordnung
542,966505	1,024065	530,20733	530,205302	$^{12}\text{C}_{30}^1\text{H}_{30}^{14}\text{N}_1^{16}\text{O}_7$	M^{+}
304,982455	1,019743	299,07785	299,079373	$^{12}\text{C}_{16}^1\text{H}_{13}^{14}\text{N}_1^{16}\text{O}_5$	Ion D
142,992025	1,028497	147,06680	147,068414	$^{12}\text{C}_9^1\text{H}_9^{14}\text{N}_1^{16}\text{O}_1$	Ion E

Tab. 3.2: Tabellarische Darstellung der Daten der Hochauflösung des Massenspektrums des Benzamids **23**

In der Hochauflösung des Massenspektrums des Benzamids **23** wird ein ähnlicher Fragmentierungsmechanismus wie bei dem Benzamid **22** beobachtet.

Es entsteht das Radikalkation D, das durch weiteren Abbau zu dem 6-Methoxy-Radikalkation E führt (Abb. 3.23). Im Unterschied zu dem Prunetinderivat **22** kann bei der massenspektrometrischen Bestimmung des Biochanin A-Derivats **23** jedoch kein Benzaldehydfragment nachgewiesen werden.

3.1.2.2.4 Vergleich der Protonenresonanzspektren der Benzamide **22** und **23**

Die Kernresonanzspektren der Benzamide **22** und **23** sind sich bis auf die unterschiedlichen Lagen der OH-Gruppen und der Methoxy-Gruppe sehr ähnlich. Sie unterscheiden sich nur in den Resonanzen der Substituenten in den Positionen 4' und 7.

Die 4'-OH-Gruppe von **22** tritt bei 9.70 ppm in Resonanz, die 7-Methoxy-Gruppe bei 3.84 ppm (Abb. 3.25).

Das Spektrum von **23** besitzt ein Signal für die 7-OH-Gruppe bei 10.87 ppm. Die Resonanz der 4'-Methoxy-Gruppe liegt bei 3.79 ppm (Abb. 3.26).

Die 7-OH-Gruppe von **23** ist stärker entschirmt als die 7-OH-Gruppe von **22**, darum ist deren Signal weiter Tieffeld-verschoben.

Die Nummerierung der Substituenten der Benzamide ist zur Vereinfachung der Diskussion an die Nummerierung der Isoflavone angelehnt.

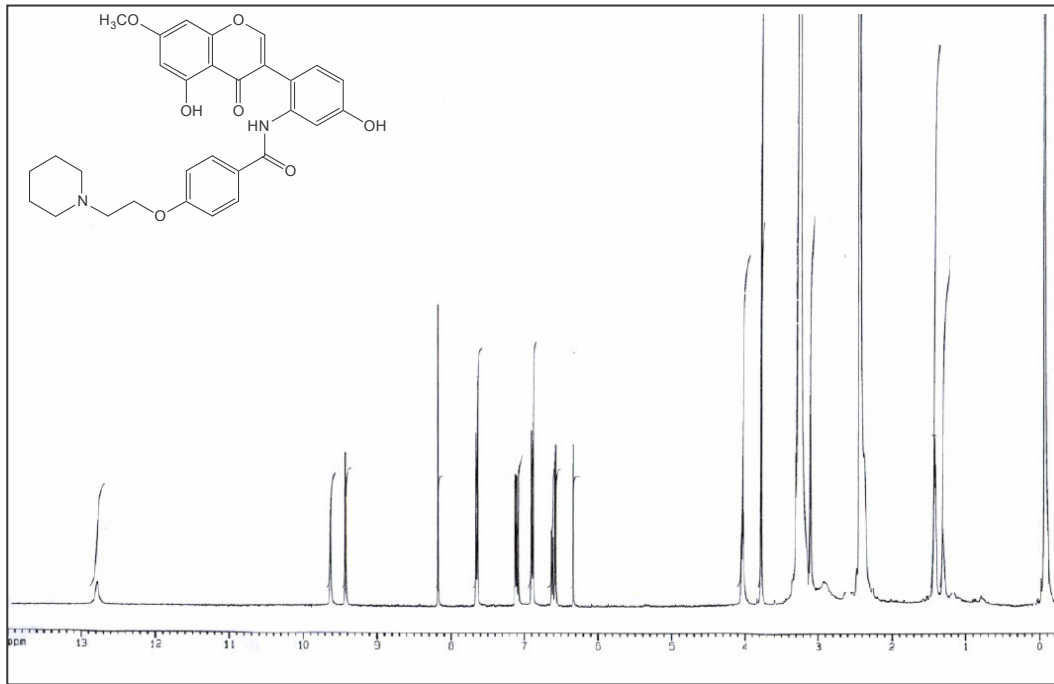


Abb. 3.25: ^1H -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) der Verbindung 22

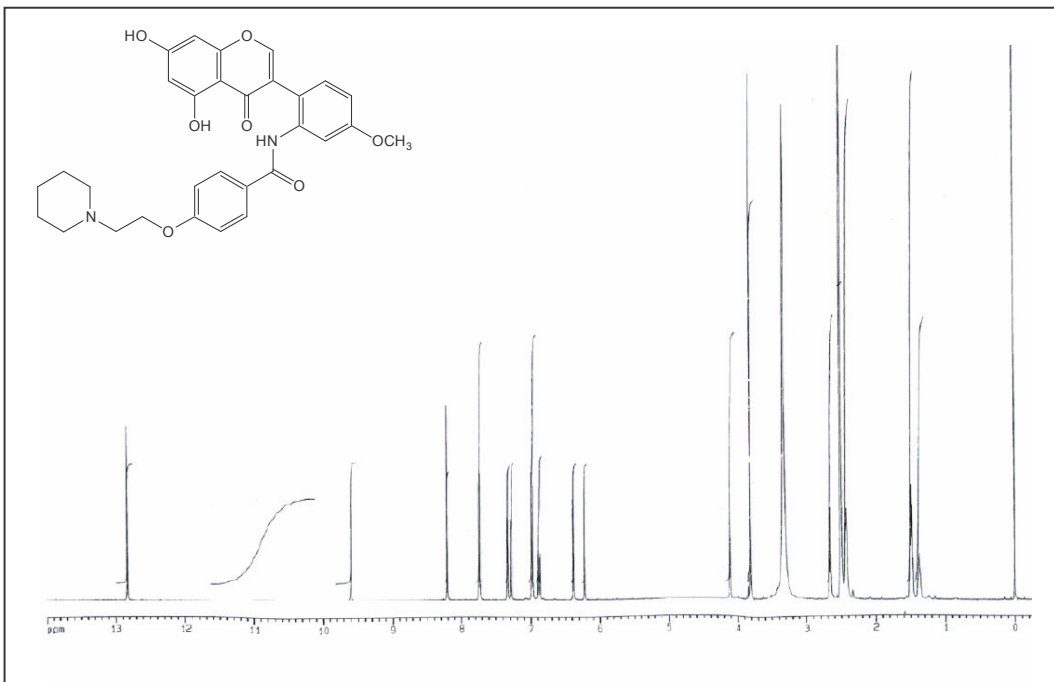
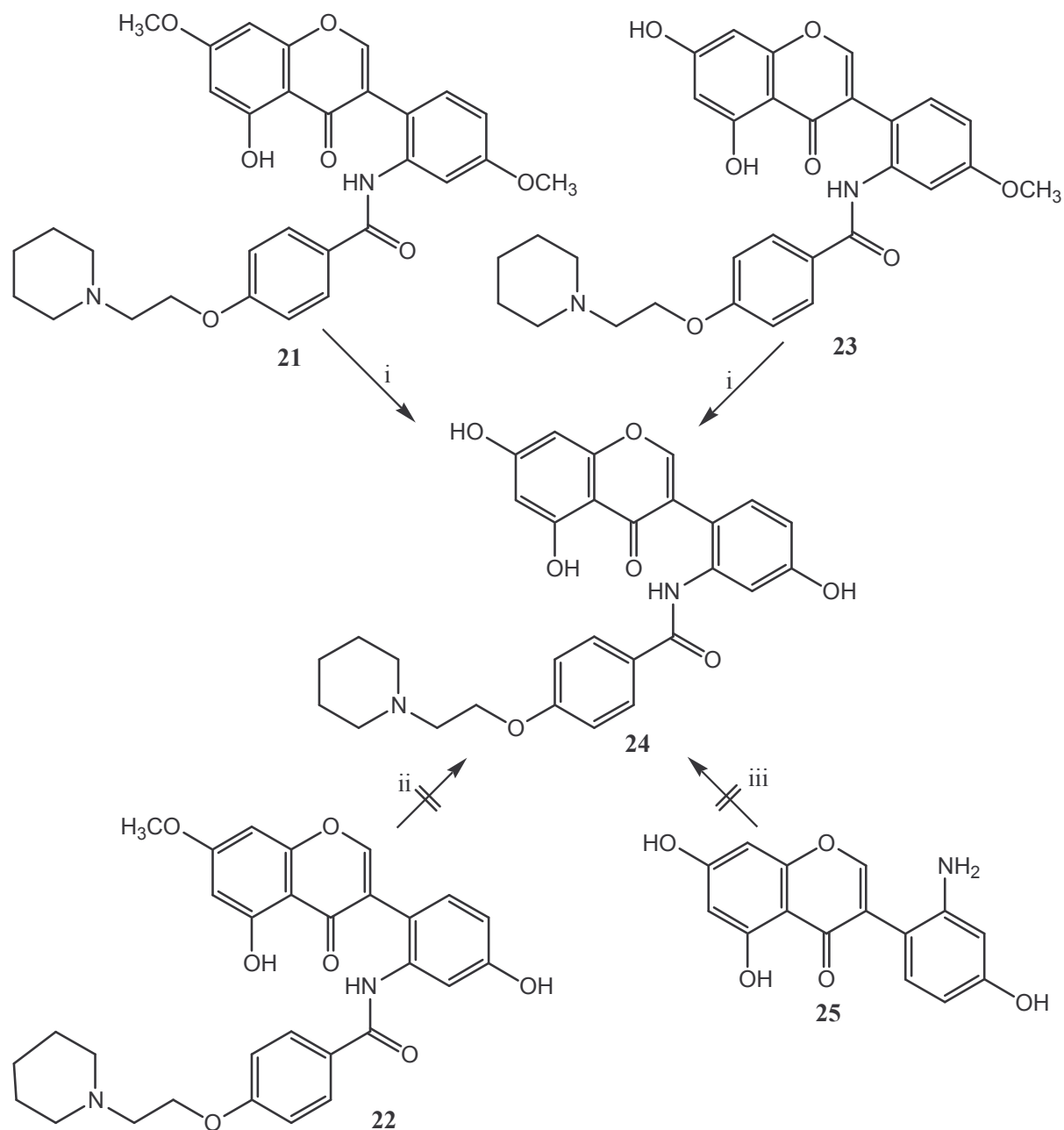


Abb. 3.26: ^1H -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) der Verbindung 23

3.1.2.2.5 Herstellung des Benzamids 24

Nach der erfolgreichen Herstellung des monomethoxylierten Benzamids **23** wird nun versucht, durch Umsetzung von **23** mit Bortribromid in Dichlormethan das gewünschte Benzamid **24** herzustellen (Abb. 3.27).



i) Bortribromid in Dichlormethan; ii) Pyridinhydrochlorid, Chinolin, ΔT bzw. Pyridinhydrochlorid, ΔT ; iii) Säurechlorid der Verbindung **8**, 1,4-Dioxan, ΔT

Abb. 3.27: Versuch der Herstellung des Genisteinderivats **24**

Die Umsetzung verläuft erfolgreich.

Allerdings bereitet die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes Probleme, denn die Reaktion mit Bortribromid scheint zu einem Gemisch des Benzamids **24** und veränderlichen Anteilen an den entsprechenden Hydrobromiden und Hydrochloriden der Verbindung **24** und der Ausgangsverbindung **23** zu führen. Dieses Gemisch lässt sich auf Grund der schlechten Löslichkeit von **24** sowohl in polaren als auch in unpolaren Lösungsmitteln nicht auftrennen. Eine Freisetzung der Base durch Neutralisation mit gesättigter Natriumcarbonatlösung gelingt nicht.

Alternativ wird deshalb versucht, die freie Base zu erhalten, indem der Reaktionsansatz zum einen in 5N Natronlauge, zum anderen in gesättigter Natriumcarbonatlösung suspendiert wird. Die weitere Aufarbeitung erfolgt jeweils durch Extraktion mit Ethylacetat und Dichlormethan und Trennung der Fraktionen durch SC.

Der mit NaOH versetzte Ansatz beinhaltet laut Dünnschichtchromatographie kein Benzamid **24**. Es kann jedoch das 2'-Aminogenistein **25** isoliert werden. Die Behandlung mit Lauge verseift das Benzamid, wobei die Säureamidfunktion innerhalb der basischen Seitenkette hydrolysiert wird.

Das Isoflavon **25** kann auch aus dem mit Natriumcarbonatlösung behandelten Ansatz isoliert werden. Bei diesem Ansatz entsteht die Wunschverbindung **24** nur in geringen Mengen. Die Trocknung der für die Elementaranalyse bestimmten Probe führt jedoch zur Zersetzung von **24**, wie mit DC gezeigt werden kann.

Des Weiteren wird versucht, die Reaktionsmischung in gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung zu lösen. Diese Lösung wird anschließend mit Ethylacetat und Dichlormethan extrahiert. Auf diesem Weg erhält man die Verbindung **24**, jedoch nicht in analysenreiner Form. Es wird vermutet, dass **24** zumindest teilweise als Salz vorliegt.

Das Vorliegen von **24** als Hydrochlorid kann mit Silbernitrat in salpetersaurer Lösung durch Fällung von Silberchlorid nachgewiesen werden. Eine quantitative Analyse des Chloridgehalts, vorgenommen von einem Mikroanalytischen Laboratorium, zeigt, dass nach Berücksichtigung des Trocknungsverlustes ungefähr 30 % des Benzamids **24** als Hydrochlorid vorliegen, der Rest als freie Base. Da eine vollständige Freisetzung der Base aus dem Salz vorher schon erfolglos war, wird nun versucht, das Genisteinderivat **24** als Hydrochlorid zu fällen. Die Umsetzung mit etherischer HCl führt, wie erwartet, zu der Fällung der Verbindung **24** als Hydrochlorid.

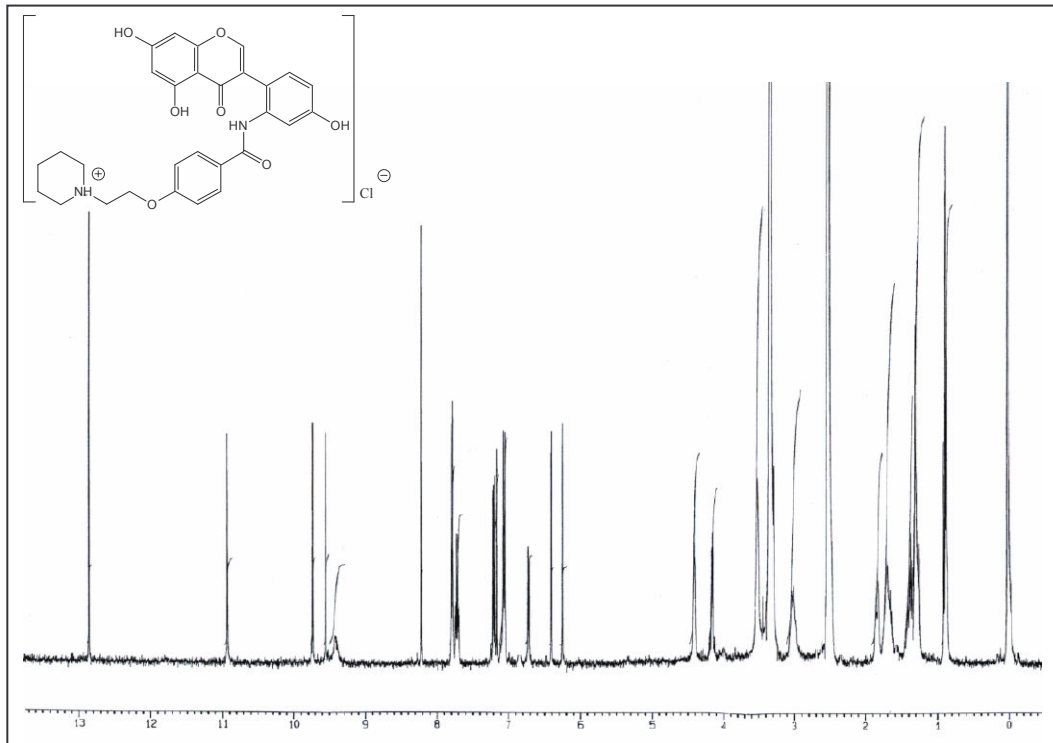


Abb. 3.28: ¹H-NMR-Spektrum (D₆-DMSO) des Genisteinderivats **24**

Das Kernresonanzspektrum belegt die erfolgreiche Spaltung der Methoxy-Gruppe durch das Auftreten einer Resonanz bei 9.53 ppm. Das Signal bei 9.36 bestätigt das Vorliegen eines Hydrochlorids (Abb. 3.28).

Die analytische Untersuchung des Benzamids **24** durch FAB-Massenspektrometrie ergibt die charakteristischen Schlüsselbruchstücke der Masse $m/z = 98$ und $m/z = 112$, die durch den Abbau der Seitenkette entstehen und Fragmenten der Summenformeln $[C_6H_{12}N]^+$ bzw. $[C_7H_{14}N]^+$ entsprechen (Abb. 3.29) [191].

Wie bei den monomethoxylierten Benzamiden **22** und **23** treten bei dem Abbau der Chromonstruktur des Genisteinderivats **24** die charakteristischen Fragmente, ein Indolradikalkation mit der Masse $m/z = 133$ und ein Benzaldehydkation mit der Masse $m/z = 153$, wieder auf. Des Weiteren findet sich ein Schlüsselbruchstück mit der Masse $m/z = 285$, welches durch eine Spaltung innerhalb der Seitenkette entsteht. Dieses Bruchstück entspricht strukturell dem 2'-Aminogenistein **25**.

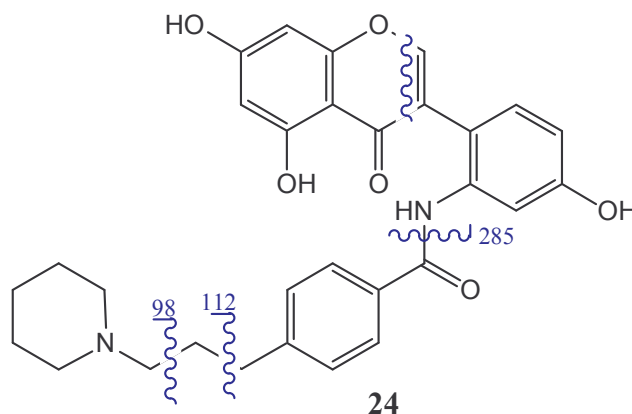


Abb.3.29: Schematische Darstellung der Sollbruchstellen des Benzamids **24**

Das EI-Spektrum weist die Entstehung verschiedener Artefakte bei einer Verdampfungstemperatur von 230 °C nach. Ein Artefakt der Masse $m/z = 253$ deutet auf die Entstehung eines 6-Hydroxyindolderivats hin, welches am Stickstoff mit 4-Hydroxybenzaldehyd substituiert ist. Ein weiteres Artefakt der Masse $m/z = 217$ spricht für die Bildung eines 6-Hydroxyindolderivats, das am Indolstickstoff mit Piperidin substituiert ist.

Die IR-Spektroskopie bestätigt wie die Protonenresonanzspektroskopie das Vorliegen von **24** als Hydrochlorid durch eine breite Bande bei 2337 cm^{-1} . Die sehr intensive, breite Bande bei 3432 cm^{-1} wird durch die drei freien phenolischen Hydroxy-Gruppen, durch die Benzamidfunktion und durch Kristallwasser herbeigeführt. Das Fehlen einer Bande im Bereich um 2850 cm^{-1} belegt die erfolgreiche Spaltung der Methoxy-Gruppen.

Die Spaltung der 4'-Methoxy-Gruppe von **24** mit Bortribromid in Dichlormethan gelingt letztendlich. Anfängliche Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung des Reaktionsansatzes konnten beseitigt werden.

Auf Grund dieser Schwierigkeiten wurden jedoch noch weitere Versuche unternommen, um das Benzamid **24** zu erhalten.

Der zuvor beschriebene Versuch, **24** durch Umsetzung des dimethoxylierten Benzamids **21** mit Bortribromid in Dichlormethan zu erhalten, verlief auf Grund der zu geringen Ausbeuten ungünstig (Abb. 3.27). Ebenso blieb die Umsetzung des monomethoxylierten Prunetinderivats **22** mit Pyridinhydrochlorid oder mit einer Pyridinhydrochlorid/ Chinolin-Mischung als demethylierende Reagenzien erfolglos [192]. Die direkte Herstellung von **24** aus dem 2'-Aminogenistein **25** durch Reaktion mit dem Säurechlorid der Carbonsäure **8** gelang ebenfalls nicht.

3.1.2.2.6 Herstellung des 2'-Aminogenisteins 25

Nach der erfolgreichen Herstellung der von Phytoestrogenen abgeleiteten Benzamide **9** (Daidzein), **22** (Prunetin), **23** (Biochanin A) und **24** (Genistein), wird nun versucht, das 2'-Aminogenistein **25** zu synthetisieren, das auf Grund seiner strukturelle Ähnlichkeit zu Genistein interessant ist. Das relativ kleine Molekül soll auf seine Bindungsaffinitäten zu den ER sowie auf seine zytotoxischen Wirkungen untersucht werden.

Angelehnt an die schematische Darstellung des Genisteins in der Ligandenbindungstasche des ER- β , wie sie in der Abbildung 1.7 zu sehen ist, wird nun die versucht, die angestrebte Verbindung **25** in die Ligandenbindungstasche des ER- β einzufügen (Abb. 3.30).

Die Bezifferung der Aminosäuren entspricht der Bezifferung der Aminosäuren des Estrogenrezeptors- β .

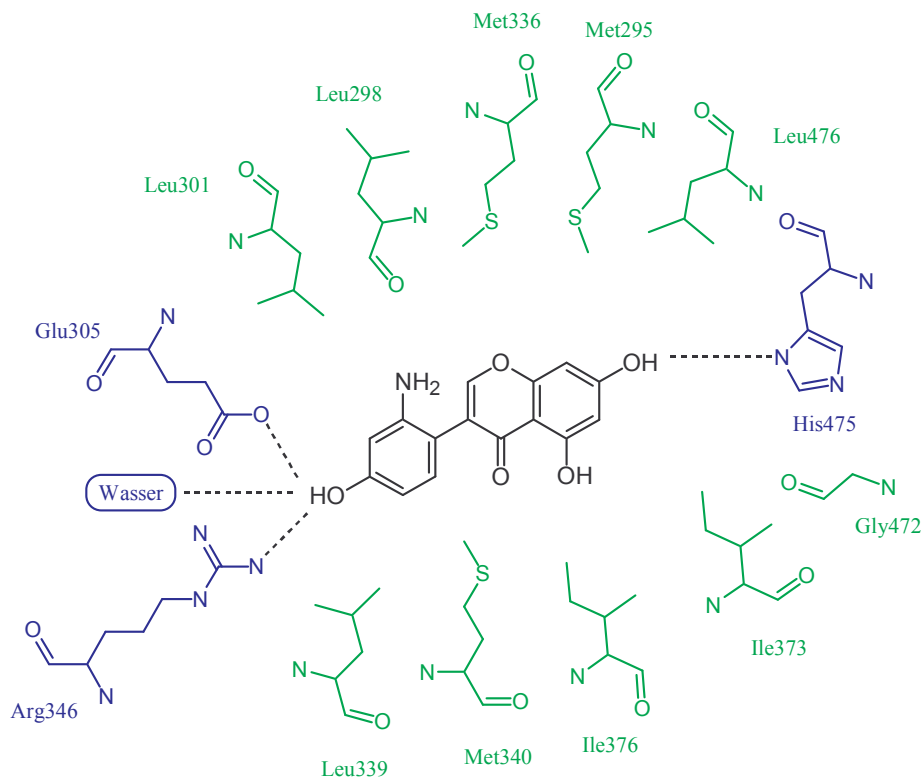
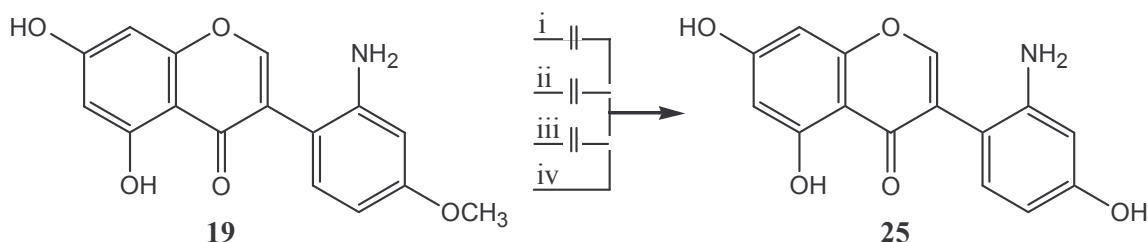


Abb. 3.30: Schematische Darstellung eines möglichen Bindungsmodells des 2'-Aminogenisteins **25** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Genisteins am ER- β nach *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.7) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet; die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt. Die Ausrichtung des Moleküls ist an der Ausrichtung des Genisteins in der Ligandenbindungstasche orientiert.

Das 2'-Aminogenistein **25** kann WBB zwischen der 7-OH-Gruppe und Histidin 475, zudem auch zwischen der 4'-OH-Gruppe und Arginin 346, Glutaminsäure 305 und einem Molekül Wasser ausbilden. Inwieweit sich die zusätzliche 2'-Aminofunktion auf die Affinität des Moleküls zu den ER auswirkt, bleibt abzuwarten.

Die Synthese des Genisteinderivats **25** erfolgt ausgehend von dem 2'-Aminobiochanin A **19** (Abb. 3.31).



i) 48 %ige Bromwasserstoffsäure; ii) Dinatriumsulfid, *N*-Methyl-2-pyrrolidon, ΔT ; iii) Pyridinhydrochlorid, ΔT ; iv) Bortribromid in Dichlormethan, $0^{\circ}\text{C} \rightarrow$ Raumtemperatur

Abb. 3.31: Herstellung des Isoflavons **25**

Zuerst wird die Spaltung der Methoxy-Gruppe durch Erhitzen in 48 %iger Bromwasserstoffsäure versucht. Die Reaktionsbedingungen erweisen sich aber als zu drastisch. Die Reaktionsmischung zersetzt sich vollständig, so dass weder Edukt noch Produkt isoliert werden können.

Anschließend wird **19** mit Dinatriumsulfid in *N*-Methyl-2-pyrrolidinon bei 90°C umgesetzt [193]. Auch diese Methode führt nicht zu **25**. Das Edukt wird unverändert aus dem Reaktionsansatz isoliert.

Die Umsetzung des Isoflavons **19** mit einem Überschuss an Pyridinhydrochlorid gelingt ebenfalls nicht [192].

Es wird nun versucht, eine Demethylierung der 4'-OH-Gruppe des Isoflavons **19** durch Umsetzung mit Bortribromid in Dichlormethan zu erreichen. Dabei wird tatsächlich die Etherbindung gespalten; allerdings bereitet die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches Probleme.

Der Abbruch der Demethylierungsreaktion erfolgt durch die Zugabe von Methanol, wobei ein gelber Niederschlag ausfällt, der abgetrennt werden kann.

Das Kernresonanzspektrum des gelben Niederschlages zeigt zwar die Signale der drei freien OH-Gruppen, allerdings ist die Lage des Signals der 4'-OH-Gruppe Tieffeld-verschoben. Zudem fehlt das Signal der Amino-Gruppe im Spektrum.

Ein eindeutiges Kernresonanzspektrum des gewünschten Isoflavons **25** wird jedoch erhalten, wenn der gelbe Niederschlag in gesättigter Natriumcarbonatlösung suspendiert und anschließend mit Ethylacetat und Dichlormethan extrahiert wird. Dennoch stimmen die Werte der Elementaranalyse überraschenderweise auch nach mehrmaliger Reinigung durch SC und Umkristallisieren aus Dichlormethan bzw. Ethanol nicht mit den berechneten Werten überein. Die Verbindung **25** kann jedoch analysenrein erhalten werden, wenn die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung anstelle von Natriumcarbonatlösung erfolgt.

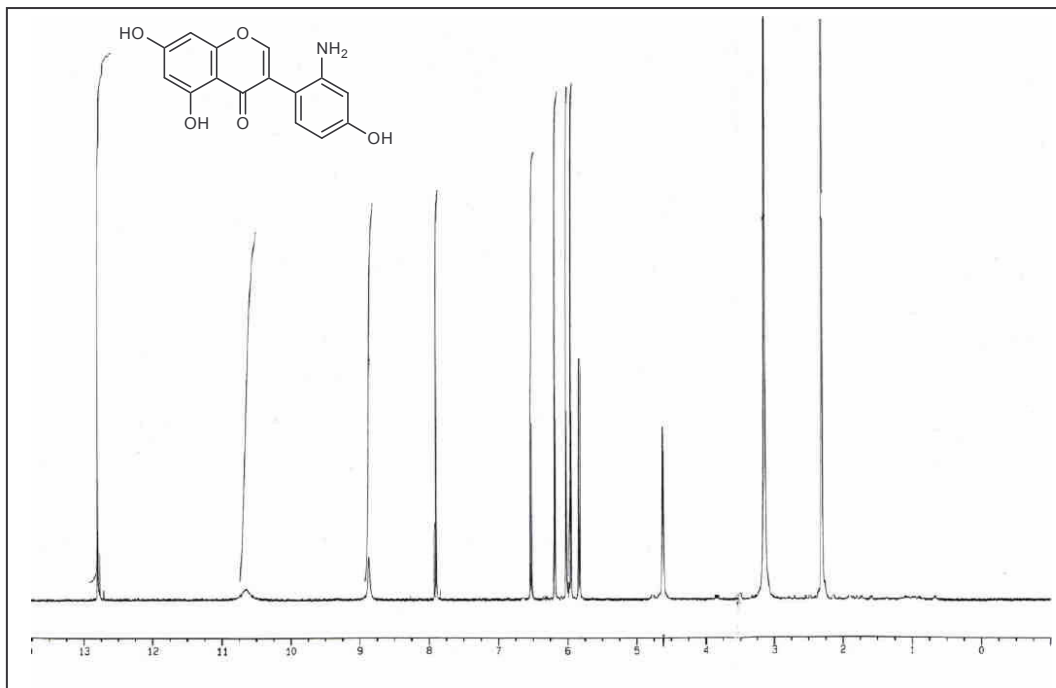


Abb. 3.32: ^1H -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) des Isoflavons **25**

Die Protonen der OH-Gruppen erscheinen als Signal bei 12.75 ppm (5-OH-Gruppe), 10.61 ppm (7-OH-Gruppe) und 8.86 ppm (4'-OH-Gruppe) (Abb. 3.32). Zudem kann man eine Resonanz für die Aminofunktion bei 4.65 ppm erkennen.

Die breite Bande im IR-Spektrum im Bereich von 3314 cm^{-1} wird durch die Protonen der freien OH-Gruppen, der NH-Gruppe und durch Kristallwasser verursacht. Das Fehlen einer Bande im Bereich um 2850 cm^{-1} belegt die Spaltung der Methoxy-Gruppe.

Die Hochauflösung des EI-Spektrum des Isoflavons **25** weist ein Schlüsselbruchstück der Masse $m/z = 133$ auf, welches einer Summenformel von $[C_8H_7NO]^+$ entspricht. Dieses Fragment entsteht durch eine Retro-Diels-Alder-Reaktion der Chromonstruktur des Isoflavons **25** (Abb. 3.33).

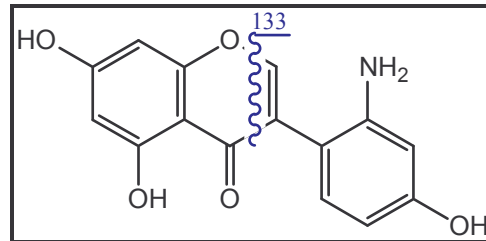


Abb. 3.33: Massenabbau des 2'-Aminoisoflavons **25**

Die Entstehung dieses charakteristischen Bruchstücks ist auf einen Mechanismus zurückzuführen, der auch bei dem Massenabbau der Benzamide **22**, **23** und **24** beobachtet werden kann.

Die Aminofunktion lagert sich an die Doppelbindung der Pyronstruktur an. Nach Bildung eines Tetrazyklus und verschiedener Umlagerungsreaktionen entstehen das 6-Hydroxyindolradikalkation und das Kation eines Benzaldehydderivats (Abb. 3.34). [191]

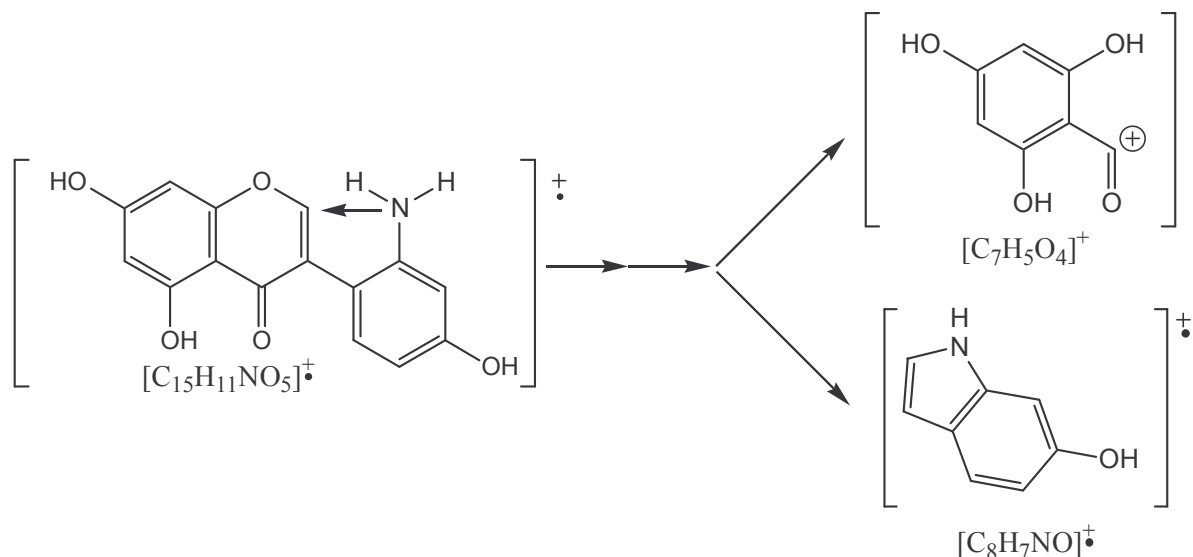


Abb. 3.34: möglicher Massenabbau der Verbindung **25**

Die Umsetzung von **19** mit Bortribromid in Dichlormethan und die anschließende Suspendierung der Produkte in Natriumhydrogencarbonatlösung ist erfolgreich und führt zu dem gewünschten Isoflavon **25**. Die Reaktionen von **19** mit Bromwasserstoffsäure, Dinatriumsulfid und Pyridinhydrochlorid gelingen nicht.

3.2 Herstellung weiterer Isoflavonderivate

3.2.1 Versuche zur Herstellung von 8-Aminogenisteinderivaten

Nach der erfolgreichen Herstellung des Daidzeinderivats **9** und des Genisteinderivats **24** wird nun versucht, das 8-Aminogenisteinderivat **28** herzustellen (Abb. 3.35).

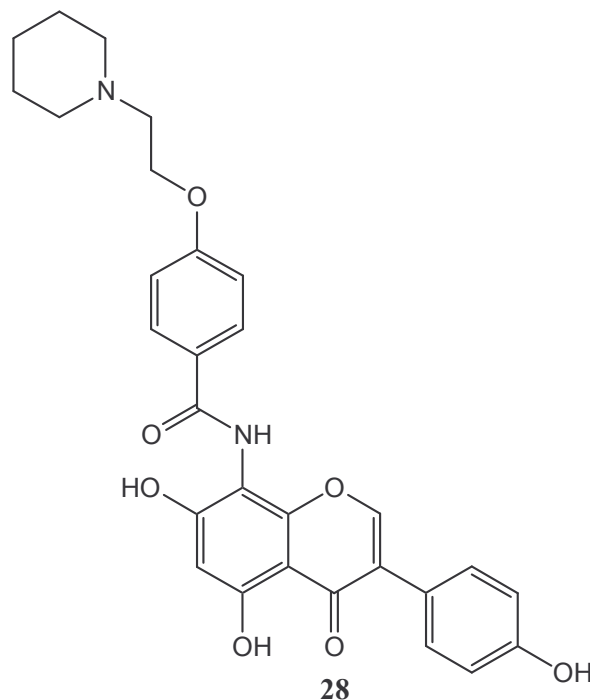


Abb. 3.35: Struktur des angestrebten 8-Aminogenisteinderivats **28**

Die Seitenkette in Position 8 ermöglicht eine Ausrichtung der Verbindung **28** in dem von *Pike et al.* entwickelten Modell der Ligandenbindungstasche, die der des Genisteins ähnlich ist (Abb. 3.36) [124]. Der Isoflavongrundkörper ist jedoch um 180° in der Ebene gedreht.

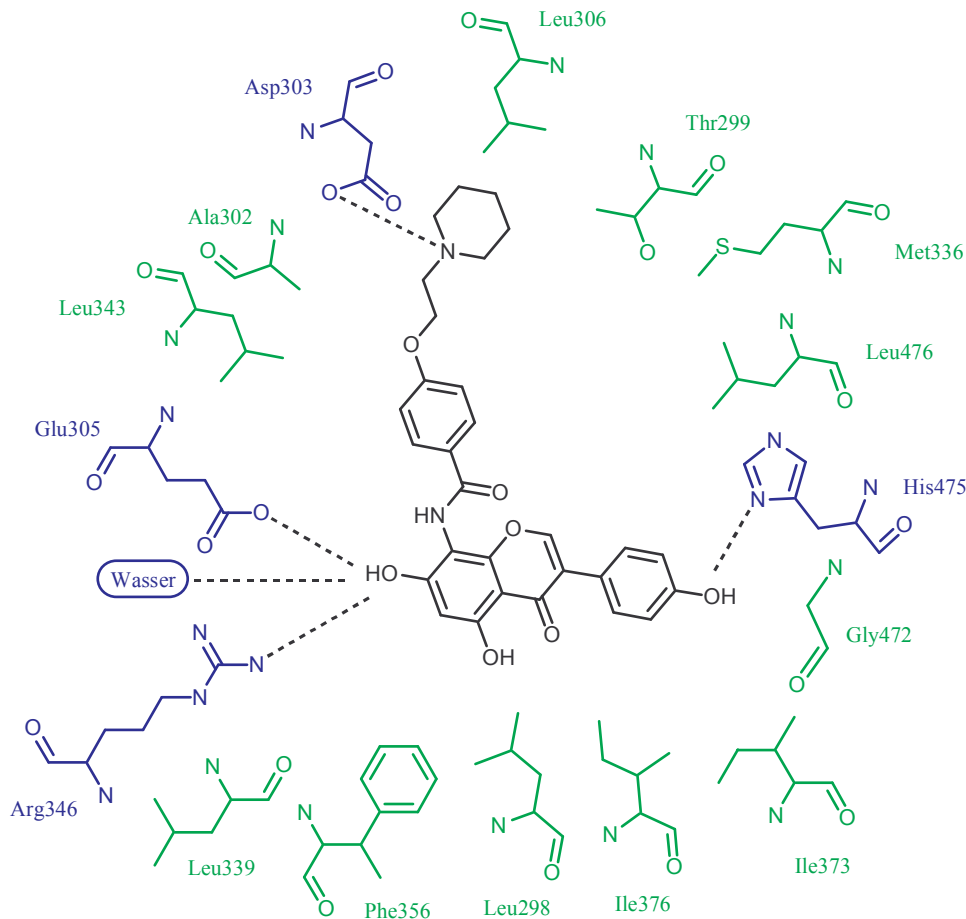


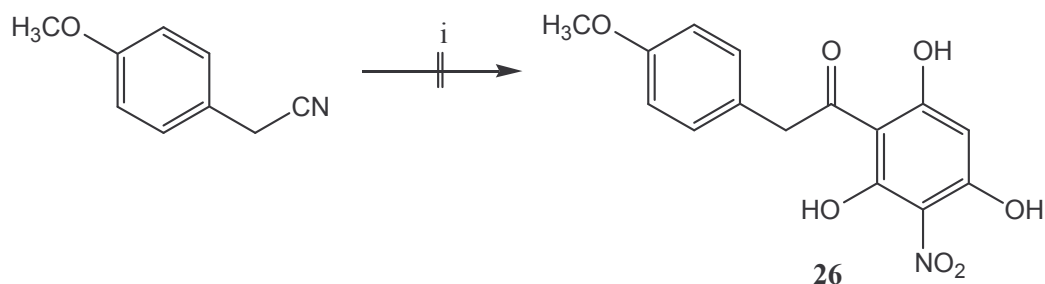
Abb. 3.36: Schematische Darstellung eines möglichen Bindungsmodells der Verbindung **28** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Raloxifens am ER- β nach *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.6) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet; die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt. Die Bezifferung der Aminosäuren des Modells entspricht der Bezifferung der Aminosäuren des Estrogenrezeptors- β .

Der Piperidin-Stickstoff der basischen Seitenkette des Isoflavons **28** bildet eine WBB zu Asparaginsäure 303 aus. Des Weiteren ist eine Wechselwirkung von Histidin 475 mit der 4'-OH-Gruppe vorstellbar. Beim Genistein interagiert hingegen die 7-OH-Gruppe mit dieser Aminosäure, während die 4'-OH-Gruppe mit Glutaminsäure 305 und Arginin 346 in Wechselwirkung tritt. Bei dem 8-Aminogenisteinderivat **28** bilden sich hingegen WBB zwischen der 7-OH-Gruppe und den Aminosäuren Glutaminsäure 305, Arginin 346 sowie einem Molekül Wasser aus.

Eine Affinität der Verbindung **28** zu den Estrogenrezeptoren ist somit wahrscheinlich.

3.2.1.1 Versuche zur Herstellung des Ethanons 26

Um das 8-Aminogenisteinderivat **28** herzustellen, wird zuerst versucht, das käuflich erworbene 2-(4-Methoxyphenyl)-acetonitril mit 2-Nitrobenzen-1,3,5-triol in einer Houben-Hoesch-Synthese zum Ethanon **26** umzusetzen (Abb. 3.37) [188, 189].

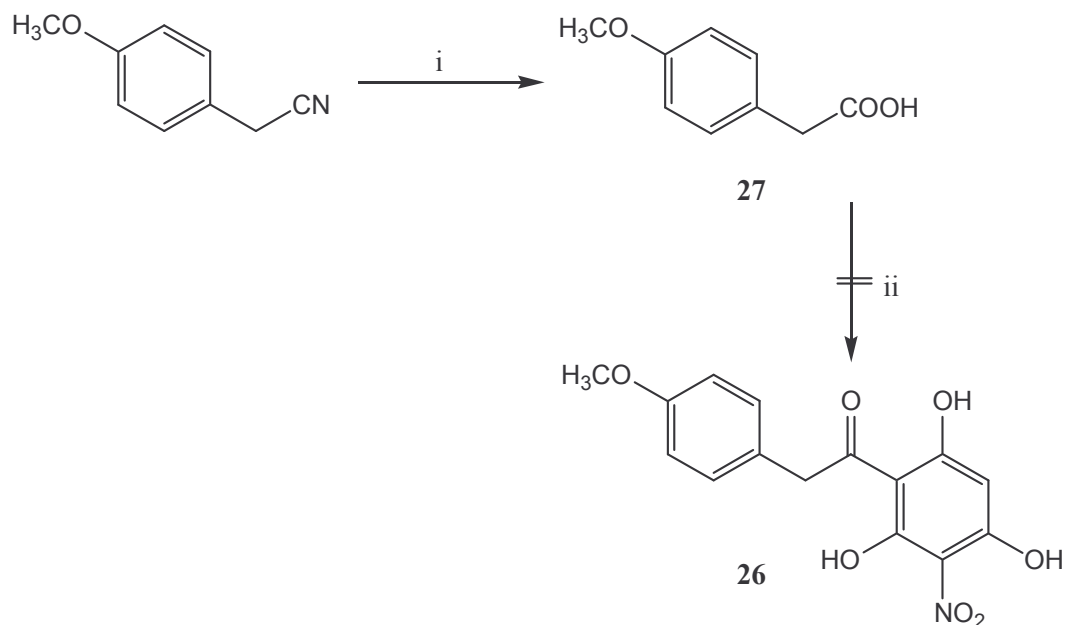


i) ZnCl_2 , HCl, Ether, $0\text{ }^\circ\text{C}$, dann Nitrophenol, RT, Wasser, ΔT ;

Abb. 3.37: Versuch der Herstellung des Ethanons **26** im Rahmen einer Houben-Hoesch-Reaktion

Die Reaktion blieb jedoch erfolglos. Die Nitro-Substitution des Phloroglucinols verringert dessen Nukleophilie unter Umständen zu stark, als dass es mit 2-(4-Methoxyphenyl)-acetonitril in einer Houben-Hoesch-Reaktion umgesetzt werden könnte [188].

Alternativ dazu wird deshalb die Umsetzung der 2-(4-Methoxyphenyl)-essigsäure **27**, die aus 2-(4-Methoxyphenyl)-acetonitril durch Hydrolyse gewonnen werden kann, in einer Friedel-Crafts-Alkylierung versucht (Abb. 3.38).



i) konz. Schwefelsäure/Wasser (2:3), ΔT , dann Eis; ii) Nitrophenol, Bortrifluorid-Diethylether-Komplex, ΔT , dann Natriumacetatlösung, RT

Abb. 3.38: Versuch der Herstellung des Ethanons **26**

Zu diesem Zweck wird die Phenyllessigsäure **27** mit Nitrophenol in Gegenwart von Bortrifluorid-Diethylether-Komplex erhitzt. Der Ansatz wird anschließend in Natriumacetatlösung gegeben und mit Diethylether extrahiert. Hierbei kann jedoch ebenfalls keine Umsetzung zu dem Ethanon **26** beobachtet werden. Wiederum liegt die Ursache wahrscheinlich in der Desaktivierung des Aromaten, verursacht durch die Nitro-Substitution. Eine elektrophile aromatische Substitution am Nitrophenol ist somit ungünstig. Das Elektronendefizit des Aromaten kann auch durch die Hydroxy-Gruppen nicht kompensiert werden.

Ebenso erfolglos verläuft auch die Umsetzung der Phenyllessigsäure **27** mit 1,3,5-Trimethoxy-2-nitrobenzen im Rahmen einer Friedel-Crafts-Alkylierung. Auch hier erfolgt keine elektrophile aromatische Substitution des Nitrobenzenderivats aus den oben dargelegten Gründen, obwohl mit den drei Methoxy-Gruppen Elektronendonatoren im Molekül vorhanden sind.

Das für die Synthese des Isoflavons **28** benötigte Ethanon **26** ist den Ausführungen zufolge weder durch eine Houben-Hoesch-Reaktion noch durch Friedel-Crafts-Alkylierung zugänglich. Somit gelingt die Herstellung des 8-Aminogenisteinderivats **28** nicht.

3.2.2 Geplante Herstellung von 7-(2-Piperidinoethoxy)-genistein **29**

Nach den erfolglosen Versuchen zur Herstellung der Verbindung **28** wird versucht, das Isoflavon Genistein durch Einführung einer basischen Seitenkette in Position 7 strukturell abzuändern (Abb. 3.39). Das angestrebte Isoflavon **29** besitzt im Gegensatz zu den Benzamiden **9** und **24** eine lineare Molekülstruktur.

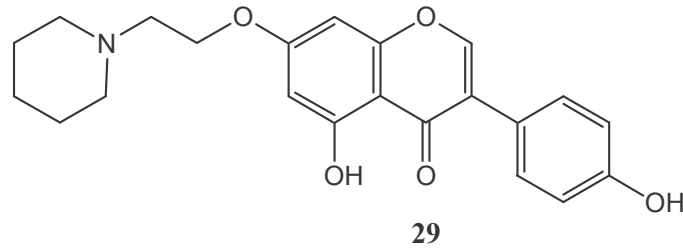


Abb. 3.39: Struktur des Genisteinderivats **29**

Die Seitenkette ist nicht über eine Amidverknüpfung mit dem Stammsystem verbunden. Das Strukturelement der Seitenkette findet sich in der Isoflavonstruktur der Verbindung **29** wieder (rote Markierung in der Abb. 3.40).

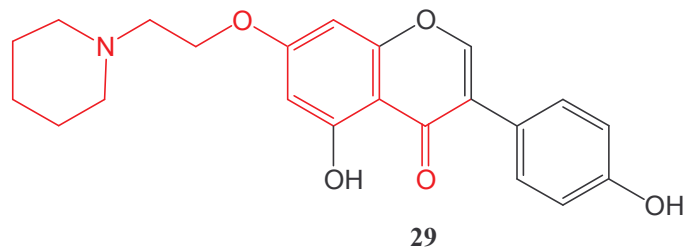


Abb. 3.40: Hervorhebung des Seitenkettenelements von **29**

Die Verbindung **29** verfügt über Strukturmerkmale, die auch beim Tamoxifen und Raloxifen zu finden sind. Durch eine überlagerte Darstellung von **29** mit den beiden im Handel befindlichen SERM können die Strukturgleichheiten verdeutlicht werden.

Das Isoflavon **29** lässt sich mit Tamoxifen nahezu zur Deckung bringen. Die Gemeinsamkeiten von **29** mit Raloxifen sind noch deutlicher. Insbesondere wenn die Seitenkette des Raloxifens gedreht ist, wie es in der rechten Darstellung der Abbildung 3.41 zu sehen ist, kann man die beiden Verbindungen nahezu zur Deckung bringen.

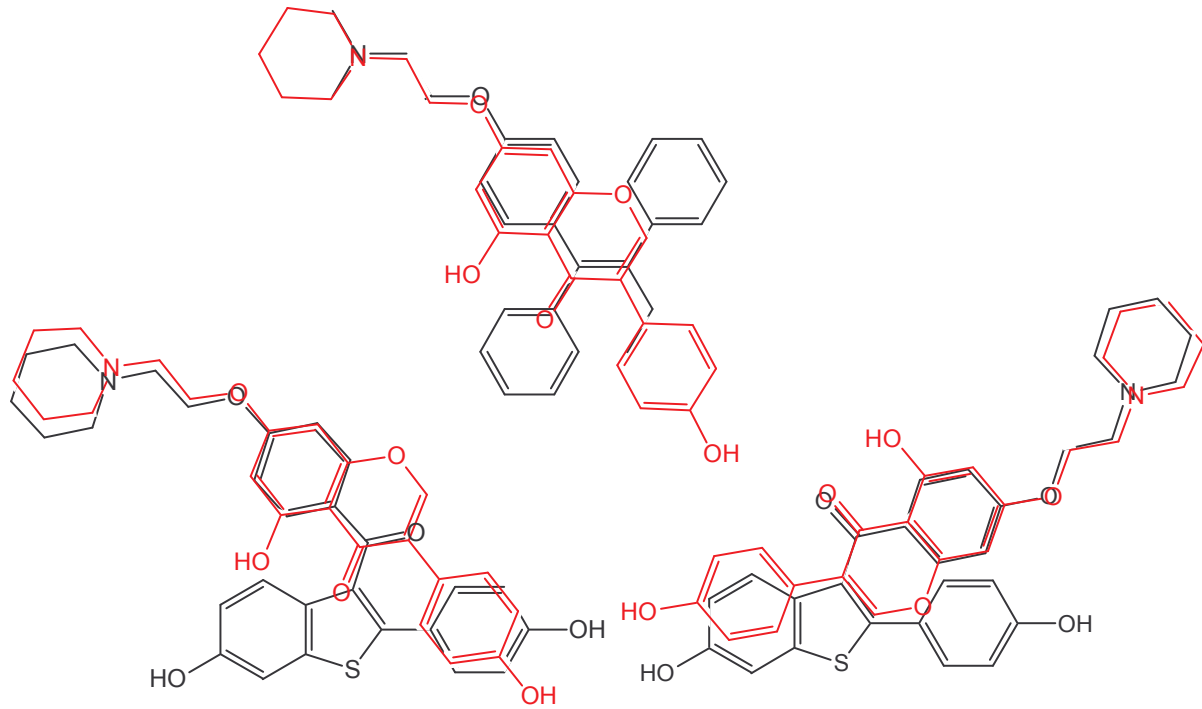


Abb. 3.41: Überlagerte Darstellungen der Verbindung **29** mit Tamoxifen (oben) und Raloxifen (unten links: übliche Darstellung des Raloxifens; unten rechts: Seitenkette des Raloxifens gedreht dargestellt)

Das Genisteinderivat **29** kann wiederum in das Modell der Rezeptorbindungstasche des ER- β nach *Pike* eingefügt werden. Die Einführung der Seitenkette verlängert das Molekül, daher dürfte es in der Ligandenbindungstasche des ER- β nicht mehr dieselbe Orientierung wie Genistein aufweisen. Genistein tritt in der Ligandenbindungstasche mit Glutaminsäure 305, Arginin 346 und Histidin 475 in Wechselwirkung (Abb. 1.7). Die Seitenkette bewirkt allerdings eine Neuorientierung des Moleküls **29** (Abb. 3.42).

Die 4'-OH-Gruppe kann WBB mit den Aminosäuren Glutaminsäure 305, Arginin 346 und einem Molekül Wasser ausbilden. Der Stickstoff der basischen Seitenkette kann mit Asparaginsäure 303 interagieren.

Vorstellbar ist jedoch auch eine Wechselwirkung der 4'-OH-Gruppe von **29** mit Histidin 475. Auch bei dieser Orientierung würde die Seitenkette wieder mit Asparaginsäure 303 in Wechselwirkung treten.

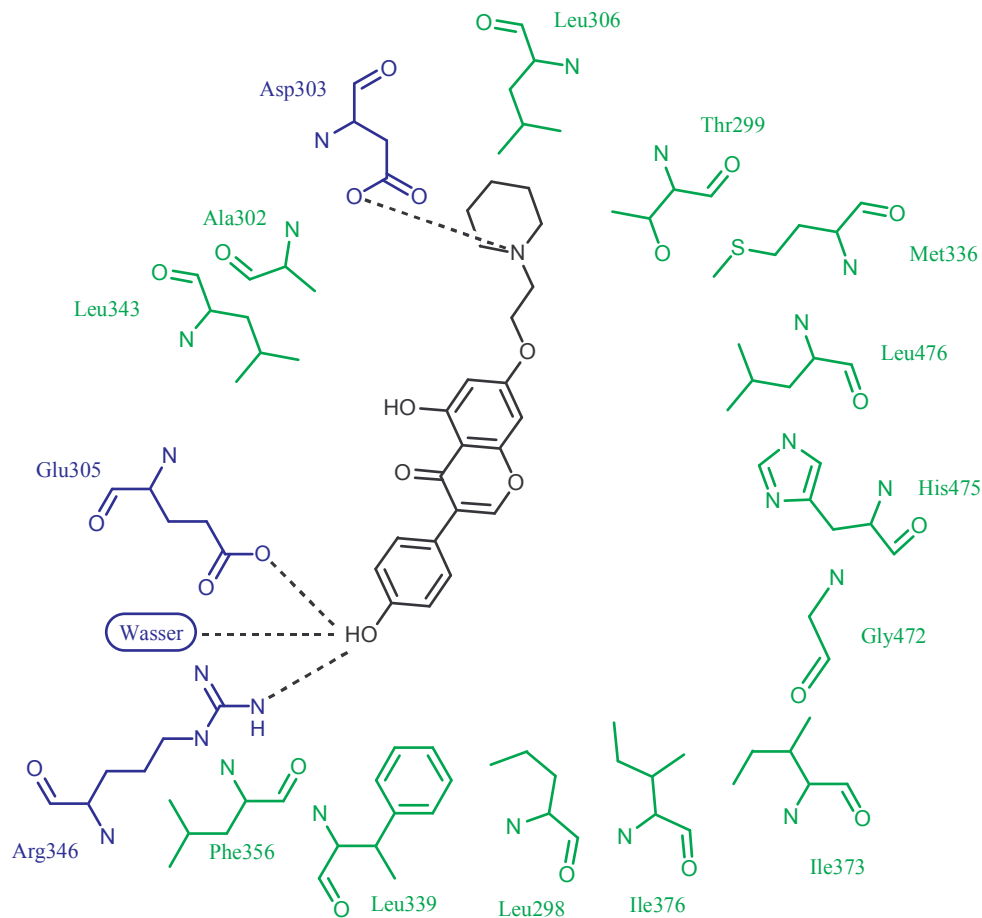
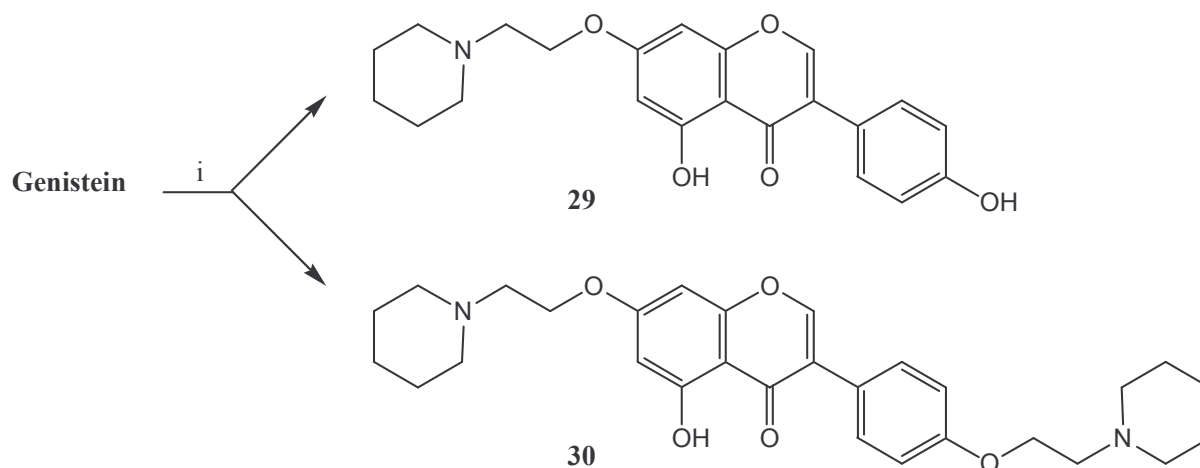


Abb. 3.42: Schematische Darstellung eines möglichen Bindungsmodells der Verbindung **29** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Raloxifens am ER- β nach *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.6) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet, die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die eventuell über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt. Die Bezifferung der Aminosäuren des Modells entspricht der Bezifferung der Aminosäuren des Estrogenrezeptors- β .

Inwieweit sich diese Strukturabwandlung des Genisteins auf die Affinität zu den ER auswirkt, kann nicht abgeschätzt werden. Obwohl die Seitenkette in Kontakt mit Asparaginsäure 303 tritt, die wichtig für die Positionierung der Helix H12 und somit für die modulierenden Effekte der SERM ist, werden durch die räumliche Lage des Moleküls nur wenige van-der-Waals-Bindungen mit den Aminosäuren der hydrophoben Region der Ligandenbindungstasche ausgebildet. Diese hydrophoben Wechselwirkungen sind jedoch für eine estrogene Aktivität notwendig.

3.2.2.1 Herstellung der Piperidinoethoxy-substituierten Isoflavone **29** und **30**

Die Herstellung des 7-(Piperidinoethoxy)-substituierten Genisteinderivats **29** geht von Genistein aus (Abb. 3.43).



i) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid, Kaliumcarbonat, Acetonitril, ΔT

Abb. 3.43: Herstellung der Genisteinderivate **29** und **30**

Genistein wird mit einem Überschuss an 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid in Acetonitril umgesetzt [184]. Nach Filtration des Ansatzes soll die Reinigung durch SC erfolgen. Überraschenderweise können zwei Produkte im Dünnschichtchromatogramm detektiert werden, zum einen das monosubstituierte Isoflavon **29**, zum anderen das disubstituierte Produkt **30**. Die Trennung der beiden Reaktionsprodukte gestaltet sich schwierig, da die beiden Verbindungen schlechte Löslichkeiten in polaren und unpolaren Lösungsmitteln und einen ähnlichen R_f -Wert in verschiedenen Fließmittelgemischen aufweisen. Eine Trennung gelingt durch SC, allerdings muss der Trennvorgang mehrmals wiederholt werden.

Das disubstituierte Isoflavon **30** wird dabei analysenrein und in guten Ausbeuten erhalten, wohingegen das monosubstituierte Isoflavon **29** nur in sehr geringen Mengen isoliert wird. Durch Variation der Reaktionsbedingungen soll deshalb die Ausbeute an **29** gesteigert werden. Dazu wird Genistein nicht mehr mit überschüssigem 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid, sondern mit nahezu äquimolaren Mengen umgesetzt. Die Reaktionszeit wird von 18 Stunden auf 3 Stunden verkürzt.

Diese Maßnahmen führen zwar zu einer geringfügigen Steigerung der Ausbeute an **29**, jedoch entsteht als Hauptprodukt der Reaktion wiederum das disubstituierte Produkt **30**.

Die Aufreinigung des monosubstituierten Isoflavons **29** gestaltet sich zudem schwierig. Trotz SC und Umkristallisation aus Ethanol gelingt es nicht, die Verbindung analysenrein zu erhalten.

Anhand von $^1\text{H-NMR}$ -Spektren und durch FAB-Massenspektrometrie kann die Struktur der Verbindung **29** jedoch belegt werden.

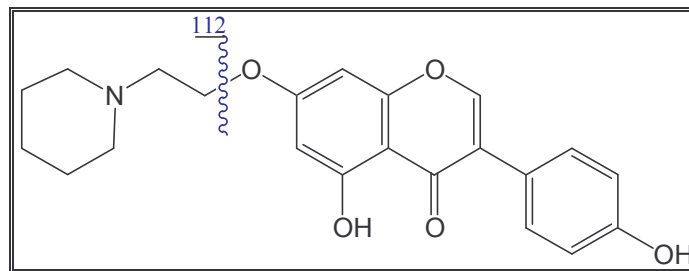


Abb. 3.44: Massenabbau der Verbindung **29**

Das FAB-Massenspektrum zeigt das Signal des Quasi-Moleküls $[\text{M}+\text{H}]^+$ mit einer Masse von $m/z = 382$, des Weiteren einen signifikanten Peak der Masse $m/z = 112$, der durch das Fragment $[\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}]^+$ der Seitenkette verursacht wird (Abb. 3.44).

Das FAB-Massenspektrum des disubstituierten Isoflavons **30** weist einen komplexeren Abbau auf (Abb. 3.45).

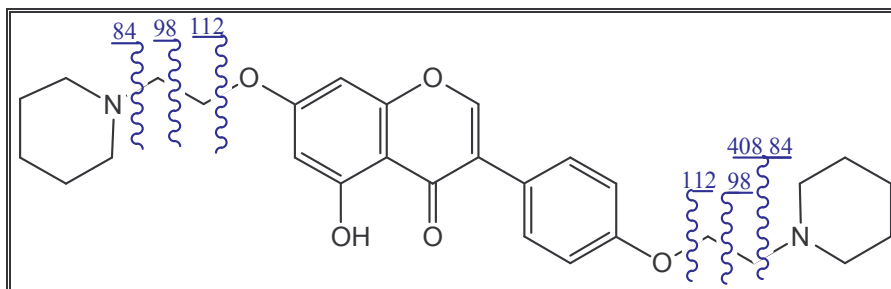


Abb. 3.45: Massenabbau der Verbindung **30**

Neben dem Signal der Masse $m/z = 493$, der durch das Quasi-Molekül $[\text{M}+\text{H}]^+$ verursacht wird, entstehen durch die Spaltung der Seitenkette verschiedene Fragmente mit den Massen $m/z = 84$, $m/z = 98$ und $m/z = 112$. Nachgewiesen wird auch ein Molekülfragment der Masse $m/z = 408$.

Das Kernresonanzspektrum des monosubstituierten Isoflavons **29** weist bei 12.91 und 9.59 ppm zwei Resonanzen auf, die zum einen der durch eine WBB entschirmten 5-OH-Gruppe und zum anderen der 4'-OH-Gruppe zugeordnet werden können. Die aromatischen Protonen geben Signale zwischen 8.43-6.40 ppm. Die Protonen der Seitenkette erscheinen in einem Bereich von 4.19 bis 1.30 ppm (Abb. 3.46).

Die genaue Zuordnung der Seitenkette gelingt durch den Vergleich der Kernresonanzspektren von **29** mit denen des Genisteins, des 2'-Aminogenisteins **25** und des 2'-Aminobiochanin A **19**.

Das Spektrum von **19** besitzt zwei Resonanzen bei 12.91 und 10.80 ppm, die für die 5- und die 7-OH-Gruppe stehen. Die Resonanzen der drei Hydroxy-Gruppen des Isoflavons **25** erscheinen bei 12.75 (5-OH-Gruppe), 10.61 ppm (7-OH-Gruppe) und 8.86 ppm (4'-OH-Gruppe). Bei den beiden Isoflavonen ist die 4'-OH-Gruppe im Vergleich zu der 7-OH-Gruppe Hochfeld-verschoben.

Das Kernresonanzspektrum des Genisteins weist die Signale der Protonen der drei OH-Gruppen bei 12.89, 10.95 und 9.60 ppm auf. Ein Vergleich mit den Signalen der oben angeführten Spektren legt nahe, dass auch bei Genistein die 7-OH-Gruppe (10.95 ppm) im Vergleich zu der 4'-OH-Gruppe (9.60 ppm) Tieffeld verschoben ist. Die Resonanz bei 12.89 ppm ist der durch eine WBB entschirmten 5-OH-Gruppe zuzuordnen.

Die zwei Resonanzen bei 12.91 und 9.59 ppm des Spektrums von **29** können damit der 5-OH- und der 4'-OH-Gruppe zugeordnet werden. Somit ist die Lage der Seitenkette in Position 7 des Isoflavons **29** bewiesen.

Das ¹H-NMR-Spektrum des disubstituierten Isoflavons **30** hingegen weist nur ein Singulett-Signal bei 12.91 ppm auf, welches durch das Proton der 5-OH-Gruppe verursacht wird. Die aromatischen Protonen geben Signale zwischen 8.45 und 6.41 ppm. Die Resonanzen der Seitenketten erscheinen in einem Bereich von 4.19 bis 1.30 ppm (Abb. 3.47).

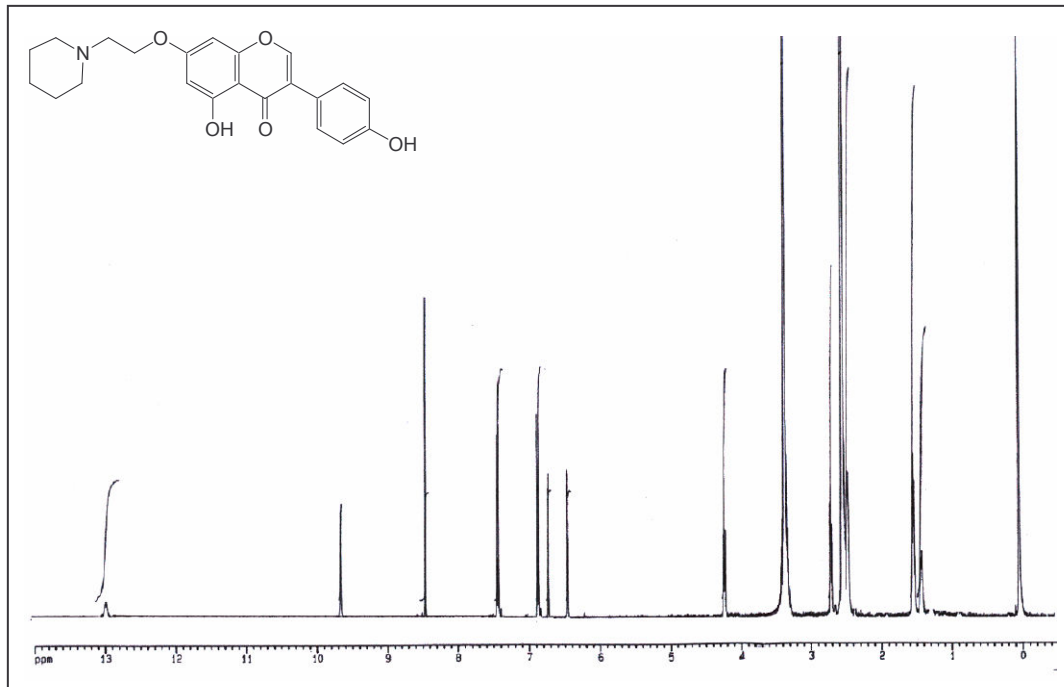


Abb. 3.46: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) des Isoflavons 29

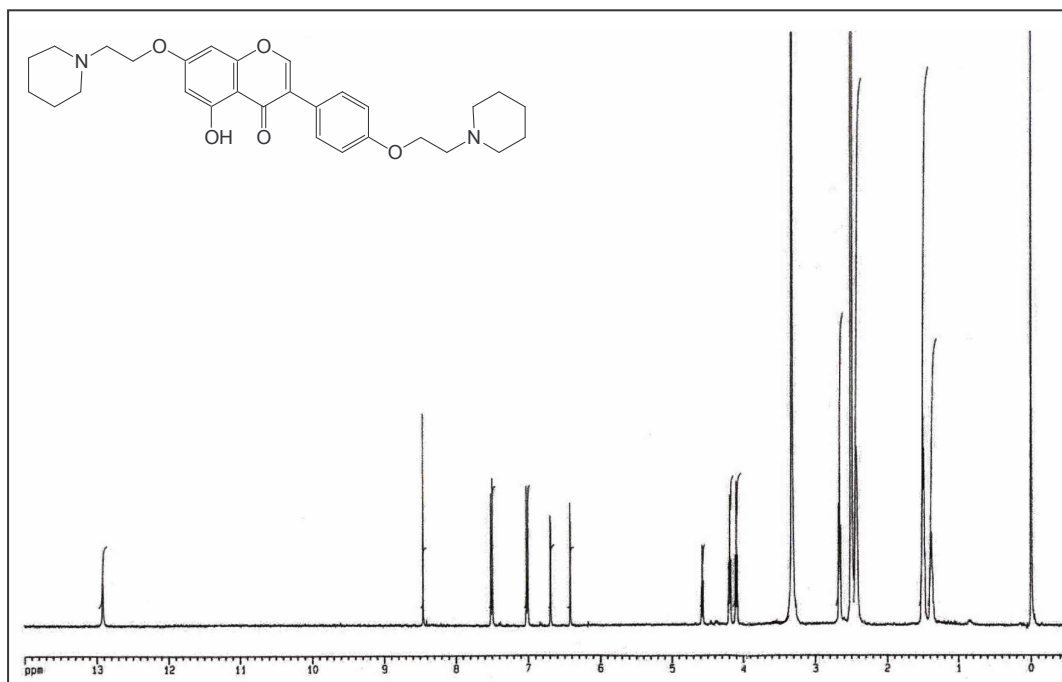


Abb. 3.47: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) des Isoflavons 30

Die Umsetzung des Isoflavons Genistein mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid führt demnach bevorzugt zu dem mit zwei Seitenketten substituierten Genisteinderivat **30**. Das gewünschte monosubstituierte Produkt **29** kann zwar isoliert, jedoch wie bereits beschrieben, nicht analysenrein erhalten werden.

Die Ergebnisse der CHN-Elementaranalyse von **29** weisen beständig einen stark erniedrigten prozentualen Stickstoffgehalt auf. Dieser verminderte Gehalt an Stickstoff deutet auf eine unvollständige Einführung der Seitenkette hin. Eine Verunreinigung des Isoflavons **29** mit dem Edukt Genistein kann durch Dünnschichtchromatographie ausgeschlossen werden. Eine Verunreinigung mit anorganischen Substanzen ist auf Grund der mehrmaligen Reinigung durch SC ebenfalls unwahrscheinlich. Die Trocknung von **29** führt wahrscheinlich zur Zersetzung der Verbindung.

Auch wenn die Substanz **29** nicht analysenrein gewonnen werden konnte, so wird sie dennoch auf ihre Affinität zu den ER untersucht werden. Die Ergebnisse sind im pharmakologischen Teil der Arbeit aufgehört.

3.3 Versuche zur Herstellung von 4'-(2-Piperidinoethoxy)-substituierten Salicyloylindolen

Im Rahmen der Herstellung von Daidzein- und Genisteinderivaten treten bei der Reduktion von 2'-Nitroisoflavonen Salicyloylindole als Nebenprodukte auf. Aufgrund ihrer Entstehung aus Isoflavonen durch Ringtransformation erscheint eine nähere Untersuchung dieser Indole interessant zu sein.

In unserer Arbeitsgruppe beschäftigten sich schon *Witzel* [186] und *Albuschat* [194] mit der zytotoxischen Wirkung solcher Indole auf MCF-7-Zelllinien, die einen hohen Gehalt an Estrogenrezeptoren aufweisen. Da sich die Salicyloylindole auch als Verbindungen mit Stilben-Teilstruktur formulieren lassen, lag zunächst die Vermutung nahe, dass sie Affinitäten zu den ER besitzen (Abb. 3.48).

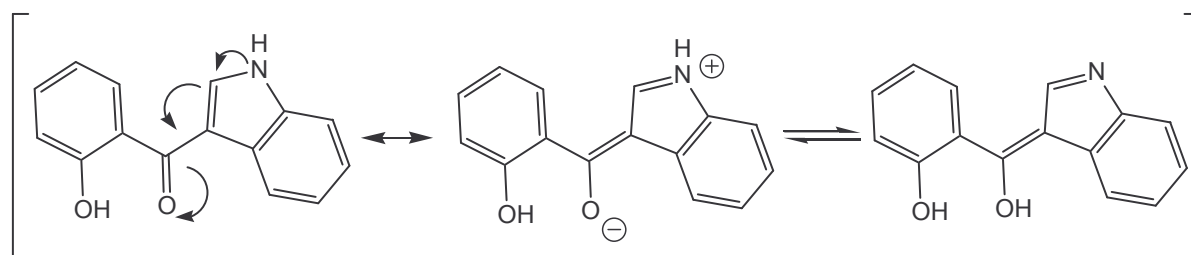


Abb. 3.48: Mögliche Strukturen der Salicyloylindole

Diese Vermutung wurde allerdings durch Radioligandbindungsstudien am ER widerlegt. Die Bindungsstudien wurden mit den Salicyloylindolen **SW 53** und **SW 57** von *Witzel* durchgeführt (Abb. 3.49) [186].

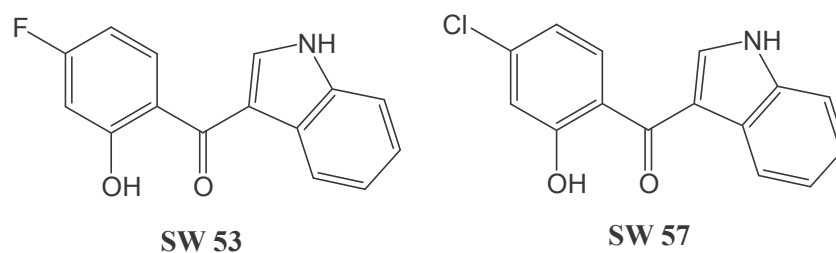


Abb. 3.49: Salicyloylindole nach *Witzel*

Beide Indole zeigten keine Verdrängung des Radioliganden und verfügten somit über keine Bindungsaffinität zu den ER.

Trotz fehlender Affinität scheinen die Salicyloylindole dennoch interessante Ausgangsverbindungen für die Entwicklung neuer selektiver Estrogenrezeptor-Modulatoren zu sein. Eine Substitution der Salicyloylindole in Position 4' mit einem Piperidinoethyl-Element führt zu der Verbindung **31**, die eine große Strukturähnlichkeit mit dem SERM Pipendoxifen aufweist (Abb. 3.50).

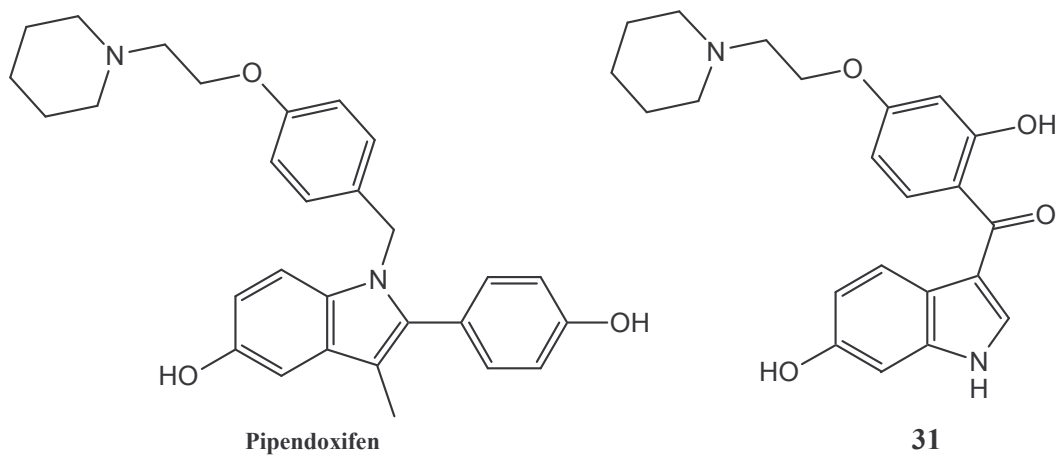


Abb. 3.50: Strukturen des SERM Pipendoxifen und des Salicyloylindols **31**

Das Salicyloylindol **31** unterscheidet sich von Pipendoxifen hauptsächlich durch das Fehlen eines p-Hydroxyphenylrests in Position 2.

Grese synthetisierte im Rahmen von Studien zu Struktur-Wirkungsbeziehungen des Raloxifens unter anderem zwei Verbindungen, bei denen lediglich die phenolische Teilstruktur des Raloxifens in Position 2 gegen eine Methyl- bzw. Ethyl-Gruppe ausgetauscht wurde (Abb. 3.51) [195].

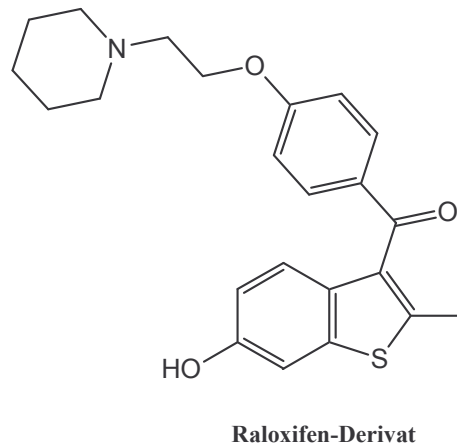


Abb. 3.51: Struktur eines Raloxifenderivats nach Grese [264]

Beide Raloxifenderivate weisen eine deutlich höhere IC_{50} im Zytotoxizitätstest und eine geringere Bindungsaffinität zu den ER auf.

Trotz der verminderten Aktivität am ER ist eine Synthese des Salicyloylindols **31** interessant, da es eine Struktur aufweist, die der Form des Buchstabens L ähnelt. Bedingt durch diese Struktur tritt das Salicyloylindol **31** nur mit zwei Rezeptorpositionen in Wechselwirkung.

Pipendoxifen und Raloxifen hingegen verfügen über Strukturen, die durch den Buchstaben T anschaulich beschrieben werden können. Diese Strukturen ermöglichen es ihnen, mit drei Rezeptorpositionen zu wechselwirken. Die L-förmige Molekülstruktur könnte das Indol **31** flexibler in Bezug auf seine Orientierung innerhalb der Ligandenbindungstasche der Estrogenrezeptoren machen.

Eine mögliche Ausrichtung der Verbindung **31** in der Ligandenbindungstasche zeigt die Abbildung 3.52. Die Bezifferung der Aminosäuren entspricht der Bezifferung der Aminosäuren des ER- β .

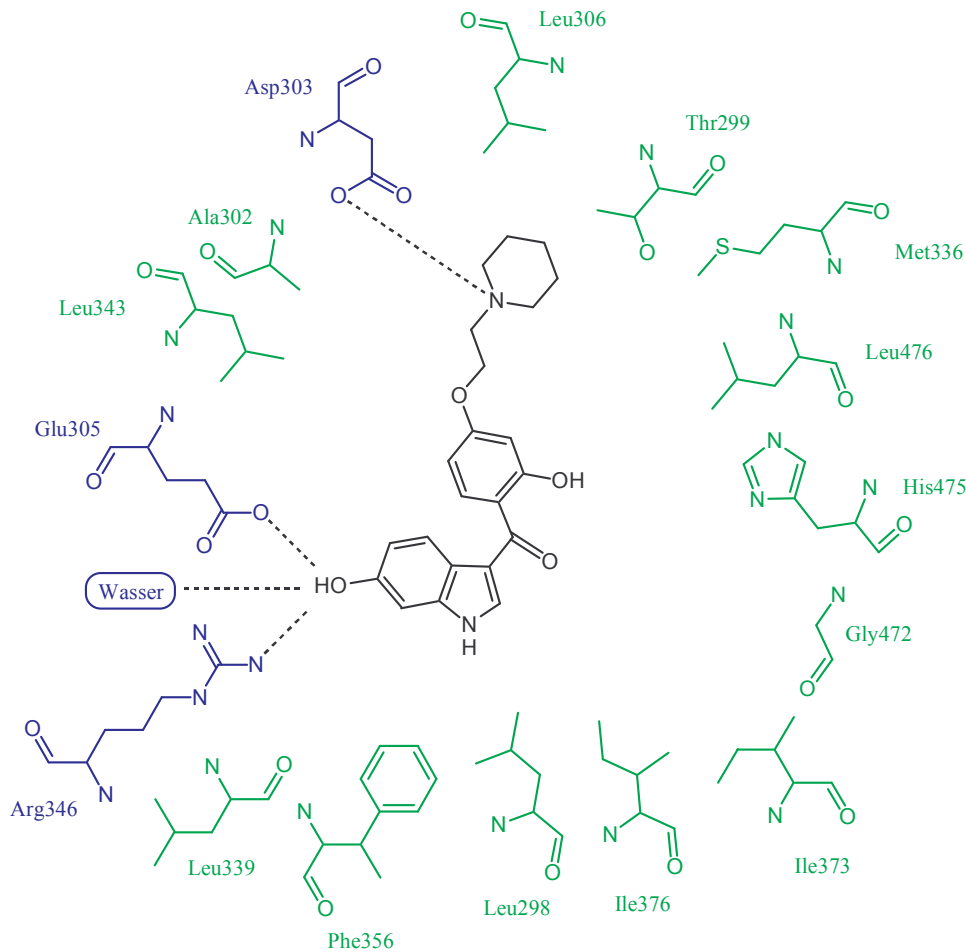


Abb. 3.52: Schematische Darstellung eines möglichen Bindungsmodells des Salicyloylindols **31** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Raloxifens am ER- β nach *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.6) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet; die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die eventuell über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt.

Die Seitenkette des Salicyloylindols **31** wird durch eine WBB mit der Aminosäure Asparaginsäure 303 fixiert. Weitere WBB können sich zwischen Arginin 346, Glutaminsäure 305, einem Molekül Wasser und der freien 6-OH-Gruppe des Indols ausbilden.

Eine weitere Möglichkeit der Orientierung des Salicyloylindols **31** innerhalb der Ligandenbindungstasche bestünde darin, dass die Seitenkette über den Piperidin-Stickstoff mit Asparaginsäure 303 fixiert ist, das Indol hingegen über die 6-OH-Gruppe mit der Aminosäure Histidin 475 interagiert.

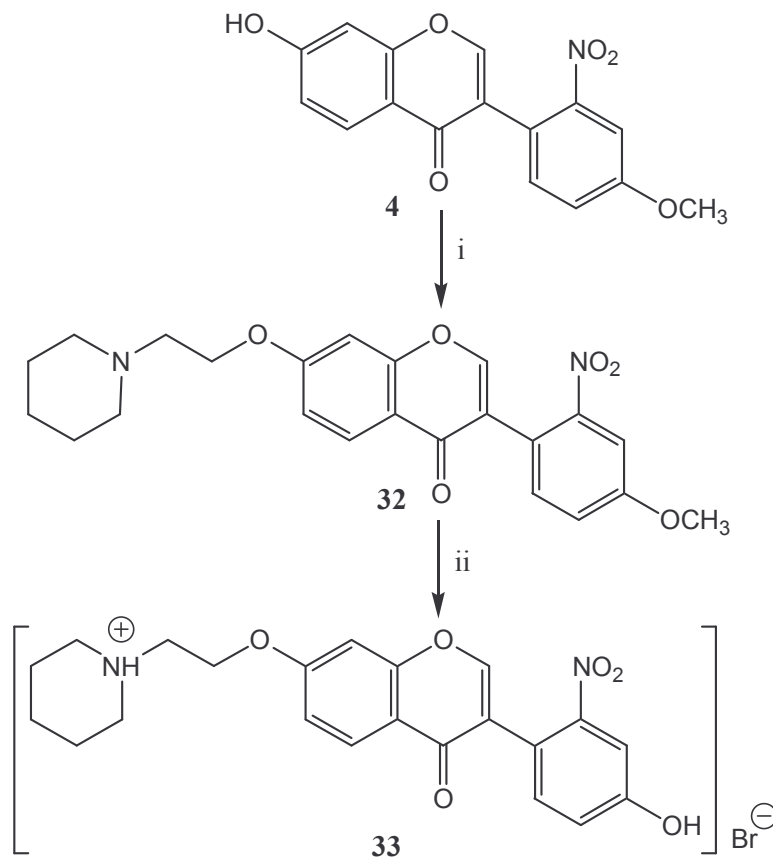
Bisher sind noch keine SERM mit L-förmiger Struktur bekannt, jedoch scheint die Synthese 4'-(Piperidinoethoxy)-substituierter Salicyloylindole viel versprechend zu sein.

3.3.1 Versuche zur Herstellung des Salicyloylindols 31

Die Synthese des Salicyloylindols **31** soll durch Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation erfolgen. Dabei wird von einem 2'-Nitroaidzeinderivat ausgegangen, welches sich zu dem entsprechenden Salicyloylindol umlagern soll.

3.3.1.1 Herstellung und anschließende Reduktion des Isoflavons 33

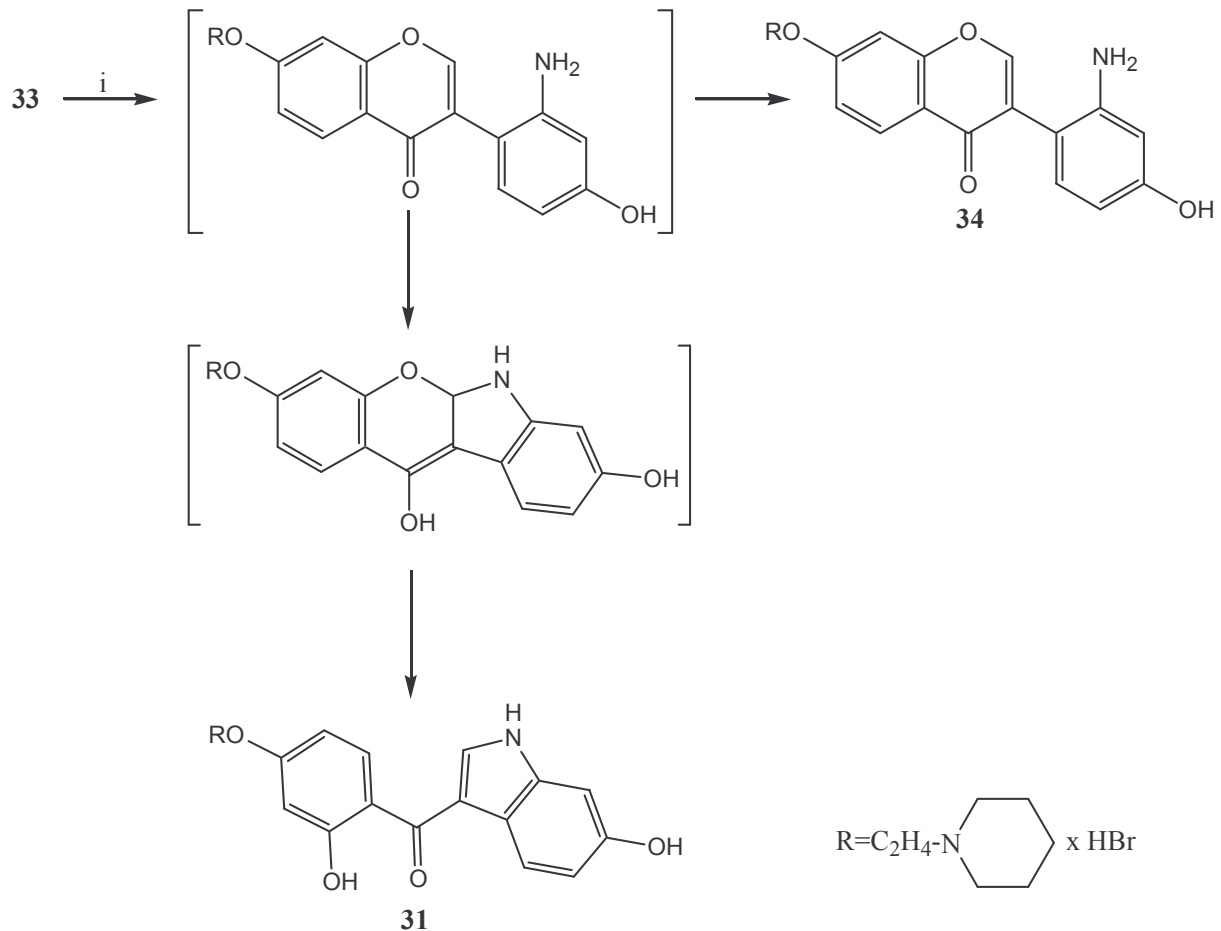
Zunächst soll die Herstellung des Salicyloylindols **31** ausgehend von dem 2'-Nitroformononetin **4** versucht werden (Abb. 3.53). Durch Veretherung mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid erhält man das Isoflavon **32** [184]. Die Spaltung der Methoxy-Gruppe erfolgt durch Umsetzung mit Bortribromid in Dichlormethan [187]. Man erhält das 2'-Nitroisoflavon **33** als Hydrobromid.



i) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid, Kaliumcarbonat, Acetonitril, ΔT ; ii) Bortribromid, Dichlormethan, $-70\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$

Abb. 3.53: Herstellung der Verbindung **33**

Die Reduktion der Nitro-Gruppe des Isoflavons **33** wird mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen in Ethanol durchgeführt [183]. Bei der Reduktion entstehen zwei Produkte, zum einen das 2'-Aminoisoflavin **34**, zum anderen das korrespondierende Salicyloylindol **31** (Abb. 3.54).



i) Palladiumkohle, Cyclohexen, Ethanol, ΔT , pH 9 mit ges. Natriumcarbonatlösung bzw. Zinkstaub in 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.54: Herstellung der Verbindungen **31** und **34** über eine Aminoisoflavin-Salicyloylindol-Ringtransformation

Die Aminoisoflavin-Salicyloylindol-Ringtransformation geht vom 2'-Aminoisoflavin aus, dessen Aminofunktion durch eine Michael-analoge Addition an das elektrophile C2 des Chromons addiert (Abb. 3.54). Das nicht fassbare tetrazyklische Zwischenprodukt ist energetisch ungünstig und lagert sich durch Ringöffnung in das energieärmere Salicyloylindol um, das durch WBB stabilisiert ist.

Es handelt sich hierbei um eine Ringtransformation im eigentlichen Sinne, da aus dem Chromon ein neues Ringsystem, ein Indol, entsteht. Bei einer $S_N(\text{ANRORC})$ -Reaktion kommt es

zwar ebenfalls zu einer intramolekularen nukleophilen Addition mit anschließender Ringöffnung. Durch den nachfolgenden Ringschluss entsteht jedoch nicht wie bei der Ringtransformation ein neues Ringsystem, sondern es bildet sich der ursprüngliche Heterozyklus wieder aus.

Die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes der Reduktion des 2'-Nitroaidzeinderivats **33** bereitet Probleme, da die beiden Produkte **31** und **34** sowohl in polaren als auch in unpolaren Lösungsmitteln schlecht löslich sind. Eine Trennung durch SC gelingt nicht. Die beiden Substanzen besitzen in allen getesteten Fließmitteln einen nahezu gleichen R_f -Wert. Auch eine präparative Trennung durch HPLC gelingt nicht, da die Substanzen in Lösung instabil sind und sich schnell zersetzen.

Es wird nun versucht, die Reduktion der Nitro-Gruppe mit Zink in Essigsäure anstelle von Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen durchzuführen. Durch diese Maßnahme soll eine Steigerung der Ausbeute an dem Salicyloylindol **31** erreicht werden. Es entstehen jedoch auch bei dieser Umsetzung sowohl das Salicyloylindol **31** als auch das 2'-Aminoisoflavon **34** als ein untrennbares Gemisch.

Die beiden Verbindungen **31** und **34** können lediglich durch das Kernresonanzspektrum des Gemisches beider Substanzen charakterisiert werden (Abb. 3.55). Eine analysenreine Trennung beider Substanzen gelingt nicht.

Bei 12.55 ppm kann man eine Resonanz für das Salicyloylproton von **31** erkennen. Das Indol-NH erscheint als Singulett bei 11.75 ppm, die 6-OH-Gruppe als Resonanz bei 9.24 ppm.

Das Proton der 4'-OH-Gruppe des Isoflavons **34** erscheint als Singulett bei 9.01 ppm. Die Resonanz bei 4.69 ppm kann der Aminofunktion zugeordnet werden.

Das Verhältnis Isoflavon zu Indol beträgt ungefähr 3:1.

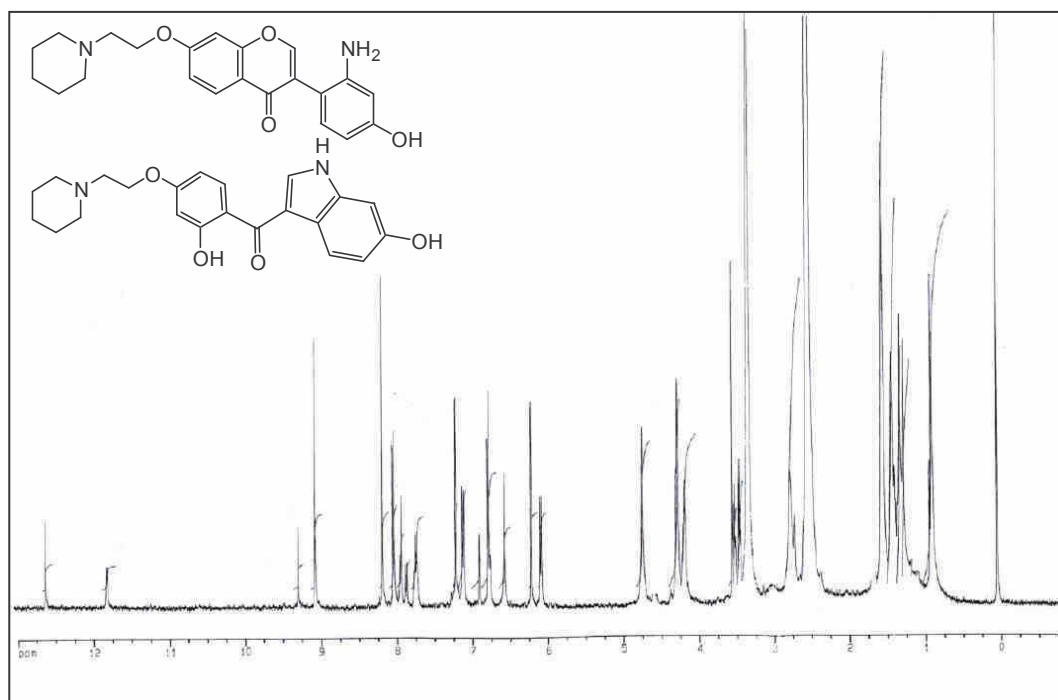
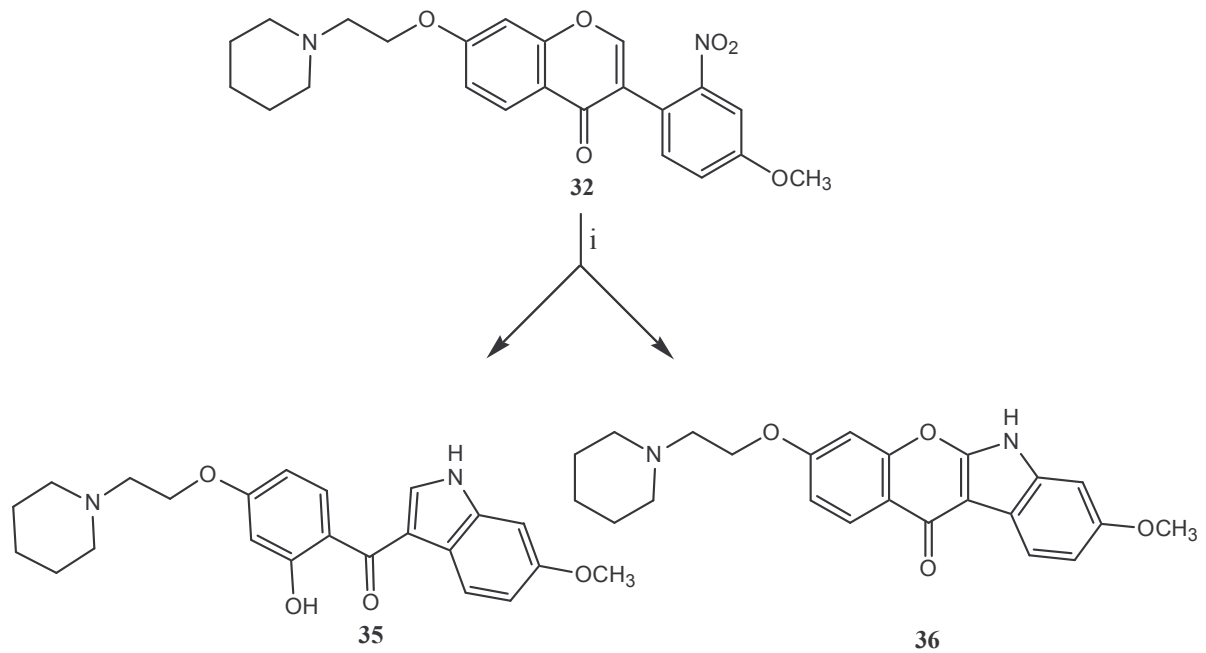


Abb. 3.55: ¹H-NMR-Spektrum (D₆-DMSO) eines Gemisches des Salicyloylindols **31** und des Aminoisoflavons **34**

3.3.1.2 Reduktion des Isoflavons **32**

Da die Herstellung des Salicyloylindols **31** durch die Reduktion der Nitrofunktion des 2'-Nitroaidzeindervats **33** auf Grund des Trennproblems ungünstig verläuft, soll nun versucht werden, die Ringtransformation zum Salicyloylindol auf der Stufe des 2'-Nitroformononetinderivats **32** durchzuführen. Die Spaltung der Methoxy-Gruppe soll erst im Anschluss daran durchgeführt werden (Abb. 3.56).

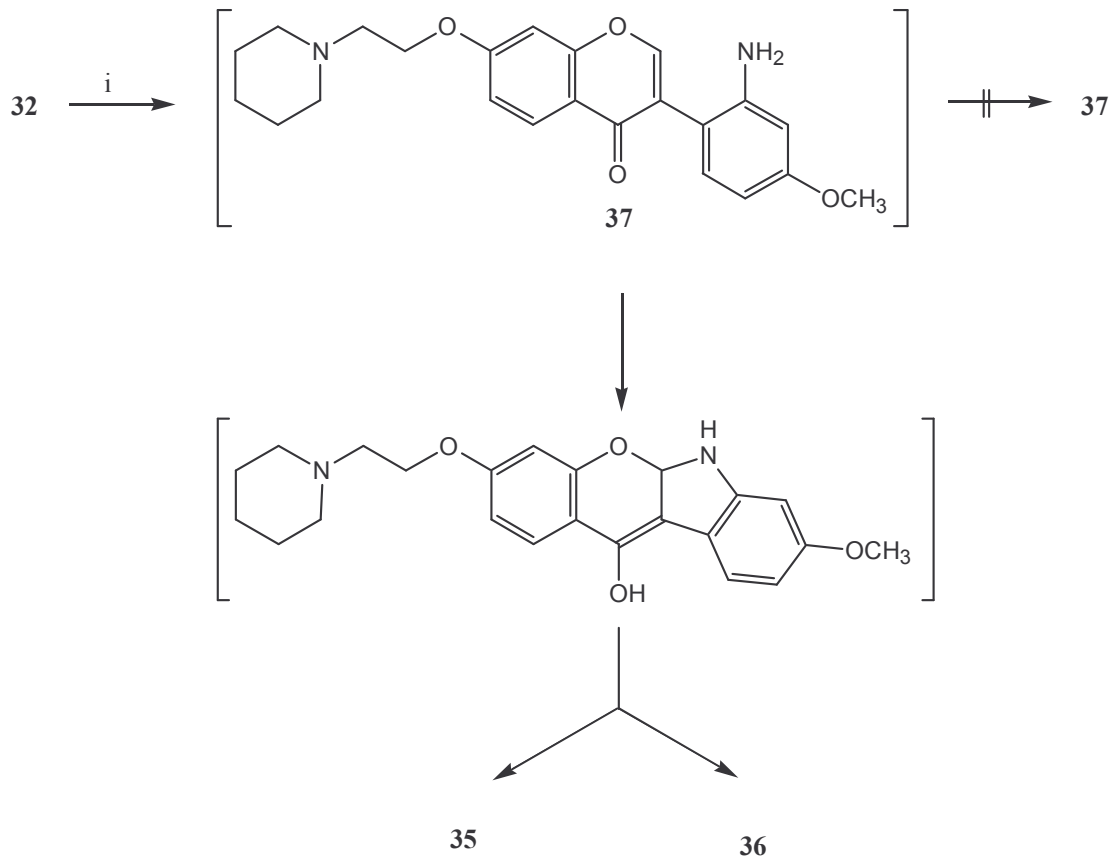


i) Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.56: Reduktion des Isoflavons **32**

Die Reduktion wird mit Zink in 50 %iger Essigsäure durchgeführt. Überraschenderweise entsteht bei dieser Reaktion kein 2'-Aminoisoflavin. Man erhält das Salicyloylindol **35** in sehr geringen Ausbeuten. Das Hauptprodukt der Reaktion ist jedoch das tetrazyklische System **36**.

Für die Entstehung des Benzopyrano[2,3-b]indols wird eine Oxidation des tetrazyklischen Zwischenprodukts der Ringtransformation durch Sauerstoff während des Aufarbeitungsvorgangs angenommen. Eine Entstehung von **36** ist im reduktiven Milieu der Reaktion nicht wahrscheinlich (Abb. 3.57).



i) Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure

Abb. 3.57: Postulierter Mechanismus der Entstehung des Benzopyrano[2,3-b]indols **36** und des Salicyloylindols **35**

Die Bildung des tetrazyklischen Zwischenprodukts der Ringtransformation wird vermutlich durch die Piperidinoethoxy-Seitenkette und die Methoxy-Gruppe begünstigt. Eine Umlagerung zu dem entsprechenden Salicyloylindol **35** erfolgt nur in geringem Maße während der Reaktion. Eine ausreichende Charakterisierung des Indols **35** kann auf Grund minimaler Ausbeuten nicht durchgeführt werden.

Im Dünnschichtchromatogramm zeigt **35** eine deutliche Fluoreszenzlöschung bei 256 nm, wohingegen das Benzopyrano[2,3-b]indol **36** bei dieser Wellenlänge sehr intensiv hellblau fluoresziert. Die charakteristische Fluoreszenz des Benzopyrano[2,3-b]indols **36** wird durch ein konjugiertes System bedingt.

Die Protonenresonanzspektren des Salicyloylindols **35** (Abb. 3.58) und des Benzopyrano[2,3-b]indols **36** (Abb. 3.59) beweisen die Entstehung beider Verbindungen im Verlauf dieser Reduktion.

Das Spektrum des Indols **35** weist zwei Signale bei 12.52 und 11.96 ppm auf, die dem Proton der OH-Gruppe und dem NH-Proton zugeordnet werden können.

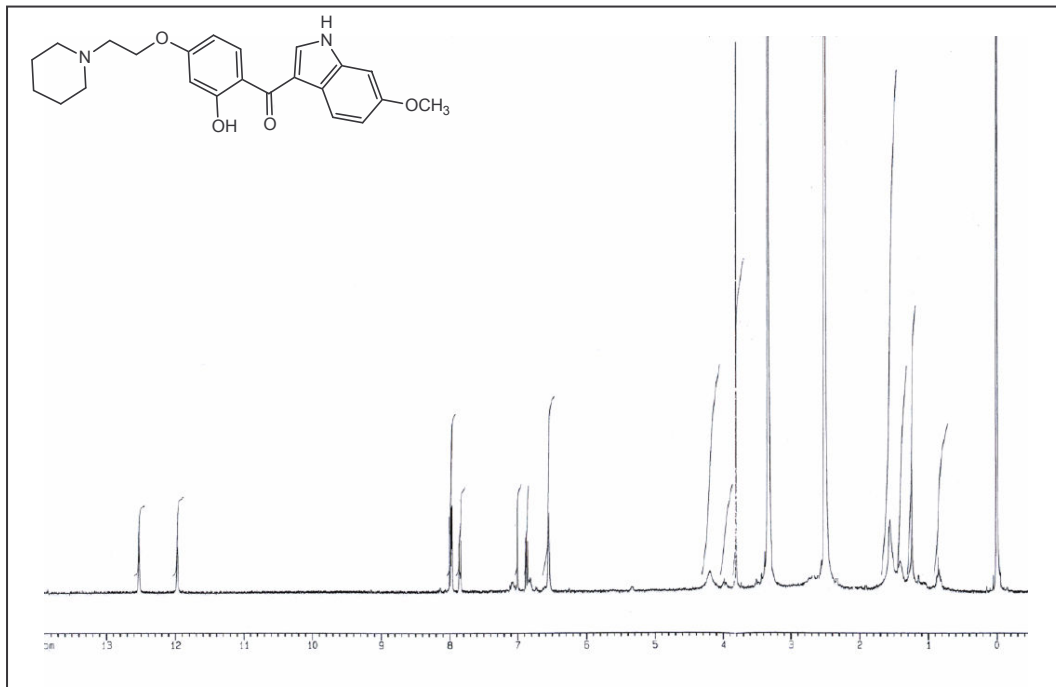


Abb. 3.58: ^1H -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) des Indols **35**

Dahingegen weist das Spektrum des Benzopyrano[2,3-b]indols **36** nur ein Signal bei 12.64 ppm auf, das dem NH-Proton zuzuordnen ist. Eine Resonanz, die einer freien OH-Gruppe zugeordnet werden könnte, fehlt.

Die beiden Protonenresonanzspektren unterscheiden sich auch durch die Resonanzen der heterozyklischen Protonen. Das Spektrum des Salicyloylindols **35** weist sieben Signale auf, die für die sieben aromatischen und heteroaromatischen Protonen stehen, wohingegen das Spektrum der Verbindung **36** nur über sechs Signale verfügt, die den sechs aromatischen Protonen des tetrazyklischen Systems **36** zugeordnet werden können.

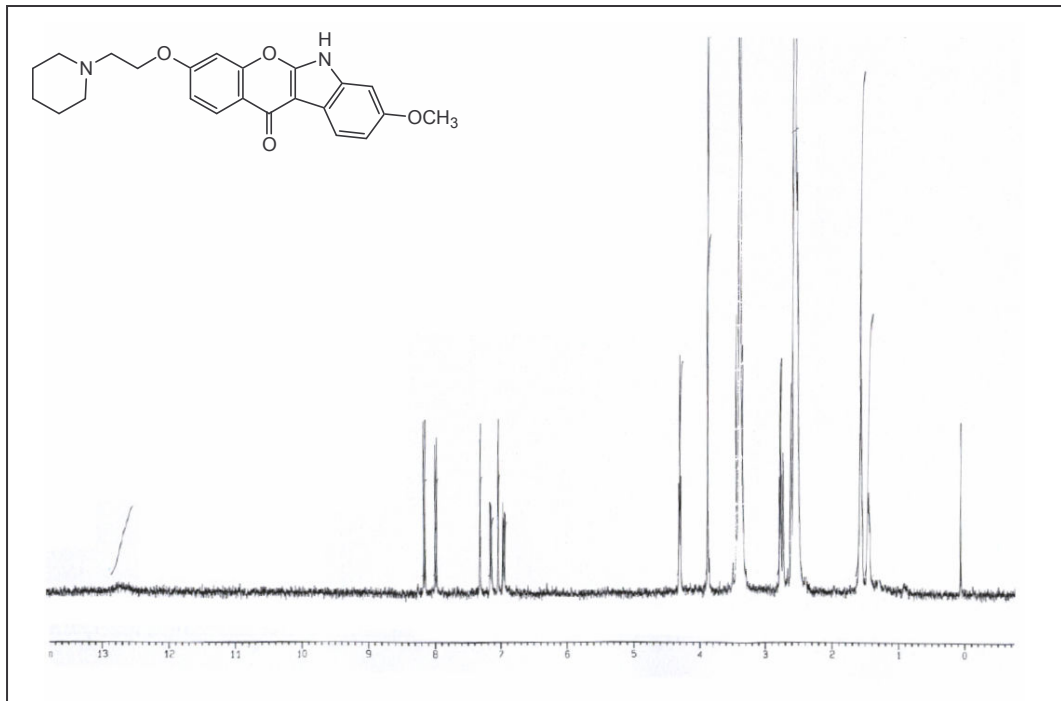


Abb. 3.59: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) des Tetrazyklus 36

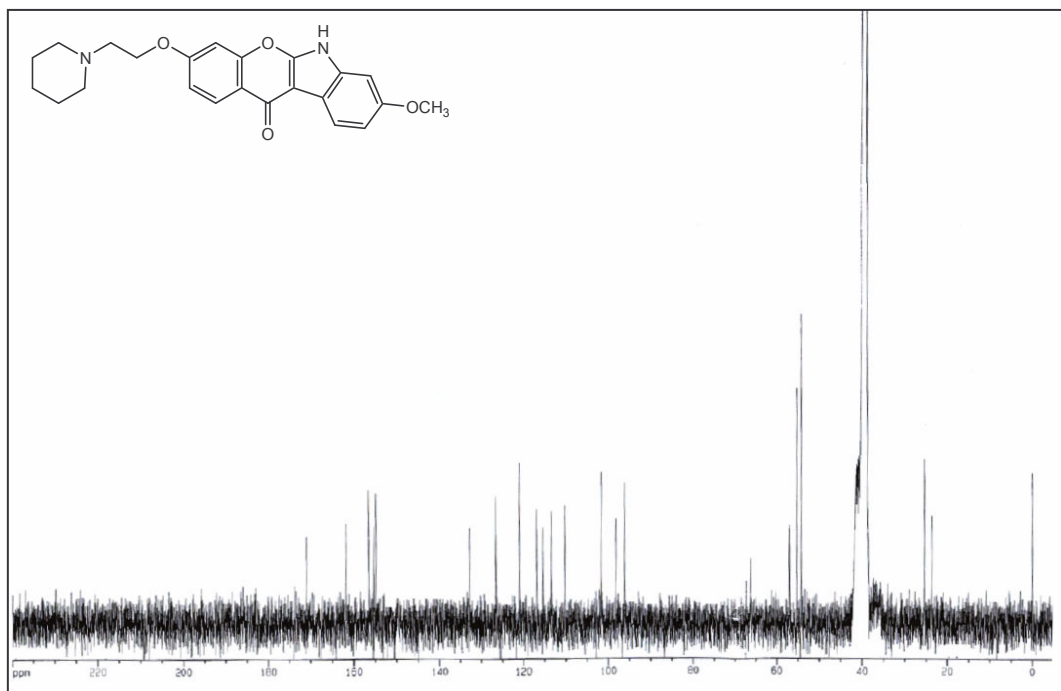


Abb. 3.60: $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) des Tetrazyklus 36

Das ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **36** weist ein Signal bei 171 ppm auf, das der Carbonylfunktion zuzuordnen ist (Abb. 3.60). Damit ist das Signal dieser funktionellen Gruppe im Vergleich zu den Signalen der Carbonylfunktionen der Salicyloylindole von *Albuschat* [194] und *Witzel* [186], die zwischen 192 und 194 ppm auftreten, Hochfeldverschoben.

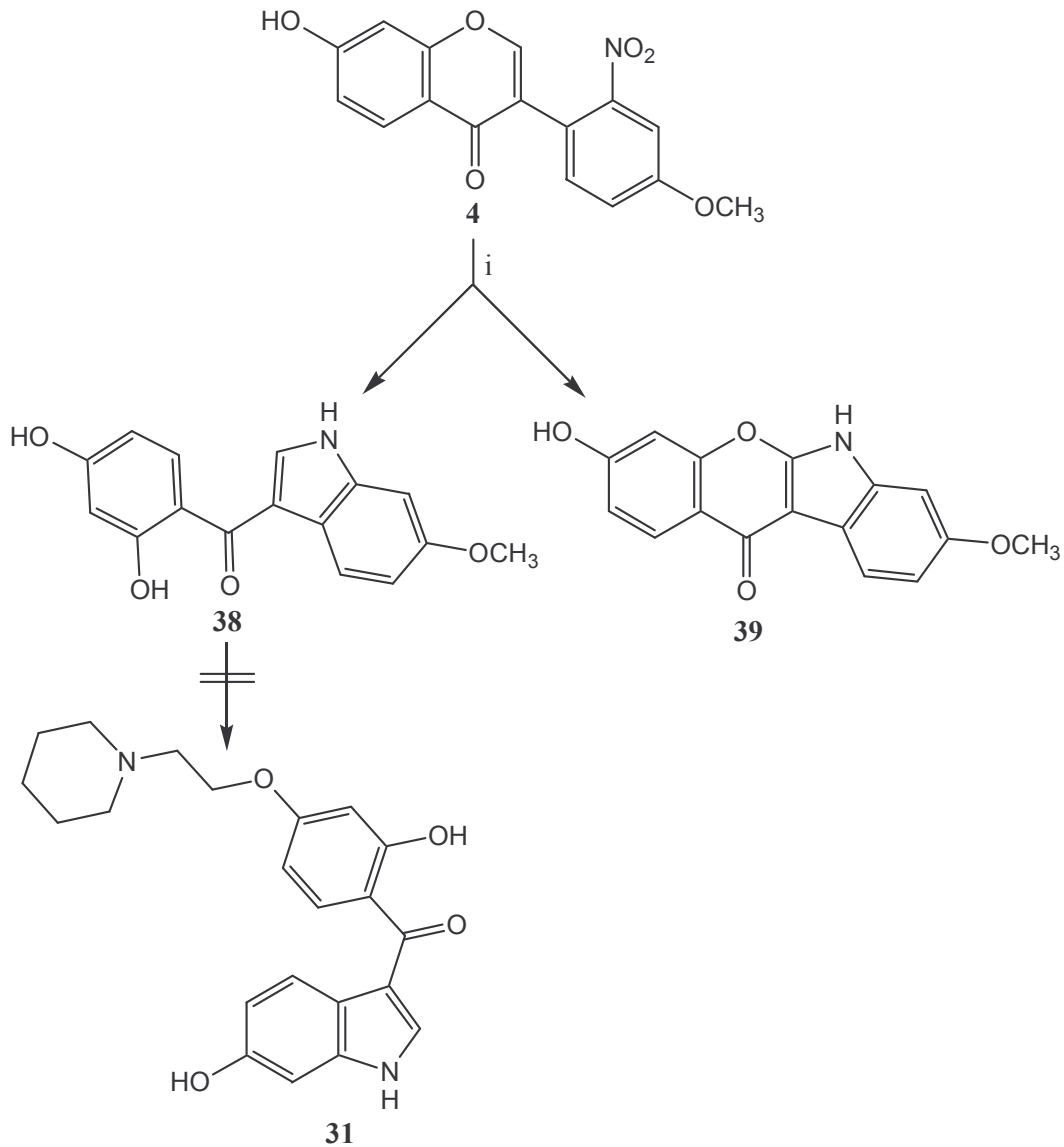
Benzopyrano[2,3-b]indole sind schon aus der Literatur bekannt. *Eiden* und *Dobinsky* synthetisierten Benzopyrano[2,3-b]indole gegen Ende der 60er Jahre aus Oxindolen und Salicylsäureethylestern, die in Gegenwart von Natriumhydrid zu 3-(2-Hydroxybenzoyl)-oxindolen reagierten. Den Ringschluss zum Tetrazyklus erreichten sie durch Erhitzen mit Chlorwasserstoff in Methanol [196, 197].

3.3.1.3 Reduktion des Isoflavons **4**

Die Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformationen, die von 2'-Nitroisoflavonen ausgehen, deren 7-OH-Gruppe bereits mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid verethert wurden, gelangen zwar prinzipiell, erweisen sich jedoch wegen zu geringer Ausbeuten oder wegen Trennproblemen als unpraktikabel.

Deshalb wird nun auf einem dritten Weg versucht, das gewünschte Salicyloylindol **31** herzustellen.

Die Synthese soll durch Ringtransformation des 4'-Methoxy-2'-nitroisoflavons **4** zum korrespondierenden Salicyloylindol **38** erfolgen. Anschließend soll die 7-OH-Gruppe von **38** mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid verethert werden. Eine anschließende Spaltung der 4'-Methoxy-Gruppe ergäbe das Indol **31** (vgl. Abb. 3.50).



i) Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.61: Reduktion der Verbindung **4**

Die Reduktion der Nitro-Gruppe von **4** erfolgt mit Zinkstaub in 50 %iger Essigsäure.

Die Umsetzung führt zu dem Salicyloylindol **38** und zu dem Benzopyrano[2,3-b]indol **39** (Abb. 3.61). Die Ausbeuten sind allerdings wieder sehr gering; sie bewegen sich in der Größenordnung von 2-3 %. Eine Herstellung der Verbindung **31** auf diesem Weg erweist sich somit nicht als praktikabel. Außerdem gelingt eine vollständige Charakterisierung der beiden Verbindungen **38** und **39** auf Grund dieser geringen Ausbeuten nicht.

Lediglich der Vergleich der $^1\text{H-NMR}$ - und der $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren von **38** und **39** belegt ihre Entstehung. Das Protonenresonanzspektrum des Salicyloylindols **38** (Abb. 3.62) unterscheidet sich von dem des Benzopyrano[2,3-b]indols **39** (Abb. 3.63) zum einen durch die Anzahl der

aromatischen und heteroaromatischen Protonen, die bei dem tetrazyklischen System **39** sechs, bei dem Indol **38** hingegen sieben beträgt.

Des Weiteren weist das Spektrum der Verbindung **39** ein Singulett bei 12.63 ppm auf, das dem NH-Proton zugeordnet werden kann. Bei 10.60 ppm findet sich eine Resonanz für die OH-Gruppe.

Das Spektrum des Indols **38** weist drei Singulett-Signale bei 12.68, 11.91 und 10.37 ppm auf, die der 2'-OH-Gruppe, dem Indol-NH und der 4'-OH-Gruppe zugeordnet werden können.

Die ^{13}C -NMR-Spektren der beiden Verbindungen unterscheiden sich am deutlichsten durch die Resonanzen der Carbonylfunktionen.

Bei der tetrazyklischen Verbindung **39** liegt das Signal dieser Funktion bei 171 ppm (Abb. 3.64), das entspricht der Lage des Carbonyl-Kohlenstoffs eines Chromons. Bei dem Indol **38** liegt das Signal der Carbonylfunktion hingegen bei 191 ppm (Abb. 3.65).

Auf Grund der sehr geringen Ausbeuten des Produktgemisches gelingt es leider nicht, die beiden Verbindungen **38** und **39** analysenrein aufzutrennen.

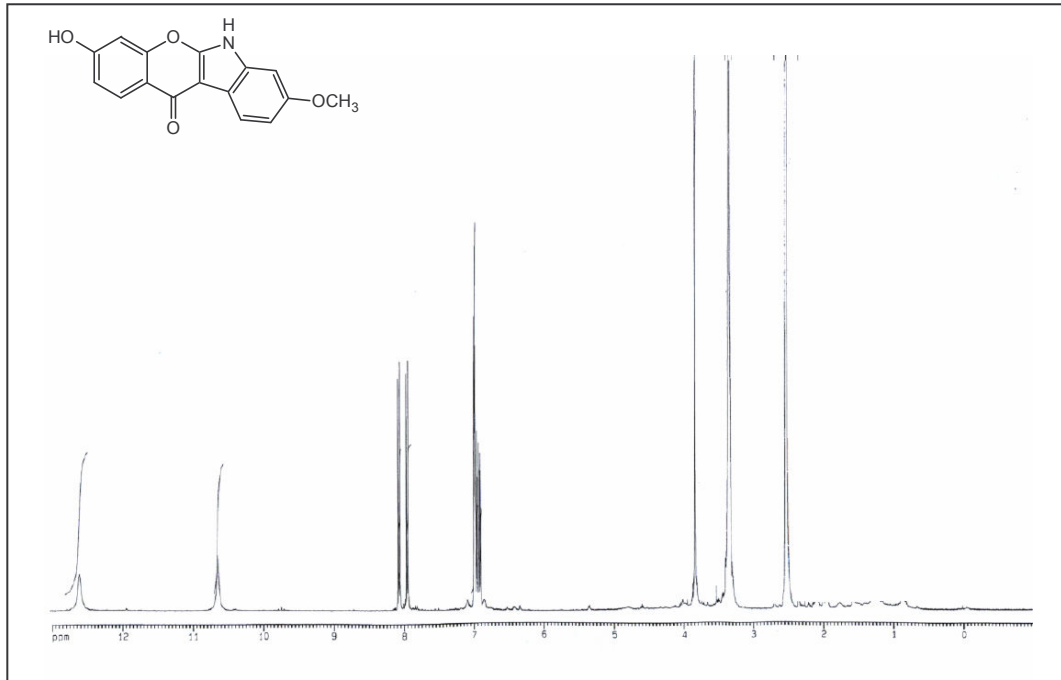


Abb. 3.62: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) der Verbindung 39

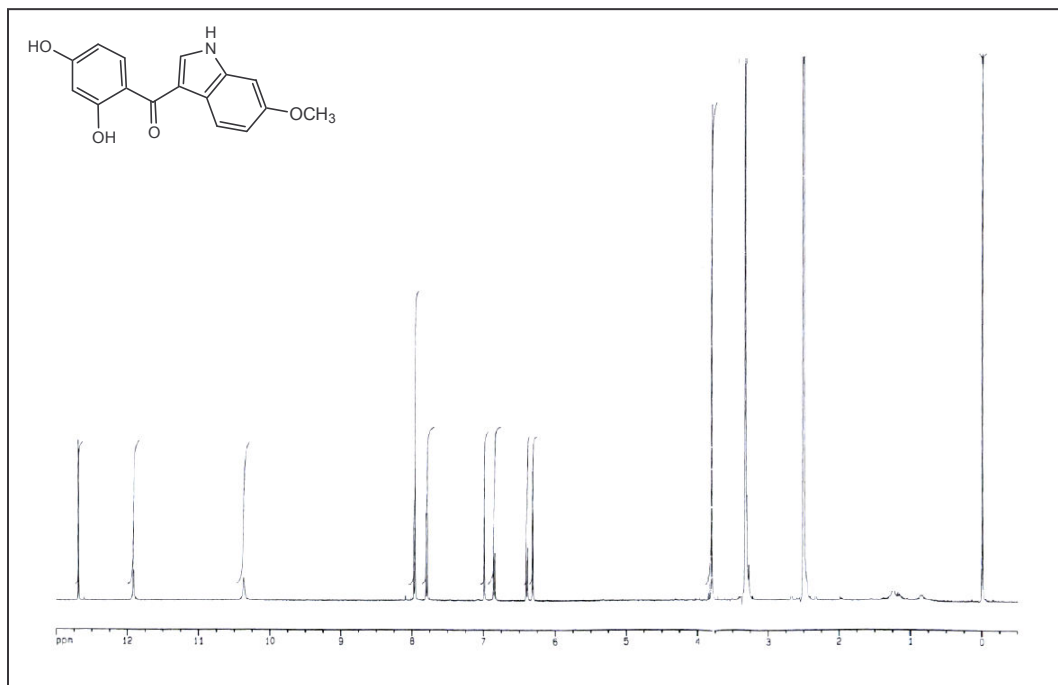


Abb. 3.63: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) der Verbindung 38

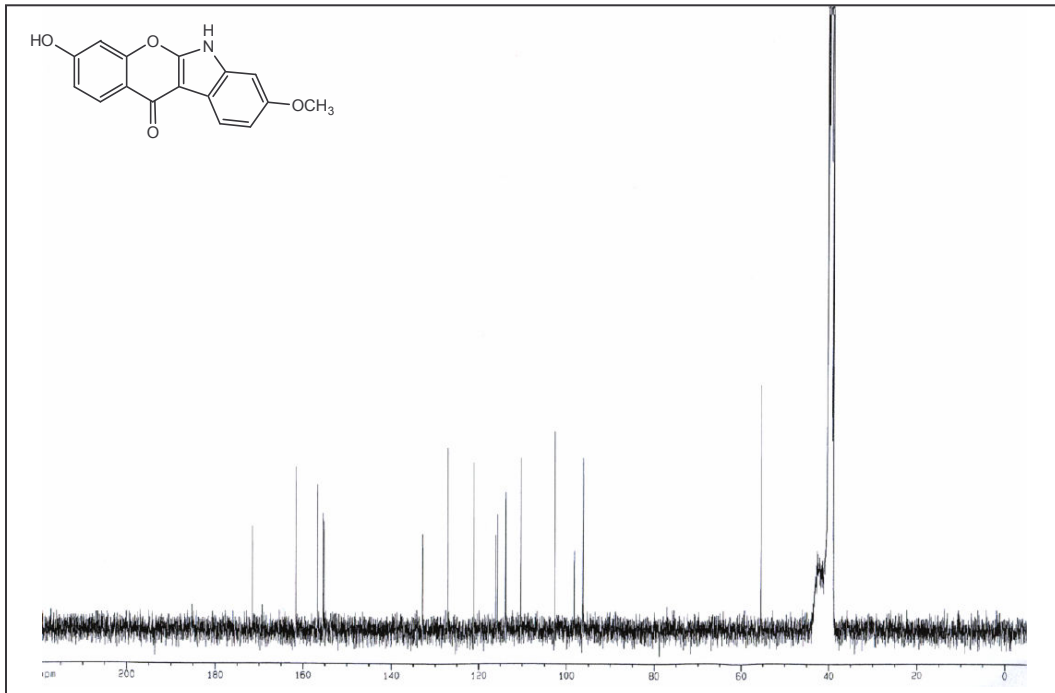


Abb. 3.64: ^{13}C -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) der Verbindung 39

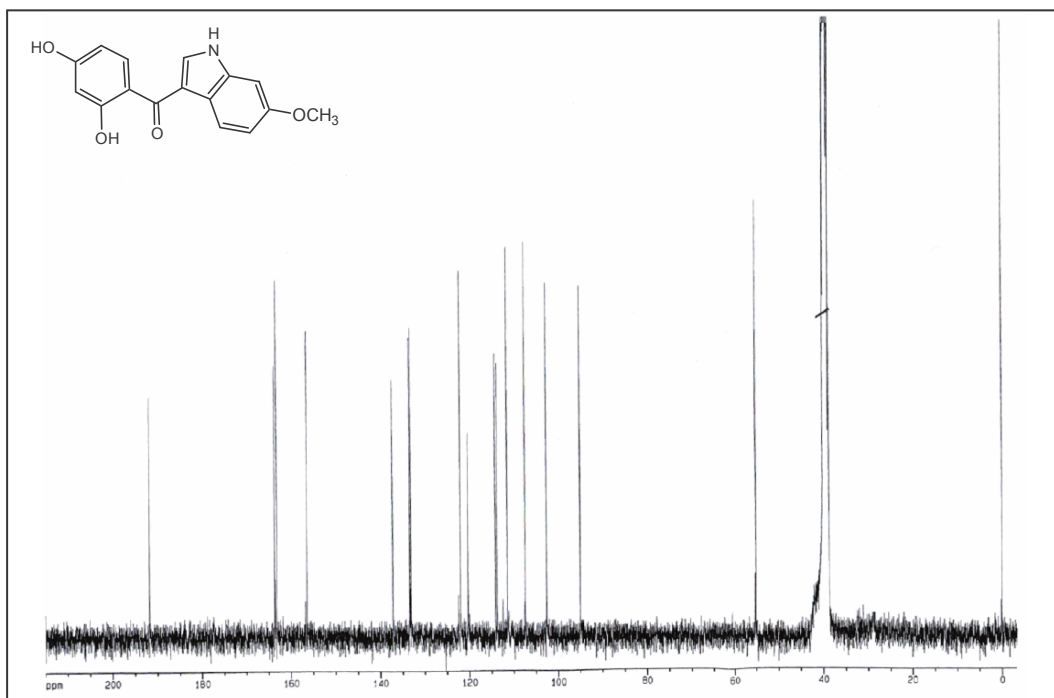
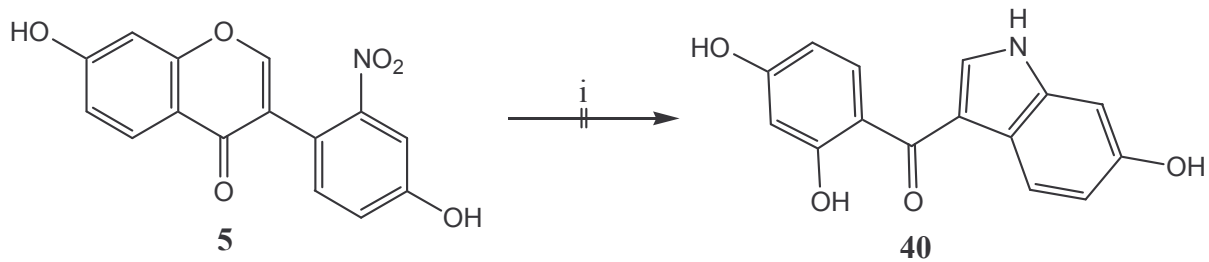


Abb. 3.65: ^{13}C -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) der Verbindung 38

3.3.1.4 Geplante Reduktion des Isoflavons 5

Die zuvor beschriebenen Wege führten nicht zu dem gewünschten Salicyloylindol **31**.

Darum wird nun versucht, das 2'-Nitroaidzein **5** durch die Umsetzung mit Zink in 50 %iger Essigsäure zu dem Salicyloylindol **40** umzulagern (Abb. 3.66).



i) Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.66: Versuch der Reduktion des Isoflavons **5**

Die anschließende Veretherung des Indols **40** mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid könnte das Salicyloylindol **31** ergeben.

Die Reduktion von **5** führt allerdings zu keinem Ergebnis, da aus dem Reaktionsansatz weder das 2'-Aminoisoflavon noch das korrespondierende Salicyloylindol **40** oder ein entsprechendes Benzopyrano[2,3-b]indol isoliert werden können. Man erhält ein nicht trennbares Gemisch.

3.3.1.5 Umsetzung von 6-Methoxyindol mit Diacetoxybenzoesäure nach Grignard

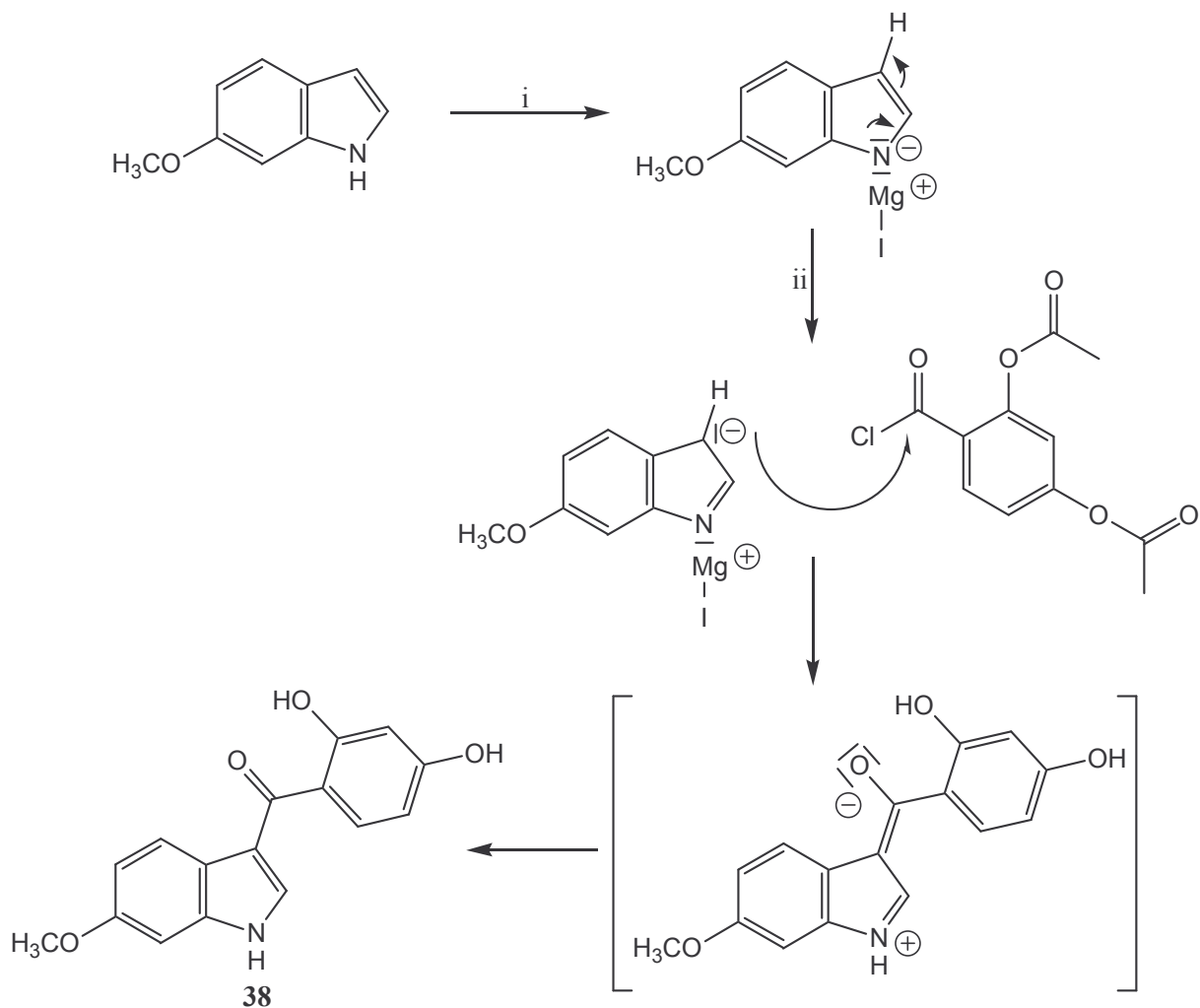
Die Herstellung des 4'-Piperidinoethoxy-substituierten Salicyloylindols **31** durch Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation gelingt somit aus den oben dargelegten Gründen nicht.

Deswegen soll in einem letzten Versuch das Salicyloylindol **31** im Rahmen einer Grignard-Reaktion hergestellt werden.

Dabei ist geplant, 6-Methoxyindol zum einen mit dem Säurechlorid der 2,4-Diacetoxybenzoesäure umzusetzen (Abb. 3.67).

Die Herstellung der Diacetoxybenzoesäure erfolgt nach *Albuschat* mit einem Acetanhydrid/Pyridin-Gemisch. Das entsprechende Säurechlorid erhält man durch Reaktion mit Thionylchlorid in Benzen [194].

Bei der Grignard-Reaktion wird das 6-Methoxyindol mit Methylmagnesiumjodid metalliert [198]. Das metallierte Indol kann nun mit dem Säurechlorid der 2,4-Diacetoxybenzoesäure reagieren und das entsprechende Salicyloylindol **38** bilden (Abb. 3.67).



i) Jod, Jodmethan, Magnesiumspäne, abs. Ether; ii) Ether, ΔT , dann Eis

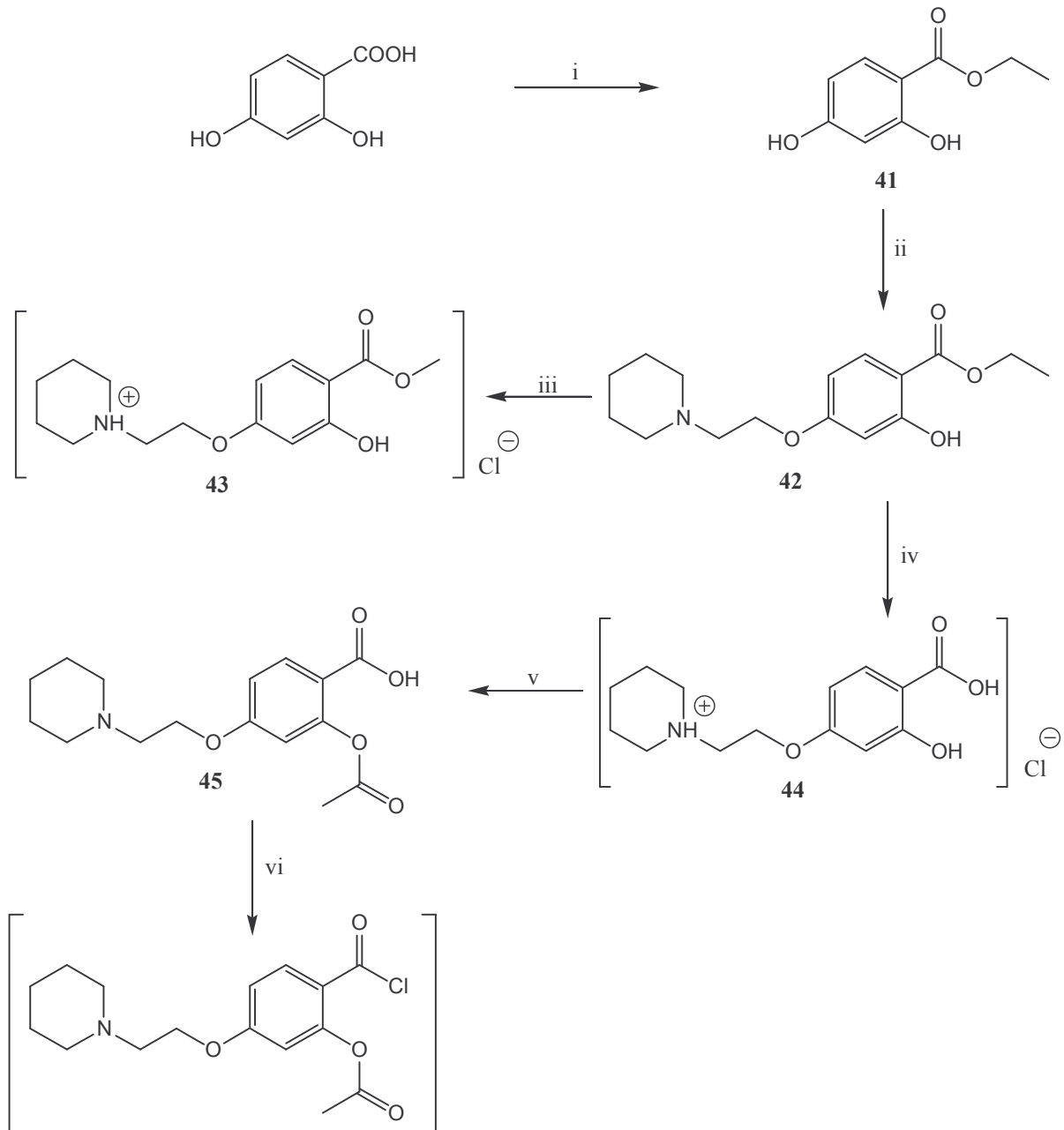
Abb. 3.67: Herstellung der Verbindung **38** im Rahmen einer Grignard-Reaktion

Diese Reaktion führt zu dem gewünschten Indol **38**, allerdings beträgt auch hier die Ausbeute wieder nur 1 % und ist somit zu gering, um noch zwei weitere Synthesestufen wie die Veretherung der 4'-OH-Gruppe und die Spaltung der Methoxy-Gruppe mit dem Indol **38** durchzuführen. Diese weiteren Syntheseschritte wären nötig, um das Salicyloylindol **31** zu erhalten.

3.3.1.6 Umsetzung von 6-Methoxyindol mit einem Acetoxyalkyloxybenzoesäurederivat nach Grignard

Da diese Umsetzung des metallierten Indols mit der Diacetoxybenzoesäure nicht zufrieden stellend verläuft, wird nun versucht, den Salicylsäure-Anteil des Indols im Vorfeld der Grignard-Reaktion aufzubauen (Abb. 3.68).

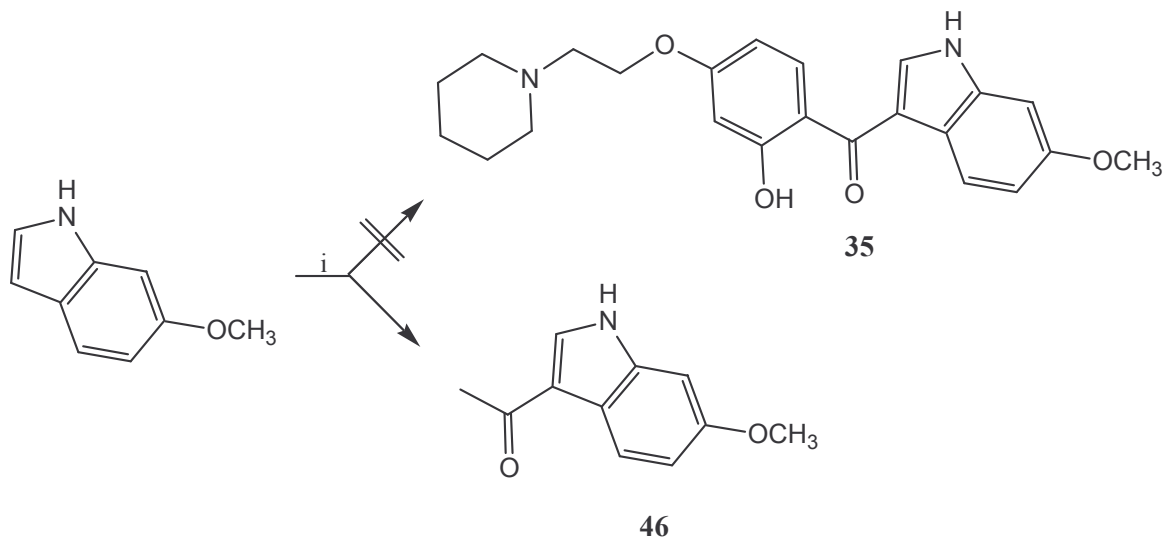
Dazu wird 2,4-Dihydroxybenzoesäure mit Ethanol zum Ethyl 2,4-dihydroxybenzoat **41** verestert. Der Ester wird mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid in Acetonitril zu dem Ester **42** verethert [184]. Die Verseifung des Esters **42** führt unter Verwendung von 10 N methanolischer Natronlauge nicht zu der gewünschten freien Säure, sondern es erfolgt eine Umesterung zu dem Methylester **43**. Erst die Verwendung von 10 N ethanolischer Natronlauge führt zu der gewünschten Benzoesäure **44**. Durch Umsetzung mit einem Acetanhydrid/ Pyridin-Gemisch wird die freie OH-Gruppe der Verbindung **44** acetyliert. Der Schutz dieser OH-Gruppe ist notwendig, damit bei der Umsetzung mit Thionylchlorid keine Selbstveresterung von zwei Molekülen der Benzoesäure **44** eintritt. Diese Selbstveresterung konnte innerhalb unseres Arbeitskreises bei der Umsetzung von 4-Methylsalicylsäure mit Thionylchlorid durch *Albuschat* beobachtet werden [194]. Durch Umsetzung von **45** mit Thionylchlorid erhält man das entsprechende Säurechlorid.



i) Ethanol, konz. Schwefelsäure; ii) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid, Kaliumcarbonat, Acetonitril, ΔT ; iii) 10 N NaOH, Methanol, RT, dann pH 1 mit konz. HCl; iv) 10 N NaOH, Ethanol, ΔT , dann pH 1 mit konz. HCl; v) Acetanhydrid, Pyridin, ΔT ; vi) Thionylchlorid, Benzen, ΔT

Abb. 3.68: Herstellung der Verbindung 45 und ihres Säurechlorids

Das Säurechlorid der Verbindung 45 kann nun ebenfalls im Rahmen einer Grignard-Reaktion mit 6-Methoxyindol umgesetzt werden. Die Reaktion erfolgt analog der Vorschrift der zuvor beschriebenen Grignard-Reaktion (Abb. 3.69).



i) Jodmethan, Jod, Magnesiumspäne, Ether, dann Säurechlorid der Verbindung **45** in Ether, ΔT , dann Eis

Abb. 3.69: Versuch der Herstellung der Verbindung **35** im Rahmen einer Grignard-Reaktion

Allerdings kann auch bei dieser Reaktion keine Umsetzung zu der gewünschten Verbindung **35** beobachtet werden. Als Produkt kann nur das in Position 3 acetylierte Indol **46** isoliert werden. Zudem wird das Edukt 6-Methoxyindol zurückgewonnen.

Die Herstellung des gewünschten 4'-Piperidinoethoxy-substituierten Salicyloylindols **31** gelingt damit weder durch Aminoisoflavin-Salicyloylindol-Ringtransformation verschiedener Daidzeinderivate noch durch Umsetzung von 6-Methoxyindol mit Salicyloylchloriden.

3.3.2 Versuche zur Herstellung des Salicyloylindols 47

Da die Herstellung des Salicyloylindols **31** auf den oben ausgeführten Wegen nicht gelingt, soll nun stattdessen versucht werden, das Salicyloylindol **47** durch Ringtransformation herzustellen (Abb. 3.70). Dabei wird von Genisteinderivaten ausgegangen.

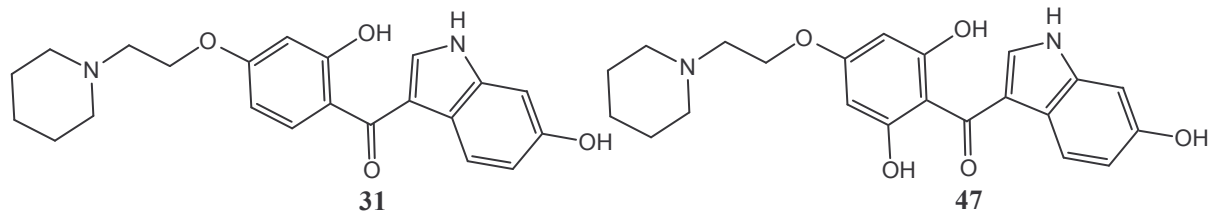
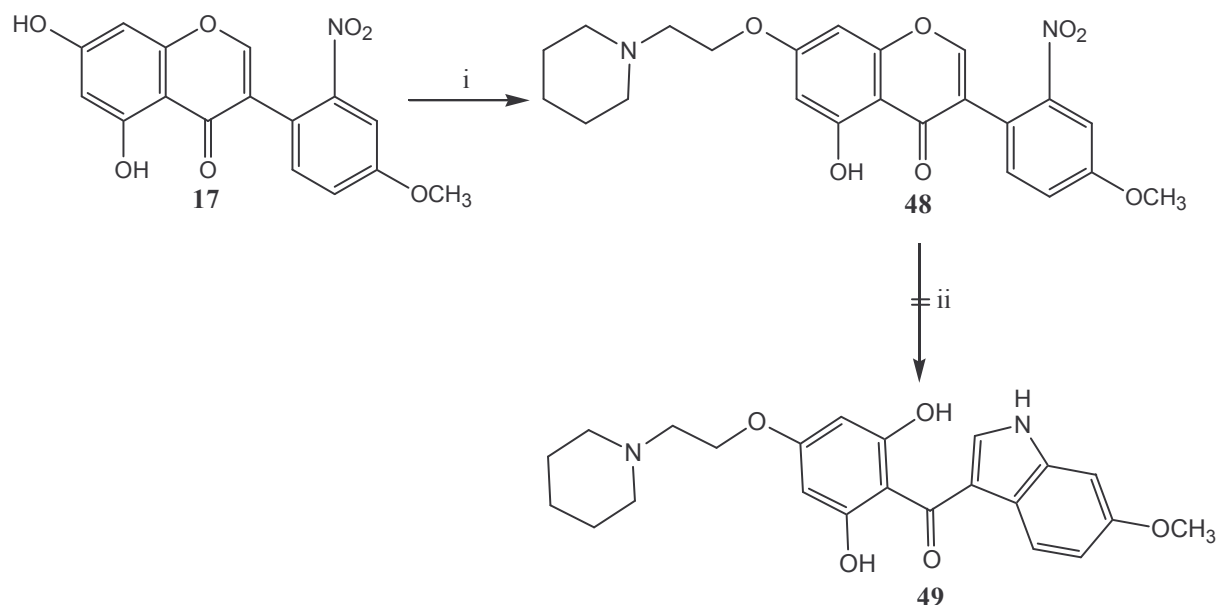


Abb. 3.70: Struktur der Salicyloylindole **31** und **47**

Aufgrund der hohen Strukturähnlichkeit der Indole **31** und **47** kann für die Verbindung **47** eine ähnliche Einlagerung des Moleküls in die Rezeptorbindungstasche des ER angenommen werden, wie sie für die Verbindung **31** in der Abbildung 3.50 formuliert ist.

3.3.2.1 Versuche zur Herstellung und anschließenden Reduktion des Isoflavons 48

Auf dem Weg zur geplanten Verbindung 47 wird das 2'-Nitrobiochanin A 17 mit 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid in Acetonitril verethert (Abb. 3.71).



i) 1-(2-Chloroethyl)-piperidiniumchlorid, Kaliumcarbonat, Acetonitril, ΔT ; ii) Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure, ΔT

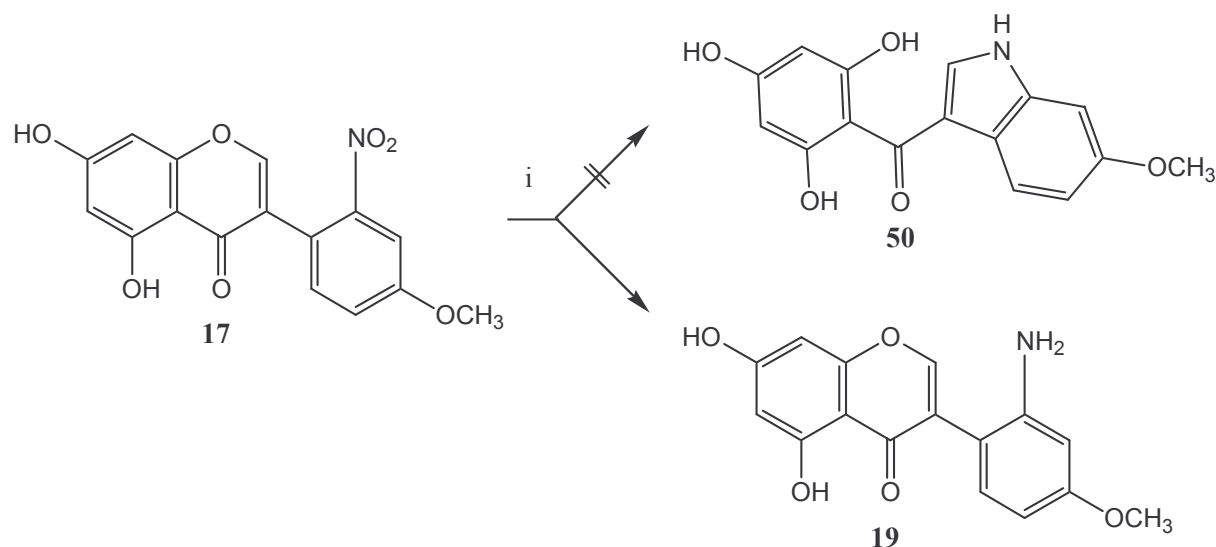
Abb. 3.71: Versuch der Herstellung der Verbindung 49

Die Entstehung des Nitroisoflavons 48 kann durch Massenspektrometrie gesichert werden. Es wird jedoch vorläufig auf eine vollständige Charakterisierung von 48 verzichtet, da der Ansatz ohne Aufreinigung weiterverarbeitet wird.

Die Reaktionsmischung wird mit Zink in 50%iger Essigsäure erhitzt, um über die Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation zu dem korrespondierenden Indol 49 zu gelangen. Die Entstehung dieses Indols kann jedoch weder durch ein Protonenresonanzspektrum noch durch ein Massenspektrum bestätigt werden.

3.3.2.2 Reduktion des Isoflavons 17

Alternativ dazu wird nun versucht, das 2'-Nitrobiochanin A **17** direkt mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen zu reduzieren (Abb. 3.72). Hierbei entsteht jedoch ausschließlich das 2'-Aminobiochanin A **19**.



i) Zinkstaub, 50 %ige Essigsäure, ΔT

Abb. 3.72: Herstellung des Indols **50**

Deshalb wird jetzt versucht, das Isoflavon **17** durch Umsetzung mit Zinkstaub in Essigsäure in das Salicyloylindol **50** umzulagern. Diese Umlagerung gelingt jedoch ebenfalls nicht.

Das gewünschte Salicyloylindol **50** kann also weder durch Reduktion von 2'-Nitrobiochanin A-Derivaten mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen noch mit Zinkstaub in Essigsäure hergestellt werden.

Es wird auch kein weiterer Versuch unternommen, **50** durch Umsetzung eines metallierten Indols mit dem entsprechenden Säurechlorid eines 2,4,6-Trihydroxybenzoesäurederivats im Rahmen einer Grignard-Reaktion herzustellen, da diese Acylierungsverfahren zu sehr schlechten Ausbeuten an den gewünschten Indolen führen, wie in den Kapiteln 3.3.1.5 und 3.3.1.6 zuvor beschrieben wurde.

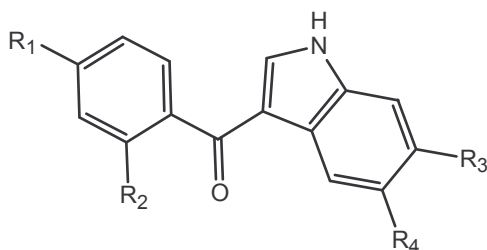
Die Herstellung der gewünschten Salicyloylindole **31** und **47** gelingt somit weder durch Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation von Daidzein- und Genisteinderivaten noch im Rahmen von Grignard-Reaktionen.

3.3.3 Die Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation

Wie bereits beschrieben, treten auf dem Weg zum Daidzeinderivat **9** und zum Genisteinderivat **24** bei der Reduktion der entsprechenden 2'-Nitroisoflavone neben den 2'-Aminoisoflavonen auch Salicyloylindole und Benzopyrano[2,3-b]indole auf.

Da der Verlauf der Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation zum einen von dem gewählten Reduktionsmittel, zum anderen von der Art und Position der Substituenten der Isoflavone abhängig zu sein scheint, ist eine nähere Betrachtung dieser Ringtransformation interessant.

Die Aminoisoflavon-Salicyloylindol-Ringtransformation wurde schon Ende der 90er Jahre in unserem Arbeitskreis von *Witzel* beschrieben [186]. Sie trat bei der Reduktion verschiedener 2'-Nitroisoflavone mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen in Ethanol auf. Die Reduktion führte immer ausschließlich zu Salicyloylindolen (Tab. 3.3).



Substanz	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ausbeute an Indol	Ausbeute an korr. 2'-Aminoisoflavon	Reduktionsverfahren
SW 53	F	H	H	H	27 %	/	Pd/C, Cyclohexen
SW 57	Cl	H	H	H	23 %	/	Pd/C, Cyclohexen
SW 62	CH ₃	H	H	H	54 %	/	Pd/C, Cyclohexen
RA 15	OH	H	Cl	H	28 %	26 %	Zink/Essigsäure
RA 17	OCH ₃	H	Cl	H	9 %	83 %	Zink/Essigsäure
RA 18	OCH ₃	H	H	Cl	8 %	86 %	Zink/Essigsäure
RA 19	OCH ₃	H	H	H	27 %	/	Zink/Essigsäure

Tab. 3.3: Tabellarische Darstellung der Salicyloylindole und ihrer Herstellung von *Witzel* (SW 53, SW 57, SW 62) [186] und *Albuschat* (RA 15, RA 17, RA 18, RA 19) [194]

Die Ringtransformation konnte auch von *Albuschat* beobachtet werden [194]. Hier wurde die Reduktion jedoch mit Zink in Essigsäure durchgeführt, um die Chlor-Substituenten zu erhalten. Beobachtungen in unserer Arbeitsgruppe haben ergeben, dass die Reduktion von 2'-Nitroisoflavonen mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen ungünstig ist, wenn die Isoflavone einen Chlor-Substituenten besitzen. Unter den Bedingungen der Reduktion lagern sich diese Isoflavone zwar in die entsprechenden Salicyloylindole um, jedoch erfolgt eine Abspaltung des Chlor-Substituenten [194].

In den meisten Fällen konnte bei den Reduktionen von *Albuschat* neben dem Salicyloylindol auch das korrespondierende 2'-Aminoisoflavon isoliert werden. In zwei Fällen bildete das Aminoisoflavon sogar das Hauptprodukt der Reaktion (Tab. 3.3).

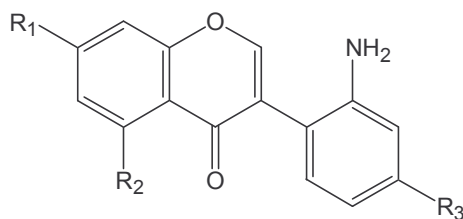
Im Verlauf der Reduktionen, bei denen die Salicyloylindole **SW 53**, **SW 57**, **SW 62** und **RA 19** entstehen, wird kein zusätzliches 2'-Aminoisoflavon gebildet. Diese Indole tragen außer dem substituierten 3-Salicyloylrest keinen weiteren Substituenten. Voraussetzung für dieses Substitutionsmuster ist, dass auch die entsprechenden Ausgangsverbindungen der Reduktion, die 2'-Nitroisoflavone, am Phenylrest unsubstituiert sind. Dieses Substituentenmuster scheint eine Ringtransformation zu den Salicyloylindolen zu begünstigen.

Ein Substituent in Position 7 der 2'-Nitroisoflavone beeinflusst dabei die Ausbeute an Indol. Substituenten mit einem negativen induktiven Effekt wie Fluor, Chlor und Methoxy führen zu geringen Ausbeuten um 25 %. Eine 7-Methyl-Gruppe begünstigt, wahrscheinlich auf Grund ihres positiven induktiven Effekts, doppelt so hohe Ausbeuten.

Eine Substitution mit einem 4'- bzw. 5'-Chlor-Substituenten, wie man sie bei **RA 15**, **RA 17** und **RA 18** vorfindet, führt zu einer deutlichen Verschlechterung der Indol Ausbeute. Im Rahmen dieser Reduktionen wird das entsprechende 2'-Aminoisoflavon verstärkt gebildet. Andererseits führt eine 7-OH-Gruppe zu dreifach höheren Ausbeuten wie die Substitution mit einer entsprechenden 7-Methoxy-Gruppe.

Besitzen die 2'-Nitroisoflavone jedoch eine 4'-OH-Gruppe bzw. eine 4'-Methoxy-Gruppe und eine 7-OH-Gruppe, so wird bei der Reduktion mit Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen in Ethanol bevorzugt das 2'-Aminoisoflavon gebildet (Tab. 3.4).

Bei diesem Substitutionsmuster der entsprechenden Isoflavone kann im Rahmen der Reduktion bis auf das *N*-ethylierte Salicyloylindol **13** kein weiteres Salicyloylindol isoliert werden.



Substanz	R ₁	R ₂	R ₃	Ausbeute	Ausbeute an korr. Salicyloylindol	Reduktionsverfahren
6	OH	H	OH	17 %	/	Pd/C, Cyclohexen
12	OH	H	OCH ₃	45 %	10 % (13)	Pd/C, Cyclohexen
19	OH	OH	OCH ₃	55 %	/	Pd/C, Cyclohexen
34	C ₂ H ₄ NC ₃ H ₁₀ HBr	H	OH	< 1 %	< 1 %	Pd/C, Cyclohexen; Zink/Essigsäure
11	OCH ₃	H	OCH ₃	< 1 %	< 1 %	Pd/C, Cyclohexen; Zink/Essigsäure

Tab. 3.4: Tabellarische Darstellung der 2'-Aminoisoflavone und ihrer Herstellung

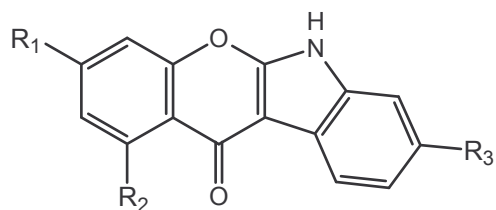
Eine 4'-Methoxy-Gruppe führt in Verbindung mit einer 7-OH-Gruppe zu akzeptablen Ausbeuten an 2'-Aminoisoflavon (Verbindungen **12** und **19**).

Liegen wie bei dem 2'-Aminodaidzein **6** in Position 4' und 7 hingegen zwei OH-Gruppen vor, so mindert das die Ausbeute an 2'-Aminoisoflavon um bis zu 30 %.

Das Vorliegen einer 7-Alkyloxy-Gruppe zusammen mit einer 4'-OH-Gruppe, wie sie bei dem 2'-Amino-7-(piperidinoethoxy)-daidzein **34** gegeben ist, führt zu keiner nennenswerten Umsetzung mehr. Die Art des Reduktionsverfahrens - entweder Palladiumkohle in Gegenwart von Cyclohexen oder Zink in Essigsäure - ist hierfür unerheblich.

Liegen in Position 4' und 7 zwei Methoxy-Gruppen vor (Daidzeinderivat **11**), so lässt sich die Verbindung ebenfalls nicht mit den beiden angewandten Reduktionsverfahren umsetzen. Es können weder das Aminoisoflavon noch das Salicyloylindol isoliert werden.

Tetrazyklische Benzopyrano[2,3-b]indole können nur bei zwei Reduktionen mit Zink in Essigsäure beobachtet werden (Tab. 3.5).



Substanz	R ₁	R ₂	R ₃	Ausbeute	Ausbeute an korr. Salicyloylindol	Reduktionsverfahren
36	C ₂ H ₄ NC ₃ H ₁₀	H	OCH ₃	3 %	< 1 %	Zink/Essigsäure
39	OH	H	OCH ₃	< 1 %	< 1 %	Zink/Essigsäure

Tab. 3.5: Tabellarische Darstellung der Benzopyrano[2,3-b]indole und ihrer Herstellung

Das Benzopyrano[2,3-b]indol **36** kann isoliert und charakterisiert werden. Es entsteht bei der Reduktion des 2'-Nitroisoflavons **32**.

Das Benzopyrano[2,3-b]indol **39**, das bei der Reduktion des 2'-Nitroisoflavons **4** entsteht, kann nur anhand von Protonenresonanzspektren nachgewiesen werden

Die Alkylierung der OH-Gruppen in Position 4' und 7 scheint ein tetrazyklisches Zwischenprodukt der Ringtransformation zu stabilisieren, aus dem sich dann durch nachfolgende Oxidation Benzopyrano[2,3-b]indole bilden.

3.4 Versuche zur Herstellung von 3-Phenyl-4-chinolonderivaten

Nach der erfolgreichen Herstellung von Daidzein- und Genisteinderivaten mit basischer Seitenkette wird nun versucht, vergleichbare *N*-substituierte 3-Phenyl-4-chinolone des Typs **62** herzustellen. Es könnte aber auch sein, dass im Rahmen dieser Versuche *O*-substituierte 3-Phenylchinoline des Typs **63** entstehen. Durch ihre strukturelle Ähnlichkeit zu den Isoflavonen werden die 3-Phenyl-4-chinolone auch als Azaisoflavone bezeichnet.

Die Herstellung der Verbindungen **62** und **63** erscheint in Bezug auf ihre möglichen Estrogenrezeptor-modulierenden Eigenschaften interessant zu sein.

Durch Substitution des Chinolin-Stickstoffs bzw. des Chinolin-Sauerstoffs mit einer basischen Seitenkette könnte man zwei Verbindungen erhalten, die eine hohe Strukturähnlichkeit mit Raloxifen und anderen selektiven Estrogenrezeptor-Modulatoren aufweisen (Abb. 3.73).

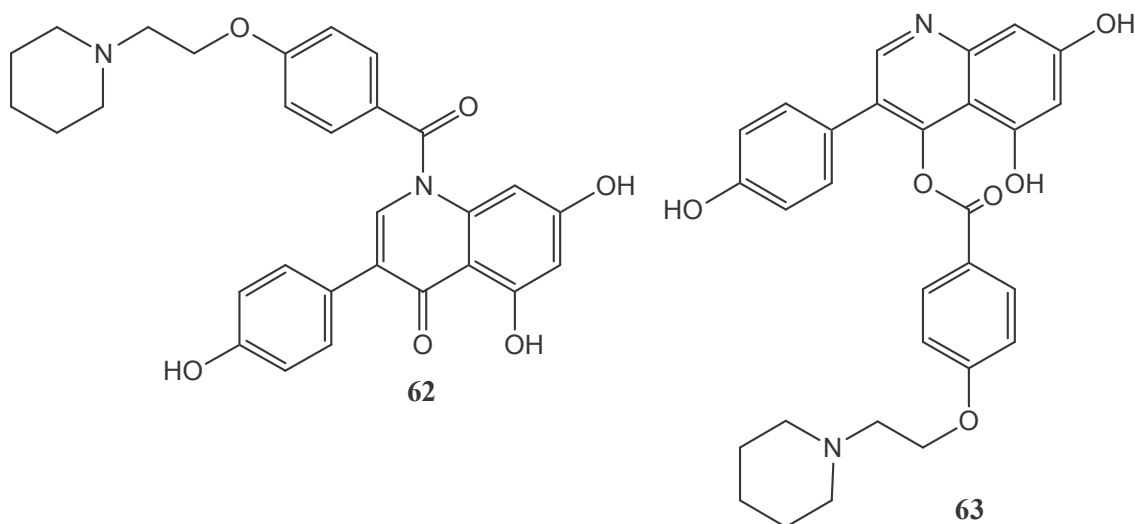


Abb. 3.73: Die angestrebten Chinoline **62** und **63**

Estrogene Eigenschaften der 3-Phenylchinoline sind in der Literatur bisher nicht beschrieben. Allerdings konnten *Li* und *Kuo* bei verschiedenen substituierten 2-Phenyl-4-chinolonen Zytotoxizität durch Hemmung der Tubulin-Polymerisation feststellen [199, 200]. Die Arbeitsgruppe von *Traxler* synthetisierte unter anderem Chlor-substituierte 3-Phenyl-4-chinolone als Hemmer der EGFR-Tyrosinkinase [201].

Trotz der bisher fehlenden Aussagen über mögliche estrogene Wirkungen der 3-Phenylchinoline ist die Herstellung der Chinoline **62** und **63** interessant, da auf Grund der hohen

Strukturähnlichkeit dieser Verbindungen zu bekannten SERM eine Wirkung am ER wahrscheinlich ist.

Die Verbindung **62** kann zum Beispiel in das von *Pike et al.* postulierte Modell der Ligandenbindungstasche des ER- β eingefügt werden (Abb. 3.74) [124].

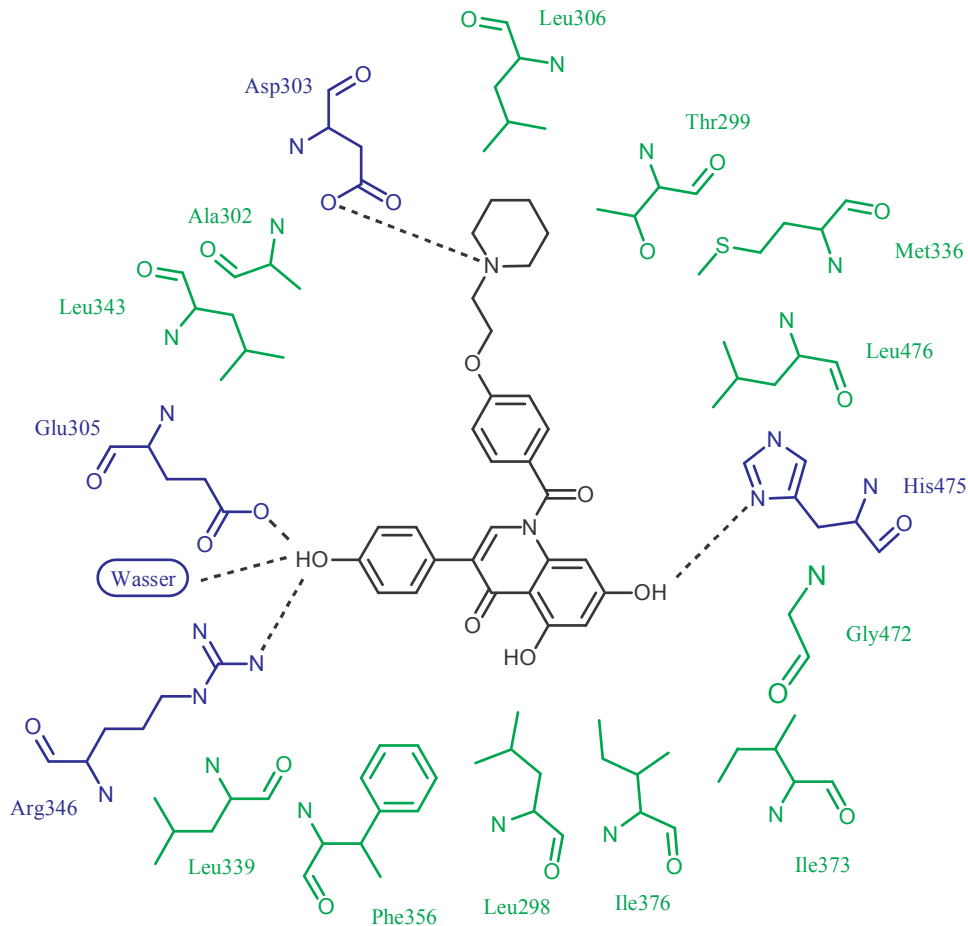


Abb. 3.74: Schematische Darstellung eines möglichen Bindungsmodells der Verbindung **62** in der Ligandenbindungsdomäne des ER- β . Die Darstellung ist angelehnt an das Bindungsmodell des Raloxifens am ER- β nach *Pike et al.* (vgl. Abb. 1.6) [124]. Aminosäuren, die WBB mit dem Liganden ausbilden, sind blau gezeichnet; die WBB sind schwarz gestrichelt dargestellt und die über van-der-Waals-Kräfte interagierenden Aminosäuren sind grün dargestellt. Die Ausrichtung des Moleküls ist an der Ausrichtung des Raloxifens in der Ligandenbindungstasche orientiert.

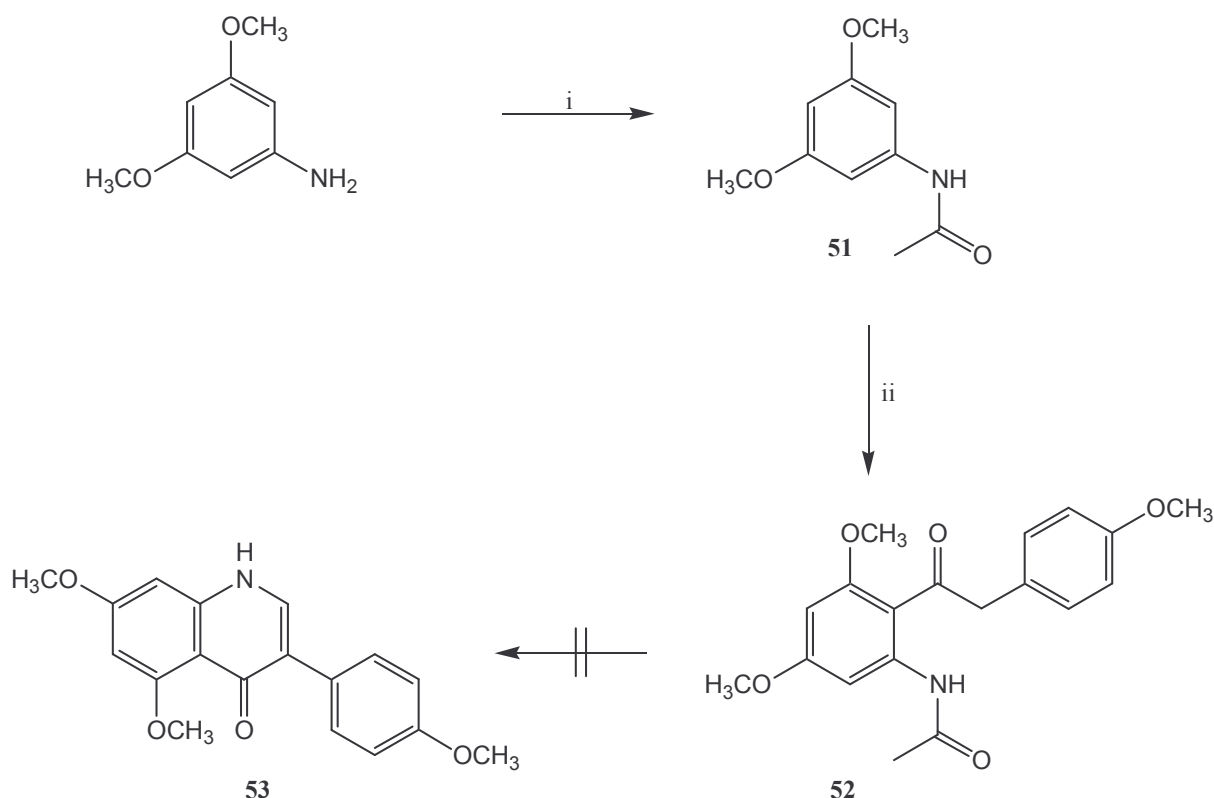
Die basische Seitenkette des Chinolons **62** tritt über den Piperidin-Stickstoff mit Asparaginsäure 303 durch eine WBB in Wechselwirkung. Zwischen Histidin 475 und der 7-OH-Gruppe des Chinolons bildet sich ebenfalls eine WBB aus. Auch die 4'-OH-Gruppe des 3-Phenyl-4-chinolons **62** bildet eine WBB zu Arginin 346, Glutaminsäure 305 und zu einem

Molekül Wasser aus. Die Bezifferung der Aminosäuren entspricht der Bezifferung der Aminosäuren des ER- β .

Für das *O*-substituierte Chinolin **63** kann eine ähnliche Ausrichtung der Seitenkette innerhalb der Rezeptorbindungstasche angenommen werden. Die 4'-OH-Gruppe des Chinolins wird jedoch durch WBB mit Histidin 475 in Wechselwirkung treten, wohingegen die 7-OH-Gruppe des Chinolins mit Arginin 346, Glutaminsäure 305 und einem Molekül Wasser wechselwirken wird.

3.4.1 Versuch zur Herstellung des Chinolons **53** nach *Traxler*

Um die gewünschten Verbindungen **62** und **63** herzustellen, wird zuerst versucht, das zentrale trimethoxylierte 4-Chinolon **53** aus 3,5-Dimethoxyanilin in einer Dreistufensynthese nach einer Vorschrift von *Traxler et al.* herzustellen (Abb. 3.75) [201].



i) Acetanhydrid, ΔT , Eis; ii) (4-Methoxyphenyl)-acetylchlorid, Zinn(IV)-chlorid, Dichlormethan, $0\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow \text{RT}$, Eis

Abb. 3.75: Versuch der Herstellung der Verbindung **53** nach *Traxler* [201]

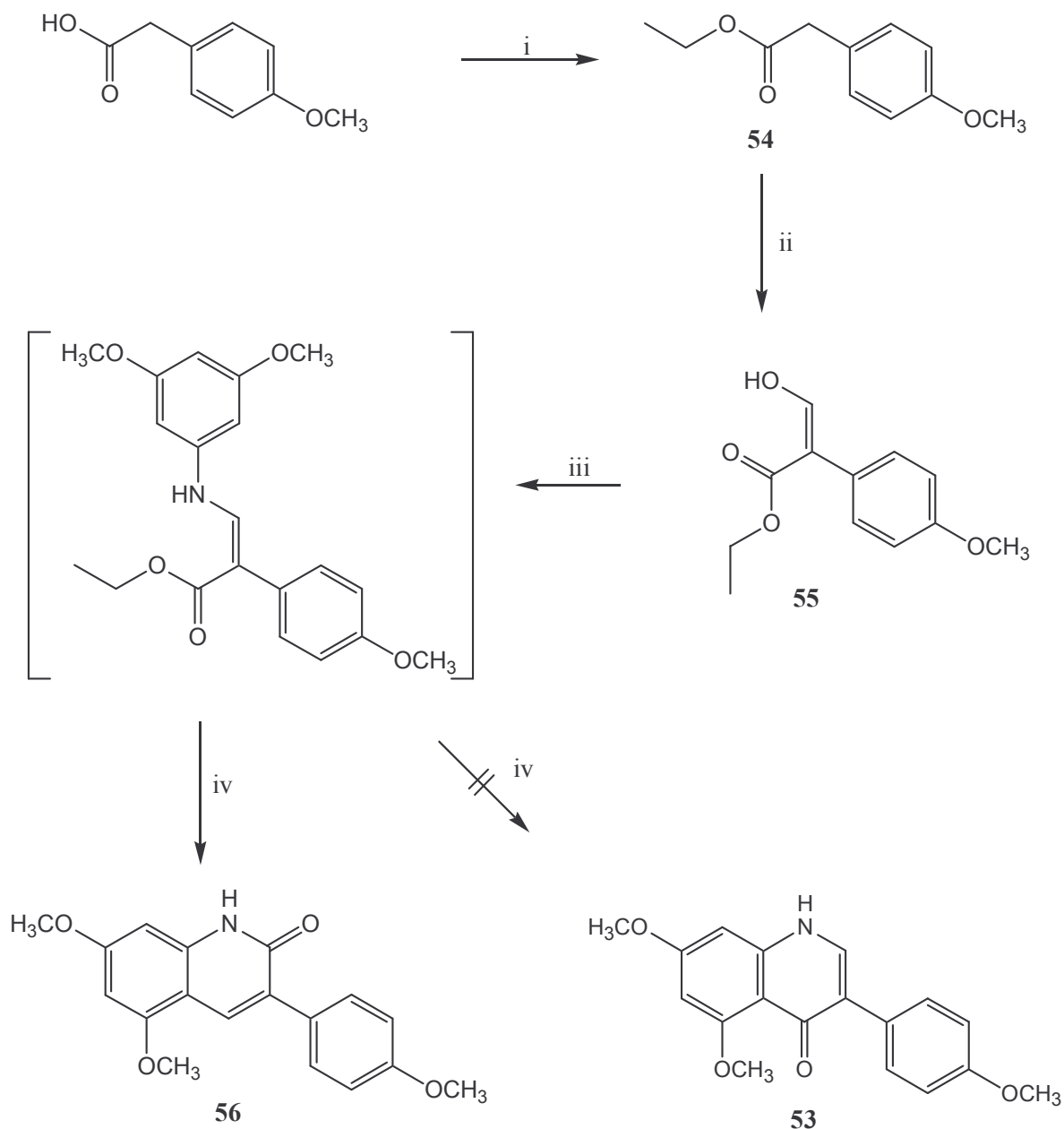
Dazu erfolgt die Umsetzung des 3,5-Dimethoxyanilins mit Acetanhydrid. Das Acetanilid **51** kann leicht gewonnen werden, indem der Ansatz auf Eis gegeben und das ausfallende Acetanilid abgesaugt wird. In einer Friedel-Crafts-Acylierung wird das Acetanilid **51** mit dem Säurechlorid der 2-(4-Methoxyphenyl)-essigsäure in Gegenwart von Zinnchlorid umgesetzt. Man erhält die Verbindung **52**.

Die Ausbeuten der Friedel-Crafts-Acylierung liegen jedoch unter 20 % und lassen sich auch durch Änderungen der Reaktionsbedingungen nicht steigern. Aus diesem Grund wird die weitere Umsetzung der Verbindung **52** zu dem 4-Chinolon **53** unter modifizierten Vilsmeier-Haack-Bedingungen mit Phosphorsäuretrichlorid in DMF nicht unternommen, da für diese Umsetzung ebenfalls schlechte Ausbeuten entsprechend den Angaben von *Traxler* erwartet werden. Somit erscheint dieser Weg zur Herstellung von Verbindung **53** nicht praktikabel zu sein.

3.4.2 Versuch zur Herstellung des Chinolons **53** nach *Wislicenus*

Alternativ soll nun die Herstellung der 3-Phenyl-4-chinolone nach *Wislicenus* erfolgen [202]. *Wislicenus* berichtete im Jahr 1913 über die Synthese zweier 3-Phenyl-4-chinolone durch thermische Kondensation eines Enaminoesters. Der Enaminoester wird durch Umsetzung von Anilin mit α -Formylphenylessigsäuremethylester hergestellt.

Dementsprechend wird zuerst die 2-(4-Methoxyphenyl)-essigsäure mit Ethanol zum Ethyl (4-methoxyphenyl)-essigsäureester **54** umgesetzt (Abb. 3.76). Mit elementarem Natrium bildet der Essigsäureester **54** ein Carbanion, das durch eine Claisen-Esterkondensation mit Ethylformiat das Acrylat **55** ergibt. Die Verbindung **55** wird mit 3,5-Dimethoxyanilin stark erhitzt. Hierbei entsteht eine glasige Schmelze, die durch Suspendierung in Ethylacetat zu einem definierten Produkt führt.

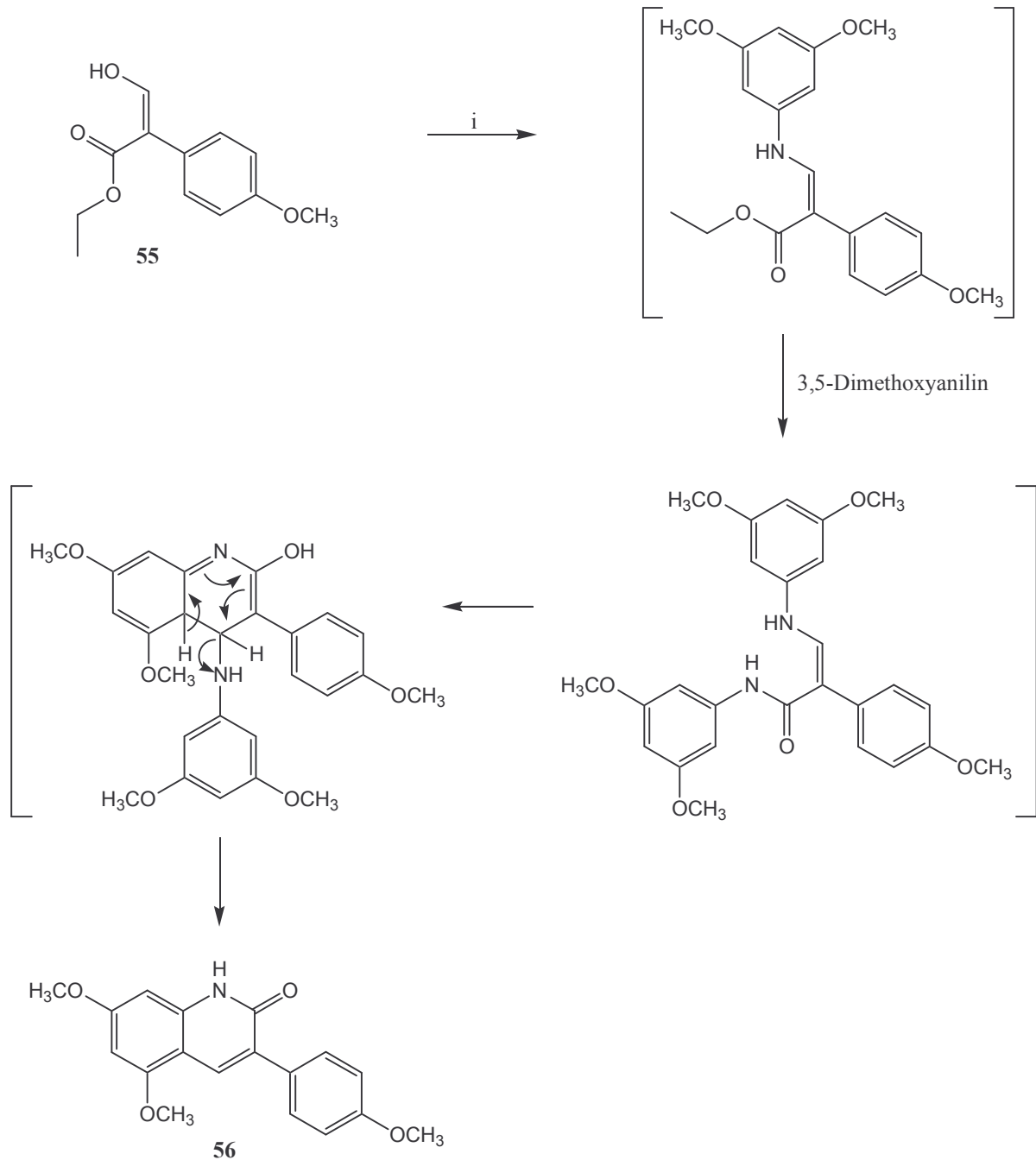


i) Ethanol, konz. Schwefelsäure, ΔT ; ii) Ethylformiat, Natrium, Diethylether, RT, dann pH 1 mit konz. HCl und Extraktion mit Diethylether; iii) 3,5-Dimethoxyanilin, RT, 5 h; iv) 200 °C, 10 min

Abb. 3.76: Versuch der Herstellung der Verbindung **53** nach *Wislicenus* [202]

Überraschenderweise kann jedoch nach *Wislicenus* in diesem Fall nicht das erhoffte Chinolin-4-on **53**, sondern das konstitutionsisomere Chinolin-2-on **56** isoliert werden.

Die Entstehung des 2-Chinolons **56** kann nach *Croisy* mit einer Substitution der Esterfunktion mit einem zweiten Molekül 3,5-Dimethoxyanilin erklärt werden (Abb. 3.77) [203].



i) 3,5-Dimethoxyanilin, ΔT

Abb. 3.77: Mögliche Entstehung des Chinolin-2-ons **56** unter den Bedingungen einer *Wislicenus-Chinolonsynthese* nach *Croisy et al.* [203]

Die Zyklisierung mit anschließenden Umlagerungen und thermischer Eliminierung der 3,5-Dimethoxyanilin-Gruppe führt zu dem Chinolon **56**.

Frühere Chinolonsynthesen nach *Wislicenus* in unserem Arbeitskreis führten nach *Matzanke* allerdings ausschließlich zu 4-Chinolonen [204]. Während *Wislicenus* seine Synthese ausgehend vom Anilin und α -Formylphenylessigsäureethylester beschreibt [202], führte *Matzanke* entsprechende Umsetzungen ausgehend von *N*-Methylanilin, käuflich erworbenen 3- oder 4-Trifluormethyl- bzw. 4-Trifluormethoxyanilinen und α -Formylphenylessigsäureethylester durch.

Die Verbindung **NM 85** von *Matzanke* (Abb. 3.78) wird mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie dahingehend untersucht, ob unter den Bedingungen der *Wislicenus*-Chinolonsynthese wirklich ein 4-Chinolon und nicht wie bei der Umsetzung mit 3,5-Dimethoxyanilin ein 2-Chinolon entstanden ist.

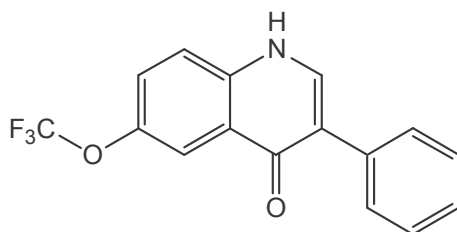


Abb. 3.78: Vermutete Struktur des Chinolin-4-ons **NM 85**

Durch die Hochauflösung des Massenspektrums können indirekt Rückschlüsse über das postulierte 2-Chinolon der Abbildung 3.79 auf die Struktur des Chinolons **NM 85** gezogen werden.

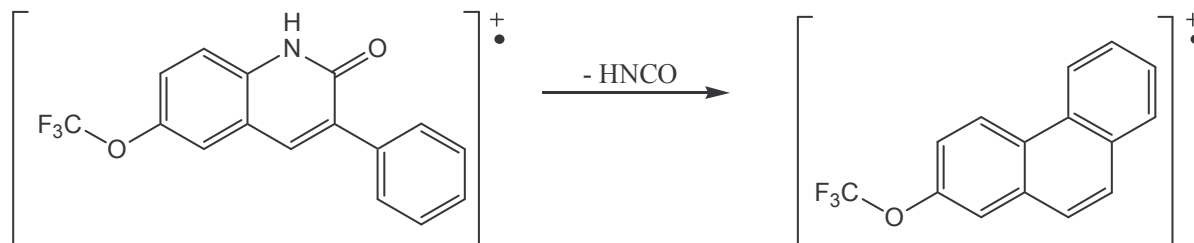


Abb. 3.79: Mögliche Fragmentierungsreaktion unter Abspaltung von Isocyanäure bei 6-Trifluormethoxy-3-phenyl-1,2-dihydrochinolin-2-on

Eine mögliche Fragmentierungsreaktion des 2-Chinolons ist die Abspaltung von Isocyanensäure [205]. Es entstünde ein Phenanthrenderivat der Masse $m/z = 263$. Dieses Fragment kann jedoch in der Hochauflösung des Massenspektrums nicht nachgewiesen werden. Somit liegt die Verbindung **NM 85** wahrscheinlich als 4-Chinolon vor.

Diese Vermutung wird durch das ^{13}C -NMR-Spektrum bestätigt (Abb. 3.80).

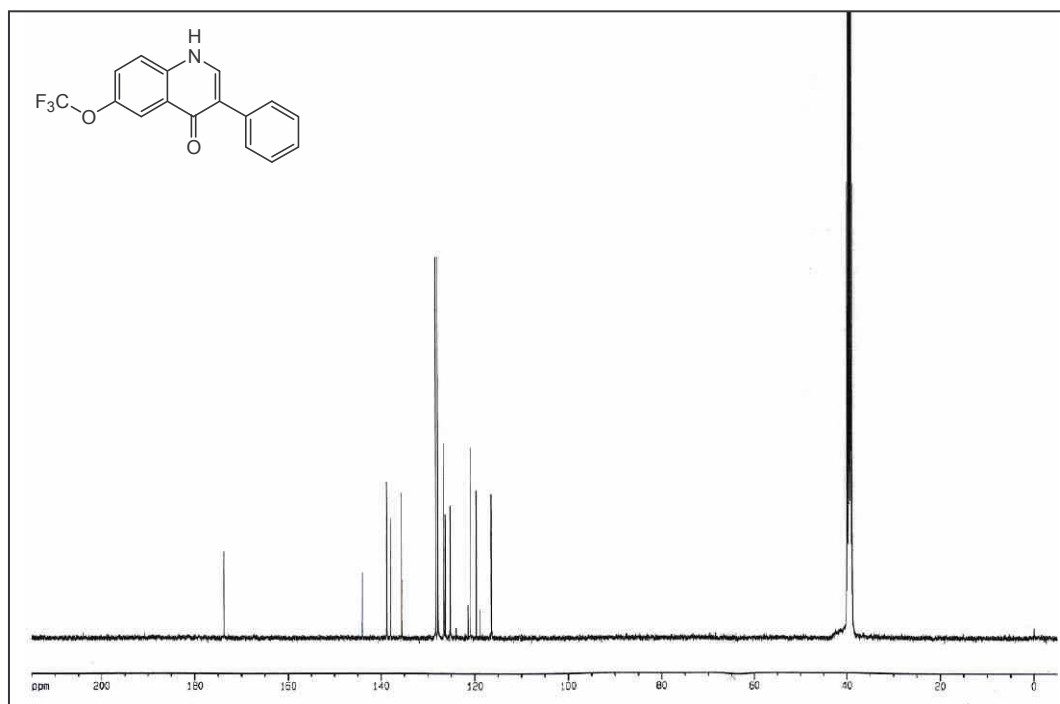


Abb. 3.80: ^{13}C -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) des 2-Chinolons **NM 85**

Der Peak bei 174 ppm spricht für einen Carbonyl-Kohlenstoff in Position 4 des Chinolons.

In der Literatur wird für die Resonanz der Carbonylfunktion eines 2-Pyridons ein Wert von 165 ppm angegeben [206].

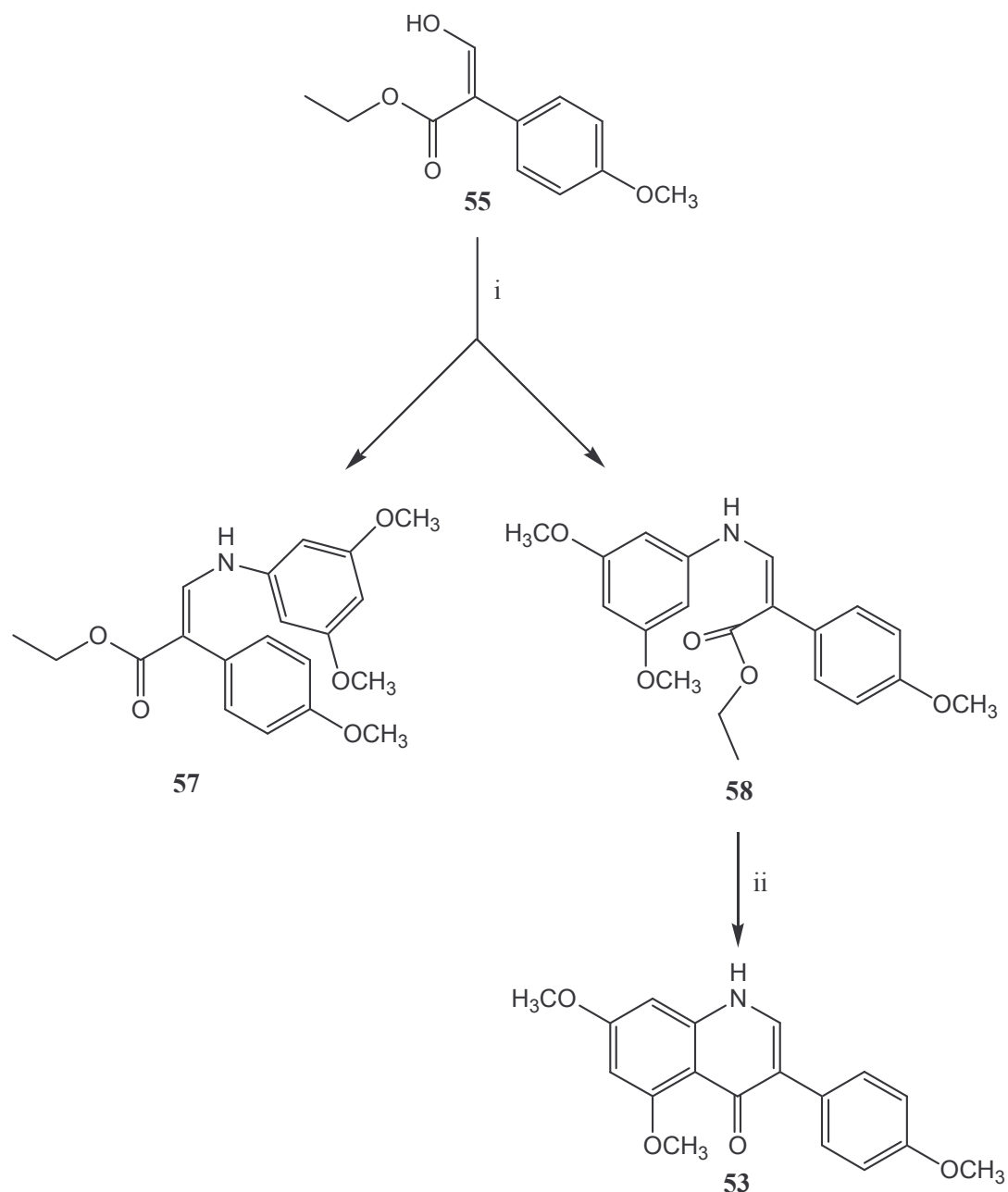
Der Carbonyl-Kohlenstoff des 4-Chinolons ist stärker entschirmt als der eines 2-Chinolons, der durch den benachbarten Stickstoff abgeschirmt wird. Somit ist das Signal der Carbonylfunktion des 4-Chinolons Tieffeld-verschoben verglichen mit dem Signal des 2-Chinolons.

Scheinbar begünstigt die Substitution des Anilins mit Methoxy-Gruppen die Entstehung der 2-Chinolone.

3.4.3 Herstellung des Chinolons **53** nach *Croisy*

Um doch noch die gewünschten 4-Chinolone herstellen zu können, wird nach einer alternativen Synthese gesucht. Dabei gelingt die Herstellung der 4-Chinolone schließlich nach einer Vorschrift, die derjenigen der *Wislicenus-Synthese* stark ähnelt [202].

Ausgegangen wird von 3,5-Dimethoxyanilin und dem Acrylat **55** (Abb. 3.81).



i) 3,5-Dimethoxyanilin, Toluol, ΔT ; ii) Dowtherm A, ΔT , 10 min, dann n-Hexan

Abb. 3.81: Herstellung des Chinolin-4-ons **53**

Durch Erhitzen der beiden Substanzen in Toluol erhält man einen Enaminoester, der sowohl als E-Isomer **57** als auch als Z-Isomer **58** vorliegen kann.

Das Z-Isomer als Hauptprodukt kann von dem E-Isomer durch SC abgetrennt werden. Das E-Isomer entsteht nur in sehr geringen Mengen und kann nicht isoliert werden.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Z-Isomers **58** zeigt deutlich das durch eine WBB Tieffeld-verschobene acide NH-Proton bei 10.20 ppm (Abb. 3.82). Das Methinproton gibt ein Signal bei 7.59 ppm.

Das Kernresonanzspektrum des Gemisches aus E-Isomer **57** und Z-Isomer **58** weist zwei Signale bei 8.32 ppm und 7.93 ppm auf, die zum einen dem NH-Proton und zum anderen dem Methinproton des E-Isomers zugeordnet werden können (Abb. 3.83).

Das NH-Proton der Verbindung **57** ist im Vergleich mit dem NH-Proton des Isomers **58** um 1.88 ppm Hochfeld-verschoben, was durch die fehlende Entschirmung des NH-Protons der Verbindung **57** durch eine WBB begründet werden kann. Hingegen erfährt das Methinproton der Verbindung **57** eine Tieffeld-Verschiebung um 0.34 ppm durch eine stärkere Entschirmung.

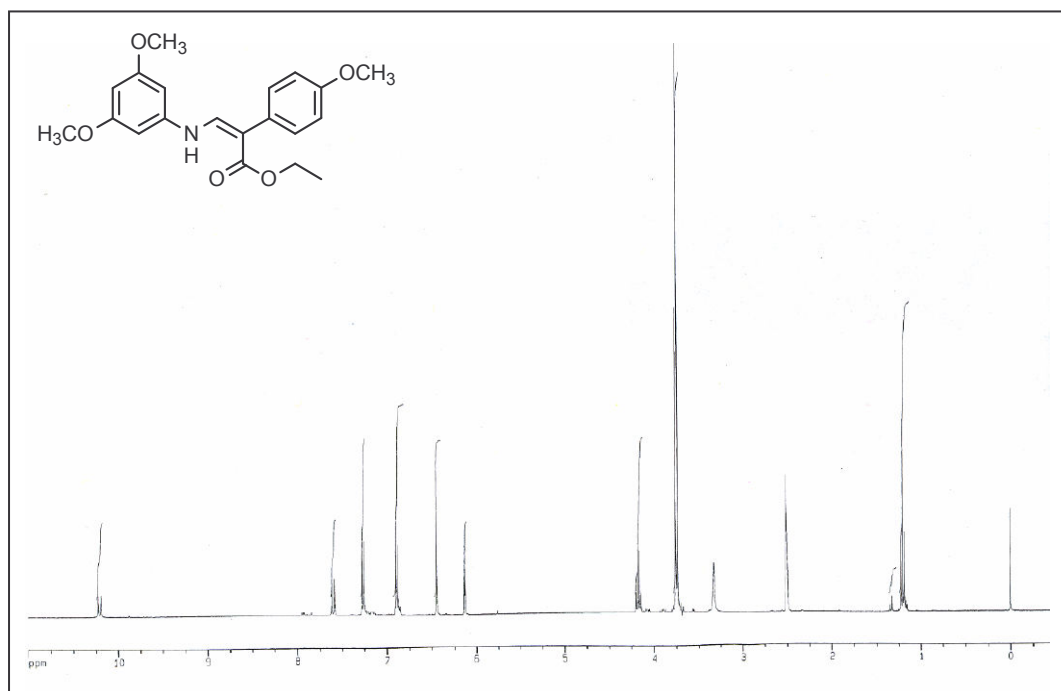


Abb. 3.82: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) des Z-Isomers **58**

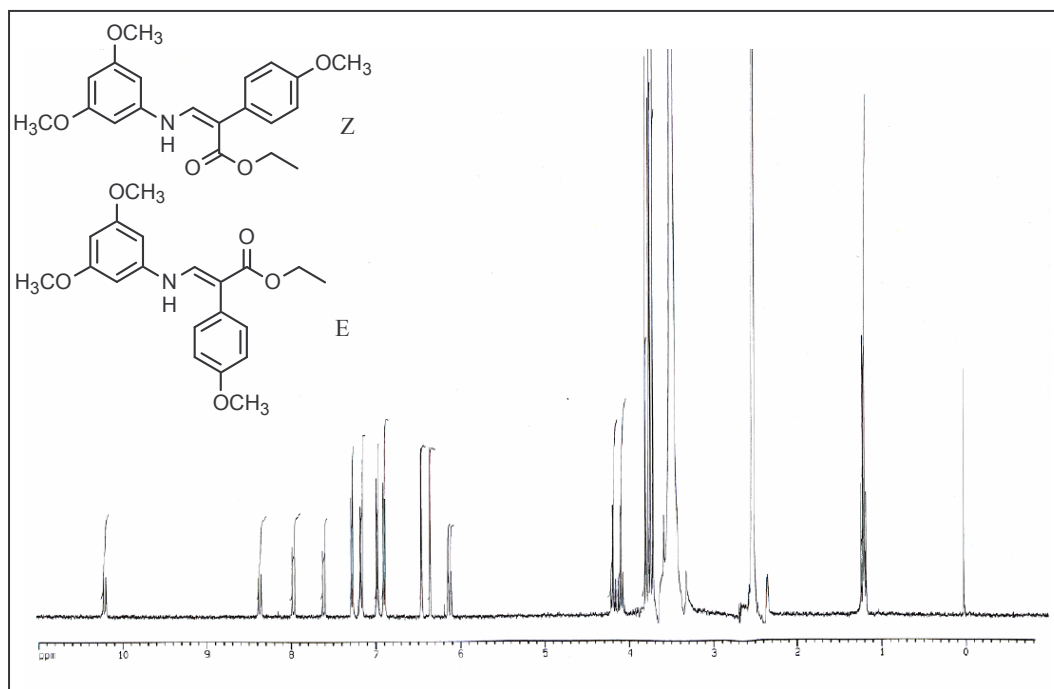


Abb. 3.83: ^1H -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) des Z-Isomers **58** und des E-Isomers **57**

Der Ringschluss des Enaminoesters **58** erfolgt mit Dowtherm A (Abb. 3.81). Kleine Mengen des Enaminoesters **58** werden zu Dowtherm A gegeben und für wenige Minuten erhitzt. Der erkaltete Ansatz wird mit n-Hexan verdünnt. Das 4-Chinolon **53** kann durch Filtration isoliert werden.

Das entstandene 4-Chinolon **53** kann durch IR-Spektroskopie, ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektroskopie von dem durch die Chinolonsynthese nach *Wislicenus* entstandenen 2-Chinolon **56** abgegrenzt werden.

Die Infrarot-Spektren der beiden Verbindungen geben Hinweise auf die Lage der Carbonylfunktion. Das IR-Spektrum der Verbindung **56** weist bei 1648 cm^{-1} eine Bande auf, die auf eine Amid-Struktur hindeutet, wohingegen das Spektrum der Verbindung **53** eine Bande bei 1625 cm^{-1} liefert, die für eine Carbonylfunktion in einem 4-Pyridon-System charakteristisch ist.

Ein Vergleich der Protonenresonanzspektren der beiden Chinolone **53** und **56** zeigt nur geringfügige Unterschiede auf; allerdings ist das Signal des NH-Protons der Verbindung **56** gegenüber der Resonanz des NH-Protons des 4-Chinolons **53** um 0.34 ppm Tieffeldverschoben, was auf die größere Entschirmung des NH-Protons durch die direkte Nachbarschaft der Carbonylfunktion des 2-Chinolons **56** zurückzuführen ist (Abb. 3.84, Abb. 3.85).

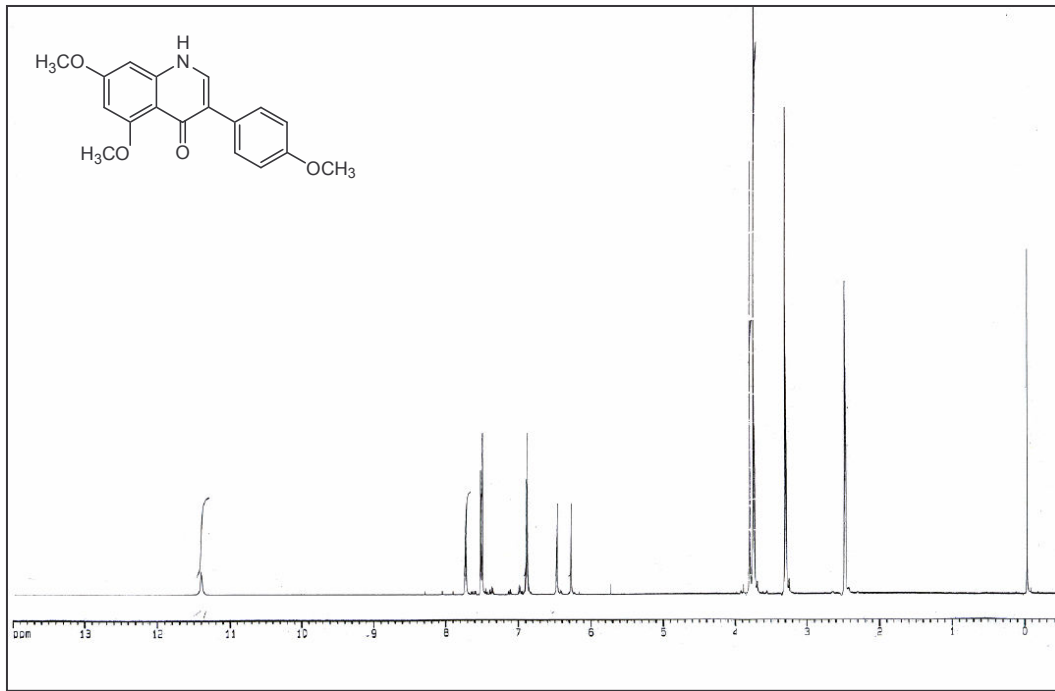


Abb. 3.84: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) der Verbindung 53

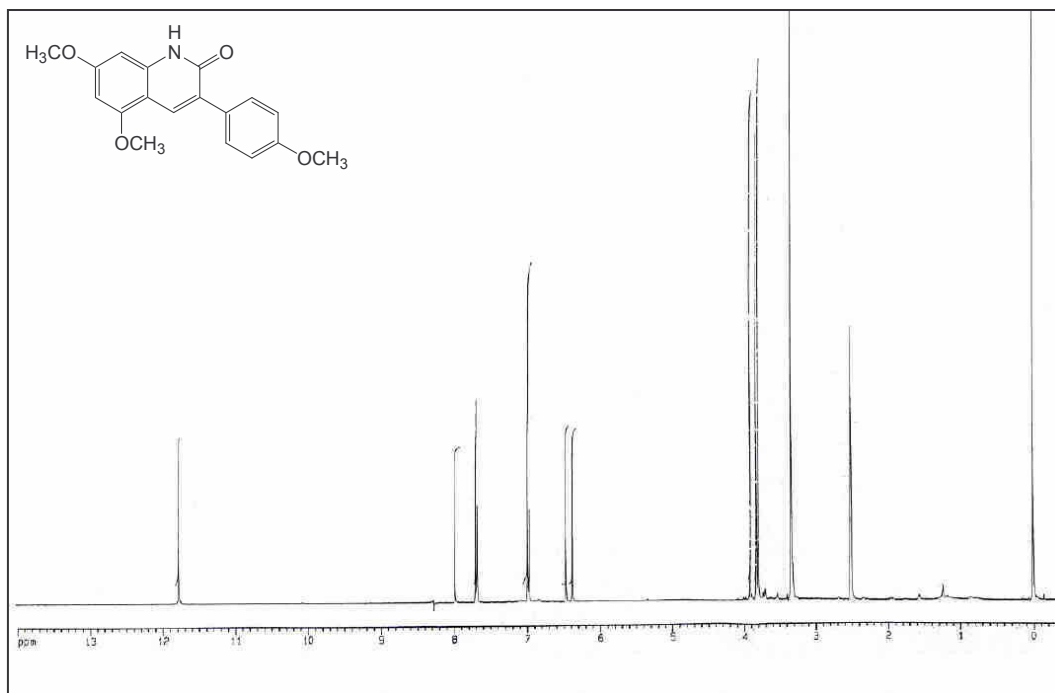


Abb. 3.85: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ($\text{D}_6\text{-DMSO}$) der Verbindung 56

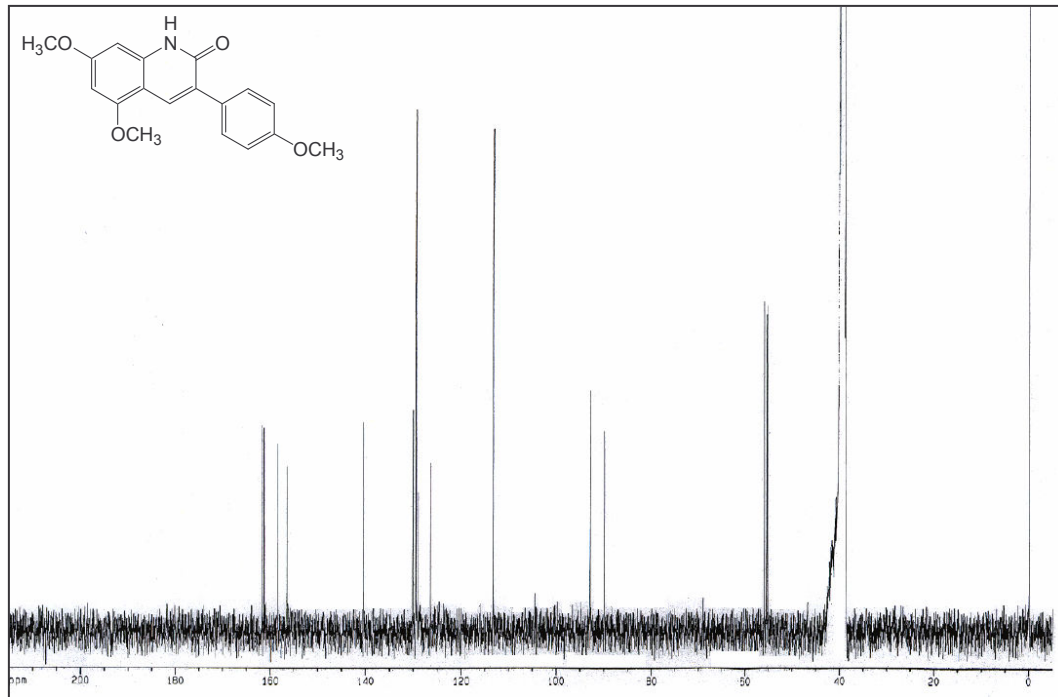


Abb. 3.86: ^{13}C -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) der Verbindung 56

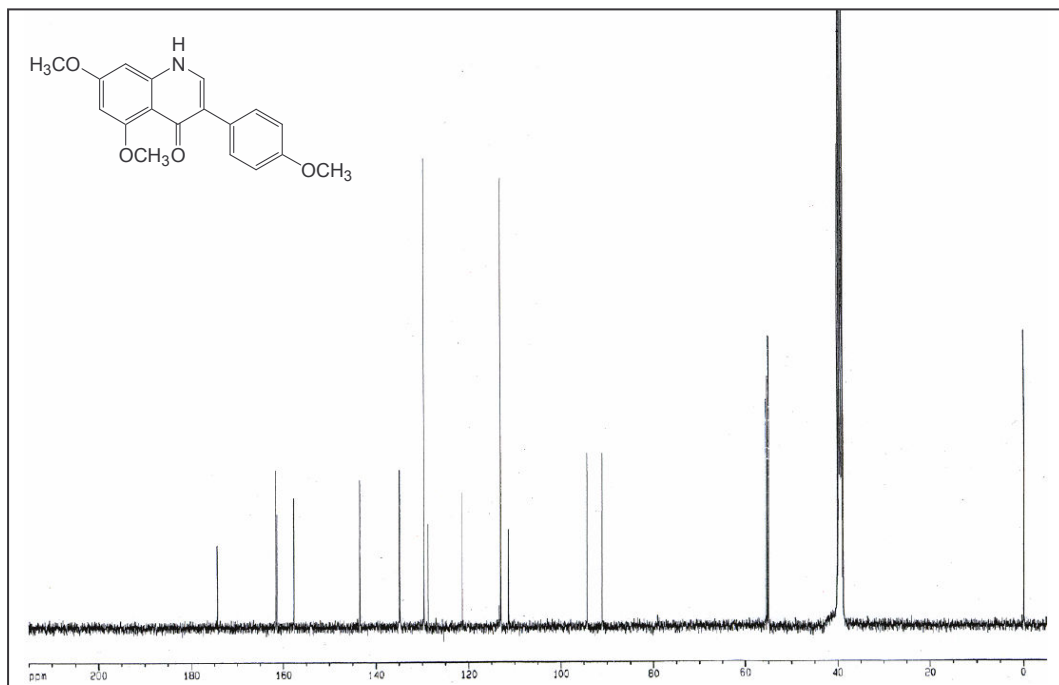


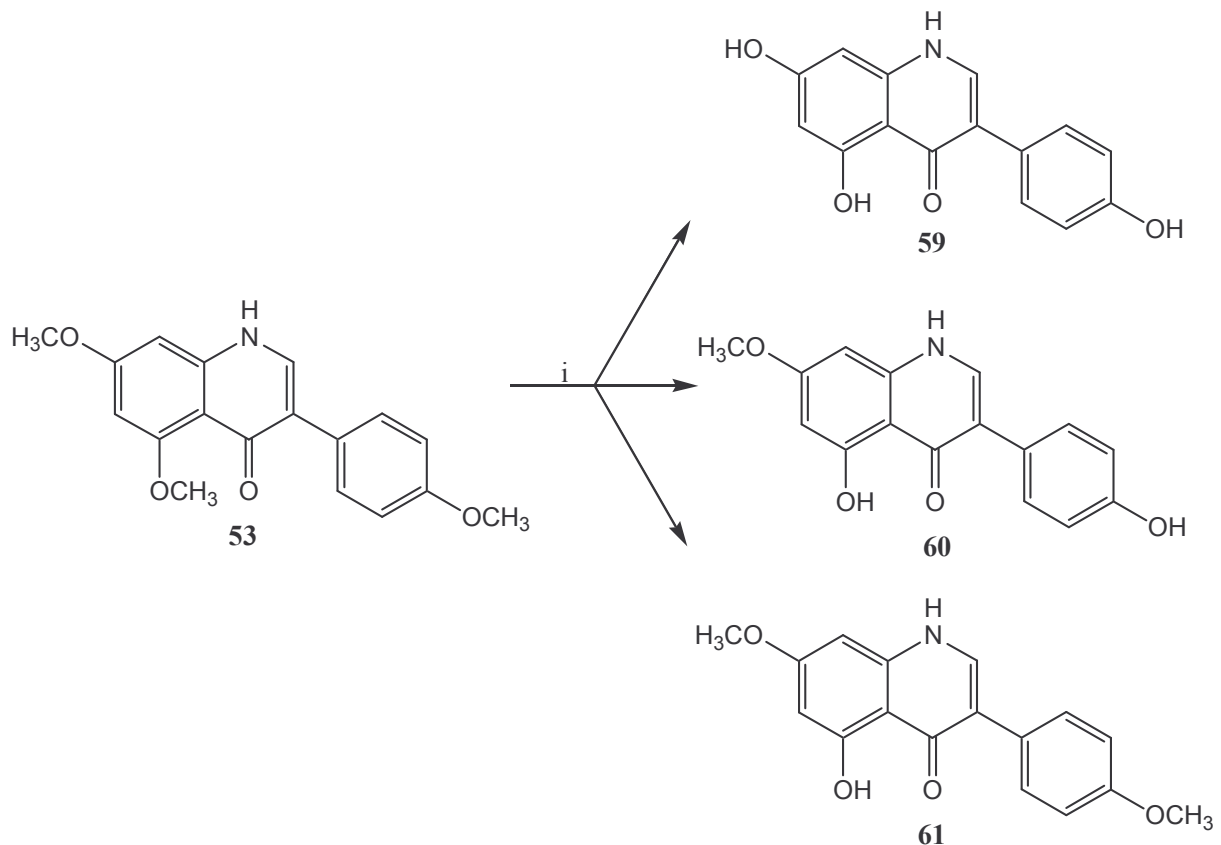
Abb. 3.87: ^{13}C -NMR-Spektrum (D_6 -DMSO) der Verbindung 53

Die ^{13}C -NMR-Spektren der beiden Verbindungen **56** und **53** unterscheiden sich deutlich in der Lage der Signale des jeweiligen Carbonylkohlenstoffs.

Während die Carbonylfunktion des 2-Chinolons **56** ein Signal bei 162 ppm gibt (Abb. 3.86), liegt die Resonanz des Carbonylkohlenstoffs des 4-Chinolons **53** bei 174 ppm (Abb. 3.87). Die Carbonylfunktion des Heterozyklus **53** ist stärker entschirmt als die Carbonylfunktion des 2-Chinolons **56** und daher um 12 ppm Tieffeld-verschoben.

3.4.4 Demethylierung des Chinolons **53**

Die Spaltung der Methoxy-Gruppen des trimethoxylierten 4-Chinolons **53** erfolgt mit Pyridinhydrochlorid (Abb. 3.88) [192]. Dazu wird das 4-Chinolon **53** mit einem großen Überschuss Pyridinhydrochlorid für einige Zeit stark erhitzt und der erkaltete Ansatz mit Wasser verdünnt. Das Produkt kann durch Filtration isoliert werden.



i) Pyridinhydrochlorid, ΔT , dann Wasser

Abb. 3.88: Umsetzung der Verbindung **53** mit Pyridinhydrochlorid

Die Spaltung der Methoxy-Gruppen erfolgt jedoch nicht vollständig. Als Nebenprodukte dieser Reaktion können neben dem gewünschten Chinolon **59** auch das monomethoxylierte Produkt **60** und ebenso die dimethoxylierte Verbindung **61** gewonnen werden. Die Trennung der Produkte erfolgt durch SC.

Das Kernresonanzspektrum des Chinolons **59** belegt die erfolgreiche Spaltung beider Methoxy-Gruppen durch die Resonanzen der drei freien phenolischen OH-Gruppen bei 14.97, 10.17 und 9.36 ppm.

Die Zuordnung der einzigen Methoxy-Gruppe des Chinolons **60** gestaltet sich schwieriger. Eine Zuordnung der funktionellen Gruppe gelingt durch Vergleich der Lage der Hydroxy- und der Methoxy-Gruppen der Verbindungen **53**, **59** und **61**, allerdings erfolgt die endgültige Zuordnung durch Massenspektrometrie.

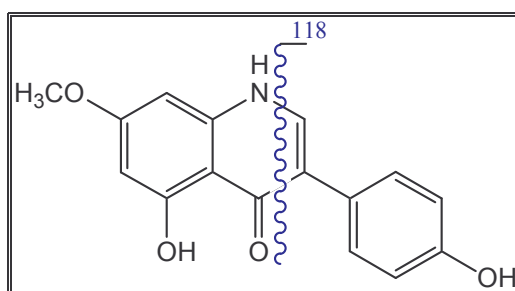


Abb. 3.89: Massenabbau der Verbindung **60**

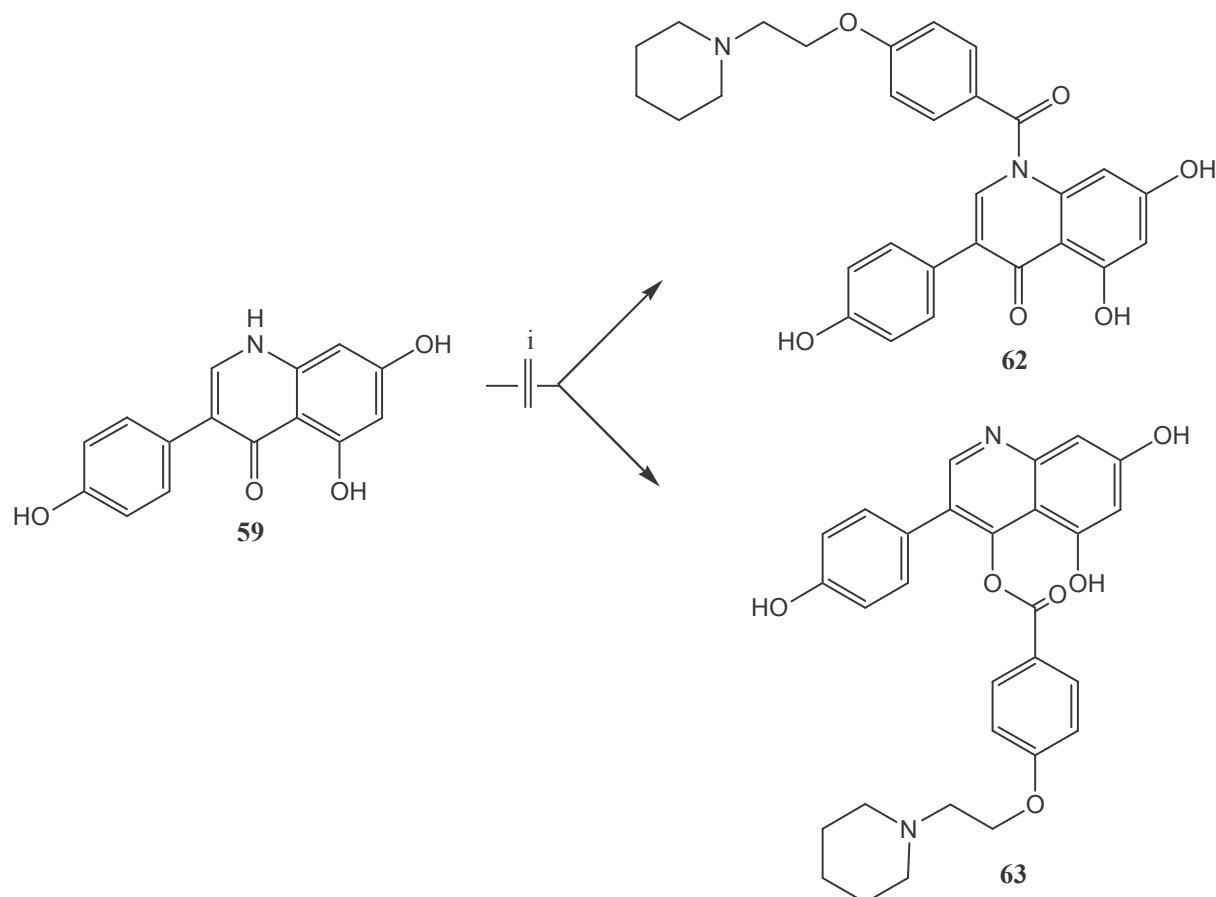
Im Massenspektrum findet man neben dem Molpeak des monomethoxylierten Chinolons **60** bei der Masse $m/z = 283$ einen Peak der Masse $m/z = 118$, der durch den Abbau des 4-Chinolons entsteht (Abb. 3.89). Das Phenylethin-Bruchstück besitzt eine freie OH-Gruppe. Ein Bruchstück der Masse $m/z = 132$, welches auf ein 4'-Methoxy-substituiertes Phenylethinfragment hinweisen würde, wird nicht gefunden.

Daraus ergibt sich, dass die Resonanz bei 9.39 ppm durch das Proton der 4'-OH-Gruppe, die Resonanz bei 3.83 ppm durch die 7-Methoxy-Gruppe verursacht wird. Das Signal der 5-OH-Gruppe erscheint bei 15.03 ppm.

Die Zuordnung der zwei Methoxy-Gruppen des 4-Chinolons **61** gelingt durch Protonenresonanzspektroskopie. Bei 14.97 ppm liegt die Resonanz der 5-OH-Gruppe von **61**. Die Signale bei 3.84 und 3.75 ppm können den beiden Methoxy-Gruppen zugeordnet werden.

3.4.5 Versuch der Herstellung der Chinoline 62 oder 63

Die weitere Umsetzung des 4-Chinolons **59** erfolgt mit dem Säurechlorid der Verbindung **8** in 1,4-Dioxan unter Rückfluss (Abb. 3.90).



i) Säurechlorid der Verbindung **8**, 1,4-Dioxan, ΔT

Abb. 3.90: Versuch der Herstellung der Verbindungen **62** und **63**

Hierbei kann jedoch trotz vielfacher Variationen der Reaktionsbedingungen wie der Erhöhung der Temperatur, der Verlängerung der Reaktionszeit und dem Zusatz geringer Mengen DMF zu dem Reaktionsansatz keine Einführung der Seitenkette in das 4-Chinolon **59** beobachtet werden.

Untersuchungen zur Acylierung von 4-Pyridon durch *Effenberger* zeigten, dass Umsetzungen von 4-Pyridon mit aliphatischen Carbonsäureanhydriden und Carbonsäurechloriden ausschließlich zur Bildung von *N*-Acyl-4-pyridonen führen [207]. In Lösung hingegen erhält man ein Gleichgewicht von *N*-Acyl-4-pyridonen und Acyloxypyridinen, wobei höhere

Temperaturen und zunehmende Polarität des Lösungsmittels die Entstehung der Acyloxyypyridine begünstigen. Die Acylierung des 4-Pyridons mit aromatischen Acylierungsmitteln verläuft nach *Effenberger* schlechter als die mit aliphatischen Reagenzien. Interessanterweise führt die Umsetzung mit *ortho*-substituierten Benzoesäurechloriden ausschließlich zu *N*-Acylierungen, wohingegen *meta*- und *para*-Substitution der Benzoylchloride zu *O*-Acylierungen führen (Abb. 3.91) [207].

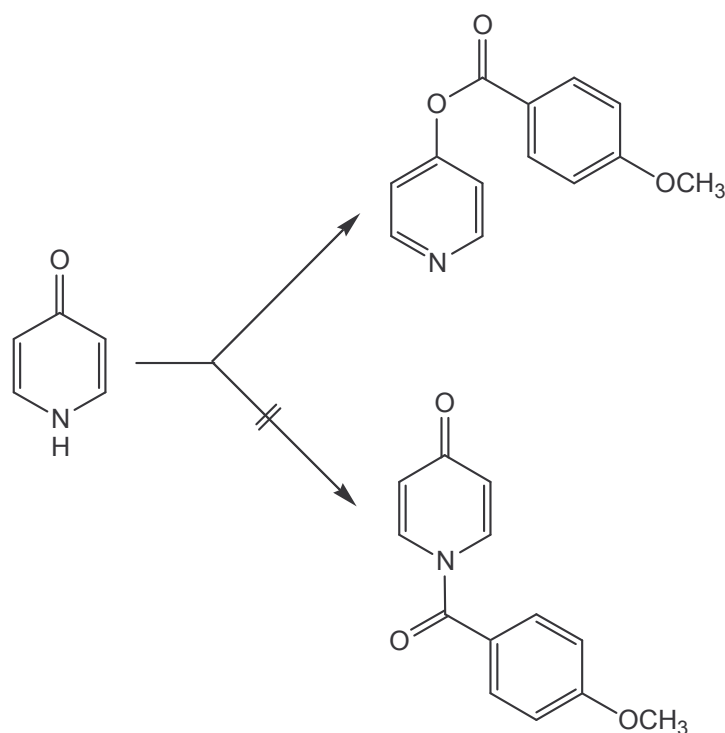


Abb. 3.91: Umsetzung von 4-Pyridon mit 4-Methoxybenzoylchlorid nach *Effenberger* [207]

Die Umsetzung von 4-Methoxybenzoylchlorid mit 4-Pyridon in Pyridin bei Raumtemperatur führt nach *Effenberger* mit einer Ausbeute von 89 % zu 4-(4-Methoxybenzoyloxy)-pyridin. Inwieweit diese Ergebnisse jedoch auf das Reaktionsverhalten von 4-Chinolen übertragbar sind, ist nicht geklärt.

Allerdings kann bei der Umsetzung der Verbindung **59** weder die Entstehung des *N*-acylierten Produktes **62** noch des *O*-acylierten Produktes **63** festgestellt werden. Es tritt jedoch auch keine Acylierung der freien Hydroxy-Gruppen auf. Das Chinolon **59** kann unverändert aus dem Reaktionsansatz isoliert werden. Auch der Versuch, die Seitenkette in das dimethoxylierte 4-Chinolon **53** einzuführen, bleibt erfolglos.

Die Herstellung eines Chinolins, das mit einer Seitenkette substituiert ist, gelingt somit nicht.