

4-Chinolon-3-carboxamide:
Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Behandlung der
afrikanischen Schlafkrankheit

Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg



vorgelegt von
Georg Hiltensperger
aus Füssen

Würzburg 2013

Eingereicht am: _____

Bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie

1. Gutachter: _____

2. Gutachter: _____

der Dissertation

1. Prüfer: _____

2. Prüfer: _____

3. Prüfer: _____

des öffentlichen Promotionskolloquiums

Tag des öffentlichen Promotionskolloquiums: _____

Doktorurkunde ausgehändigt am: _____

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 2009 bis April 2013 am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg unter der Anleitung von **Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe** mit finanzieller Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 630) angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in folgender Form veröffentlicht:

Posterpräsentationen:

Hiltensperger, G.; Niedermeier, S.; Singethan, K.; Rohrer, S. G.; Matz, M.; Kossner, M.; Diederich, S.; Maisner, A.; Schmitz, J.; Baumann, K.; Schneider-Schaulies, J.; Holzgrabe, U.
A Small Molecule Inhibitor of Nipah Virus Envelope Protein-Mediated Membran Fusion.
DPhG-Jahrestagung, **2009**, Jena.

Hiltensperger, G.; Niedermeier, S.; Stich, A.; Holzgrabe, U.
New Quinolone-Type Molecules against Trypanosoma brucei.
21st International Symposium of Medicinal Chemistry, **2010**, Brüssel.

Hiltensperger, G.; Niedermeier, S.; Stich, A.; Holzgrabe, U.
Synthesis and Structure Activity Relationship of Novel Quinolone-Type Compounds against Trypanosoma brucei.
DPhG-Jahrestagung, **2010**, Braunschweig.

Hiltensperger, G.; Jones, N. G.; Stich, A.; Jung, J.; Engstler, M.; Holzgrabe, U.
7-Morpholino-4-quinolone-3-carboxamide 1 As New Lead Structure against Trypanosoma brucei.
DPhG/OePhG-Jahrestagung, **2011**, Innsbruck.

Hiltensperger, G.; Jones, N. G.; Meinel, L.; Engstler, M.; Holzgrabe, U.
Development of New 7-Morpholino-4-quinolone-3-carboxamide Derivatives as Potential New Drugs against Trypanosoma brucei.
22st International Symposium of Medicinal Chemistry, **2012**, Berlin.

Vortrag:

Hiltensperger, G.; Jones, N. G.; Kaiser, M.; Engstler, M.; Meinel, L.; Holzgrabe, U.
Development of New 7-Morpholino-4-quinolone-3-carboxamide Derivatives as Potential New Drugs against Trypanosoma brucei.
Doktorandentagung der DPhG, **2012**, Weimar.

Originalarbeiten:

Heller, E.; Gutmann, A.; Hiltensperger, G.; Lautenschläger, W.; Lohse, M. J.; Schad, C.; Schirmeister, T.; Seufert, F.; Zlotos, D. P.; Holzgrabe, U. Microwave Hydrogenations. *GIT Labor. J.* **2013**, 1-2, 32-33.

Ader, N.; Brindley, M.; Avila, M.; Orvell, C.; Horvat, B.; Hiltensperger, G.; Schneider-Schaulies, J.; Vandeveld, M.; Zurbriggen, A.; Plemper, R. K.; Plattet, P. Active Membrane Fusion Triggering Mechanism by Morbillivirus Attachment Protein. *J. Virol.* **2013**, 87 (1), 314-326.

Hiltensperger, G.; Jones, N. G.; Niedermeier, S.; Stich, A.; Kaiser, M.; Jung, J.; Puhl, S.; Damme, A.; Braunschweig, H.; Meinel, L.; Engstler, M.; Holzgrabe, U. Synthesis and Structure-Activity Relationships of New Quinolone-Type Molecules against *Trypanosoma brucei*. *J. Med. Chem.* **2012**, 55 (6), 2538-2548.

Singethan, K.; Hiltensperger, G.; Kendl, S.; Wohlfahrt, J.; Plattet, P.; Holzgrabe, U.; Schneider-Schaulies, J. *N*-(3-Cyanophenyl)-2-phenylacetamide, an Effective Inhibitor of Morbillivirus-Induced Membrane Fusion with low Cytotoxicity. *J. Gen. Virol.* **2010**, 91 (11), 2762-2772.

Niedermeier, S.; Singethan, K.; Rohrer, S. G.; Matz, M.; Kossner, M.; Diederich, S.; Maisner, A.; Schmitz, J.; Hiltensperger, G.; Baumann, K.; Holzgrabe, U.; Schneider-Schaulies, J. R. A Small-Molecule Inhibitor of Nipah Virus Envelope Protein-Mediated Membrane Fusion. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (14), 4257-4265.

Danksagung

Mein Dank gilt in erster Linie **Frau Prof. Dr. Ulrike Holzgrabe**. Durch die freundliche Aufnahme in Deinem Arbeitskreis und das in mich gesetzte Vertrauen wurde mir die Möglichkeit gegeben, das umfangreiche Themengebiet der medizinischen Chemie kennen zu lernen und Einblicke in die komplexe Welt der Wirkstoffentwicklung zu erhalten.

In gleicher Weise möchte ich mich bei **Herrn Prof. Dr. Dr. Meinel** bedanken. Die „glücklicherweise“ geringe Löslichkeit der Chinolon-Derivate ermöglichte die Zusammenarbeit mit Ihnen und Ihrem Arbeitskreis, wodurch ich die Gelegenheit bekam, das für mich bisweilen unbekannte Gebiet der pharmazeutischen Technologie zu betreten und unter Ihrer Leitung neue Ansätze und Techniken zur Löslichkeitsverbesserung zu erarbeiten.

Desweiteren möchte ich meinen Kooperationspartnern danken, ohne jene die Realisierung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

- **Nina Hecht** für die umfangreiche physiko-chemische Charakterisierung der „GHQs“, aber auch darüber hinaus für Deine stets freundliche Art. An dieser Stelle möchte ich aber auch dem gesamten AK Meinel für die freundliche Aufnahme und Unterstützung danken; speziell bei **Anja Balk** und **Sebastian Puhl** für die theoretische und praktische Hilfe.
- **Herr Prof. Dr. Engstler** und **Dr. Jones** für die aufwendigen biologischen Untersuchungen zur Identifikation von Target und Wirkmechanismus.
- **Marcel Kaiser** für die *In-vivo*-Untersuchungen und die Gastfreundschaft während meines kurzen Aufenthalts in Basel.
- **Alexander Hörst** für die Bestimmung der Proteinbindung.
- **Dr. Esch** und **Annette Albrecht** für die Metabolismus- und Genotoxizitäts-Untersuchungen. Bei Dir, Annette, aber auch zusätzlich für die unterhaltsame Zeit im Praktikum.
- **Frau PD Dr. Bruhn**. Ein ganz besonderer Dank geht an Sie und das Z1-Team für die umfangreichen biologischen Testungen der „GHQs“, aber vor allem auch für die zahlreichen Erläuterungen biologischer Sachverhalte.

Mein besonderer Dank gilt auch **Dr. Eberhard „Ebi“ Heller**. Die Einführung in das Gebiet der Mikrowellen-unterstützten Synthese ermöglichte mir das Erlernen alternativer Synthesemethoden. Darüber hinaus danke ich Dir für unzählige chemische „Tipps und Tricks“ sowie für Deine Experimentierfreudigkeit um die physikalischen Grenzen der *MLS*-Systeme auszutesten!

Ebenso bedanke ich mich bei Dir, **Liana Pogorelaja**, für Deine stetige Hilfe und das kontinuierliche Synthetisieren von Zwischenstufen, was den schnellen Aufbau der GHQ-Substanzbibliothek erst möglich machte. Vor allem zum Ende meiner Promotion hast Du mir dadurch sehr viel Arbeit abgenommen.

Bei **Dr. Curd Schollmayer** möchte ich mich für die praktische Einführung in die NMR-Spektroskopie und die vielen Diskussionen über den FCB bedanken. „Auf dass die Bayern nochmal das Triple holen!“

Und somit komme ich zum AK Holzgrabe:

Für die gute Zusammenarbeit und die gegenseitige Hilfsbereitschaft möchte ich mich bei allen herzlich bedanken.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine ehemaligen Laborkollegen und Freunde: **Christine, Christina, Michi, Max, Andi** und **Jessy**; Euch danke ich für die tolle Arbeitsatmosphäre aber noch viel mehr für die gemeinsame Zeit außerhalb des Labors! Und in gleicher Weise möchte ich mich zu guter Letzt auch bei **Ines, Flo, Johannes, Steffi, Lu, David, Oli** und **Regina** bedanken. Ihr habt mir die anstrengende Zeit des Schreibens sehr erleichtert!

*Meinen großartigen Eltern
und Geschwistern*

1	EINLEITUNG	1
1.1	AFRIKANISCHE SCHLAFKRANKHEIT	1
1.1.1	Historischer Verlauf und aktueller Stand	1
1.1.2	<i>Trypanosoma brucei</i>	2
1.1.3	Krankheitsverlauf und Symptome	4
1.1.4	Therapiemöglichkeiten und deren Grenzen	4
1.1.5	Was ist in der „Pipeline“?	9
1.2	WIRKSTOFFENTWICKLUNG	10
1.2.1	„Hit“ Identifikation	12
1.2.2	„Hit-to-Lead“- und Leitstruktur-Optimierung	14
1.2.2.1	Absorption, Verteilung, Metabolismus, Eliminierung (ADME).....	15
1.2.2.2	Toxikologie.....	16
1.2.3	Präklinische Studie.....	17
2	ZIELSETZUNG	19
3	ERGEBNISSE	25
3.1	„HIT-TO-LEAD“-OPTIMIERUNG	25
3.1.1	Leitstrukturfindung durch qualitative Struktur-Wirkungs-Beziehung.....	25
3.1.1.1	Synthese von 1-Alkyl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten.....	25
3.1.1.1.1	Synthese von Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivaten	26
3.1.1.1.2	Synthese von 4-Hydroxy-chinolin-Derivaten	28
3.1.1.1.3	Synthese von 1-Alkyl-4-oxo-chinolin-3-carbonsäuren.....	32
3.1.1.1.4	Synthese von 7-Amino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivaten	33
3.1.1.1.5	Einführung C-C-gekuppelter Substituenten in Pos. 6 und 7.	40
3.1.1.1.6	Synthese von Arylaminen	42
3.1.1.1.7	Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden und -3-carboxylaten.....	43
3.1.1.2	Analyse der Struktur-Wirkungs-Beziehung.....	48
3.1.2	Versuch der Leitstrukturfindung mittels Variation des Amin-Substituenten in Pos. 7	59
3.1.2.1	Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten	59
3.1.2.1.1	Synthese von 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoylessigsäureethylester.....	60
3.1.2.1.2	Synthese von Z/E-2-(2,4-Dichlor-5-fluorbenzoyl)-3-((2-fluorphenyl)amino)-acrylsäureethylester und 7-Chlor-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure.....	61
3.1.2.1.3	Einführung <i>prim.</i> und <i>sek.</i> Amine in Pos. 7 via S _N Ar	64

3.1.2.1.4	Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamiden.....	72
3.1.2.2	Biologische Untersuchung der 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide.....	75
3.2	WEITERFÜHRENDE UNTERSUCHUNGEN DER 7-MORPHOLINO-4-CHINOLON-3-CARBOXAMID-LEITSTRUKTUR 33.....	81
3.2.1	Metabolismusuntersuchungen von Verbindung 33.....	86
3.2.2	Identifizierung von Target und Wirkmechanismus	90
3.2.2.1	4-Chinolon Antibiotika als Topoisomerase-Inhibitoren	90
3.2.2.2	Untersuchungen zur Identifikation des Targets der 4-Chinolon-3-carboxamide	91
3.2.2.3	Fluoreszenzfarbstoffmarkierung von Verbindung 33	95
3.2.3	Problematik der sehr geringen Wasserlöslichkeit.....	98
3.3	ANSÄTZE ZUR VERBESSERUNG DER LÖSLICHKEIT IN WASSER.....	101
3.3.1	Pharmazeutisch-technische Ansätze	102
3.3.1.1	Selbstemulgierende Systeme (SEDDS)	102
3.3.1.1.1	Entwicklung eines geeigneten SEDDS	104
3.3.1.1.2	<i>In-vivo</i> -Untersuchung von 33 mittels entwickeltem SEDDS.....	106
3.3.1.2	Amorphe sprühgetrocknete Dispersion (ASDD)	107
3.3.1.2.1	Herstellung von ASDDs	108
3.3.1.2.2	Untersuchung der Wirkstofffreisetzung.....	110
3.3.1.2.3	<i>In-vivo</i> -Testung von ASDD _{Eudragit}	112
3.3.2	Verbesserung der Wasserlöslichkeit durch chemische Strukturmodifikation	114
3.3.2.1	Erhöhung der Hydrophilie der Leitstruktur 33	115
3.3.2.1.1	Synthese von 7-Morpholino-4-chinolon-3-carboxamiden mit verringerter Lipophilie	115
3.3.2.1.1.1	Synthese von Sulfonamid-substituierten Benzylaminen.....	115
3.3.2.1.1.2	Synthese von 1-(2-Methoxyethyl)-4-chinolon-3-carbonsäure	116
3.3.2.1.1.3	Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden mit zusätzlichen polaren Strukturelementen.....	117
3.3.2.1.2	Biologische und physiko-chemische Eigenschaften der modifizierten 4-Chinolon-3-carboxamide	118
3.3.2.2	Löslichkeitsverbesserung durch Synthese pharmazeutischer Salze und Co-Kristalle	120
3.3.2.2.1	Synthese von 4-Chinolon-Hydrochlorid- und -Natrium-Salzen	121
3.3.2.2.1.1	Synthese von <i>N</i> -Benzyl-4-chinolon-3-carboxamidin-Derivaten.....	121
3.3.2.2.1.2	Synthese eines aziden 4-Hydroxy-2-chinolon-3-carboxamid-Analogon der Verbindung 33	123
3.3.2.2.2	Synthese von Oxalsäure-Salzen und -Co-Kristallen	130
3.3.2.2.2.1	Synthese von Benzylaminen mit Ether-verbrückten Pyridin und <i>tert.</i> Amin Substituenten	131
3.3.2.2.2.2	Synthese eines 7-Morpholino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivats mit <i>tert.</i> Amin-Rest in Pos. 1 ...	131
3.3.2.2.2.3	Synthese einer 4-Oxo-1,6-naphthyridin-Grundstruktur	132
3.3.2.2.2.4	Amidierung der Naphthyridon- bzw. 4-Chinolon-3-carbonsäure-Vorstufen und Isolierung als Oxalsäuresalz bzw. -Co-Kristall	135
3.3.2.2.2.5	Salz oder Co-Kristall: Charakterisierung der Oxalat-Verbindungen	136

3.3.2.2.3	Biologische Aktivitäten und physiko-chemische Eigenschaften der synthetisierten Salz- und Co-Kristall-Derivate	138
3.4	AUSWAHL OPTIMIERTER LEITSTRUKTUREN UND WEITERE PHYSIKO-CHEMISCHE SOWIE BIOLOGISCHE CHARAKTERISIERUNG	141
3.4.1	<i>Ligand efficiency</i> und <i>lipophilic ligand efficiency</i>	141
3.4.2	Auswahl neuer 4-Chinolon-3-carboxamid-Leitstrukturen mittels LE und LLE.....	142
3.4.3	Weiterführende Untersuchungen der optimierten Leitstrukturen	144
3.4.3.1	<i>In-vitro</i> -Bestimmung von Permeabilität und Plasmastabilität	146
3.4.3.2	Physiko-chemische Charakterisierung mittels Sirius T3	148
3.4.3.3	<i>In-vivo</i> -Untersuchung der Oxalat-Derivate 94 und 96.....	153
4	ZUSAMMENFASSUNG	157
5	SUMMARY	161
6	EXPERIMENTALTEIL	165
6.1	ALLGEMEINE METHODEN	165
6.1.1	Verwendete Apparaturen und Messgeräte	165
6.1.2	Chromatographische Methoden	168
6.1.3	Verwendete Chemikalien.....	170
6.2	SYNTHESE VON 1-ALKYL-4-CHINOLON-3-CARBOXAMID-DERIVATEN MITTELS GOULD-JACOBS SYNTHESE.	171
6.2.1	Synthese von 3-Brom-4-fluoranilin (2).....	171
6.2.2	Synthese von Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivaten (3a - c).	172
6.2.3	Synthese von 4-Hydroxychinolin-3-carbonsäureethylester-Derivaten (4a - c).	175
6.2.4	Synthese von 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivaten (5a - b) und 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester-Derivaten (5c - d).....	177
6.2.5	Synthese von 7-Amino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivaten (6a - j) via S_NAr	182
6.2.5.1	Methode 1 (Synthese in DMF)	182
6.2.5.2	Boc-Schützung von Verbindung 6e	188
6.2.5.3	Methode 2 (lösungsmittelfreie Synthese)	189
6.2.5.4	Methode 3 (Borester-unterstützte S_NAr).....	192
6.2.6	Synthese von 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivaten (6k - l) mit C-C-gekoppelten Substituenten in Position 6 oder 7.....	193

6.2.7	Synthese von Arylaminen (7a - c).....	195
6.2.7.1	Synthese von mononitrierten Benzyl- und Phenethylaminen (7a - b).....	195
6.2.7.2	Synthese von Furfurylamin (7c)	197
6.2.8	Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamid und -3-carboxylat-Derivaten (8 - 39)....	198
6.2.8.1	Amidierung mittels gemischten Anhydrid	198
6.2.8.2	Synthese von 1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor- <i>N</i> -(4-hydroxy-benzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (38).....	233
6.2.8.3	Synthese von Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxylat (39).....	235
6.2.8.4	Synthese von <i>N</i> -Benzyl-1-butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor- <i>N</i> -methyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (40)	236
6.3	SYNTHESE VON 1-ARYL-4-CHINOLON-3-CARBOXAMID-DERIVATEN MITTELS GROHE-HEITZER-METHODE	238
6.3.1	Synthese von 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoylessigsäureethylester (41).....	238
6.3.2	Synthese von <i>Z/E</i> -2-(2,4-Dichlor-5-fluorbenzoyl)-3-((2-fluorphenyl)amino)-acrylsäureethylester (42)	239
6.3.3	Synthese von 7-Chlor-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (43).....	240
6.3.4	Synthese von 7-Amino-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivaten	241
6.3.4.1	4-Chinolon-Derivate mit cyclischen Amin-Substituenten in Pos. 7 (44a - d).....	241
6.3.4.2	Acetylierung und Boc-Schätzung der Piperazinyl-Derivate 44c - d.....	245
6.3.4.3	4-Chinolon-Derivate mit acyclischen Amin-Substituenten in Pos. 6 und 7 (44h/h' - k/k').....	247
6.3.5	Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten (45 - 61)	254
6.3.5.1	Amidierung mittels gemischtem Anhydrid.....	254
6.3.5.2	Synthese von <i>N</i> -(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (57)	267
6.3.5.3	Synthese von <i>N</i> -(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-((2-hydroxyethyl)amino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (58).....	269
6.3.5.4	Synthese von 7-((2-Aminoethyl)amino)- <i>N</i> -(2,4-dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (59).....	270
6.3.5.5	Formylierung und Acetylierung von Verbindung 53.....	271
6.4	SYNTHESE EINES FLUORESZENZFARBSTOFFMARKIERTEN 4-CHINOLON-3-CARBOXAMID-DERIVATES	273
6.4.1	Synthese von 2,6-Dimethyl-4-[(<i>E</i>)-2-(2,3,6,7-tetrahydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]-chinolin-9-yl)vinyl]pyranilium-Tetrafluorborat (Py1, 62).....	273
6.4.2	Synthese eines Benzylamin-Linkers	274
6.4.2.1	Synthese von 4-(Aminomethyl)phenol-Hydrobromid (63)	274
6.4.2.2	Synthese von <i>tert</i> -Butyl-4-hydroxybenzylcarbammat (64).....	275

6.4.2.3	Synthese von 4-(3-(1,3-Dioxoisindolin-2-yl)propoxy)benzylammonium 2,2,2-Trifluoracetat (65).....	275
6.4.3	Synthese von 1-Butyl- <i>N</i> -(4-(3-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)propoxy)benzyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (66).....	276
6.4.4	Synthese von <i>N</i> -(4-(3-Aminopropoxy)benzyl)-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (67).....	278
6.4.5	Synthese von (E)-1-(1-Butyl-6-fluor-7-morpholino- <i>N</i> -(4-propoxybenzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid)-2,6-dimethyl-4-[2-(2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-benzo[<i>ij</i>]chinolizidin-9-yl)ethenyl]pyridinium-Tetrafluorborat (68).....	279
6.5	SYNTHESE VON 4-CHINOLON-3-CARBOXAMIDEN MIT VERBESSERTER WASSERLÖSLICHKEIT	281
6.5.1	Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden mit verringerter Lipophilie.....	281
6.5.1.1	Synthese Sulfonamid-substituierter Benzylamine (70 - 71)	281
6.5.1.2	Synthese von 6-Fluor-1-(2-methoxyethyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (73).....	283
6.5.1.3	Synthese der 4-Chinolon-3-carboxamide 74 - 77	285
6.5.2	Synthese von pharmazeutischen Salzen.....	290
6.5.2.1	Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamidin-Derivaten (78 - 79)	290
6.5.2.2	Synthese von Natrium-3-(benzylcarbamoyl)-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,2-dihydro-2-oxo-chinolin-4-olat (83).....	293
6.5.3	Synthese von Oxalsäure-Salzen und -Co-Kristallen.....	298
6.5.3.1	Synthese von Benzylaminen mit Ether-verbrückten Pyridin- und <i>tert.</i> Amin-Substituenten (84 - 85)	298
6.5.3.2	Synthese von 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (87).....	300
6.5.3.3	Synthese von 1-Butyl-7-morpholino-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (92)	302
6.5.3.3.1	Synthese von 4,6-Dichlornicotinsäure (90)	302
6.5.3.3.2	Synthese von 1-Butyl-7-morpholino-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (92)	304
6.5.3.4	Amidierung und Synthese von Oxalsäuresalzen und Co-Kristallen (93 - 98)	306
6.6	HERSTELLUNG VON SPRÜHGETROCKNETEN DISPERSIONEN DER VERBINDUNG 33 UND FREISETZUNGSEXPERIMENTE	314
6.6.1	Herstellung von PVP-Partikel.....	314
6.6.2	Herstellung von Eudragit [®] L100-Partikel.....	315
6.6.3	Durchführung der Freisetzungsexperimente	315
6.7	BESTIMMUNG DER PERMEABILITÄT VON VERBINDUNG 94 UND 96 ...	317

6.8	BESTIMMUNG DER PLASMASTABILITÄT VON VERBINDUNG 94 UND 96.....	319
6.9	BESTIMMUNG DER LOGP-WERTE	321
6.10	RÖNTGENSTRUKTURANALYSE.....	323
7	ANHANG.....	325
7.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	325
7.2	LE- UND LLE-WERTE DER 4-CHINOLON-3-CARBOXAMID-DERIVATE..	326
8	LITERATUR.....	329

1 EINLEITUNG

1.1 Afrikanische Schlafkrankheit

Mehr als eine Milliarde Menschen in den ärmsten Regionen der Entwicklungsländer Afrikas, Asiens und Amerikas sind den sogenannten vernachlässigten Tropenkrankheiten („*neglected tropical diseases*“) ausgesetzt. Geeignete Therapiemöglichkeiten sind nur unzureichend verfügbar und die notwendige Entwicklung neuer Wirkstoffe steht nicht im Focus der pharmazeutischen Industrie. Aufgrund anhaltender Armut und schlechter Hygienebedingungen verursachen sie eine höhere globale Krankheitslast als HIV-AIDS.¹

Zu den vernachlässigten Krankheiten zählt u. a. die **afrikanische Schlafkrankheit (humane afrikanische Trypanosomiasis, HAT)**.

1.1.1 Historischer Verlauf und aktueller Stand

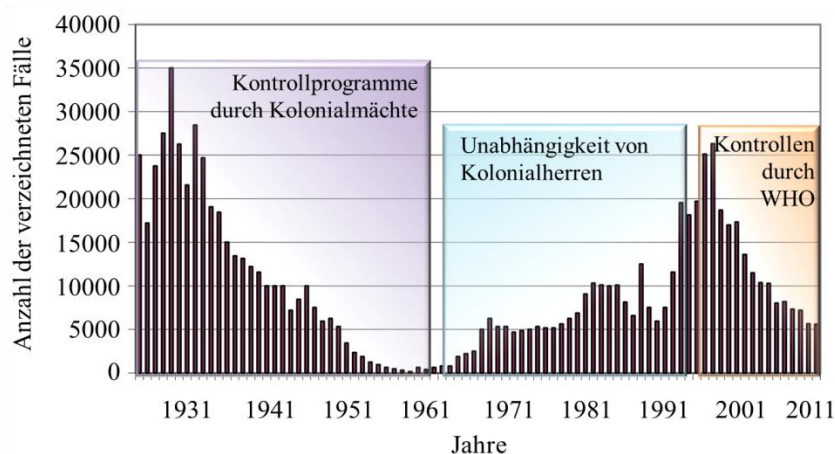


Abb. 1: Verzeichnete Schlafkrankheitsfälle zwischen 1926 und 2011 (modifiziert nach Hasker et al¹²).

Im zwanzigsten Jahrhundert erlitt Afrika drei große Schlafkrankheit-Epidemien (**Abb. 1**). Zwischen 1896 und 1906 waren vor allem Uganda und Kongo mit schätzungsweise 500000 Todesfällen betroffen. Die desaströse Auswirkung der ersten Epidemie alarmierte

die kolonialen Regierungen, woraufhin vor allem aus Eigenschutz die Priorität auf die Entwicklung neuer Medikamente gelegt wurde.^{2,3} 1906 erkannte Robert Koch die antitrypanosomale Wirkung der Arsen-haltigen Verbindung Atoxyl. Die benötigten hohen Dosen führten allerdings vielfach zu toxischen Nebeneffekten.⁴ Im Zuge der Wirkstoffentwicklung testete Paul Ehrlich mehr als 100 synthetische Farbstoffe und beobachtete deren antiprotozoische Eigenschaften. Im Jahre 1916 wurde daraus, in Zusammenarbeit von Wilhelm Roehl und der

Firma Bayer & Co, der Wirkstoff Germanin (heute bekannt als Suramin) zur effektiven Behandlung der Schlafkrankheit entwickelt.^{4,5} 1920 folgte die zweite schwerwiegende Epidemie. Neben einer geringen Anzahl an Wirkstoffen, die nun im Kampf gegen die Schlafkrankheit zur Verfügung standen, spielte Eindämmung parasitärer Reservoirs eine große Rolle. Mittels mobiler Teams wurden Erkrankte identifiziert, untersucht und anschließend behandelt. Diese Strategie führte innerhalb von 11 Jahren zur Senkung der Prävalenz von 60 % auf 0.2 - 4.1 %.^{2,6} In der Folgezeit wurden mit Pentamidin (1937) und Melarsoprol (1949) weitere Wirkstoffe durch die Chemiker Arthur James Ewin und Ernst Friedheim entwickelt.⁴ Die Kombination aus Wirkstoffentwicklung und Kontrollmaßnahmen konnte die Anzahl der Schlafkrankheitsfälle bis zum Beginn der 60iger Jahre drastisch reduzieren.^{2,7} Mitte der 60iger Jahre wurden zahlreiche endemische Länder unabhängig. Die fehlende Unterstützung durch die Kolonialmächte führte zum Zusammenbruch der Kontrollmaßnahmen, wodurch die Schlafkrankheit erneut aufflammte und die Fallzahlen seit den 70iger Jahren stetig anstiegen.⁸ Dies war der Beginn der dritten Epidemie, welche hauptsächlich Angola, Kongo, Sudan und Uganda betraf.⁶ Trotz der Entwicklung von Eflornitin (1990), einem weiteren Wirkstoff zur Behandlung der zweiten Phase der Krankheit, nahmen die Fallzahlen dramatisch zu. Anfang des 21. Jahrhunderts verstärkte die WHO die vernachlässigten Kontrollmaßnahmen und schloss Abkommen mit der pharmazeutischen Industrie (Bayer AG und Sanofi), um die Verfügbarkeit der benötigten Wirkstoffe zu garantieren.^{9,10} Durch diese Maßnahmen wurde die Schlafkrankheit in jüngster Zeit wieder zurückgedrängt. Während die WHO 2005 noch ca. 40000 Fälle verzeichnete, reduzierte sich die Zahl der Infizierten bis 2009 auf weniger als 10000. Dieser Trend hielt auch 2010 mit einer Fallzahl von 7139 weiter an.^{11,12}

1.1.2 *Trypanosoma brucei*

Bereits 1894 beobachtete der britische Militärarzt David Bruce Trypanosomen im Blutaussstrich an mit Nagana infizierten Rindern. Diese Parasiten wurden ihm zu Ehren *Trypanosoma brucei* genannt.² Insgesamt existieren mehr als hundert Arten der Gattung *Trypanosoma*, wie z. B. *Trypanosoma cruzi* oder *Trypanosoma evansi* (Erreger der Chagas-Krankheit bzw. der Surra). *Trypanosoma brucei* lässt sich wiederum in drei Unterarten gliedern, welche im Menschen die afrikanische Schlafkrankheit, in Tieren die Nagana verursachen. Die Parasiten werden ausschließlich durch den Stich der Tsetse-Fliege (*Glossina*) übertragen. Aus diesem Grund ist die

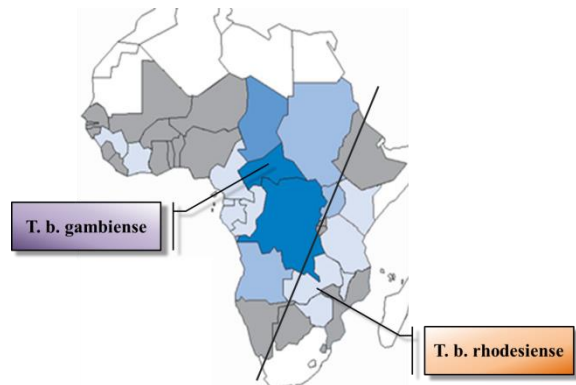


Abb. 2: Geographische Verteilung der humanpathogenen *T. brucei*-Unterarten (modifiziert nach Simarro et al.¹³).

Krankheit geographisch auf den natürlichen Lebensraum der Tsetse-Fliege begrenzt (Tsetse-Gürtel), was im Wesentlichen die afrikanischen Länder südlich der Sahara betrifft.¹³ Insgesamt sind 36 Länder und ca. 60 Mio. Menschen der Gefahr einer Infektion mit HAT ausgesetzt (**Abb. 2**).¹¹

1. *Trypanosoma brucei brucei*.

Diese für Tiere pathogene Unterart verursachte bisweilen in Rinderherden große Verluste. Für die von der Viehzucht lebenden Bevölkerung stellt *T. b. brucei* und die damit verbundene Tierseuche Nagana somit eine existentielle Bedrohung dar. Gegenüber Menschen ist diese Unterart jedoch nicht pathogen und wird daher vielfach für *In-vitro*-Untersuchungen in der Wirkstoffentwicklung eingesetzt.¹¹

2. *Trypanosoma brucei gambiense*.

Bedingt durch ihr geographisches Vorkommen (West- und Zentralafrika), verursacht diese humanpathogene Unterart *T. b. gambiense* die chronisch verlaufende westafrikanische Schlafkrankheit. Ein Patient kann unter Umständen monatelang infiziert sein, ohne dass erkennbare Symptome auftreten. Sobald solche allerdings bemerkt werden, ist die Krankheit bereits im fortgeschrittenen Stadium und schwierig zu behandeln. Gegenwärtig ist *T. b. gambiense* für mehr als 95 % der verzeichneten Fälle verantwortlich. Als Reservoir dient hauptsächlich der Mensch.^{3,14}

3. *Trypanosoma brucei rhodesiense*.

T. b. rhodesiense wird als zweite humanpathogene Unterart hauptsächlich in Ost- und Südafrika gefunden und verursacht die akut-verlaufende ostafrikanische Schlafkrankheit. Bereits nach wenigen Tagen bricht die Krankheit aus, was zu schnellen klinischen Symptomen führt und damit eine schnelle Diagnose ermöglicht. Im Gegensatz zu *T. b. gambiense* ist sie allerdings nur für eine geringe Anzahl an Fällen (< 5 %) verantwortlich.

T. b. rhodesiense ist eine Zoonose, d.h. Wild- und Haustiere können Träger dieser Parasiten sein und damit ein Reservoir für eine Tier-Mensch-Übertragung darstellen.^{3,14}

1.1.3 Krankheitsverlauf und Symptome

Beide humanpathogene Unterarten zeigen trotz der geographischen Unterteilung einen sehr ähnlichen klinischen Krankheitsverlauf. Durch den Stich der Tsetse-Fliege breiten sich die Parasiten zunächst über die Lymphe und anschließend über den Blutweg im gesamten menschlichen Wirt aus. Der Einstich kann zu einer lokalen Hautreaktion führen (Trypanosomenschanke), welche bei *T. b. gambiense* selten, bei *T. b. rhodesiense* jedoch bei ca. 19 % der Patienten beobachtet wird.¹⁵

In der ersten Phase der Krankheit (hämolymphatische Phase) vermehren sich die Parasiten im Blut und lymphatischen System. Zu den dabei auftretenden Symptomen zählen Unwohlsein, Erschöpfungserscheinungen, Fieber sowie Lymphadenopathie. Diese sehr unspezifischen Symptome erschweren eine frühzeitige Diagnose. Im Fall der westafrikanischen Schlafkrankheit wird häufig ein Anschwellen der Lymphknoten im hinteren Halsdreieck („Winterbottom-Zeichen“) beobachtet, was als Erkennungsmerkmal herangezogen werden kann.³

Abhängig von der *Trypanosoma brucei*-Unterart durchdringen die Erreger nach Wochen (*T. b. rhodesiense*) oder Monaten (*T. b. gambiense*) die Blut-Hirn-Schranke des menschlichen Wirts und befallen das zentrale Nervensystem. Diese zweite Phase der Krankheit (meningoenzephalitische Phase) führt zu einer chronischen Enzephalopathie, begleitet von neurologischen Symptomen, wie z. B. Angstzuständen, Kopfschmerzen, Wahnvorstellungen und Schlafstörungen. Im weiteren Verlauf fallen die Betroffenen in einen Dämmerzustand und sind zu regelmäßiger Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme nicht mehr in der Lage. Ohne medikamentöse Behandlung führen sowohl die west- als auch ostafrikanische Schlafkrankheit in 100 % der Fälle zum Tod.^{15,16,17}

1.1.4 Therapiemöglichkeiten und deren Grenzen

Präventiv stehen momentan keine Impfstoffe zur Verfügung. Trypanosomen sind in der Lage, ihre Oberflächen-Antigene mit jeder Generation zu variieren („*variable surface glycoproteins*“, VSG) und damit der Immunantwort des Wirts zu entkommen. Diese VSGs ermöglichen es den

Parasiten, in der für sie höchst feindlichen Umgebung zu überleben und erschweren die Entwicklung geeigneter Impfstoffe.¹⁰

Insgesamt stehen zur medikamentösen Behandlung der afrikanischen Schlafkrankheit fünf Wirkstoffe zur Verfügung. Essenziell für die therapeutische Option ist allerdings ein frühzeitiges Erkennen der Krankheit und die richtige Stadieneinteilung der Patienten, da je nach Art und Stadium der Krankheit nur bestimmte Wirkstoffe eingesetzt werden können (**Abb. 3**).

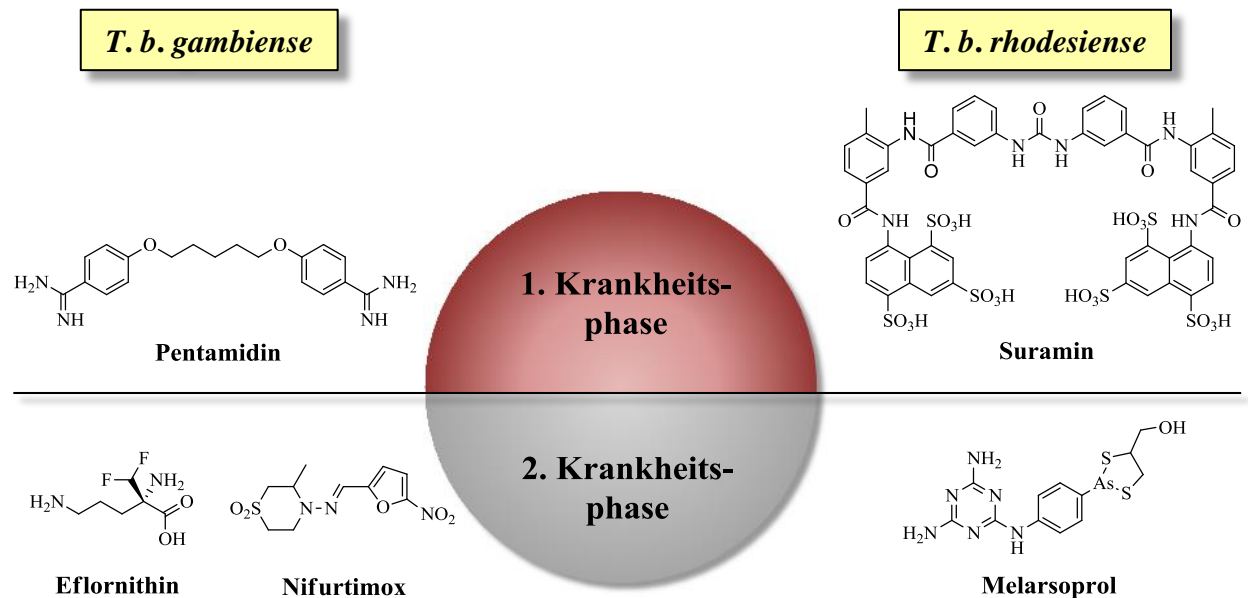


Abb. 3: Kommerziell erhältliche Wirkstoffe gegen die humanpathogenen *T. brucei*-Unterarten.

Pentamidin:

Pentamidin wurde 1940 zur Behandlung der westafrikanischen Schlafkrankheit eingeführt. Gegen *T. b. rhodesiense* wird es für gewöhnlich nur ergänzend zu Suramin eingesetzt. Die basischen Amidin-Gruppen liegen bei physiologischem pH-Wert vollständig protoniert vor. Pentamidin ist somit nicht in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und kann daher nur in der ersten Krankheitsphase angewendet werden. Der hohe Protonierungsgrad ist zudem für eine geringe orale Bioverfügbarkeit verantwortlich, weshalb Pentamidin als Isethionat-Salz über den Zeitraum einer Woche intramuskulär appliziert werden muss.¹⁸ Im Gegensatz zu den übrigen Wirkstoffen werden bei Pentamidin nur geringfügige Nebenwirkungen wie gastrointestinale Beschwerden und Hypoglykämien beobachtet, weshalb es als Mittel erster Wahl („*first-line drug*“) gegen *T. b. gambiense* eingesetzt wird.¹⁵

Der Wirkmechanismus ist noch weitestgehend unbekannt. Pentamidin wird über drei verschiedene Transporter (Purin-Transporter P2, „*high-affinity-pentamidine-transporter*“, „*low-affinity-pentamidine-transporter*“) in die Trypanosomen aufgenommen, wodurch der Wirkstoff millimolare Konzentration innerhalb des Parasiten erreicht und somit eine Inhibition verschiedener Zielstrukturen wahrscheinlich ist. Aufgrund der zweifach positiven Ladung ist eine Interaktion mit Polyanionen wie der DNS und der RNS anzunehmen. Somit ist auch der Kinetoplast, eine Ansammlung mitochondrialer DNS, als ein potenzielles Target denkbar.^{14,18}

Suramin:

1922 wurde Suramin (Germanin) als Mittel der Wahl gegen die ostafrikanische Schlafkrankheit eingeführt. Die polyanionische Struktur des Wirkstoffs ist für die geringe Blut-Hirn-Schranken-Gängigkeit verantwortlich, weshalb nur die Therapie des ersten Stadiums der Krankheit möglich ist. Um ausreichende Konzentrationen im Blut zu erreichen, wird das geringfügig membrangängige Suramin als Injektionslösung parenteral appliziert. Im Blut liegt der Wirkstoff aufgrund seiner hohen Affinität zu Albumin und LDL („*low density lipoprotein*“) zu mehr als 99 % gebunden vor, was in Halbwertszeiten bis 90 Tage resultieren kann. Im Gegensatz zu Pentamidin kann die Therapie mit Suramin unmittelbar zu lebensgefährlichen Nebenwirkungen führen: Neben Zusammenbrüchen und Schockzuständen können auch, bedingt durch die langsame Eliminierung, Nierenschäden, Blutarmut, Gelbsucht und ernsthafte Diarrhöe hervorrufen werden.^{15,18}

Der Wirkmechanismus ist auch für Suramin nicht vollständig geklärt. Zur Zeit wird angenommen, dass die Aufnahme des Wirkstoffs in die Trypanosomen durch Endozytose erfolgt. Aufgrund des polyanionischen Charakters ist Suramin in der Lage, zahlreiche Enzyme zu hemmen (RNS-Polymerasen, Fumarase, Glycerol-3-phosphat-Oxidase etc).¹⁴ Welche Wechselwirkungen für die antitrypanosomale Wirkung verantwortlich sind, sind noch unklar. Allerdings wird vermutet, dass die Inhibition der Aufnahme von LDL, welches die Parasiten mit Cholesterol und Phospholipiden versorgt, eine entscheidende Rolle spielt.¹⁹

Eflornithin:

Eflornithin (1990) ist der einzige Wirkstoff, der in den letzten 50 Jahren zugelassen wurde. Durch seine Wirksamkeit gegen *T. b. gambiense* konnte Eflornithin Melarsoprol für die Therapie des Spätstadiums der westafrikanischen Schlafkrankheit ablösen. Gegen *T. b. rhodesiense* hingegen zeigte es nur sehr geringe Wirkung. Aufgrund der polaren Struktur kann es die Blut-Hirn-Schranke nur geringfügig penetrieren. Für die Wirksamkeit sind allerdings hohe Konzentrationen in der Cerebrospinalflüssigkeit nötig, weshalb Eflornithin in einem komplexen Therapieschema intravenös verabreicht werden muss. Die dabei auftretenden Nebenwirkungen sind allerdings weit weniger gravierend als bei Melarsoprol, weshalb es als Mittel der Wahl gegen *T. b. gambiense* eingesetzt wird. Auftreten können z.B. gastrointestinale Symptome und Blutarmut.¹⁵

Der Wirkmechanismus von Eflornithin ist im Unterschied zu den übrigen antitrypanosomalen Wirkstoffen bekannt. Durch passive Diffusion wird der Wirkstoff in die Trypanosomen aufgenommen und inhibiert die Ornithindecarboxylase (ODC). Dieses Enzym katalysiert die Decarboxylierung von Ornithin zum Diamin Putrescin, ein entscheidender Schritt in der Polyaminsynthese. Eflornithin bindet durch seine Ornithin-ähnliche Struktur kovalent an das ODC-Enzym und deaktiviert es für eine bestimmte Dauer. Durch die Hemmung der ODC kommt es zu einem Anstieg der S-Adenosylmethionin-Konzentration und damit zur Abnahme der DNS-, RNS- und letztendlich Proteinsynthese, was zum Zelltod führt. Die Selektivität von Eflornithin gegenüber der ODC von parasitären- und menschlichen Zellen ist wenig ausgeprägt. Der entscheidende Unterschied besteht in der Dauer der ODC-Deaktivierung. Sowohl im Menschen ($t_{1/2} \sim 2$ h) als auch bei *T. b. rhodesiense* ($t_{1/2} \sim 3.5 - 4$ h) wird die ODC im Vergleich zu *T. b. gambiense* ($t_{1/2} \sim 20$ h) rasch nachgebildet, weshalb nur für letztere eine toxische Wirkung beobachtet wird.^{14,22}

Kombinationstherapie:

Sowohl für die Wirkstoffe des ersten als auch des zweiten Krankheitsstadiums wurde bereits Therapieversagen aufgrund von Resistenzentwicklung beobachtet. Da die Wirksamkeit einiger Wirkstoffe auf deren hoher Konzentration im Parasiten basiert, sind die Verluste aktiver Transporter eine naheliegende Begründung für das Scheitern der Therapie.¹⁹ Aus diesem Grund wurden in den vergangenen Jahren zahlreiche Kombinationen der verfügbaren Wirkstoffe untersucht, um der Resistenzentwicklung entgegenzuwirken. Die Kombination aus Eflornithin

und Nifurtimox, einem Wirkstoff zur Behandlung der Chagas Krankheit verursacht durch *T. cruzi*, zeigte dabei die vielversprechendsten Eigenschaften: Zum einen betrug die Heilungsrate dieser Kombination ca. 98 %, im Fall der alleiniger Gabe von Eflornithin ca. 92 %. Zum anderen konnten durch die Kombination die benötigten Dosen verringert werden, wodurch die Applikation erleichtert und das Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen reduziert wurde.²³

1.1.5 Was ist in der „Pipeline“?

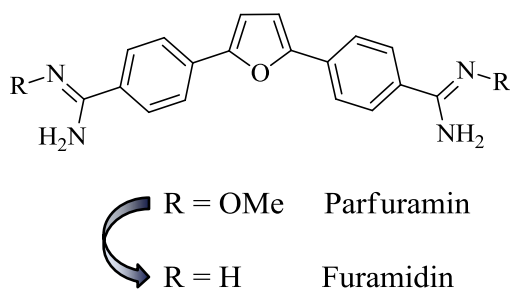


Abb. 5: Metabolismus von Parfuramin.

Da die afrikanischen Länder marktwirtschaftlich kaum ins Gewicht fallen, hat sich die internationale Pharmaindustrie größtenteils aus der Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen tropische Krankheiten, wie der afrikanischen Schlafkrankheit, zurückgezogen. Nichtsdestotrotz wurde durch die finanzielle Unterstützung der WHO, der DNDi (Drugs for Neglected Diseases initiative) und der „Bill & Melinda Gates Foundation“ in den vergangenen Jahren auf diesem Gebiet geforscht.

Die Weiterentwicklung von Pentamidin führte im Bereich der Bisamidine zum potenten Furamidin. Da die Verbindung aufgrund ihrer basischen Amidin-Gruppen erneut nicht oral aufgenommen werden konnte, wurde daraus das „Pro-Drug“ Parfuramin entwickelt (Abb. 5). Dieses ist um den Faktor 1000 weniger potent, dafür aber durch die maskierten Amidin-Gruppen oral bioverfügbar. Die Metabolisierung von Parfuramin durch Cytochrom-P450 Enzyme führt

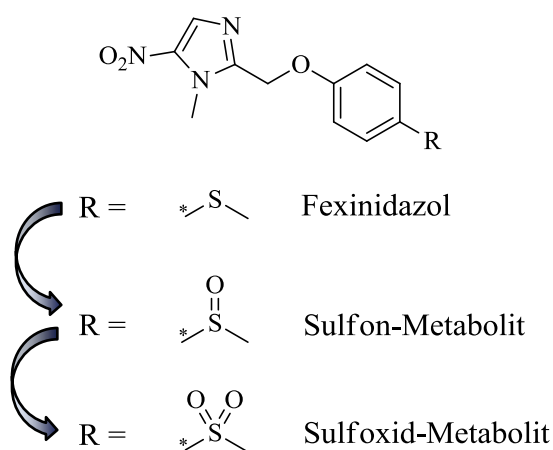


Abb. 6: Fexinidazol und dessen Metabolite.

schließlich zur Freisetzung von Furamidin.²⁴ In Phase III der klinischen Prüfung erhärtete sich der Verdacht auf Lebertoxizität, weshalb die weitere Entwicklung dieses oral bioverfügbaren Wirkstoffs zur Behandlung des ersten Stadiums der afrikanischen Schlafkrankheit vorerst eingestellt wurde.¹⁷

Die antimikrobielle Wirksamkeit von Fexinidazol (Abb. 6) wurde bereits in den frühen 80er Jahren festgestellt. Die Verbindung und deren Sulfon- bzw.

Sulfoxid-Metabolite zeigten sowohl *in vitro* als auch *in vivo* vielversprechende Aktivität gegen *T. b. gambiense* sowie *T. b. rhodesiense*. Zudem ist Fexinidazol oral bioverfügbar, was dieses Nitroimidazol zu einem vielversprechenden Wirkstoffkandidaten zur oralen Behandlung beider humanpathogener Unterarten macht.^{25,26} 2009 gelangte Fexinidazol in Phase I der klinischen Studien und befindet sich momentan in Phase II/III.²⁷

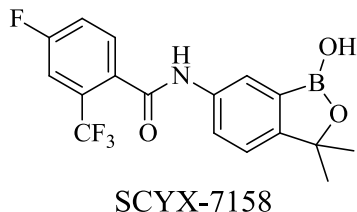


Abb. 7: Struktur des Oxaborols SCYX-7158.

Das Oxaborol SCYX-7158 (**Abb. 7**) ist ein weiterer vielversprechender Wirkstoff, der sich in der Entwicklung befindet. Die Verbindung zeigte *in vitro* sowohl gegen die Erreger der west- als auch der ostafrikanischen Schlafkrankheit Aktivität. Zudem war sie in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu passieren. Pharmakokinetische und -dynamische Untersuchungen zeigten, dass SCYX-7158 oral bioverfügbar ist und *in vivo* erfolgreich zur Therapie des zweiten Krankheitsstadiums eingesetzt werden kann.²⁸ Aufgrund dieser vielversprechenden Resultate der präklinischen Untersuchung befindet sich SCYX-7158 seit 2012 in Phase I der klinischen Prüfung.²⁹

1.2 Wirkstoffentwicklung

Die Entwicklung eines neuen Wirkstoffs vom frühen „Hit“ bis hin zur Marktreife ist ein komplexes, zeit- und kostenintensives Verfahren, bei welchem dem Bereich der Forschung und Entwicklung (F&E) eine enorme Bedeutung zukommt. Dieses Feld der pharmazeutischen Industrie hat sich in den vergangenen fünf Jahren drastisch verändert. In der Vergangenheit wurden pro Firma weniger als ein neuer Wirkstoff pro Jahr entwickelt, wovon nur 10 % einen Gewinn von > 350 Mio/Jahr erreichten. Durch neue Techniken, richtliniengeleitetes Wirkstoff-Design und Aufstocken des F&E-Budgets hat die pharmazeutische Industrie heutzutage alle Voraussetzungen, um jährlich mindestens fünf Wirkstoffe mit Blockbuster-Potential (> 500 Mio/Jahr) auf den Markt zu bringen.³⁰ Allerdings war die Erfolglosigkeit der führenden Pharmaindustrien noch nie so hoch wie in den vergangenen 20 Jahren. Durch die Zulassung von 39 neuen Wirkstoffen (33 % mehr als der Durchschnitt der vergangenen zwei Jahrzehnte), konnte 2012 allerdings, nach dem Erfolgsjahr 1997, als erster Lichtblick angesehen werden.³¹

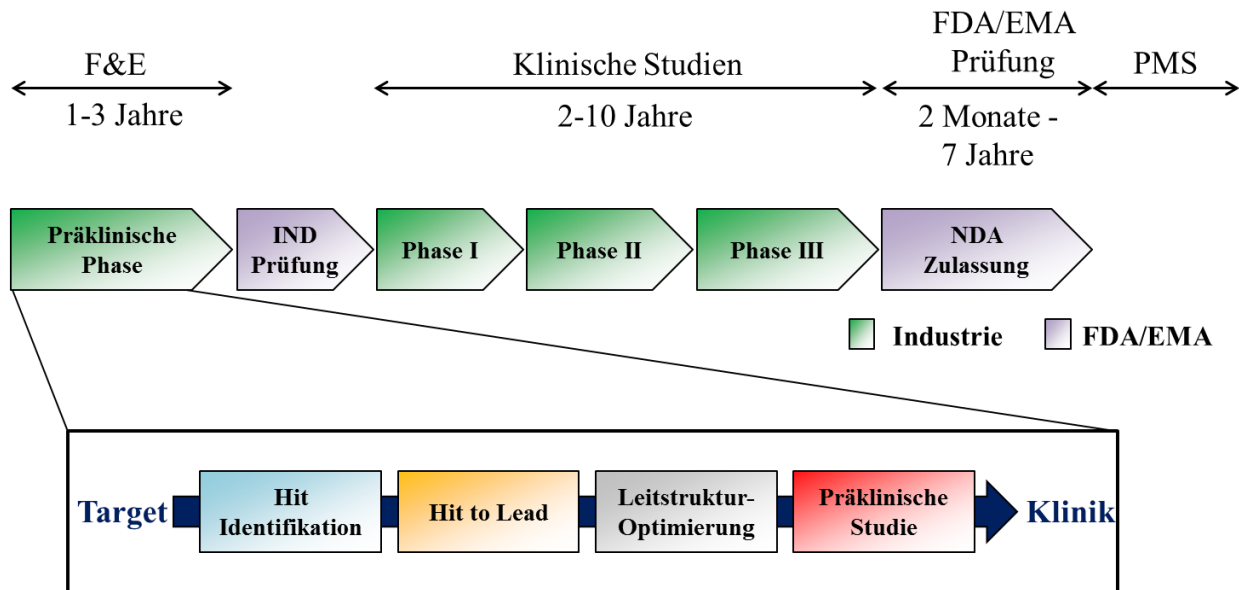


Abb. 8: Schematischer Verlauf der Wirkstoffentwicklung vom frühen „Hit“ bis zur Marktreife (modifiziert nach Dickson et al.³⁴).

Der F&E-Prozess lässt sich in mehrere Phasen gliedern. Am Beginn steht die Identifikation und Validierung des Targets, gefolgt von der Auffindung erster „Hits“. Diese Strukturen erfüllen noch nicht die Anforderungen marktreifer Wirkstoffe, weshalb sie mehrere Stufen der Optimierung durchlaufen müssen. Die so erhaltenen Leitstrukturen („Leads“) müssen sowohl durch biologische als auch pharmakokinetische und -dynamische Eigenschaften („drug-likeness“) überzeugen. Außerdem spielt das toxikologische Potenzial und damit einhergehend das Sicherheits-Profil der Leitstrukturen bereits eine große Rolle.³² Da bis zu 92 % aller Wirkstoffkandidaten in den klinischen Studien an unerwarteten toxischen Effekten scheitern, ist das Erstellen eines toxikologischen Profils in einer frühen Phase des F&E-Prozesses notwendig.³³ Am Ende der präklinischen Phase steht zu jedem Wirkstoffkandidaten („new chemical entity“, NCE) eine Fülle an Daten zur Verfügung, anhand derer ein Antrag zur Prüfung eines neuen Medikaments („Investigational new drug application“, IND) erstellt und bei der „US Food and Drug Administration“ (FDA) bzw. der europäischen Arzneimittelagentur (EMA) eingereicht wird.³⁴ Werden die Wirksamkeits- und Sicherheitsanforderungen der FDA/EMA erfüllt, ist ein neuer Wirkstoffkandidat gefunden, welcher in der klinischen Phase am Menschen untersucht werden darf. Die klinische Phase ist in vier Studien unterteilt. In Phase I wird der Wirkstoff an einer kleinen Gruppe gesunder Probanden auf dessen pharmakokinetische und -dynamische Eigenschaften sowie auf Verträglichkeit und Sicherheit untersucht. Phase II dient der Festlegung des Therapiekonzepts und der Dosis. Hierzu wird der Wirkstoffkandidat an einer

kleinen Gruppe Patienten auf dessen Wirksamkeit hin untersucht. In Phase III wird schließlich die Wirksamkeit, die Langzeit-Sicherheit und das Therapiekonzept an einer großen Gruppe an Patienten (>1000 - 2000) untersucht.³² Nach erfolgreich abgeschlossener klinischer Prüfung wird ein Zulassungsantrag („*new drug application*“, NDA) eingereicht, anhand dessen die FDA/EMA die Freigabe und damit die Marktreife des neuen Wirkstoffs entscheidet. Mit der Zulassung beginnt schließlich die mehrjährige Phase IV, welche der Überwachung der Marktentwicklung des Präparats („*postmarketing surveillance*“ PMS) dient (**Abb. 8**).³⁴

In den folgenden Kapiteln sollen nun die Phasen der präklinischen Entwicklung genauer betrachtet werden.

1.2.1 „Hit“ Identifikation

„Hit“ Identifikation

- Target Identifikation
- Aufbau und Validierung eines Assays
- Screening von Substanz-Bibliotheken
- Auswahl geeigneter „Hits“

Zu Beginn des F&E-Prozesses steht häufig das biologische Target. Neben zahlreichen bekannten Zielstrukturen stehen heute durch bioinformatische, genomische und proteomische Techniken Methoden zur Verfügung, mit deren Hilfe neue Targets identifiziert werden können. Diese müssen im Folgenden validiert

werden, um zu zeigen, dass diese Gene oder Proteine in einem krankheitsentstehenden Prozess eine Rolle spielen und sich deshalb als potentes Target für die Entwicklung eines neuen Wirkstoffs eignen.³⁰ Nach der Targetvalidierung besteht der nächste Schritt darin, einen geeigneten Bioassay zu entwickeln. Das Assay-Design ist für die weitere Wirkstoffentwicklung von essenzieller Bedeutung, da es die Grundlage für das „*high-throughput screening*“ (HTS) bzw. alle weiteren Optimierungsschritte darstellt. Ist der Assay nicht ausreichend validiert, können sämtliche daraus resultierenden Daten in Frage gestellt werden. Sofern die Robustheit gewährleistet ist, werden Molekül-Bibliotheken in einem HTS-Verfahren getestet. Die Sammlungen an Verbindungen können natürliche und synthetische Substanzen sowie Molekülfragmente umfassen.³⁵ Eine Alternative zum HTS-Verfahren stellt der „*selective optimization of side activity*“-Ansatz (SOSA) dar. Hierzu wird von marktreifen Wirkstoffen ausgegangen und deren Affinität zu einem neuen Target durch strukturelle Modifikation verbessert. Der entscheidende Vorteil dieses Verfahrens ist, dass die Ausgangsverbindungen

bereits „*drug-like*“-Eigenschaften besitzen und in ausreichendem Maße toxikologisch geprüft sind.³⁶

Im Anschluss an das *In-vitro*-Testverfahren stellt die Auswahl der „*Hits*“, die für die weitere Optimierung in Betracht gezogen werden, einen entscheidenden Schritt dar. Da die Wirkstoffentwicklung auf diesen Strukturen basiert, werden die Substanzen bereits in dieser frühen Phase weiter charakterisiert. Dazu zählen neben der Bestimmung der biologischen Aktivität und physiko-chemischen Eigenschaften auch die Target-Selektivität, Leberzelltoxizität und Mutagenität.³⁰ Anhand dieser Daten werden unter Einbezug der Konzepte der „*lead-likeness*“ und „*ligand efficiency*“ geeignete Strukturen für die weitere Entwicklung ausgewählt.

Tab. 1: Konzept der „*lead-likeness*“ und „*drug-likeness*“.

Rule of 3 „ <i>lead-likeness</i> “	Lipinski's Rule of 5 „ <i>drug-likeness</i> “	Die physiko-chemischen Eigenschaften einer Verbindung
	Molare Masse < 500 g/mol	bilden die Grundlage einiger
Molare Masse < 350 g/mol	logP < 5	auf empirischen Daten
logP < 3	H-Brückendonor < 5	erhobenen Richtlinien der
	H-Brückenakzeptor < 10	Wirkstoffentwicklung. Allen voran

sind hier die „*Lipinski's Rule of 5*“ (Ro5) zu nennen.³⁷ Sind diese Anforderungen erfüllt, wird die zufriedenstellende orale Bioverfügbarkeit als ein essenzieller Faktor der „*drug-likeness*“ einer Substanz angenommen. Diese und einige im Laufe der letzten Jahre entwickelten empirischen Formeln werden von medizinischen Chemikern als wertvolles Werkzeug zur Vorhersage pharmakokinetischer Eigenschaften angesehen, um damit Leitstrukturen und Wirkstoffkandidaten hoher Qualität herzustellen. Da „*Hits*“ in der frühen Phase der Entwicklung selten „*drug-like*“-Eigenschaften besitzen, wurde 1999 das Konzept der „*lead-likeness*“ eingeführt.³⁸ Dieses Konzept besagt, dass vor allem „*Hits*“ mit geringer Molekülmasse ($M < 350$ g/mol) und Lipophilie ($\log P < 3$) vielversprechende Ausgangspunkte für die schnelle Entwicklung zu Leitstrukturen hoher Qualität sind. Während des „*Hit-to-Lead*“- bzw. Leitstruktur-Optimierungs-Prozesses nehmen Molekülgröße und Lipophilie durch chemische Modifikation der Ausgangsverbindung weiter zu, weshalb „*lead-like*“-Verbindungen für weitere Optimierungen vorteilhaft sind (**Tab. 1**).

Da kleine Moleküle oder Fragmente häufig nur geringe Affinität zu einem Target aufweisen, wird die Auswahl von Strukturen für die weitere Optimierung anhand des „*ligand efficiency*“-Konzepts vorgenommen. Dabei wird die Anzahl an Nichtwasserstoffatomen eines „*Hits*“ mit der

erzielten Bindungsaffinität in Bezug gesetzt, um somit das Entwicklungspotential der Verbindung abschätzen zu können.³⁹

Die Kombination beider Konzepte ermöglicht schließlich die Auswahl vielversprechender Ausgangspunkte und verringert das Risiko des Scheiterns während der weiteren Entwicklung.

1.2.2 „Hit-to-Lead“- und Leitstruktur-Optimierung

„Hit-to-Lead“- und Leitstruktur-Optimierung

- Optimierung der Wirksamkeit
- Optimierung der ADMET-Eigenschaften („drug-likeness“)
- Untersuchung der pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften sowie Toxizität im Tiermodell.

Durch die Optimierung der ausgewählten „Hits“ sollen Leitstrukturen mit ausreichender *In-vitro*- und *In-vivo*-Aktivität, Membranpermeabilität, metabolischer Stabilität sowie geringer *In-vitro*- und *In-vivo*-Toxizität identifiziert werden. Diese ADMET-Parameter (Absorption, Verteilung, Metabolismus, Eliminierung, Toxizität) sind eng mit den physiko-chemischen Eigenschaften eines Moleküls

verbunden, weshalb man mit einer Multiparameter-Optimierung konfrontiert ist. Zu den am häufigsten verwendeten Verfahren der „Hit-to-Lead“-Optimierung zählen Struktur-Wirkungs-Beziehungen („*structure-activity relationship*“, SAR), der isostere Ersatz von Atomen und Gruppen sowie die „Hit“-Fragmentierung. Letztes wird hauptsächlich bei großen „Hit“-Molekülen angewandt um vielversprechende Fragmente zu identifizieren, die wiederum als Ausgangspunkt weiterer Strukturoptimierung dienen können.⁴⁰ Auch detailliertes Wissen über das Target (Kristallstruktur) und damit verbundene computerbasierte Ansätze (*In-silico*-Verfahren) tragen entscheidend zur schnellen Optimierung hin zu hoch affinen Leitstrukturen bei.³⁵ Neben der biologischen Aktivität ist auch die *In-vitro*-Bestimmung der ADMET-Eigenschaften jedes Derivats Teil dieser Phase. Dazu stehen HTS-Assays zur Bestimmung der Caco-2-Permeabilität und Albumin-Proteinbindung sowie des Cytochrom-P450-Metabolismus zur Verfügung. Desweiteren werden die Leitstrukturen *in vitro* auf ihre Hepato-, Nephro- und Kardiozytotoxizität sowie auf Karzinogenität und Mutagenität hin untersucht. Vielversprechende Strukturen werden daraufhin für erste *In-vivo*-Studien im Tiermodell ausgewählt, in welchen sie durch ihre pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften sowie hinreichende Sicherheit überzeugen müssen.³²

Da unzureichende ADME- aber auch toxikologische Eigenschaften die häufigsten Gründe für hohe Ausfallraten von Wirkstoffkandidaten in der kostenintensiven klinischen Phase sind, stellt

die Optimierung der Leitstruktur einen Schlüsselschritt dar, um dem späteren Scheitern frühzeitig vorzubeugen.^{35,41} Verbesserte Wirksamkeit einer Substanz korreliert häufig mit ansteigender molekularer Masse und Lipophilie. Daraus resultiert oft die sogenannten molekulare Fettleibigkeit („*molecular obesity*“), was wiederum zu geringer Wasserlöslichkeit und ungenügenden ADMET-Eigenschaften einer Substanz führt.⁴² Die Auffindung dieser Balance („*sweet spot*“) zwischen ausreichender biologischer Aktivität und den „*drug-like*“-Eigenschaften eines Moleküls stellt die Herausforderung der Leitstrukturoptimierung dar.⁴³

1.2.2.1 Absorption, Verteilung, Metabolismus, Eliminierung (ADME)

Ein oral verabreichter Wirkstoff sollte in der Lage sein, über den Gastrointestinaltrakt aufgenommen (**A**bsorption) und über den Blutstrom zum therapeutischen Target transportiert zu werden (**V**erteilung, „*distribution*“). Um Wirksamkeit zu erreichen, muss die Substanz über eine ausreichende Halbwertszeit verfügen, welche entscheidend von ihrer metabolischen Stabilität abhängt (**M**etabolismus). Werden Wirkstoffe zu schnell in weniger aktive oder inaktive Metabolite umgewandelt und über die Leber oder Niere ausgeschieden (**E**liminierung), verringert sich dadurch die Wirksamkeit der Substanz drastisch.⁴⁴ Diese Teilprozesse werden durch die Masse und Lipophilie eines Moleküles stark beeinflusst. Prinzipiell wird durch große Lipophilie sowohl die Permeabilität als auch das Verteilungsvolumen einer Substanz verbessert, wobei eine Erhöhung der Molekülmasse sich nur positiv auf letzteres auswirkt. Eine Zunahme des logP-Werts einer Verbindung führt allerdings neben geringerer metabolischer Stabilität und schnellerer Eliminierung auch zu verringerter Wasserlöslichkeit, was die Grundvoraussetzung der Bioverfügbarkeit ist. Es gilt also Kompromisse für diese gegenläufigen Effekte zu finden. Um diese komplexe Problemstellung bewältigen zu können, wurden empirische Formeln auf der Grundlage pharmakokinetischer Daten zahlreicher Substanz-Datenbanken und deren physikochemischen Parametern erhoben, welche es ermöglichen, Eigenschaften wie Bioverfügbarkeit, Membranpermeabilität, metabolische Stabilität oder Eliminierung einer Verbindung vorherzusagen.⁴⁵ Neben der Ro5 (**Tab. 1**) kann eine zufriedenstellende orale Bioverfügbarkeit auch durch die Betrachtung der „*polar surface area*“ ($PSA < 140 \text{ \AA}^2$) und der Anzahl der rotationsfähigen Bindungen (< 10) vorhergesagt werden.⁴⁶ Während beide Ansätze die orale Bioverfügbarkeit als Ganzes betrachten, versucht Varma *et al.*⁴⁷ diesen multifaktoriellen Prozess durch Unterteilung in Absorption und Eliminierung besser zu verstehen. Die Analyse der

Einflüsse der physiko-chemischen Parameter auf die einzelnen Teilprozesse verdeutlicht die Komplexität dieser Zusammenhänge. In beiden Prozessen spielt die Lipophilie eines Moleküls eine essenzielle Rolle und ist somit als wichtigste physiko-chemische Eigenschaft anzusehen. Für die Absorption, sprich Membranpermeabilität, muss ein Molekül hinreichend lipophil sein ($PSA < 125 \text{ \AA}^2$). Allerdings korreliert dies mit schlechter Wasserlöslichkeit und geringer metabolischer Stabilität bzw. schneller Eliminierung.⁴⁷ Dieses zentrale Problem wurde durch die Analyse einer Datenbank von über 47000 Pfizer-Molekülen detailliert betrachtet. Im

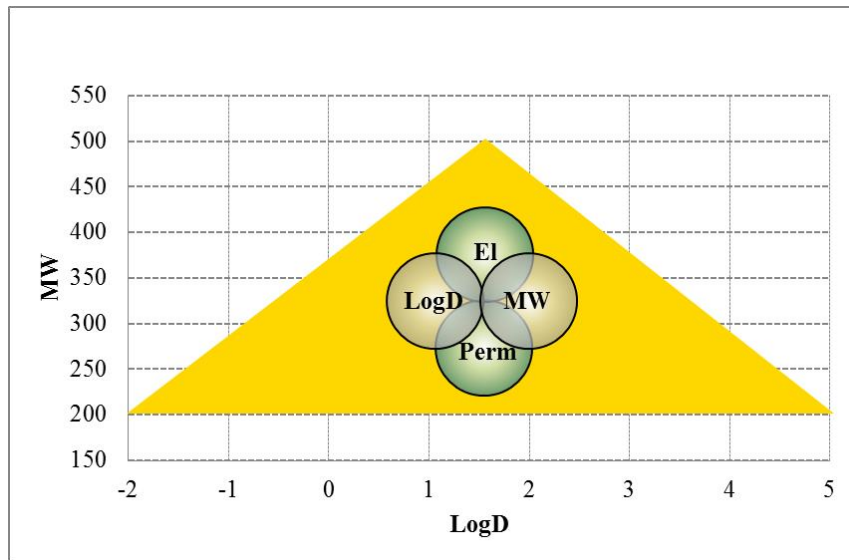


Abb. 9: Einfluss von Molekülmasse (MW) und Lipophilie (logD) eines Moleküls auf Permeabilität (Perm) und Eliminierung (El). Permeable Verbindungen mit ausreichender metabolischer Stabilität befinden sich im Bereich des goldenen Dreiecks (adaptiert nach Johnson et al.⁴⁸).

Vordergrund der Betrachtung standen erneut die Molekülmasse und die Lipophilie (logD), die in einem Diagramm gegeneinander aufgetragen wurden. Alle Verbindungen, die beiden Anforderungen genügten, wurden im Bereich eines Dreiecks wiedergefunden („golden triangle“). Mit geringerer molarer Masse (~ 200 kDa)

ist ein weitreichender logD-Wert (-2 bis +5) akzeptabel, um beide Kriterien zu erfüllen, während Moleküle größerer Massen (~450 kDa) einen eingeschränkteren logD-Bereich benötigen (1 - 2). Die daraus abgeleitete Formel, dass Verbindungen mit einer molekularen Masse von < 500 g/mol und einem logD-Wert von 0-3 sowohl zufriedenstellende Permeabilität als auch metabolische Stabilität aufweisen, ist damit eine bedeutende Richtlinie für die Optimierung von Leitstrukturen (**Abb. 9**).⁴⁸

1.2.2.2 Toxikologie

Auftretende toxische Effekte während der klinischen Phase sind in zahlreichen Fällen der Grund für das Scheitern einer kostenintensiven Wirkstoffentwicklung. Um solche Projekte frühzeitig zu stoppen, müssen die toxikologischen Eigenschaften eines Moleküls in der präklinischen Phase

hinreichend bekannt sein. Diese Untersuchungen beginnen bereits während der „Hit“-Identifikation in ersten *In-vitro*-Assays und werden in der Phase der Leitstrukturoptimierung im Tiermodell weiter vertieft.

Ähnlich den ADME-Eigenschaften spielen die physiko-chemischen Parameter auch in Bezug auf die Toxizität einer Substanz eine wichtige Rolle. Allen voran ist hier erneut die Lipophilie ($\log P$) der entscheidende Parameter. Lipophile Moleküle neigen zu geringer metabolischer Stabilität, was unter Umständen zur Bildung reaktiver Metabolite führen kann. Durch Deacylierung oder Dealkylierung freigesetzte Anilin-Strukturen können zum Beispiel für genotoxische Effekte verantwortlich sein.⁴⁹ Desweiteren wurden für lipophile Verbindungen vermehrt unspezifische Wechselwirkungen zu ungewollten biologischen Strukturen festgestellt, welche häufig zu toxischen Effekten führten. Diese Art der Polypharmakologie wird als Promiskuität bezeichnet und ist definiert als eine Aktivität von $> 50\%$ bei einer Konzentration von $10\ \mu\text{M}$ in drei oder mehr Assays.⁴⁵ Solch ein Verhalten wurde vor allem für Basen mit einem $\text{pK}_a > 8$ und einem $\log P > 3$ beobachtet. Für zwitterionische, azide oder neutrale Moleküle ist dieses Verhalten weit weniger ausgeprägt.^{42,50} Im Tiermodell wurde eine Datenbank von 245 Molekülen der Firma Pfizer auf deren Toxizität untersucht. Dabei zeigte sich, dass Verbindungen mit einem $\log P < 3$ und einer $\text{PSA} > 75\ \text{\AA}^2$ mit geringerer Wahrscheinlichkeit (Faktor 6) zu *In-vivo*-Toxizität neigen als Moleküle, die diese Anforderungen nicht erfüllen (3/75-Richtlinie).⁴⁹

Toxische Effekte können nicht zuverlässig vorhergesagt werden. Allerdings helfen die gefundenen Zusammenhänge zwischen toxischen Effekten und physiko-chemischen Parametern den medizinischen Chemikern bereits während der Leitstrukturoptimierung, das Risiko des klinischen Scheiterns eines Wirkstoffkandidaten zu reduzieren.

1.2.3 Präklinische Studie

Präklinische Studie

- Bestimmung der Sicherheit, Wirksamkeit und Toxizität am Tiermodell
- Entwicklung einer Formulierung
- Optimierung des Herstellungsprozesses (“scale-up”)
- IND

Nach der Phase der Leitstrukturoptimierung stehen zu jeder Verbindung eine Fülle an Daten (vollständig bestimmte physiko-chemische Parameter, *In-vitro*-ADMET-Eigenschaften, Wirkmechanismus, erste *In-vivo*-Wirksamkeits- und Toxizitätsuntersuchungen) zur Verfügung, anhand derer ca. 1 - 5 Wirkstoffkandidaten ausgewählt werden. Bevor potenzielle Wirkstoffe am

Menschen getestet werden dürfen, müssen diese vorweg den Sicherheitsansprüchen der FDA/EMA genügen. Die präklinische Studie dient nun der Bestimmung der Sicherheit, Wirksamkeit und potenzieller Toxizität (Akuttoxizität, Toxizität nach wiederholter Gabe, Karzinogenität, Mutagenität, Teratogenität) der Substanzen in umfassenden Tierversuchen (unterschiedliche Spezies). Anhand der *In-vivo*-Pharmakokinetik- und -dynamik-Untersuchungen wird die therapeutische Dosis für die folgenden klinischen Studien festgesetzt.⁵¹ Dieses pharmakologische Profil einer Verbindung dient auch der Entwicklung einer geeigneten Formulierung (Galenik). Da die optimale Dosis für der Menschen erst während der klinischen Phase gefunden wird, wird zunächst ein sogenanntes Prüfpräparat hergestellt. Desweiteren ist erforderlich, den Wirkstoff für die klinischen Studien in ausreichenden Mengen bereitzustellen. Somit ist auch die Optimierung des Verfahrens zur Herstellung großer Mengen der Substanz („*scale-up*“) Teil dieser Phase.

Sobald die vorklinischen Studien abgeschlossen sind, wird ein Antrag zur Prüfung eines neuen Medikaments („*investigational new drug application*“, IND) bei der FDA/EMA eingereicht, um die Erlaubnis der Durchführung der klinischen Studien zu erhalten. Dieser Antrag enthält die Ergebnisse der präklinischen Studie, Informationen zum Herstellungsprozess und einen detaillierten Plan der bevorstehenden klinischen Studien. Die Antragstellung entspricht dem letzten Schritt des präklinischen Entwicklungsprozesses. Wird dieser von der FDA bzw. EMA bewilligt, folgt die Prüfung des Wirkstoffs am Menschen (klinische Phase), was eine weitere große Hürde auf dem Weg zur Marktreife darstellt.⁵²

2 ZIELSETZUNG

Die momentan rückgängige Infektionsrate (WHO, 2010: 7139 verzeichnete Fälle) stellt die Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen die afrikanische Schlafkrankheit in Frage. Man darf allerdings nicht die Einflüsse von klimatischen und politischen Faktoren auf diesen Trend außer Acht lassen. Das Klima ist entscheidend für die Tsetse-Fliegen-Population: Im Zuge des Klimawandels und des damit verbundenen Temperaturanstiegs kann es in den nächsten Jahren zur Ausdehnung des Tsetse-Gürtels kommen, wodurch sich endemische Zentren auch in den südlichen Teil Afrikas verlagern könnten.⁵³ Auch politische Instabilitäten können, wie in der Vergangenheit gezeigt, zum Zusammenbruch des Gesundheitssystems und der durch die WHO etablierten Überwachungs- und Kontrollmethoden führen. Unter Einbezug dieser Faktoren ist ein erneuter Anstieg der Infektionsraten in den kommenden Jahren wahrscheinlich. Zudem beunruhigt die steigende Zahl von Behandlungsfehlschlägen durch Resistenzentwicklungen gegen die am häufigsten eingesetzten Wirkstoffe Pentamidin und Melarsoprol. Für letzteres wurde in einigen Gebieten bereits ein Therapieversagen von 30 % beobachtet.²¹ Ein Scheitern der Behandlung im Fall von Pentamidin ist seltener, der übermäßige prophylaktische Einsatz dieses Wirkstoffs wird jedoch für die sinkende Empfindlichkeit verantwortlich gemacht.⁵⁴ Diese alarmierenden Fakten und Einflüsse machen die Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen die human pathogenen *Trypanosoma brucei*-Unterarten dringend notwendig.

Der F&E-Prozess von Wirkstoffkandidaten gegen die vernachlässigten Tropenkrankheiten ist auf die finanzielle Unterstützung durch private öffentliche Partnerschaften („*private public partnership*“, PPP) wie die WHO, DNDi oder die „*Bill & Melinda Gates Foundation*“ angewiesen. Aber auch akademische Einrichtungen tragen u.a. durch die Identifizierung neuer Targets, Etablierung neuer Screening-Methoden oder die medizinisch-chemische Weiterentwicklung bestehender „*Hits*“ einen entscheidenden Teil zur Grundlagenforschung bei. Letztendlich ist aber die interdisziplinäre Zusammenarbeit von PPPs, akademischem Bereich und der pharmazeutischen Industrie nötig, um die Entwicklung eines Wirkstoffs gegen die afrikanische Schlafkrankheit bis hin zur Marktreife zu ermöglichen.⁵⁵ Im Fokus dieser Arbeit steht dabei die Substanzklasse der 4-Chinolone.

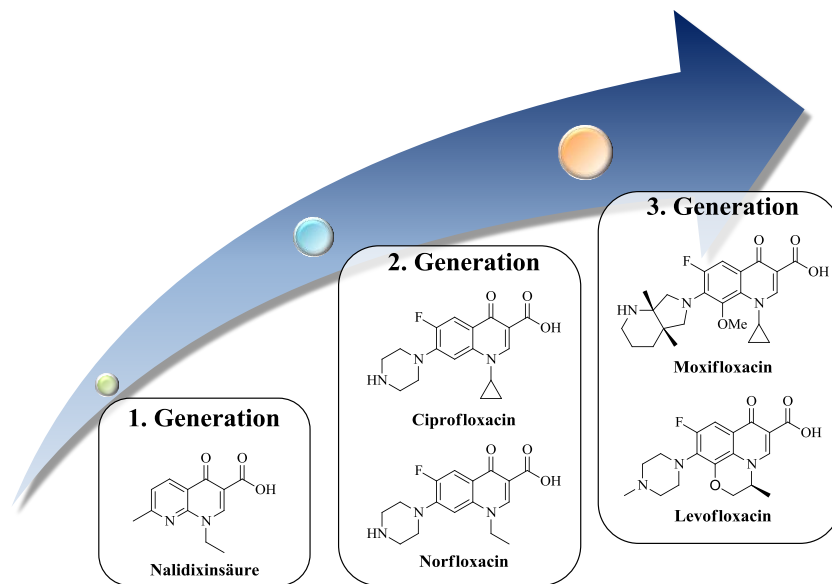


Abb. 10: Entwicklung antibakteriell wirksamer Chinolone.

Chinolon-Generation nur geringe Aktivität gegen Gram-negative Bakterien zeigte, zeichneten sich die Chinolone der zweiten Generation (z.B. Ciprofloxacin) durch die Wirksamkeit gegen Gram-negative und -positive Erreger aus. Letztendlich konnte durch Moxifloxacin und Levofloxacin (dritte Chinolon-Generation) das Wirkspektrum auch auf Aerobier ausgeweitet werden (**Abb. 10**).⁵⁷ Da einige Vertreter dieser Substanzklasse bereits seit mehreren Jahrzehnten als Antibiotika Einsatz finden, wurden deren ADME-Eigenschaften und Sicherheit hinreichend geprüft. Sie stellen damit vielversprechende Ausgangspunkte des sogenannten SOSA-Verfahrens („selective optimization of side activity“) dar.³⁶

Unter anderem untersuchte die Arbeitsgruppe um Shapiro *et al.*⁵⁸ zunächst klinisch eingesetzte Chinolon-Antibiotika auf deren Wirksamkeit gegenüber *T. b. brucei*. Dabei zeigten Ciprofloxacin (52 μM) und Norfloxacin (70 μM) Aktivität im mikromolaren Bereich. Durch den Austausch des Piperazinyl-Substituenten in Pos. 7 gegen unterschiedliche Pyrrolidin-Reste konnte die antitrypanosomale Aktivität um mehr als Faktor 10 verbessert werden.⁵⁹ Auch die Arbeitsgruppe um Burri *et al.*⁶⁰ hat die antitrypanosomale Wirksamkeit von 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivaten beobachtet. Durch zahlreiche Strukturmodifikationen am 4-Chinolon-Grundgerüst konnten für die potentesten Vertreter IC_{50} -Werte zwischen 100 - 900 ng/ml gegen den human pathogenen Erreger *T. b. rhodesiense* gefunden werden. Sämtliche Verbindungen mit einem IC_{50} -Wert < 1 $\mu\text{g/ml}$ und einem Selektivitäts-Index > 10 wurden zusätzlich im Mausmodell getestet. Aus bislang unbekanntem Gründen zeigte allerdings keine der Verbindungen *In-vivo*-Aktivität.⁶⁰

Durch die Entdeckung der antibakteriellen Wirksamkeit der Nalidixinsäure (1962) erlangten die 4-Chinolone große Bedeutung als Antibiotika.⁵⁶ Im Laufe der Jahre wurden die Wirksamkeit und auch das Wirkspektrum dieser Verbindungsklasse stetig optimiert und erweitert. Während die Nalidixinsäure, als Vertreter der ersten

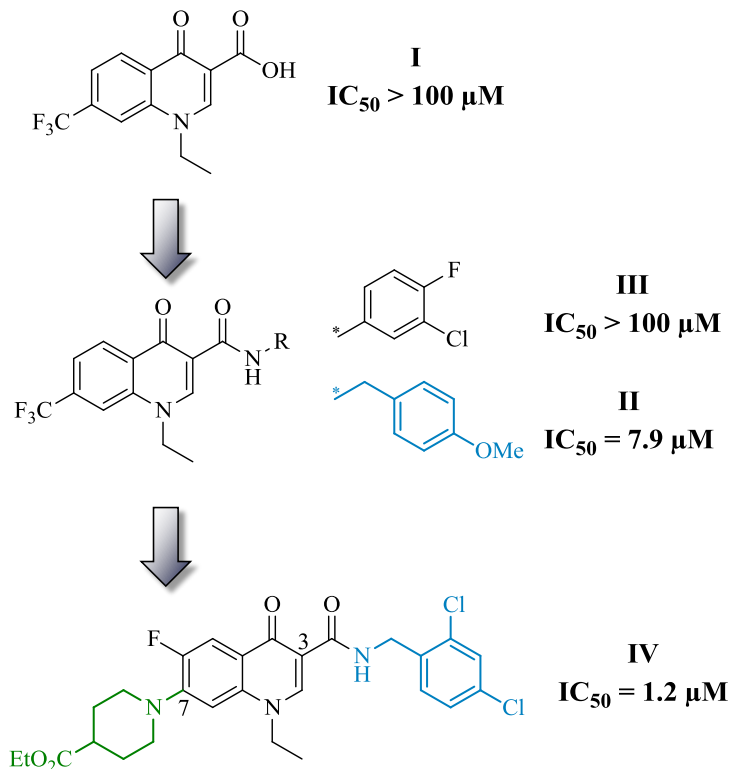


Abb. 11: Erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen zur Identifikation des essenziellen Benzylamid-Strukturelements.

Während die bisherigen Ergebnisse auf der Derivatisierung des Amin-Substituenten in Pos. 7 beruhten, befasste sich S. Niedermeier in ihrer Dissertation mit der Amidierung der Carbonsäure in Pos. 3. Im Gegensatz zu Shapiro *et al.* und Burri *et al.* zeigte das 4-Chinolon-Derivate **I** ohne einen Amin-Substituenten in Pos. 7 keine Aktivität gegenüber *T. b. brucei* ($IC_{50} > 100 \mu M$). Durch die Überführung der Carbonsäure in eine Amid-Funktionen konnte ein deutlicher Aktivitätsanstieg verzeichnet werden. Dies traf aber nur für Benzylamid-Derivate wie Verbindung **II** ($IC_{50} = 7.9 \mu M$) zu.

Phenylamid-Derivate wie Verbindung **III** blieben weiter unwirksam ($IC_{50} > 100 \mu M$). Eine zusätzliche Verbesserung der Wirksamkeit wurde durch einen Amin-Substituenten in Pos. 7 erzielt (**IV**, $IC_{50} = 1.2 \mu M$). Mittels dieser Struktur-Wirkungs-Beziehung konnte S. Niedermeier zeigen, dass die Kombination aus Amin-Substituenten in Pos. 7 und Amid- mit flexiblen aromatischen Resten in Pos. 3 essenziell für die antitrypanosomale Aktivität ist (**Abb. 11**).⁶¹

Ein erstes Ziel dieser Arbeit bestand nun darin, das von S. Niedermeier gefundene „Hit“-Molekül **IV** im Rahmen des Sonderforschungsbereichs 630 zu einer Leitstruktur weiter zu entwickeln. Der Ansatz der qualitativen SAR sollte dazu dienen, ausgehend von Verbindung **IV**, die für die Aktivität essenziellen Strukturmerkmale zu identifizieren und zu optimieren. Im Fokus der Strukturoptimierung stand neben der Aktivitätssteigerung auch die Verbesserung der physikochemischen Parameter, um die pharmakokinetischen und -dynamischen Eigenschaften einer Leitstruktur gewährleisten zu können („drug-likeness“). Verbindung **IV** erfüllte diese Anforderungen mit einem Molekulgewicht von 548 g/mol und einem clogP-Wert von 4.45 (berechnet mit ChemBioDraw Ultra 12.0) nur bedingt. Daher sollte unter Einbezug der physikochemischen substanzspezifischen Parameter (Molekulgewicht, PSA, Anzahl an rotationsfähigen

Bindungen (RB), experimentell bestimmte logP-Werte) die Optimierung der ADMET-Eigenschaften erzielt werden.

Einen modernen Ansatz zur Auffindung neuer Leitstrukturen stellt die rekombinatorische Chemie („*random chemistry*“) dar. E. Kugelmann wandte dieses Verfahren in ihrer Dissertation an, indem sie 4-Chinolone wie das 7-Piperazinyl-Derivat **V** mit dem Fenton's Reagenz ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) behandelte. In Gegenwart der *in situ* generierten Hydroxylradikale wurden neben Hydroxylierungen auch zahlreiche Abbauprodukte des Piperazin-Substituenten gefunden. Diese Fragmente können als neue Strukturelemente in Pos. 7 in Betracht gezogen und mit Benzylamiden in Pos. 3 zu möglichen neuen Leitstrukturen hoher Diversität kombiniert werden. Einige Derivate (**VI**, **VII**) wurden durch E. Kugelmann bereits synthetisiert und zeigten antitrypanosomale Aktivität im niedrigen mikromolaren Bereich (**Abb. 12**).^{62,63}

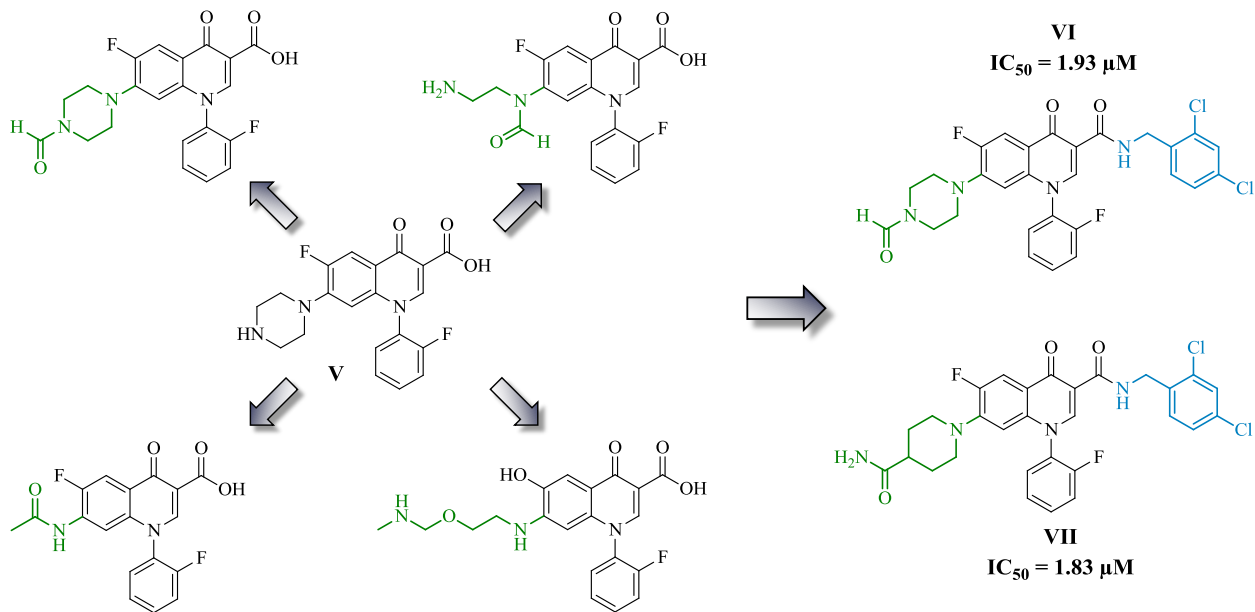


Abb. 12: Leitstruktursuche durch den Ansatz der rekombinatorischen Chemie.

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand darin, die von E. Kugelmann identifizierten Metabolite selektiv zu synthetisieren. Da der Amin-Substituent in Pos. 7 großen Einfluss auf die antitrypanosomale Wirksamkeit hat, sollten vorerst nur die Abbauprodukte des Piperazin-Restes in Betracht gezogen und mit Benzylamid-Substituenten in Pos. 3 kombiniert werden, um potenzielle neue Leitstrukturen zu identifizieren.

Gemäß dem F&E-Prozess sollte die aus den Ansätzen der qualitativen SAR und rekombinatorischen Chemie resultierende Leitstruktur detaillierter untersucht werden. Dazu

zählten die Aufklärung des Wirkmechanismus der 4-Chinolon-3-carboxamide (in Zusammenarbeit mit Prof. Engstler, Zell- und Entwicklungsbiologie) und das Erstellen eines Metabolismusprofils (in Zusammenarbeit mit Prof. Lehmann, Lebensmittelchemie) der potentesten Derivate. Desweiteren sollte die Wasserlöslichkeit dieser Verbindung in Zusammenarbeit mit Prof. Meinel (Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie) durch die Entwicklung von Dosiersystemen („*drug delivery System*“) verbessert werden. Zum einen sollten durch die Wahl geeigneter Hilfsstoffe und Emulgatoren Lipid-Formulierungen entwickelt werden, welche die Leitstruktur in hohen Konzentrationen (10 mg/ml) lösen und stabile Emulsionen in wässrigen Medien ausbilden. Zum anderen sollte die Leitstruktur durch Sprühtrocknung in Gegenwart anionischer (Eudragit[®]L100) und neutraler (Kollidon) Polymere in amorpher, besser wasserlöslicher Modifikation hergestellt werden. Mittels dieser Ansätze sollte die Leitstruktur in Kooperation mit Prof. Brun und M. Kaiser am Schweizer Tropeninstitut (Swiss Tropical and Public Health Institute, Basel) in ersten *In-vivo*-Studien untersucht werden. Neben der galenischen Weiterentwicklung der Leitstruktur stand auch die Verbesserung der Wasserlöslichkeit durch chemische Modifikation im Fokus dieser Arbeit. Daher sollten durch die Einführung von aziden und basischen Gruppen die Lipophilie (logP) reduziert und die Derivate als Salze bzw. Co-Kristalle erhalten werden. Die mittels „*ligand efficiency*“ (LE) und „*lipophilic ligand efficiency*“ (LLE) ausgewählten Wirkstoffkandidaten sollten anschließend physikochemisch vollständig charakterisiert werden (Sirius-T3-Titrationssystem), um mit der Software Simcyp[®] (Version 12.0.79.0) eine *In-vivo*-Studie designen zu können, welche am Schweizer Tropeninstitut im Mausmodell durchgeführt werden sollte.

3 ERGEBNISSE

3.1 „Hit-to-Lead“-Optimierung

Ziel dieser Phase der Wirkstoffentwicklung ist es, die biologischen sowie physiko-chemischen Eigenschaften der Ausgangsverbindung **IV** (**Abb. 11**) durch chemische Modifikation weiter zu verbessern. Zwei bekannte Ansätze zur Identifikation neuer Leitstrukturen wurden in dieser Arbeit verfolgt:

1. *Qualitative Struktur-Wirkungs-Beziehung:*

Dieser Ansatz umfasst die Analyse der Korrelation von Strukturmodifikationen und biologischen Daten, wodurch sich für die Aktivität essenzielle Strukturelemente identifizieren und zu einer antitrypanosomal aktiveren Leitstruktur kombinieren lassen.⁴⁰

2. *Rekombinatorische Chemie:*

In diesem neuen und ungewöhnlichen Verfahren werden Substanzen reaktionsvermittelnden physikalischen oder chemischen Bedingungen unterworfen, was zur Substanzsynthese nach dem Zufallsprinzip führt. Somit können Substanzbibliotheken hoher Diversität dargestellt und durch anschließende biologische Testung potenzielle neue Leitstrukturen identifiziert werden.^{64,65}

3.1.1 Leitstrukturfindung durch qualitative Struktur-Wirkungs-Beziehung

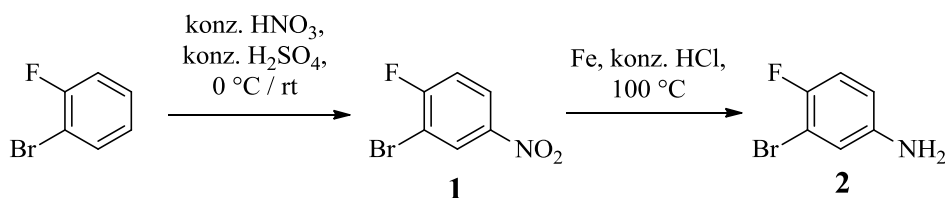
3.1.1.1 Synthese von 1-Alkyl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten

1939 kombinierten Gould und Jacobs die Kondensation von Anilin-Derivaten und Ethoxymethylenmalonsäurediethylester mit anschließender thermischer Cyclisierung der Anilinomethylenmalonsäurediethylester zur Darstellung von 4-Hydroxy-chinolin-Derivaten.⁶⁶ Die gleichnamige Reaktion gewann vor allem ab 1960 an Bedeutung, als erste antibakteriell wirksame Chinolon-Derivate entdeckt wurden.⁵⁶ In der Folgezeit war ein verstärktes Interesse an dieser Substanzklasse zu verzeichnen, zu der die Gould-Jacobs-Synthese einen einfachen Zugang bot. Die auf diesem Wege erhaltenen 4-Hydroxychinolin-Derivate lassen sich in der Folge leicht

variieren und substituieren. Beispielsweise wurde der Chinolon-Stickstoff des bekannten Antibiotikums Norfloxacin in einer Folgereaktion ethyliert.⁶⁷ Diese Synthesesequenz ermöglicht die Darstellung von unterschiedlichen 1-Alkyl-4-chinolon-Derivaten in wenigen Reaktionsschritten, weshalb die Gould-Jacobs-Methode auch hier zum Aufbau des Grundgerüsts angewandt wurde.

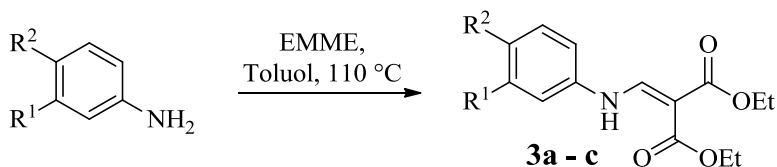
3.1.1.1 Synthese von Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivaten

Der erste Schritt der Gould-Jacobs-Synthese umfasst die Reaktion von Anilin-Derivaten mit Ethoxymethylenmalonsäurediethylester (EMME). Die Ausgangsverbindungen, 3-Chlor-4-fluoranilin und 4-Iodanilin, waren kommerziell erhältlich. 3-Brom-4-fluoranilin **2** hingegen wurde analog zu Austin *et al.*⁶⁸ ausgehend von 1-Brom-2-fluorbenzol mittels Nitrierung und anschließender Reduktion synthetisiert (**Schema 1**).



Schema 1: Synthese von 3-Brom-4-fluoranilin **2** nach Austin *et al.*⁶⁸

Die Anilin-Derivate wurden mit EMME via nukleophiler Vinylsubstitution (S_NVin) kondensiert. Durch nukleophilen Angriff des Anilin-Stickstoffs am vinylogenen Ester wurden unter Ethanol-Abspaltung die gewünschten Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivate **3a - c** erhalten. Die thermische Umsetzung der Ausgangsverbindungen, gelöst in Toluol, erfolgte zunächst auf konventionellem Wege (**Schema 2**).



Schema 2: Darstellung der Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivate **3a - c** via S_NVin.

Tab. 2: Übersicht der synthetisierten Anilino-methylenmalonsäurediethylester **3a - c**.

Verbindung	R ¹ /R ²	Ausbeute
3a ⁶⁹	R ¹ : Cl, R ² : F	99 % (Lit ⁶⁹ : 80 %)
3b	R ¹ : Br, R ² : F	71 %
3c ⁷⁰	R ¹ : H, R ² : I	94 % (Lit ⁷⁰ : 58 %)

werden (Tab. 2).

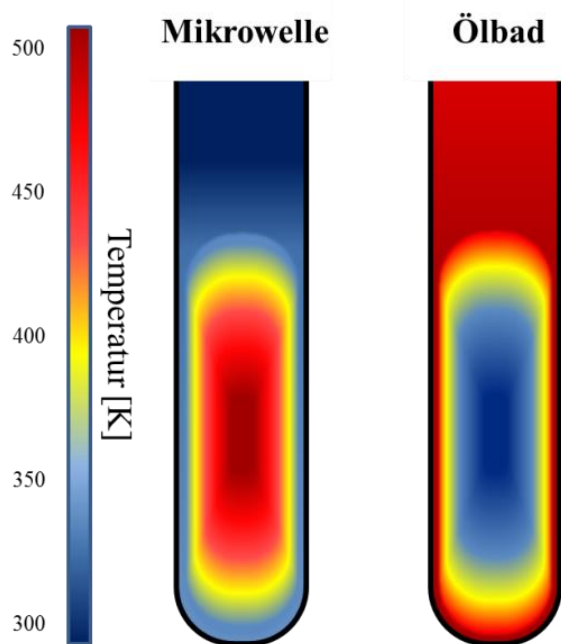


Abb. 13: Unterschied in der Wärmeverteilung (adaptiert nach Kappe et al.⁷⁴).

absorbieren die Mikrowellenstrahlung und übertragen die Wärme auf das apolare Lösungsmittel. Für eine homogene Wärmeverteilung muss eine gründliche Durchmischung gewährleistet sein.

Die Erwärmung des Reaktionsansatzes erfolgt bei Mikrowellen-unterstützter und konventioneller Reaktionsführung auf unterschiedlichem Wege. Während durch externe Heizquellen ein abfallender Temperaturgradient von der Gefäßwand zum Mittelpunkt der Reaktionslösung beobachtet wird, erzielt man mit Mikrowellenstrahlung die direkte interne Erwärmung des gesamten Reaktionsvolumens. Die Absorption der Mikrowellenstrahlung durch das

In Anlehnung an Leyva *et al.*⁷¹ wurde jeweils ein Äquivalent des entsprechenden Anilin-Derivats mit 1.2 Äquivalenten EMME in Toluol gelöst und für 4 - 15 h zum Sieden erhitzt. Die gewünschten Anilinomethylenmalonsäure-diethylester-Derivate konnten nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. aus *n*-Pentan oder *n*-Hexan kristallisiert

Die Mikrowellen-unterstützte Synthese stellt eine vielversprechende Alternative zu konventionellen Heizquellen (z. B. Ölbad) dar. Sie basiert auf dem Effekt der dielektrischen Erwärmung von Lösungsmitteln und Reagenzien. Voraussetzung für die Absorption der Mikrowellenstrahlung durch das Lösungsmittel ist somit eine hohe Dielektrizitätskonstante, weshalb polare Lösungsmittel (z.B. H₂O, Alkohole, DMF) häufig Anwendung in der Mikrowellen-unterstützten Synthese finden. Um die Absorptionsfähigkeit von apolaren Lösungsmitteln (Toluol, Xylol etc.) zu erhöhen, müssen interne Heizelemente (z. B. Siliciumcarbid, Weflon[®]-Scheiben) der Reaktionslösung zugegeben werden. Diese

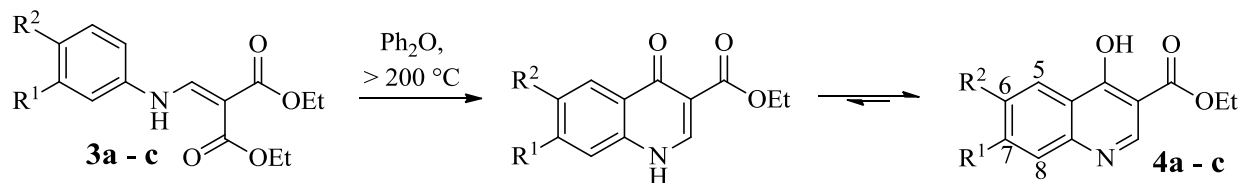
Lösungsmittel bewirkt somit eine weitaus homogenere Wärmeverteilung im Reaktionsgemisch als es durch externe Heizquellen möglich wird (**Abb. 13**).⁷²

In zahlreichen Fällen konnten durch den Einsatz von Synthesemikrowellen Ausbeuten und Reinheiten der Zielverbindungen erhöht bzw. Reaktionszeiten reduziert werden, weshalb die Mikrowellen-unterstützte Synthese auch im Bereich der Wirkstoffentwicklung immer häufiger Anwendung findet.^{73,74} Über die Effekte, die diesen Verbesserungen zugrunde liegen, wird immer noch diskutiert. Die Kombination aus schneller Aufheizrate, polaren Lösungsmitteln und homogener Wärmeverteilung (thermisch/kinetischer-Effekt) wird als möglicher Grund in Betracht gezogen.⁷⁵

Im Vergleich aller drei synthetisierten Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivate **3a - c** wurde für die Umsetzung von 3-Chlor-4-fluoranilin mit EMME bei konventioneller Reaktionsführung die längste Zeit benötigt (15 h). Aus diesem Grund wurde die Reaktion zusätzlich in der Synthesemikrowelle durchgeführt. Analog der klassischen Durchführung wurde 1 Äquivalent 3-Chlor-4-fluoranilin mit 1.2 Äquivalenten EMME in Toluol gelöst. Um eine ausreichende Absorption der Mikrowellenstrahlung zu gewährleisten, wurden dem Reaktionsansatz Weflon[®]-Scheiben beigefügt und die Lösung innerhalb von 3 min auf 110 °C erhitzt. Bereits nach 1 h wurde dünnschichtchromatographisch die vollständige Umsetzung der Ausgangsverbindungen beobachtet. Die Aufarbeitung erfolgte analog dem klassischen Ansatz, wobei auch auf diesem Weg eine Ausbeute von 99 % erzielt wurde. Somit hat der Einsatz der Synthesemikrowelle in diesem Fall zu einer enormen Reduzierung der Reaktionszeit bei gleichbleibender Ausbeute geführt.

3.1.1.1.2 Synthese von 4-Hydroxy-chinolin-Derivaten

Die isolierten Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivate **3a - c** wurden im zweiten Schritt der Gould-Jacobs-Synthese cyclisiert. Der intramolekulare Ringschluß wurde thermisch induziert und lieferte unter Ethanol-Abspaltung die gewünschten 4-Chinolon-3-carbonsäureethylester, die durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung stabilisiert zu 4-Hydroxy-chinolin-Derivaten **4a - c** tautomerisierten (**Schema 3**).⁶⁹



Schema 3: Synthese der Chinolin-Derivaten **4a - c** via intramolekularer Cyclisierung.

Generell werden Friedel-Crafts-Acylierungen mit aktivierten Carbonsäure-Derivaten, sprich Säurechloriden oder Anhydriden, in Gegenwart von stöchiometrischen Mengen an Lewisäuren durchgeführt. Die Bildung des intermediären Acylium-Kations ist in dem hier vorliegenden System durch das Vorhandensein der Ester-Gruppe nicht ohne weiteres möglich. Aus diesem Grund muß die intramolekulare Acylierung unter drastischen thermischen Bedingungen erfolgen. Bei Temperaturen von $> 200\text{ °C}$ wird die Ester-Funktion durch den Phenyl-Rest nukleophil angegriffen und durch Ethanol-Eliminierung das 4-Hydroxy-chinolin-Grundgerüst gebildet. Für diese thermischen Bedingungen werden Lösungsmittel mit hinreichend hohen Siedepunkten benötigt, weshalb in dieser Arbeit, analog zu Leyva *et al.*⁷¹, Diphenylether mit einem Siedepunkt von 258 °C verwendet wurde.

Tab. 3: Übersicht der synthetisierten 4-Hydroxy-chinolin-Derivate **4a - c**.

Verbindung	R ¹ /R ²	Ausbeute
4a ⁶⁹	R ¹ : Cl, R ² : F	81 % (Lit ⁶⁹ : 56 %)
4b ⁷⁶	R ¹ : Br, R ² : F	65 % (Lit ⁷⁶ : 55 %)
4c ⁷⁰	R ¹ : H, R ² : I	83 % (Lit ⁷⁰ : 96 %)

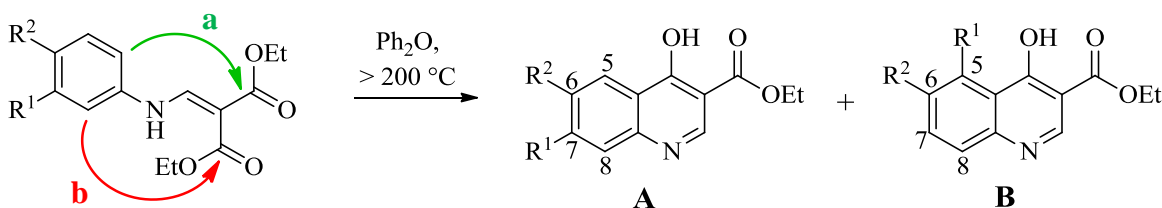
Die aus dem ersten Schritt der Gould-Jacobs-Synthese gewonnenen Anilinomethylenmalonsäurediethylester **3a - c** wurden in Diphenylether gelöst und 2 - 5 h zum Sieden erhitzt. Nach erfolgter Anellierung präzipitierten die 4-Hydroxy-chinolin-Derivate. Aufgrund des hohen Siedepunkts von Diphenylether konnte dieser nicht i. Vak. abdestilliert werden. Zur

Entfernung des Lösungsmittels mussten die ausgefallenen Produkte (**4a - c**) daher gründlich mit Diethylether gewaschen werden (**Tab. 3**).

Im Fall des Anilinomethylenmalonsäurediethylesters **3a** wurde versucht, die Cyclisierung durch Mikrowelleneinsatz zu optimieren. Dazu wurde Verbindung **3a** in Diphenylether gelöst und nach Zugabe von Weflon[®]-Scheiben in der Synthesemikrowelle auf 210 °C erwärmt. Bereits nach 10 min konnten Präzipitate beobachtet werden. Nach einer Reaktionszeit von insgesamt 20 min wurde Verbindung **4a** mit einer Ausbeute von 62 % isoliert. Der Mikrowelleneinsatz führte somit

bei deutlich reduzierter Reaktionszeit (20 min) gegenüber der konventionellen Methode (81 % nach 2 h) zu einer zufriedenstellenden Ausbeute von 62 % und wurde daher als Methode der Wahl für die Synthese von Verbindung **4a** in dieser Arbeit eingesetzt.

Wurden unsymmetrisch substituierte Anilinomethylenmalonsäurediethylester (**3a - b**) eingesetzt, konnte nach erfolgter Cyclisierung das Vorhandensein von Regioisomeren mittels NMR-Spektroskopie beobachten werden. Das Isomerenverhältnis wurde dabei durch den Substituenten R^1 bestimmt. Aufgrund dessen war die dazu *ortho*-ständige Position für die elektrophile Substitution sterisch beeinträchtigt und die Anellierung verlief vorwiegend über Weg **a**. Für beide 4-Hydroxy-chinolin-Derivate **4a - b** wurde mittels der Integration der aromatischen Signale in $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, ein Verhältnis von 10:1 (**A/B**) gefunden (**Schema 4**). Wegen der sehr schlechten Löslichkeit der erhaltenen 4-Hydroxy-chinoline gegenüber organischen Lösungsmitteln war eine säulenchromatographische Trennung der Isomere auf dieser Stufe nicht möglich.



Schema 4: Regioselektivität der Cyclisierungsreaktion.

Der Einsatz von hochsiedenden Lösungsmitteln ist für die thermische Anellierung bislang unerlässlich. Allerdings ist deren Entfernung mit zeitaufwändigen Waschschritten und dafür benötigten großen Lösungsmittelmengen verbunden. Aus diesem Grund wurde versucht, durch die Anwendung von Mikrowellen-unterstützter Synthese die Cyclisierung zu Verbindung **4a** ökologischer zu gestalten.

1. Lösungsmittelfreie Synthese:

Es wurde versucht, den Anilinomethylenmalonsäurediethylester **3a** mit wenigen Tropfen EtOH im offenen System auf $200\text{ }^\circ\text{C}$ zu erhitzen. Ab $105\text{ }^\circ\text{C}$ war kein weiterer Temperaturanstieg mehr möglich, weshalb die Anellierung auf diesem Wege nicht erfolgte.

2. Variation der Lösungsmittel:

Um das Lösungsmittel leichter entfernen zu können, wurde versucht, niedrigsiedende Lösungsmittel in geeigneten Druckgefäßen über deren atmosphärischen Siedepunkt hinaus auf $> 200\text{ }^{\circ}\text{C}$ zu erhitzen.

- Polare Lösungsmittel:

Verbindung **3a** wurde in verschiedenen Ansätzen in dem. Wasser, EtOH oder *i*-PrOH gelöst und im geschlossenen System der Synthesemikrowelle synthWAVE (*MLS*) jeweils auf $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Aufheizrate: in 5 min auf $210\text{ }^{\circ}\text{C}$, 800 W) erhitzt. Nach 1 h konnte dünnschichtchromatographisch eine Vielzahl an Nebenprodukten beobachtet werden. Im Fall des *i*-PrOH-Ansatzes konnte das zum Diisopropylester umgeesterte Derivat der Verbindung **3a** säulenchromatographisch isoliert werden. Die gewünschte Verbindung **4a** wurde nicht erhalten.

- Apolare Lösungsmittel:

Analog den polaren Lösungsmitteln wurde Verbindung **3a** entweder in Dioxan, THF oder Toluol gelöst und versucht, nach Zugabe von Weflon[®]-Scheiben im Druckgefäß der Synthesemikrowelle synthWAVE (*MLS*) für 1 h auf $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ zu erhitzen. In allen Ansätzen konnte die angestrebte Temperatur nicht erreicht werden, weshalb die Cyclisierung auch hier nicht beobachtet wurde.

- Ionische Flüssigkeit:

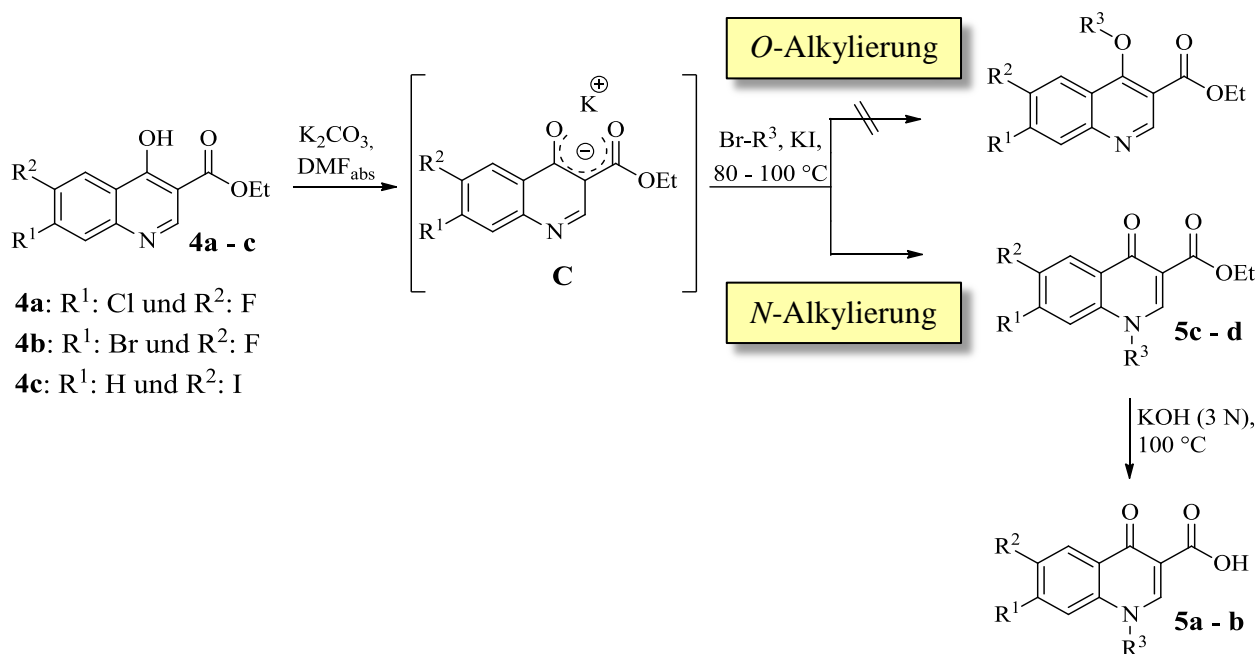
1-Butyl-3-methylimidazolium-Chlorid wurde als mögliches Lösungsmittel ausgewählt, da es aufgrund des ionischen Charakters Mikrowellenstrahlung ausreichend absorbiert und sich mit Wasser leicht auswaschen lässt. Eine Umsetzung von **3a** zu **4a** konnte nach 2 h bei $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Aufheizrate: in 15 min auf $210\text{ }^{\circ}\text{C}$, 800 W) nicht beobachtet werden.

Somit ist es nicht gelungen, eine Alternative zu Diphenylether zu finden. Im Falle der polaren protischen Lösungsmittel waren vermutlich unerwartete Reaktionen zwischen Lösungsmittel und Verbindung **3a** (z. B. Umesterung und Decarboxylierung) bei diesen drastischen Bedingungen für das Scheitern der Anellierung verantwortlich. Für apolare Lösungsmittel hingegen wurde die benötigte Temperatur nicht erreicht, weshalb auch hier keine Cyclisierung beobachtet werden konnte. Ionische Flüssigkeiten zeigen vielversprechende Eigenschaften gegenüber Mikrowellenstrahlung.⁷⁷ Hohe Siedepunkte und gute Löslichkeit in Wasser sind weitere Vorteile, weshalb diese für die hier vorliegende Reaktion in Betracht gezogen wurden. Die lange

Aufheizrate (in 15 min auf 210 °C, 800 W) könnte eine mögliche Ursache für das Scheitern der Cyclisierung darstellen. Würde diese auf wenige Minuten reduziert, könnte die Bildung von Neben- und Zersetzungsprodukten verringert und die Chance der Cyclisierung erhöht werden.

3.1.1.1.3 Synthese von 1-Alkyl-4-oxo-chinolin-3-carbonsäuren

Das 4-Hydroxy-chinolin-Gerüst besitzt gegenüber Alkylierungsreagenzien zwei reaktive Stellen. Prinzipiell ist entweder eine orbitalkontrollierte *N*- oder ladungskontrollierte *O*-Alkylierung möglich. Unter basischen Bedingungen wird durch Delokalisation der negativen Ladung das „weiche“ Anion **C** gebildet, welches mit „weichen“ Elektrophilen nach dem HSAB-Konzept⁷⁸ vorzugsweise orbitalkontrolliert reagiert. Somit konnte durch die Verwendung von Bromalkanen in Gegenwart von K₂CO₃ selektiv eine *N*-Alkylierung erzielt werden (**Schema 5**).⁷⁹



Schema 5: Selektive *N*-Alkylierung der Chinolin-Derivate **4a - c**.

In Anlehnung an Koga *et al.*⁶⁷ wurden die Isomerengemische der Chinolin-Derivate **4a - c** in abs. DMF suspendiert und in Gegenwart von 4 - 5 Äquivalenten K₂CO₃ sowie 5 - 6 Äquivalenten 1-Brompropan bzw. 1-Brombutan bei 80 - 100 °C über einen Zeitraum von 1 - 2 Tagen alkyliert. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand mit dem. Wasser versetzt und mit EtOAc extrahiert. Auf dieser Stufe konnten die im Cyclisierungsschritt entstandenen Regioisomere säulenchromatographisch getrennt werden. Die erhaltenen Ester **5c - d** wurden für

Tab. 4: Übersicht der synthetisierten 1-Alkyl-4-chinolon-Derivate **5a - d**.

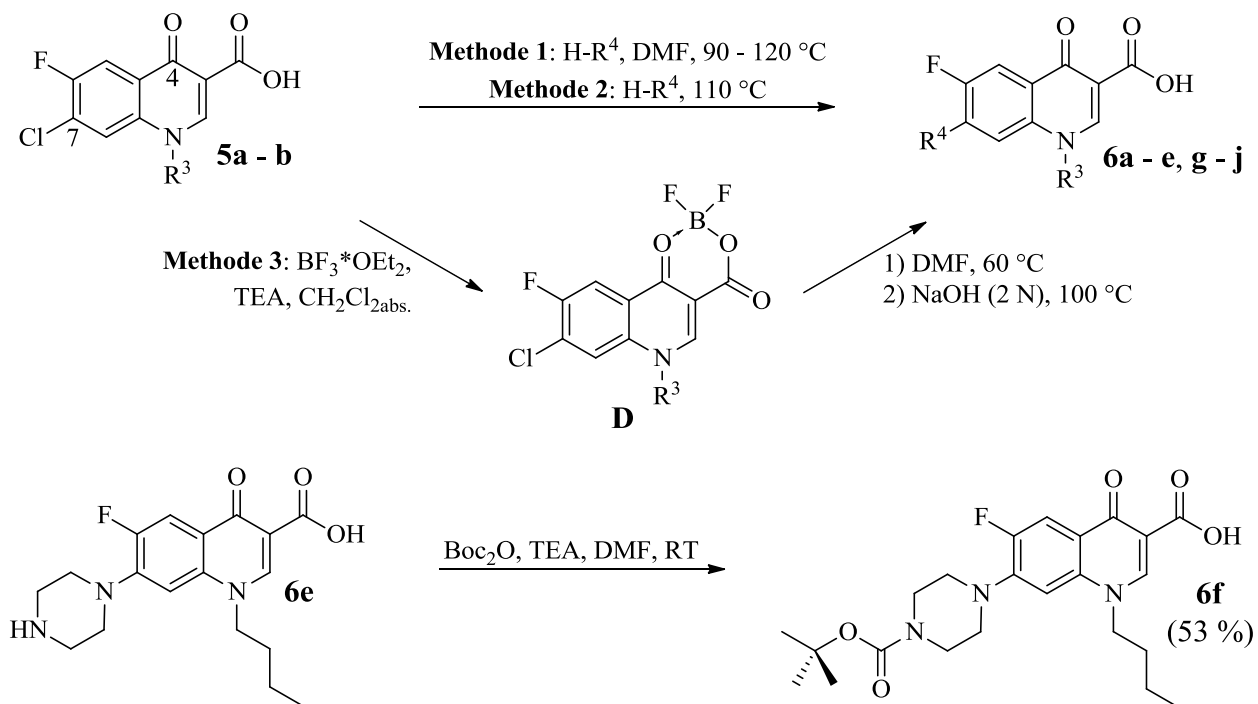
Verbindung	R ¹ /R ²	R ³	Ausbeute
5a ⁶⁷	R ¹ : Cl, R ² : F	<i>n</i> -propyl	96 % (Lit ⁶⁷ : 92 %)
5b ⁸⁰	R ¹ : Cl, R ² : F	<i>n</i> -butyl	87 %
5c	R ¹ : Br, R ² : F	<i>n</i> -butyl	66 %
5d ⁸¹	R ¹ : H, R ² : I	<i>n</i> -butyl	75 %

die in Kapitel 3.1.1.1.5 beschriebene Suzuki-Kopplung weiterverwendet. Die Ester der Derivate **5a - b** hingegen wurden ohne weitere Charakterisierung in wässriger KOH-Lösung hydrolysiert. Die gewünschten Carbonsäuren **5a - b** konnten mit einer Gesamtausbeute von

96 % bzw. 87 % isoliert werden (**Tab. 4**).

3.1.1.1.4 Synthese von 7-Amino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivaten

Die *para*-Stellung des Chlor-Substituenten (Pos. 7) zur elektronenziehenden Carbonyl-Gruppe (Pos. 4) ermöglicht die nukleophile aromatische Substitution (S_NAr) durch Amin-Substituenten in dieser Position. Im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt greift dabei das Nukleophil am Aromaten unter Bildung eines Meisenheimer-Komplex-Analogons an. Die negative Ladung wird über die verbleibenden fünf sp²-hybridisierten Kohlenstoffe verteilt, wobei die größte Partialladung in *para*-Position gefunden wird. Elektronenziehende Substituenten in *para*-Stellung, wie die Carbonylgruppe im hier vorliegenden Fall, stabilisieren das Carbanion und ermöglichen die Bildung derartiger Zwischenstufen mit präparativ nützlicher Reaktionsgeschwindigkeit. Im zweiten, sehr viel schnelleren Teilschritt, wird schließlich die Abgangsgruppe abgespalten.



Schema 6: Synthese der 7-Amino-4-chinolon-3-carbonsäuren **6a - j** via S_NAr und Boc-Schützung von **6e**.

Basierend auf der Ausgangsverbindung **IV** von S. Niedermeier⁶¹ (Kapitel 2) wurden für den Aufbau dieser Substanzbibliothek ausschließlich *sek.* Amine (H-R⁴) verwendet (**Schema 6**). Die Synthese erfolgte, abhängig vom eingesetzten Amin, auf drei unterschiedlichen Wegen.

1. Methode für S_NAr mit 4-Piperidincarboxamid, Piperidin und Piperazin:

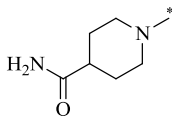
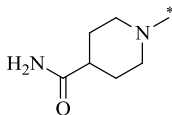
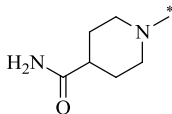

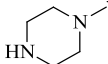
Die 4-Chinolon-3-carbonsäuren **5a - b** sowie die kommerziell erworbene 7-Chlor-1-cyclopropyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure wurden mit 5 - 6 Äquivalenten des entsprechenden Amins in einem Bombenrohr in DMF gelöst und für 7 - 40 h bei 90 - 120 °C zur Reaktion gebracht. Anschließend wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die Rohprodukte im wässrigen Medium bei pH = 4 ausgefällt. Durch Waschen mit dem. Wasser/Aceton (1:1) wurden die 7-Amino-4-chinolon-Derivate **6a - d** erhalten.

Neben der konventionellen Reaktionsführung wurde erneut der Vergleich zur Mikrowellen-unterstützten Synthese angestellt. Dabei wurden die Ausgangsverbindungen **5a - b** mit 5 - 8 Äquivalenten des entsprechenden Amins in einem Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) in DMF gelöst und mittels Mikrowellenstrahlung für 2.5 - 3 h auf 95 - 110 °C erwärmt. Analog dem konventionellen Ansatz wurden die Rohprodukte aus wässriger Lösung ausgefällt. Die

Aufreinigung erfolgte via Umkristallisation aus DMF bzw. Aceton (**6b - d**) oder im Fall des Piperazin-substituierten Derivats **6e** säulenchromatographisch.

In beiden Ansätzen wurden vergleichbare Ausbeuten erhalten. Da sämtliche Substitutionen nur einmal durchgeführt wurden, waren die beobachteten Unterschiede nicht signifikant. Jedoch konnte durch den Mikrowelleneinsatz die Reaktionszeiten aller hier durchgeführten Substitutionen im Vergleich zur konventionellen Methode deutlich reduziert werden. (**Tab. 5**).

Tab. 5: Übersicht der synthetisierten 7-Amino-4-chinolon-3-carbonsäuren 6a - e.

Verbindung	R ³	R ⁴	klassisch		Mikrowelle	
			Ausbeute	Zeit	Ausbeute	Zeit
6a ⁸²	cyclopropyl		74 % (Lit ⁸² : 60 %)	7 h	Nicht durchgeführt	
6b	<i>n</i> -propyl		62 %	6 h	53 %	3 h
6c	<i>n</i> -butyl		52 %	40 h	44 %	3 h
6d	<i>n</i> -butyl		76 %	22 h	67 %	3 h
6e	<i>n</i> -butyl		Nicht durchgeführt		33 %	2.5 h

Im abschließenden Schritt der Synthesesequenz zum Aufbau dieser Substanzbibliothek sollten die hier isolierten 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivate durch Isobutylchlorformiat aktiviert (über ein gemischtes Anhydrid) und mit entsprechenden Aminen amidiert werden (Kapitel 3.1.1.1.7). Im Fall von Verbindung **6e** würde Isobutylchlorformiat neben der Carbonsäure auch mit dem *sek.* Amin des Piperazin-Substituenten zum entsprechenden Carbamat reagieren. Um diese unerwünschte Nebenreaktion zu unterbinden, wurde Verbindung **6e** mit Di-*tert*-butyl-dicarbonat in Gegenwart von Triethylamin (TEA) Boc-geschützt. Nach Umkristallisation aus Aceton wurde Verbindung **6f** in einer Ausbeute von 53 % isoliert (**Schema 6**).

Für sämtliche 4-Chinolon-3-carbonsäuren wurde im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eine auffällig hohe chemische Verschiebung für das jeweilige Carbonsäure-Proton beobachtet ($\delta > 15$ ppm). Dieser Befund soll exemplarisch am $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **6c** diskutiert werden (Abb. 14):

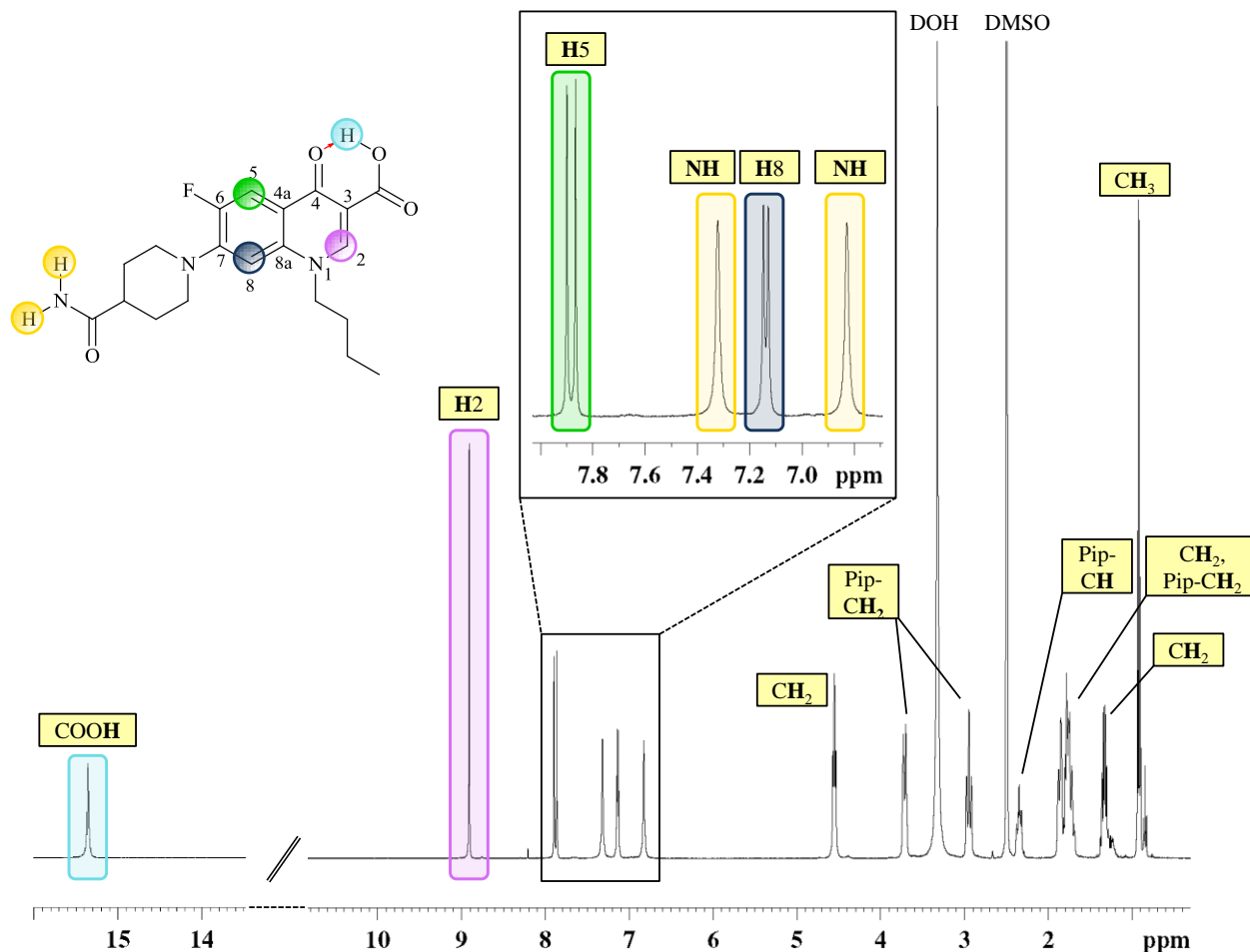


Abb. 14: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **6c**.

Generell erscheinen Protonensignale von Carbonsäuren in einem Bereich von $\delta = 9 - 13$ ppm.⁸³ Hingegen wurde das Signal des Carbonsäure-Protons von Verbindung **6c** bei $\delta = 15.3$ ppm gefunden. Die strukturelle Eigenschaft der Chinolone ermöglichte die intramolekulare Wechselwirkung über eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Carbonsäure in Pos. 3 und der β -ständige Carbonylgruppe, welche durch das Ausbilden eines 6-gliedrigen Rings begünstigt wurde. Durch diese Koordination erfährt das Carbonsäure-Proton zusätzliche Entschirmung, womit die hohe Tieffeld-Verschiebung erklärt werden kann. Dies korrelierte auch mit dem in der Literatur angegebenen Signalbereich für

Wasserstoffbrückenbindungen ($\delta = 9 - 17$ ppm).⁸³ Im Bereich zwischen $\delta = 6 - 9$ ppm werden die Signale der aromatischen Chinolon-Protonen gefunden. Neben **H2** ($\delta = 8.90$ ppm) können auch die durch Kopplung mit dem Fluor-Substituenten zum Dublett aufgespaltenen Signale von **H5** ($\delta = 7.85$ ppm, $^3J_{\text{H,F}} = 13.1$ Hz) sowie **H8** ($\delta = 7.12$ ppm, $^3J_{\text{H,F}} = 6.0$ Hz) beobachtet und anhand der Größe der Kopplungskonstanten den entsprechenden Protonen zugeordnet werden.

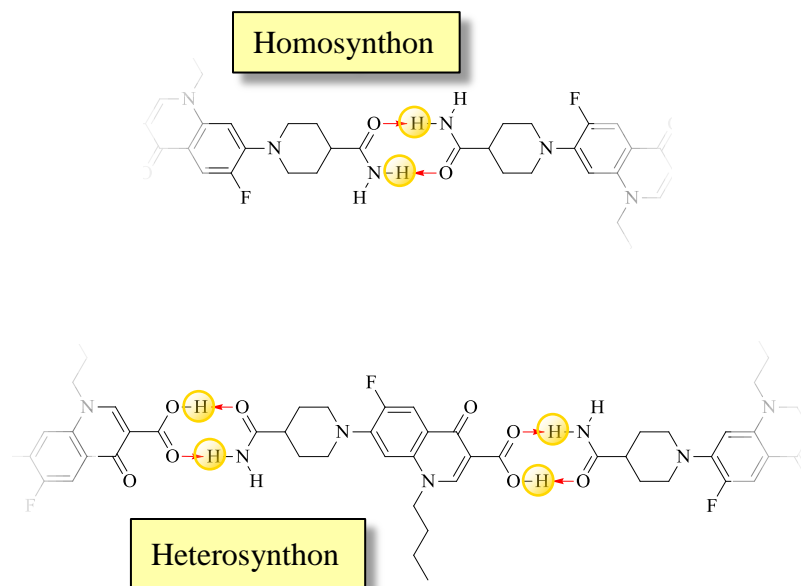


Abb. 15: Durch Wasserstoffbrückenbindungen gebildete mögliche dimere und polymere Strukturen von Verbindung **6c**.

bzw. auch Heterosynthone (Amid-Carbonsäure) ausbilden können.⁸⁴ Somit könnte diese Wechselwirkung die unterschiedlichen chemischen Verschiebungen der Amid-Protonen erklären. Analog der Auswirkung der intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung auf die chemische Verschiebung des Carbonsäure-Protons erfährt auch das Signal des Amid-Protons, welches über eine intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung mit der Carbonylfunktion einer weiteren Amid- bzw. Carbonsäure-Gruppe wechselwirkte, zusätzliche Abschirmung und damit einhergehend Tieffeld-Verschiebung ($\delta = 7.32$ ppm) im Unterschied zum geminalen Amid-Proton ($\delta = 6.83$ ppm).⁸⁵ Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum liefert somit Hinweise auf mögliche dimere bzw. polymere Strukturen von Verbindung **6c** (**Abb. 15**).


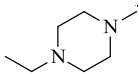
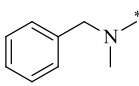
Die beiden verbleibenden Signale (NH) in diesem Bereich werden den Protonen des *prim.* Amids am Piperidin-Rest in Pos. 7 zugeordnet. Auffällig ist der deutliche Unterschied in der chemischen Verschiebung beider Signale ($\Delta\delta = 0.49$ ppm). Es ist bekannt, dass *prim.* Amide über intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen stabile Homo- (Amid-Amid)

2. Methode für S_NAr mit Morpholin, 1-Ethylpiperazin und *N*-Benzylmethylamin:

Zunächst wurde auch für die hier aufgeführten Amine analog Methode 1 verfahren. Dazu wurde Verbindung **5b** mit entsprechenden Aminen in DMF gelöst und bei 80 - 100 °C gerührt. Nach 24 h konnte in keinem der drei Fälle eine Umsetzung beobachtet werden. Auch durch die Verwendung der Synthesemikrowelle erfolgte die Substitution in DMF nicht.

In den letzten Jahren hat die lösungsmittelfreie organische Synthese stark an Bedeutung gewonnen. Nicht nur aus ökologischer Sicht ist sie von großem Interesse. Durch das Fehlen des Lösungsmittels liegen die Ausgangsverbindungen in sehr viel höheren Konzentrationen vor, was zu verbesserten Ausbeuten und Reaktionsgeschwindigkeiten führen kann.⁸⁶

Tab. 6: Übersicht der 7-Amino-4-Chinolone **6g - i**.

Verbindung	R ³	R ⁴	Ausbeute
6g	<i>n</i> -butyl		68 %
6h	<i>n</i> -butyl		37 %
6i	<i>n</i> -butyl		65 %

Aus diesem Grund wurde in der Folge auf DMF verzichtet. Verbindung **5b** wurde in 10 ml des entsprechenden Amins gelöst und unter Mikrowellenstrahlung (Aufheizrate: in 4 min auf 110 °C, 600 W) für 3 - 4 h bei 110 °C zur Reaktion gebracht. Die Lösungen wurden im Anschluß mit Wasser verdünnt

und mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) bzw. Eisessig auf pH = 5 eingestellt. Die ausgefallenen Rohprodukte wurden umkristallisiert oder säulenchromatographisch aufgereinigt, wodurch die Morpholino-, Ethylpiperazinyl- und *N*-Benzylmethylamino-substituierten Derivate **6g - i** in Ausbeuten von 37 - 68 % erhalten wurden (Tab. 6, Schema 6).

3. Methode zur Synthese von 7-Dimethylamino-4-chinolon-3-carbonsäure **6j**:

Parallel zur lösungsmittelfreien Variante (Methode 2) wurde für die Substitution mit Morpholin ein weiterer Ansatz verfolgt, der allerdings in einer Nebenreaktion zum unerwarteten 7-Dimethylamino-Derivat **6j** führte. In Anlehnung an Heravi *et al.*⁸⁷ wurde Verbindung **5b** zunächst mittels Diethylether-Bortrifluorid-Komplex und Triethylamin (TEA) in den entsprechenden Borester **D** überführt (Schema 6). Der Borester fungierte als interne Lewissäure und koordinierte an die β -Carbonylfunktion, wodurch der Elektronenzug auf die *para*-Position verstärkt wurde. Damit verbunden wurde auch die Reaktivität von Pos. 7 gegenüber Nukleophilen gesteigert. Der erhaltene Borester wurde ohne weitere Charakterisierung mit je 2 Äquivalenten Morpholin und TEA in DMF gelöst und 3 h bei 60 °C gerührt. Nach erfolgter

Umsetzung wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand in wässriger KOH-Lösung (3 N) hydrolysiert.

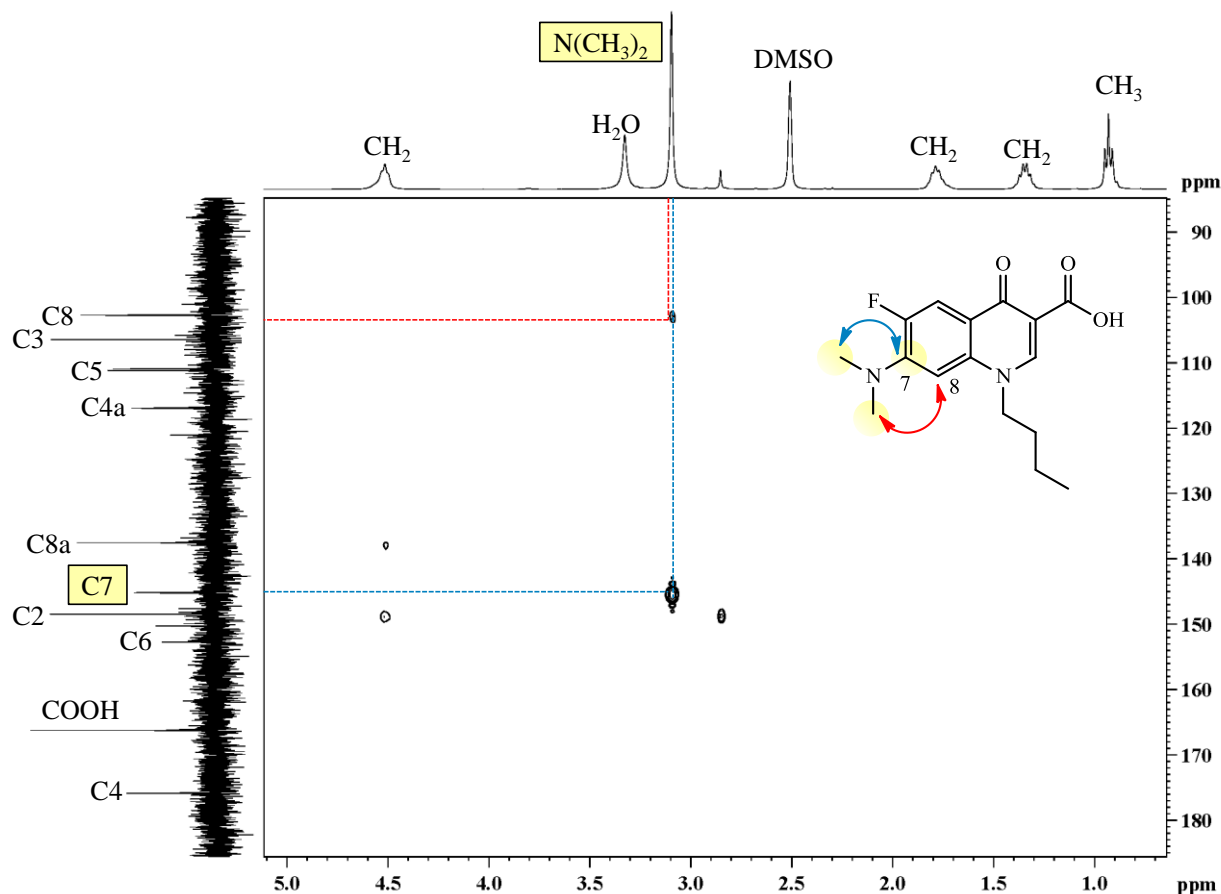


Abb. 16: Ausschnitt aus dem HMBC-NMR-Spektrum der Verbindung 6j.

Der isolierte Feststoff zeigte im ^{13}C -NMR-Spektrum zwar die für 7-Amino-4-chinolon-Derivate typische chemische Verschiebung und Fluorkopplung von C7 (145.1 ppm, $^3J_{\text{C,F}} = 10.1$ Hz), allerdings konnten die aliphatischen Signale des Morpholin-Substituenten weder im ^1H - noch im ^{13}C -NMR-Spektrum gefunden werden. Stattdessen wurde im ^1H -Spektrum ein Dublett (3.09 ppm, $^5J = 1.5$ Hz) mit einem Integral von 6 Protonen gefunden. Eine deutliche C-H-Korrelation zwischen diesem Signal und C7 im HMBC-NMR-Spektrum ließ vermuten, dass es sich hierbei um chemisch äquivalente Methyl-Gruppen eines Amin-Substituenten in Pos. 7 handeln musste (Abb. 16). Ein ESI-Massenspektrum ($m/z = 307.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$) konnte diese Vermutung schließlich bestätigen ($M = 306.3$ g/mol).

Für die $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ -Reaktion wurde nicht-destilliertes DMF verwendet, welches, je nach Alter, gewisse Mengen an Dimethylamin enthält. Somit wurde nicht der gewünschte Morpholin-Rest, sondern Dimethylamin in Pos. 7 eingeführt. Die Reaktion wurde daraufhin erneut mit nicht-destilliertem

DMF ohne Morpholin durchgeführt und es konnte gezielt das 7-Dimethylamino-Derivat **6j** in einer Ausbeute von 70 % isoliert werden. In einer weiteren Kontrolle wurde abs. DMF verwendet, wobei keinerlei Umsetzung zu beobachten war und die zuvor aufgestellte Hypothese bestätigt werden konnte.

3.1.1.1.5 Einführung C-C-gekoppelter Substituenten in Pos. 6 und 7

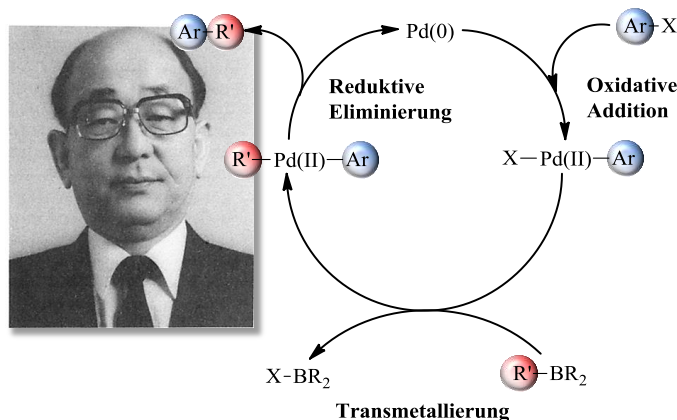

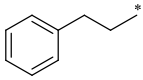


Abb. 17: Mechanismus der Palladiumkatalysierten Suzuki-Kupplung. (Reprinted with permission from Miyaura et al.⁹¹ Copyright 1995 American Chemical Society).

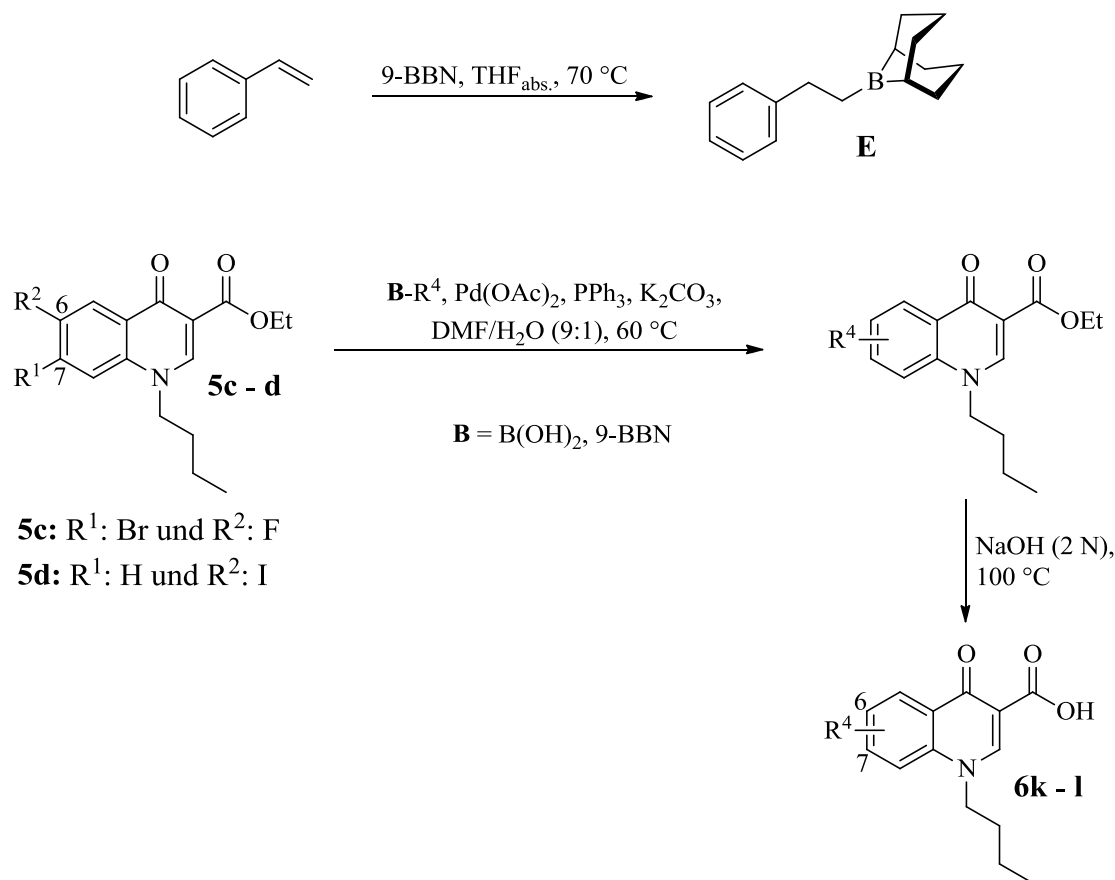
Übergangsmetallkatalysierte C-C-Kupplungsreaktionen fanden in den letzten Jahren vermehrt Einsatz in Naturstoffsynthesen.^{88,89} Auch im Bereich der Wirkstoffentwicklung finden diese 2010 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichneten Kupplungen (Heck, Negishi und Suzuki) häufige Anwendung.⁹⁰ Im Fall der Suzuki-Reaktion erfolgt die Kupplung mittels Bororganyle und Aryltriflats, -bromiden oder -iodiden. Eine Vielzahl an Arylboronsäuren oder -boronestern sind kommerziell erhältlich. Desweiteren lassen sich für die Kupplungsreaktion einsetzbare 9-BBN-Derivate einfach über Hydroborierung herstellen. Die C-C-Knüpfung gelingt nur mit katalytischen Mengen eines Pd(0)-Komplexes. Im ersten Schritt erfolgt nach der Ausbildung eines π -Komplexes die oxidative Addition des Arylhalogenids (Ar-X) an den Pd(0)-Komplex, wodurch sich dessen Oxidationszahl auf +II erhöht. Im folgenden Transmetallierungsschritt wird das eingesetzte Bororganyl (R'-BR₂) in einer Ligandenaustauschreaktion an den Pd(+II)-Komplex gebunden. Unter Ausbildung einer σ -Bindung werden schließlich beide organische Reste abgespalten, wodurch der Pd-Komplex seine ursprüngliche Oxidationszahl (0) zurückerhält (reduktive Eliminierung). Die oxidative Addition ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Aufgrund der Bindungsstärken von Ar-X (X = I < Br << Cl) gelingt dieser Teilschritt nur mit Iodiden und Bromiden. Um die Reaktivität des Bororganyls zu steigern, kann die Suzuki-Reaktion in wässrigen Medien in Gegenwart von Basen durchgeführt werden, wodurch die Nukleophilie des organischen Rests über die *In-situ*-Bildung eines vierbindigen Borats deutlich erhöht wird (**Abb. 17**).^{91,92}

Tab. 7: Übersicht der mittels Suzuki-Kupplung synthetisierten Derivate **6k - l**.

Verbindung	R ⁴	Ausbeute
6k	Pos. 6: F	57 %
	Pos. 7: 	
6l	Pos. 6: 	55 %
	Pos. 7: H	

Um C-C-verknüpfte Substituenten in das 4-Chinolon-Gerüst einführen zu können, wurde zuvor das 7-Brom-Derivat **5c** und das 6-Iod-Derivat **5d** synthetisiert. Die Ausgangsverbindungen wurden zusammen mit 1.2 Äquivalenten K₂CO₃, 0.2 Äquivalenten PPh₃, 0.1 Äquivalenten Pd(OAc)₂ sowie einem Äquivalent

Phenylboronsäure bzw. 1.1 Äquivalente des 9-BBN-Derivats (**E**) in einer Mischung aus frisch destilliertem DMF und dem. Wasser (9:1) gelöst und 6 - 24 h bei 60 °C gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt und anschließend mittels wässriger NaOH-Lösung (2 N) hydrolysiert. Auf diesem Wege konnten die 7-Phenyl- und 6-Phenethyl-Derivate **6k - l** synthetisiert werden (**Tab. 7, Schema 7**).



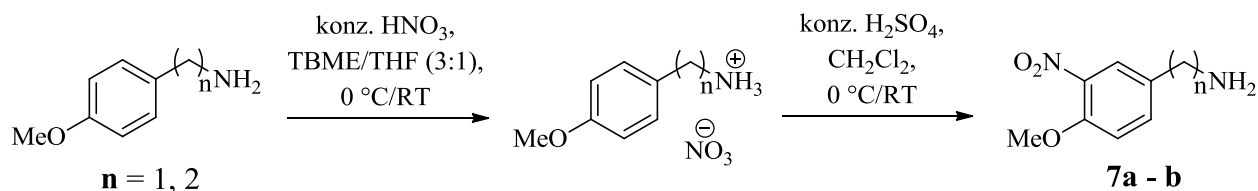
Schema 7: Einführung C-C-verknüpfter Substituenten in Pos. 6 und 7 via Suzuki-Kupplung.

3.1.1.1.6 Synthese von Arylaminen

Für die abschließende Amidierung in Pos. 3 (Kap. 3.1.1.1.7) wurden neben zahlreichen kommerziell erhältlichen Aminen auch drei weitere synthetisiert.

1. Mono-Nitrierung von 4-Methoxybenzylamin und 4-Methoxybenzylphenethylamin:

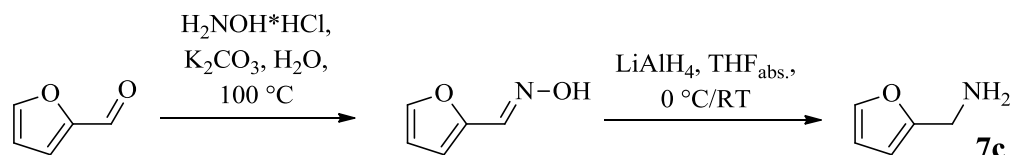
Gemäß der Durchführung von Zhang *et al.*⁹³ wurden die Amine, gelöst in einer Mischung aus *tert*-Butylmethylether (TBME) und THF (3:1), zunächst mit 1 Äquivalent konz. HNO₃ in die entsprechenden Nitrat-Salze überführt. Diese wurden anschließend in konz. H₂SO₄ *mono*-nitriert. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung konnten die Amine **7a**⁹³ und **7b**⁹⁴ in Ausbeuten von 57 % (Lit⁹³: 89 %) und 41 % erhalten werden (**Schema 8**).



Schema 8: Mono-Nitrierung von 4-Methoxybenzylamin und 4-Methoxyphenethylamin.

2. Synthese von Furfurylamin:

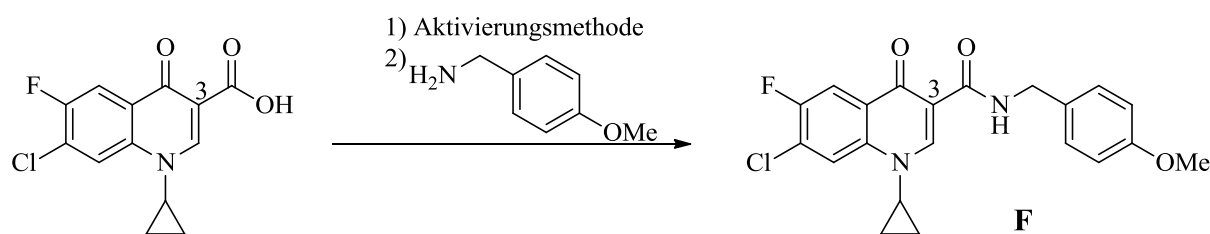
In Anlehnung an Bandgar *et al.*⁹⁵ wurde Furfural mit 2 Äquivalenten Hydroxylamin-Hydrochlorid und 1 Äquivalent K₂CO₃ in dem. Wasser gelöst und 2 h zum Sieden erhitzt. Extraktion der wässrigen Lösung mit CHCl₃ lieferte die Oxim-Zwischenstufe. Diese wurde im folgenden Schritt zum gewünschten Amin reduziert, indem LiAlH₄ (1.5 Äquivalente) in abs. THF unter Argonatmosphäre suspendiert und das Oxim, gelöst in abs. THF, unter Eiskühlung zugetropft wurde. Die Reaktion wurde 16 h bei RT gerührt, mit EtOH und dem. Wasser vorsichtig gestoppt und anschließend mit EtOAc extrahiert. Furfurylamin **7c**⁹⁵ konnte nach säulenchromatographischer Aufreinigung in einer Ausbeute von 56 % (Lit⁹⁵: 84 %) isoliert werden (**Schema 9**).



Schema 9: Synthese von Furfurylamin **7c**.

3.1.1.1.7 Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden und -3-carboxylaten

Carbonsäuren gehen aufgrund der Mesomeriestabilisierung (starker +M-Effekt) im basischen und neutralen Milieu keine S_N -Reaktionen mit Nucleophilen ein. Um eine Substitution zu ermöglichen, muss die Carbonsäure zunächst in ein reaktiveres Acylierungsmittel überführt werden (schwacher +M-Effekt). Gängige Aktivierungsmethoden sind zum Beispiel die Überführung in Carbonsäurechloride, gemischte Anhydride oder Carbonsäureimidazole. Vor allem im Bereich der Peptidsynthesen spielen milde Aktivierungsmethoden eine wichtige Rolle, weshalb die Entwicklung neuer Kupplungsreagenzien stetig voranschreitet.⁹⁶



Schema 10: Modellsystem zur Wahl einer geeigneten Aktivierungsmethode.

Tab. 8: Übersicht der untersuchten Aktivierungsmethoden.

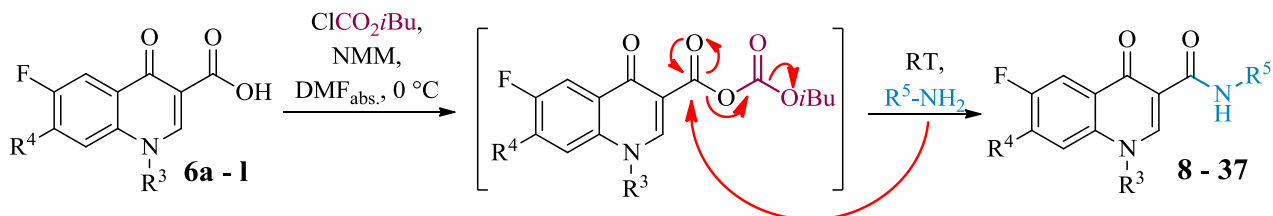
	Aktivierungsmethode	Ausbeute	Im letzten Schritt der 4-Chinolon-3-carboxamid-Synthese erfolgte die Amidierung in Pos. 3. Um eine für die hier synthetisierten 4-Chinolon-3-carbonsäuren geeignete Aktivierungsmethode zu finden, wurden zunächst an einem Modellsystem verschiedene Varianten ausprobiert (Schema 10). Begonnen wurde mit dem Versuch die kommerziell erhältliche Ausgangsverbindung 7-Chlor-1-cyclopropyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure über Oxalylchlorid oder
Säurechlorid	Oxalylchlorid, $\text{CH}_2\text{Cl}_{2\text{abs.}}$, RT	-	
	PCl_5 , $\text{CH}_2\text{Cl}_{2\text{abs.}}$, RT	-	
Acylisoharnstoff	HOBT, DMAP, EDC*HCl, TEA, $\text{CHCl}_3\text{abs.}$, RT	59 %	
Anhydrid	ClCO_2Et , TEA, $\text{DMSO}_{\text{abs.}}$, 0 °C	-	
	ClCO_2iBu , NMM, $\text{DMF}_{\text{abs.}}$, 0 °C	48 %	

Phosphorpentachlorid in das entsprechende Carbonsäurechlorid zu überführen und anschließend mit 4-Methoxybenzylamin in Gegenwart von TEA zu amidieren. In beiden Ansätzen konnte keine Umsetzung zum gewünschten Amid **F** beobachtet werden. Mittels des Aktivierungscocktails, bestehend aus Hydroxybenzotriazol (HOBT), 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), TEA und 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-Hydrochlorid (EDC*HCl),

wurde die Carbonsäure über einen Acylisoharnstoff in einen Benzotriazolester überführt und schließlich mit 4-Methoxybenzylamin umgesetzt. Das gewünschte Amid **F** konnte dabei in einer Ausbeute von 59 % säulenchromatographisch isoliert werden.

Abschließend wurde in Anlehnung an S. Niedermeier⁶¹ die Aktivierung über ein gemischtes Anhydrid versucht. Für das verwendete Aktivierungsreagenz Ethylchlorformiat konnte bei anschließender Umsetzung mit 4-Methoxybenzylamin keine Amidierung beobachtet werden. Daraufhin wurde das Aktivierungsreagenz durch Isobutylchlorformiat ersetzt, wobei das *in situ* erzeugte Anhydrid mit 4-Methoxybenzylamin zum gewünschten Amid **F** umgesetzt werden konnte (48 %).

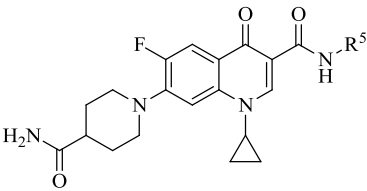
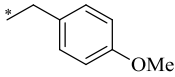
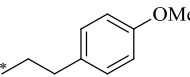
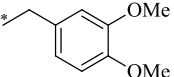
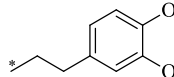
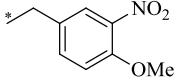
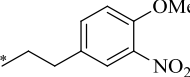
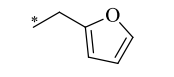
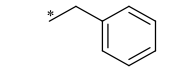
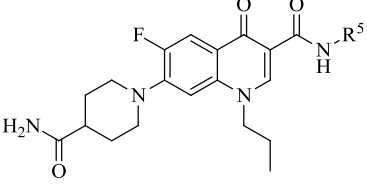
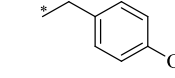
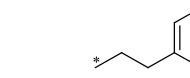
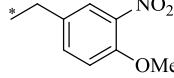
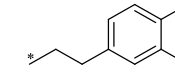

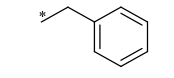
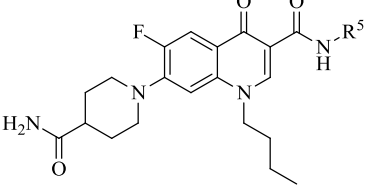
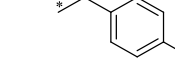

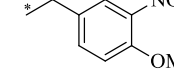
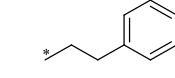

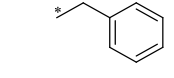

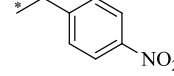
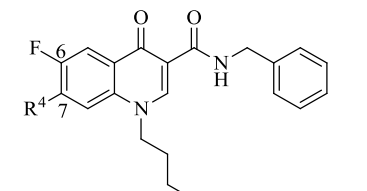
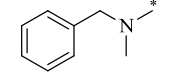
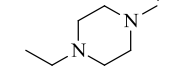
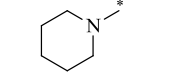
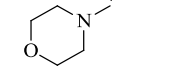
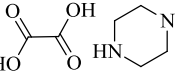
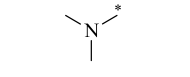
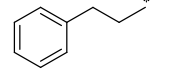
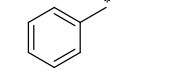
Mit EDC*HCl/HOBT und Isobutylchlorformiat standen nun zwei Aktivierungsmethoden zur Verfügung, mit deren Hilfe das gewünschte Amid **F** hergestellt werden konnte (**Tab. 8**). Die Wahl fiel auf letzteres, da das gemischte Anhydrid, nach erfolgtem Angriff des Nucleophils, in flüchtige (CO₂) bzw. i. Vak. entfernbare (Isobutanol) Komponenten zerfiel, wodurch sich die Aufarbeitung einfach gestaltete. Im Gegensatz dazu mussten die Komponenten des EDC*HCl/HOBT-Aktivierungscocktail durch Extraktion bzw. säulenchromatographisch entfernt werden, was einem deutlich größeren Arbeitsaufwand erforderte.



Schema 11: Amidierung via gemischtem Anhydrid.

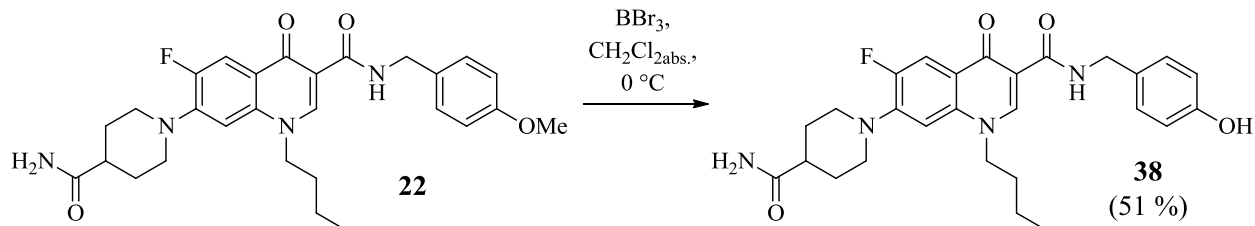
Die synthetisierten 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivate **6a-1** wurden zunächst mit 5 Äquivalenten *N*-Methylmorpholin (NMM) in abs. DMF unter Argonatmosphäre gelöst. Unter Eiskühlung wurden 4 Äquivalente Isobutylchlorformiat zugegeben und nach 1 h das *in situ* hergestellte gemischte Anhydrid mit 4 Äquivalenten des entsprechenden Amins umgesetzt. Nach weiteren 45 min Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die gewünschten Amide (**8-37**) säulenchromatographisch aufgereinigt. Im Fall des Boc-geschützten 7-Piperazinyl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivats wurde im Anschluß die Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure (TFA) abgespalten und Verbindung **34** als Oxalat-Salz gefällt (**Schema 11**, **Tab. 9**).

Tab. 9: Übersicht der synthetisierten 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate 8 - 37.

1-Cyclopropyl-4-chinolon-3-carboxamide		R ⁵ (Ausbeute)				
	 8 (49 %)	 9 (29 %)	 10 (36 %)	 11 (55 %)		
	 12 (35 %)	 13 (49 %)	 14 (43 %)	 15 (44 %)		
	1-Propyl-4-chinolon-3-carboxamide		R ⁵ (Ausbeute)			
		 16 (53 %)	 17 (37 %)	 18 (36 %)		
		 19 (34 %)	 20 (21 %)	 21 (29 %)		
1-Butyl-4-chinolon-3-carboxamide		R ⁵ (Ausbeute)				
	 22 (47 %)	 23 (70 %)	 24 (25 %)			
	 25 (86 %)	 26 (30 %)	 27 (33 %)			
	 28 (33 %)	 29 (37 %)				
	1-Butyl-4-chinolon-3-carboxamide		R ⁴ (Ausbeute)			
		 30 (25 %)	 31 (39 %)	 32 (25 %)	 33 (83 %)	
 34 (56 %)		 35 (39 %)	 36^a (52 %)	 37 (23 %)		

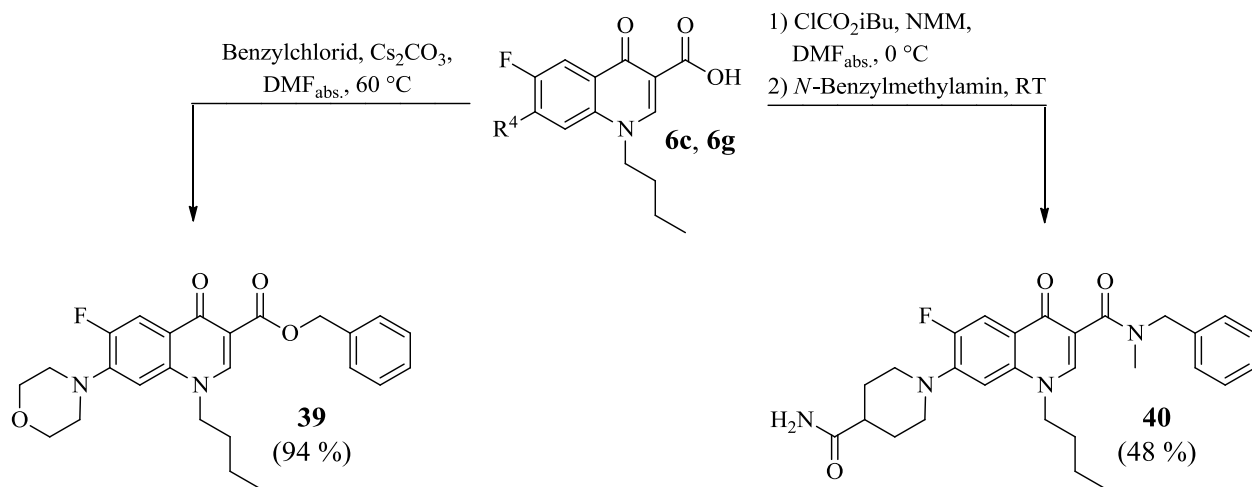
^a: Das Substitutionsmuster von Verbindung **36** weicht von der allgemeinen Struktur ab. Der Phenethylsubstituent befindet sich in Pos. 6; Pos. 7 enthält ein Wasserstoffatom.

Verbindung **38** wurde über Demethylierung von **22** mittels Bortribromid dargestellt. Nach Extraktion mit CH_2Cl_2 aus wässriger Lösung wurde Verbindung **38** durch Umkristallisation aus *i*PrOH aufgereinigt (**Schema 12**).



Schema 12: Darstellung von Verbindung **38** via Etherspaltung.

Zur Darstellung des 4-Chinolon-3-carboxylat-Derivats **39** wurde Verbindung **6g** mit 2 Äquivalenten Cs_2CO_3 und 2 Äquivalenten Benzylchlorid unter Argonatmosphäre in abs. DMF gelöst. Die Lösung wurde 2 h bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt und das Rohprodukt aus wässriger Lösung mit CHCl_3 extrahiert. Anschließende Umkristallisation aus EtOAc lieferte Verbindung **39** in einer Ausbeute von 94 %. Das *tert.* Amid **40** wurde ausgehend von Verbindung **6c** mittels Aktivierung über das gemischte Anhydrid und anschließende Umsetzung mit *N*-Benzylmethylamin synthetisiert (**Schema 13**).



Schema 13: Synthese von Verbindung **39** und **40**.

Im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum von Verbindung **40** wurden zwei Signalsätze im Verhältnis von 1.7:1 beobachtet. Da beide Signalsätze die Struktur von **40** bestätigen, musste es sich bei den entstandenen Isomeren um Konformere handeln. Der strukturelle Unterschied zwischen den bisherigen *sek.* Amiden und Verbindung **40** lag in der zusätzlichen Methyl-Gruppe am Amid-

Stickstoff (*tert.* Amid), welche einen Einfluß auf die Rotationsfreiheit des Moleküls haben könnte. Amid-Bindungen (CO-N, grün) haben sowohl bei *sek.* als auch *tert.* Amiden hohe Rotationsbarrieren, weshalb die Rotation um die Chinolon-Amid-Bindung (rot) genauer betrachtet wurde. Da bei *sek.* Amiden bislang nur ein NMR-Signalsatz beobachtet wurde, ist davon auszugehen, dass sie um diese Bindung uneingeschränkt rotieren können. Die sterische Abstoßung bei Annäherung der Methyl- oder Methylene-Gruppe von Verbindung **40** an die Chinolon-Carbonyl-Funktion (C4) bzw. an das Wasserstoff-Atom in Pos. 2 erschwert eine freie Rotation (**Abb. 18**). Diese Flexibilitätseinbuße könnte in der Ausbildung von Rotameren resultieren, wodurch das Beobachten eines zweiten Signalsatzes im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum von **40** erklärt werden könnte.

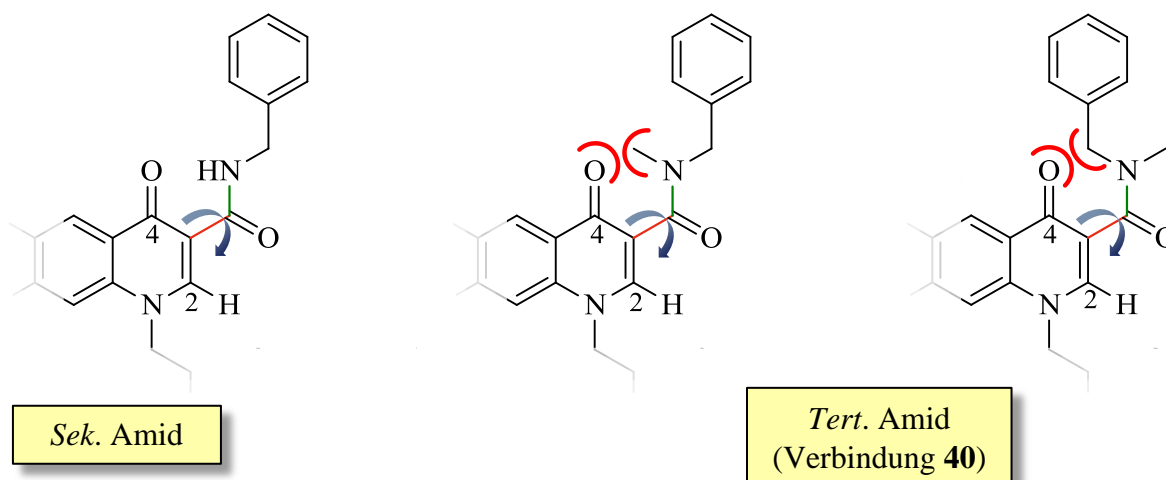


Abb. 18: Eingeschränkte Rotationsfreiheit durch sterische Hinderung.

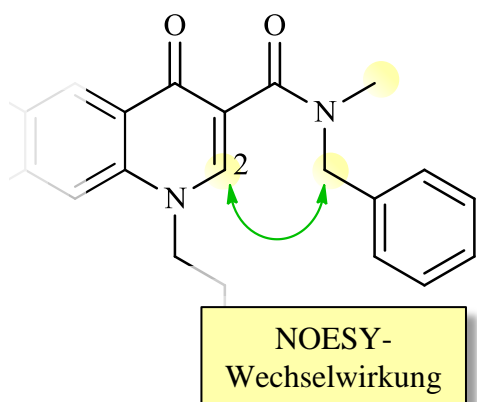


Abb. 19: NOESY-Kopplung des Nebenisomers.

Eines der beiden Rotamere konnte mittels eines 2D-NOESY-Experiment identifiziert werden. Genauer betrachtet wurde dazu das Wasserstoffatom in Pos. 2 und die möglichen Wechselwirkung zur Methyl- bzw. Methylene-Gruppe (gelb). Lediglich für das anhand der Integration der Signale bestimmte Nebenisomer konnte eine Korrelationssignal zur benzylichen- CH_2 -Gruppe gefunden werden, womit dieses Rotamer der in **Abb. 19** dargestellten Struktur ähneln musste. Für

das Hauptisomer wurde für keinen der beiden Amid-Reste eine Wechselwirkung zu **H2** beobachtet. Daher konnte davon ausgegangen werden, dass es sich hierbei um eine der beiden Strukturen aus **Abb. 18** handelt.

3.1.1.2 Analyse der Struktur-Wirkungs-Beziehung

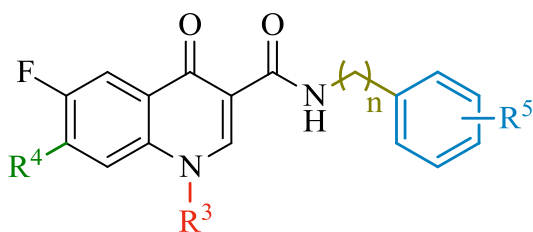


Abb. 20: Variation von Strukturelementen zur Identifikation essenzieller Substituenten.

Die synthetisierten 4-Chinolon-3-carboxamide sowie einige Zwischenstufen der Gould-Jacobs-Synthese wurden im Teilprojekt Z1 des SFB630 auf antitrypanosomale Wirksamkeit und Zytotoxizität untersucht. Alle Verbindungen wurden analog zu Rätz *et al.*⁹⁷ mittels eines AlamarBlue-Assays an der Unterart *T. b. brucei* (TC221) getestet und die IC₅₀-

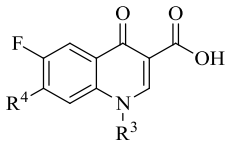
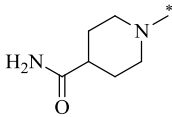
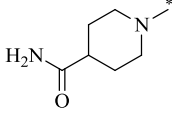


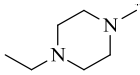
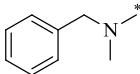

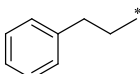
Werte nach 48 h und 72 h bestimmt. Desweiteren wurde, ebenfalls mittels eines AlamarBlue-Assays, die Zytotoxizität der Substanzen an der murinen Makrophagen-Zelllinie J774.1 ermittelt,⁹⁸ und die Selektivitätsindizes (SI) berechnet ($SI = IC_{50}(J774.1) / IC_{50}(T. b. b. \text{ nach } 48 \text{ h})$). Um die Einflüsse einzelner Strukturelemente auf die Aktivität zu untersuchen, wurden die 4-Chinolone dieser Substanzbibliothek in entsprechende Gruppen gegliedert und die Auswirkung der einzelnen Strukturvariationen auf die biologische Aktivität im Detail betrachtet (**Abb. 20**).

Neben der Molekülgröße ist die Lipophilie eines Moleküls eine der wichtigsten physiko-chemischen Eigenschaften und hat nicht nur großen Einfluß auf Löslichkeit und Membranpermeabilität einer Substanz, sondern kann auch die Ursache unerwünschter Nebenwirkungen sein (Promiskuität, Kapitel 1.2.2). „Drug-like“-Verbindungen sollten laut den Lipinski's Ro5 ein Molekulgewicht < 500 g/mol und einen logP-Wert < 5 aufweisen.³⁷ Aus diesem Grund wurden für zahlreiche 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate die logP-Werte experimentell bestimmt (Kapitel 6.9). Mit der „polar surface area“ (PSA) und der Anzahl an rotationsfähigen Bindungen (RB) stehen weitere physiko-chemische Parameter zur Verfügung, die Einfluss auf die ADME-Eigenschaften eines Moleküls haben. Bioverfügbare Wirkstoffe weisen eine $PSA < 140 \text{ \AA}^2$ und weniger als 10 rotationsfähige Bindungen auf.⁴⁶ Daher wurden diese beiden Parameter für jede Verbindung mittels ChemBioDraw Ultra 12.0 berechnet und zusammen mit den Ro5 während der Strukturoptimierung betrachtet, um resultierenden Leitstrukturen die nötigen ADME-Eigenschaften zusprechen zu können.

1. 4-Chinolon-3-carbonsäure- versus 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate:

Aufgrund der schlechten Löslichkeit der 4-Hydroxy-chinolin-Derivate **4a - c** war die Testung dieser Vorstufen nicht möglich. Erst die aus der Synthesesequenz resultierenden 4-Chinolon-3-carbonsäuren **5a - b** sowie einige der 7-Amino-substituierten 4-Chinolon-3-carbonsäuren **6b - c**, **6g - j** und das 6-Phenethyl-substituierte Derivat **6l** konnten auf ihre Wirksamkeit gegen *T. b. brucei* untersucht werden.

Tab. 10: Aktivitäten von 4-Chinolon-3-carbonsäure-Zwischenstufen.

Verbdg.			<i>T. b. brucei</i>		J774.1 IC ₅₀ [μM]
	R ³	R ⁴	48 h (Stabw)	72 h (Stabw)	
5a	<i>n</i> -propyl	Cl	> 40	> 40	> 100
5b	<i>n</i> -butyl	Cl	> 40	> 40	> 100
6b	<i>n</i> -propyl		> 40	> 40	> 100
6c	<i>n</i> -butyl		> 40	> 40	> 100
6d	<i>n</i> -butyl		14.6 (± 0.51)	18.1 (± 0.60)	93.0
6g	<i>n</i> -butyl		19.2 (± 2.36)	22.2 (± 2.82)	> 100
6h	<i>n</i> -butyl		27.1 (± 1.11)	31.7 (± 0.75)	> 100
6i	<i>n</i> -butyl		17.2 (± 1.00)	23.0 (± 8.15)	43.2
6j	<i>n</i> -butyl		> 40	> 40	> 100
6l^a	<i>n</i> -butyl		17.3 (± 0.30)	25.3 (± 6.76)	43.8

a: Das Substitutionsmuster von Verbindung **6l** weicht von der allgemeinen Struktur ab. Der Phenethylsubstituent sitzt in Pos. 6; Pos. 7 enthält ein Wasserstoffatom.

Wie bereits bei ähnlichen Derivaten von S. Niedermeier⁶¹ beobachtet, zeigten die Verbindungen **5a - b** nur sehr geringe Aktivität ($IC_{50} > 40 \mu M$). Durch Amino-Substituenten in Pos. 7 konnte sowohl für bekannte antibakteriell wirksame Chinolone wie Ciprofloxacin ($IC_{50} = 52 \mu M$) sowie für einige Derivate antitrypanosomale Aktivität im niedrigen mikromolaren Bereich beobachtet werden.^{58,59,60} Die hier synthetisierten 7-Amino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivate zeigten Aktivitäten im Bereich von $> 40 - 14.6 \mu M$ (**6b - d, 6g - j, 6l**) und liegen somit im Bereich der von Shapiro *et al.* und Burri *et al.* gefundenen Wirksamkeiten (**Tab. 10**).

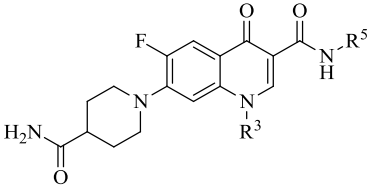
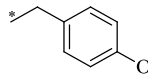
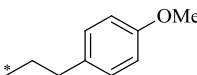
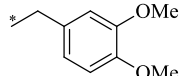
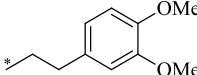
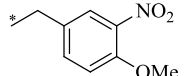
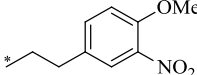
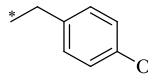
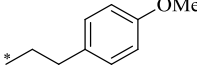
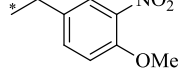
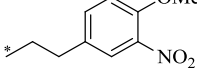
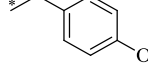
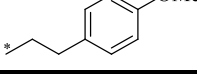
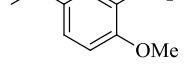
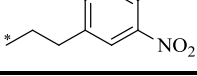
Die für die Aktivitätssteigerung entscheidende Strukturvariation wurde durch die Amidierung der Carbonsäure in Pos. 3 erzielt. S. Niedermeier zeigte in ihrer Dissertation, dass vor allem Benzylamide zu einer nennenswerten Aktivitätssteigerung beitragen.⁶¹ Auch in dieser Arbeit konnte durch Amidierung antitrypanosomale Aktivitäten vom niedrigen mikromolaren bis nanomolaren Konzentrationsbereich erzielt werden. Die Amidfunktion ist somit ein für die antitrypanosomale Aktivität essenzielles Strukturelement der 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate und für deren Überlegenheit gegenüber 4-Chinolon-3-carbonsäuren (**6b - c, 6g - j, 6l**) verantwortlich.

2. Benzylamid versus Phenethylamid:

Um den Einfluss der Kettenlänge zwischen Amid und Phenyl-Rest auf die Aktivität zu untersuchen, wurden Molekül-Paare synthetisiert, die sich nur in einer CH_2 -Einheit an besagter Stelle unterschieden. Alle übrigen Substituenten blieben unverändert, um die Auswirkung dieser Variation betrachten zu können (**Tab. 11**).

Die gefundenen Aktivitäten ließen keine eindeutige Schlussfolgerung zu. Für die Molekül-Paare **8/9** und **22/23** zeigt sich der Benzyl-Substituent überlegen, im Fall von **10/11** und **24/25** hingegen wurde die Phenethyl-substituierte Verbindung als potentere gefunden. Die Verbindungen der Paarung **16/17** zeigten sogar annähernd identische Aktivität. Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit der Derivate **13** und **19** konnte für diese keine *In-vitro*-Aktivität bestimmt und die entsprechenden Paarungen **12/13** und **18/19** nicht zur Ableitung einer Tendenz miteinbezogen werden.

Tab. 11: Aktivitäten der Benzylamid- und Phenylamid-Derivate.

Verbdg.		<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI	PSA [Å ²] RB	Molare Masse [g/mol] logP
		48 h (Stabw)	72 h (Stabw)				
8	cyclopropyl		2.75 (± 0.31)	2.56 (± 1.12)	>100	>36.4	105.0 8 492.5 2.34
9	cyclopropyl		3.27 (± 0.41)	8.61 (± 2.72)	>100	>30.6	105.0 9 506.6 -
10	cyclopropyl		8.57 (± 2.99)	13.1 (± 5.51)	>100	>11.7	114.2 9 522.6 -
11	cyclopropyl		4.01 (± 0.99)	25.4 (± 20.4)	>100	>24.9	114.2 10 536.6 2.33
12	cyclopropyl		3.32 (± 0.37)	4.66 (± 0.39)	46.2	13.9	145.3 9 537.5 -
13	cyclopropyl		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	145.3 10 551.6 -
16	<i>n</i> -propyl		2.28 (± 0.51)	3.12 (± 1.19)	41.4	18.2	105.0 9 494.6 2.50
17	<i>n</i> -propyl		2.31 (± 0.95)	4.02 (± 1.01)	>100	>43.3	105.0 10 508.6 -
18	<i>n</i> -propyl		2.10 (± 0.07)	2.77 (± 0.29)	>100	>47.6	145.3 10 539.6 -
19	<i>n</i> -propyl		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	145.3 11 553.6 -
22	<i>n</i> -butyl		0.78 (± 0.14)	1.45 (± 0.61)	40.8	52.3	105.0 10 508.6 2.92
23	<i>n</i> -butyl		2.33 (± 0.07)	7.56 (± 0.05)	>100	>42.9	105.0 11 522.6 -
24	<i>n</i> -butyl		3.07 (± 0.59)	4.14 (± 0.48)	>100	>32.6	145.3 11 553.6 2.31
25	<i>n</i> -butyl		1.73 (± 0.73)	3.05 (± 0.51)	> 100	>57.8	145.3 12 567.6 2.47

Anhand der verglichenen Molekül-Paare konnte man vermuten, dass die Substitution am Phenylrest für die jeweilige Aktivität ausschlaggebend sind. Je nach Substitutionsmuster dominierte der Benzyl- oder der Phenethyl-Rest. Somit kam dem Einfluss der Kettenlänge nur eine untergeordnete Rolle zu. Da einige Phenethyl-Derivate aufgrund schlechter Löslichkeit nicht getestet werden konnten, wurde für die weiteren Strukturoptimierungen ausschließlich Benzylamide synthetisiert und betrachtet.

Erwähnenswert ist, dass diese erste Substanzgruppe keine bis geringe Zytotoxizität gegenüber der Makrophagen-Zelllinie J774.1 zeigte ($IC_{50} > 100 - 40.8 \mu M$) und dass auch die logP-Werte (2.92 - 2.31) sowie die PSA größtenteils in einem für Leitstrukturen akzeptablen Bereich lagen. Molekülmassen von $> 500 \text{ g/mol}$ und eine hohe Anzahl an rotationsfähigen Bindungen ($RB > 8$) wirken sich allerdings nachteilig auf die Absorption aus, weshalb diese Molekülserie noch nicht der „*drug-likeness*“ entsprach.

3. Einfluss des Alkylsubstituenten in Pos. 1:

Der Einfluss des aliphatischen Substituenten in Pos. 1 wurde anhand von Molekül-Reihen untersucht, die sich einzig in der Kettenlänge am 4-Chinolon-Stickstoff unterschieden. Basierend auf dem Ergebnis aus Punkt 2 wurden ausschließlich CH_2 -verbrückte aromatische Reste in Pos. 3 betrachtet (**Tab. 12**).

Die Verbindungen **8/16/22** und **14/20/26** zeigten ein eindeutiges Bild: Vom Cyclopropyl-Substituenten, als kleinsten Vertreter, bis hin zum *n*-Butyl-Rest konnte eine Aktivitätssteigerung beobachtet werden. Für die *n*-Butyl-substituierte Verbindung **22** wurde bereits Aktivität im submikromolaren Konzentrationsbereich gefunden ($IC_{50} = 0.78 \mu M$). Die Reihen der Derivate **12/18/24** und **15/21/27** wichen von diesem Trend leicht ab. Die Cyclopropyl- (**12** und **15**) sowie die *n*-Butyl-Derivate (**24** und **27**) zeigten annähernd identische Aktivitäten. Die *n*-Propyl-Derivate (**18** und **21**) hingegen stachen aus beiden Reihen hervor, wobei für Verbindung **21** ($IC_{50} = 0.75 \mu M$) ebenfalls antitrypanosomale Aktivität im submikromolaren Bereich gefunden wurde. Zusammenfassend ließ sich der Trend ableiten, dass längerkettige aliphatische Substituenten am 4-Chinolon-Stickstoff einen positiven Einfluß auf die Aktivität haben. Basierend auf diesen Beobachtungen wurden alle Verbindungen für die folgenden Untersuchungen mit einem *n*-Butyl-Rest in Pos. 1 substituiert.

Tab. 12: Einfluss des Alkyl-Substituenten auf die antitrypanosomale Aktivität.

Verbdg	Chemical Structure		<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI	PSA [Å ²] RB	Molare Masse [g/mol] logP
	R ⁵	R ³	48 h (Stabw)	72 h (Stabw)				
8		cyclopropyl	2.75 (± 0.31)	2.56 (± 1.12)	>100	>36.4	105.0 8	492.5 2.34
16		<i>n</i> -propyl	2.28 (± 0.51)	3.12 (± 1.19)	41.4	18.2	105.0 9	494.6 2.50
22		<i>n</i> -butyl	0.78 (± 0.14)	1.45 (± 0.61)	40.8	52.3	105.0 10	508.6 2.92
12		cyclopropyl	3.32 (± 0.37)	4.66 (± 0.39)	46.2	13.9	145.3 9	537.5 -
18		<i>n</i> -propyl	2.10 (± 0.07)	2.77 (± 0.29)	>100	>47.6	145.3 10	539.6 -
24		<i>n</i> -butyl	3.07 (± 0.59)	4.14 (± 0.48)	>100	>32.6	145.3 11	553.6 2.31
14		cyclopropyl	8.89 (± 4.17)	12.1 (± 2.15)	>100	>11.2	105.0 7	452.5 1.95
20		<i>n</i> -propyl	4.60 (± 0.53)	4.84 (± 0.76)	56.9	12.4	105.0 8	454.5 2.10
26		<i>n</i> -butyl	1.03 (± 0.13)	1.84 (± 0.32)	41.4	40.2	105.0 9	468.5 2.43
15		cyclopropyl	1.07 (± 0.16)	1.91 (± 0.65)	51.2	47.9	95.7 7	462.5 2.50
21		<i>n</i> -propyl	0.75 (± 0.23)	1.25 (± 0.20)	43.7	58.3	95.7 8	464.5 2.64
27		<i>n</i> -butyl	1.09 (± 0.47)	1.98 (± 0.80)	47.0	43.1	95.7 9	478.6 3.15

Die Zytotoxizität dieser Substanzgruppe gegenüber Makrophagen (IC₅₀ > 100 - 40.8 μM) befand sich erneut in einem moderaten Bereich und mit Ausnahme der Molekül-Reihe **12/18/24** deuteten die physiko-chemischen Parameter auf zufriedenstellende ADME-Eigenschaften dieser Derivate hin. Vor allem die potentesten Verbindungen **21** und **22** mit Selektivitäts-Indizes (SI) von 58.3

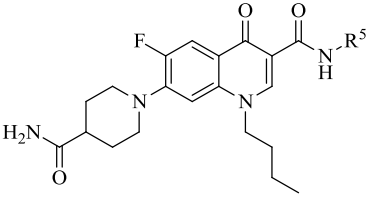
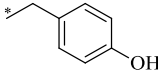
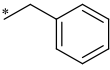
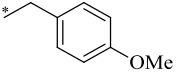
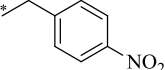
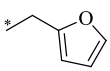
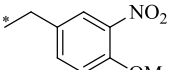
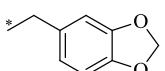
und 52.3 konnten bereits als erste vielversprechende Ausgangspunkte weiterer Optimierungen betrachtet werden, zumal diese beiden Verbindungen durch deren PSA (95.7 \AA^2 und 105.0 \AA^2) und Anzahl an rotationsfähigen Bindungen (8 und 10) ausreichend permeabel sein sollten bzw. durch deren logP-Wert (2.64 und 2.92) und Molekülmasse (464.53 g/mol und 508.58 g/mol) eine zufriedenstellende orale Bioverfügbarkeit vorhergesagt wurde.

4. Einfluss des Substitutionsmusters am Benzylamid:

Analog der bisherigen Vorgehensweise wurde für die Verbindungen dieser Gruppe nur das Substitutionsmuster des Benzylamids variiert. Dabei wurden sowohl Wasserstoffbrücken-Donoren (HBD) als auch Wasserstoffbrücken-Akzeptoren (HBA) in Betracht gezogen und deren Einfluss auf die antitrypanosomale Wirksamkeit untersucht (**Tab. 13**). In Kapitel 3.1.2.2 wird der von S. Niedermeier verwendete 2,4-Dichlorbenzyl-Rest genauer betrachtet. Dabei beobachtete man sowohl für halogenierte als auch unsubstituierte Benzylamide nahezu identische IC_{50} -Werte, womit dem Chlor-Substituent ein sehr geringer Einfluss auf die antitrypanosomale Aktivität zugesprochen werden konnte. Aufgrund dessen wurden in dieser Substanzbibliothek auf halogenierte Reste verzichtet.

Im direkten Vergleich zeigten sich HBAs den HBDs bzgl. antitrypanosomaler Aktivität überlegen. Während für das *para*-Hydroxy-Derivat **38**, als Vertreter der HBDs, Aktivität im mikromolaren Konzentrationsbereich ($IC_{50} = 3.09 \text{ \mu M}$) gefunden wurde, zeigten einige HBA-Derivate (**22**, **28**, **29**) Aktivität im mittleren nanomolaren Bereich. Vor allem Akzeptor-Funktionen in *para*-Position stachen hervor. Verbindung **29** wies durch die geringe Zytotoxizität bereits hohe Selektivität ($SI > 185.5$) auf. Ein zweiter Akzeptor-Substituent in *meta*-Stellung führte im Fall von Verbindung **24** zum Aktivitätsverlust ($IC_{50} = 3.07 \text{ \mu M}$) gegenüber dem *mono*-substituierten Homologen **22** ($IC_{50} = 0.78 \text{ \mu M}$). Durch die zusätzliche Nitro-Gruppe könnten sowohl sterische als auch elektronische Abstoßung Gründe für die Aktivitätsabnahme sein. Allerdings werden diese Begründungen durch Verbindung **28** widerlegt. Diese zeigte trotz zweier Akzeptor-Funktionen in *meta*- und *para*-Stellung eine Aktivität von 0.50 \mu M . Sowohl die sterische als auch die elektronische Abstoßung müsste auch hier zu einer Aktivitätsabnahme führen, was aber für dieses Derivat nicht beobachtet wurde. Somit konnte der Befund auf Grundlage dieser beiden Derivate nicht geklärt werden.

Tab. 13: Strukturvariationen am Benzylamid-Rest und zugehörige Testergebnisse.

Verbdg	 R ⁵	<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI	PSA [Å ²] RB	Molare Masse [g/mol] logP
		48 h (Stabw)	72 h (Stabw)				
38		3.09 (± 0.56)	5.12 (± 0.14)	41.6	13.5	116.9 9	494.6 1.89
27		1.09 (± 0.47)	1.98 (± 0.80)	47.0	43.1	95.7 9	478.6 3.15
22		0.78 (± 0.14)	1.45 (± 0.61)	40.8	52.3	105.0 10	508.6 2.92
29		0.54 (± 0.14)	0.58 (± 0.14)	>100	>185.5	136.1 10	523.6 2.78
26		1.03 (± 0.13)	1.84 (± 0.32)	41.4	40.2	105.0 9	468.5 2.43
24		3.07 (± 0.59)	4.14 (± 0.48)	>100	>32.6	145.3 11	553.6 2.31
28		0.50 (± 0.05)	0.91 (± 0.16)	42	84	114.2 9	522.6 -

Bislang außer Acht gelassen wurde das unsubstituierte Benzylamid **27**. Auch diese Verbindung zählt mit einer Aktivität von 1.09 μM zu den potentesten dieser Substanzgruppe. Zwar nahm die Lipophilie aufgrund fehlender polarer Gruppen leicht zu, mit einer PSA von 95.7 Å², weniger als 10 RB, einem logP-Wert von 3.15 und einem Molekulgewicht von 478.6 g/mol waren die Voraussetzungen einer guten oralen Bioverfügbarkeit dieses Derivats immer noch gegeben.

Anhand der Ergebnisse dieser Substanzgruppe war ersichtlich, dass die entscheidende Wechselwirkung des Benzylamid-Rests hydrophober Natur ist und die Aktivität durch HBAs in *para*-Position teilweise in den submikromolaren Konzentrationsbereich modifiziert werden können. Für die weiteren Untersuchungen wurde daher der unsubstituierte Benzylamid-Rest verwendet.

5. Einfluss des Amin-Substituenten in Pos. 7:

Diese Substanzgruppe basierte auf den bereits erhaltenen Ergebnissen, weshalb die Verbindungen mit einem *n*-Butyl-Rest in Pos. 1 und einem unsubstituierten Benzylamid in Pos. 3. synthetisiert wurden. Die einzige Variation dieser Gruppe war in Pos. 7 zu finden. Eine Ausnahme stellte Verbindung **36** dar. Mittels einer Suzuki-Kupplung wurde der Phenethyl-Rest hier in Pos. 6 eingebaut (**Tab. 14**).

Bei der Betrachtung der Aktivitäten stachen vor allem die Phenethyl- bzw. Phenyl-substituierten Verbindungen **36** und **37** hervor. Beide Verbindungen zeigten im Vergleich zu den übrigen C-N-verknüpften Derivaten starke Aktivitätsabnahme bzw. im Fall von Verbindung **37** sogar einen kompletten Aktivitätsverlust ($IC_{50} > 40 \mu M$). Diese Beobachtung hob die Notwendigkeit C-N-verknüpfter Substituenten in Pos. 7 hervor. Im Vergleich der 7-Amino-Derivate ließ sich eine Relevanz der Größe der Substituenten in dieser Position ableiten. Größere Substituenten wie 4-Piperidincarboxamid (**27**, $IC_{50} = 1.09 \mu M$), *N*-Benzylmethylamin (**30**, $IC_{50} = 5.40 \mu M$) und Ethylpiperazin (**31**, $IC_{50} = 1.37 \mu M$) zeigten Aktivität im niedrigen mikromolaren Bereich, wobei für kleinere Reste wie Piperidin (**32**, $IC_{50} = 0.67 \mu M$) und Dimethylamin (**35**, $IC_{50} = 0.68 \mu M$) bereits Aktivitäten im nanomolaren Bereich gefunden wurden. Ausnahmen stellten die Morpholino- (**33**) und Piperazinyl-Derivate (**34**) dar. Die Größe beider Substituenten ist dem Piperidin-Ring sehr ähnlich, allerdings wurden, verglichen mit Verbindung **32** ($IC_{50} = 0.67 \mu M$), stark variierende Aktivitäten beobachtet: Während für das Morpholino-Derivat **33** ein starker Aktivitätsanstieg ($IC_{50} = 0.047 \mu M$) gefunden wurde, zeigte das Piperazinyl-Derivat **34** eine deutliche Aktivitätsabnahme ($IC_{50} = 2.57 \mu M$). Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung könnten die unterschiedlichen HBD- bzw. HBA-Eigenschaften beider Substituenten sein. Während der Sauerstoff des Morpholins einer HBA-Funktion entspricht, stellt das *sek.* Amin des Piperazins einen HBD dar. Der beobachtete Aktivitätsanstieg deutet auf einen entscheidenden Einfluss der Akzeptor-Funktion in dieser Position hin. Eine Donor-Funktion hingegen erscheint kontraproduktiv. Desweiteren fiel die erhöhte Zytotoxizität des 7-Piperazinyl-Derivats **34** gegenüber der Makrophagen-Zelllinie J774.1 ($IC_{50} = 8.9 \mu M$) auf. Diese Beobachtung wurde auch für strukturverwandte 1-Aryl-Derivate gemacht. Daher soll dieser Befund in Kapitel 3.1.2.2 ausführlicher diskutiert werden.

Tab. 14: Übersicht der in Pos. 7 variierten 4-Chinolon-3-carboxamide und deren Aktivitäten.

Verbdg	R ⁴	<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI	PSA [Å ²] RB	Molare Masse [g/mol] logP
		48 h (Stabw)	72 h (Stabw)				
27		1.09 (± 0.47)	1.98 (± 0.80)	47.0	43.1	95.7 9	478.6 3.15
30		5.40 (± 0.55)	10.8 (± 1.37)	86.0	15.9	52.7 10	471.6 4.32
31		1.37 (± 0.45)	2.18 (± 0.56)	29.6	21.6	55.9 9	464.6 4.61
32		0.67 (± 0.11)	1.04 (± 0.22)	47.8	71.3	52.7 8	435.5 1.71
33		0.047 (± 0.00)	0.05 (± 0.01)	57.0	1140	61.9 8	437.5 3.76
34		2.57 (± 0.06)	3.21 (± 0.09)	8.9	3.5	64.7 8	526.6 3.42
35		0.68 (± 0.16)	0.92 (± 0.01)	>100	>147.1	52.7 8	395.5 4.07
36^a		15.1 (± 0.22)	17.8 (± 0.17)	>100	>6.6	49.4 10	438.6 5.15
37		>40	>40	>100	>2.5	49.4 8	428.5 5.08

^a: Das Substitutionsmuster von Verbindung **36** weicht von der allgemeinen Struktur ab. Der Phenethylsubstituent befindet sich in Pos. 6; Pos. 7 enthält ein Wasserstoffatom.

Die moderate Zytotoxizität von Verbindung **33** (IC₅₀ = 57.0 μM) und die hohe antitrypanosomale Aktivität im niedrigen nanomolaren Bereich (IC₅₀ = 0.047 μM) machten das Morpholino-Derivat zu einer vielversprechenden Struktur hoher Selektivität (SI = 1140). Auch die betrachteten physiko-chemischen Parameter erfüllten die Ro5 (logP = 3.76, Molekülmasse = 437.5 g/mol) und sagten mit einer PSA von 61.9 Å² und 8 RB ausreichende ADME-Eigenschaften vorher. Das Morpholino-Derivat **33** konnte somit als erste Leitstruktur in Betracht gezogen werden. Die ausführliche Betrachtung der biologischen und physiko-chemischen Eigenschaften dieser Verbindung erfolgt in Kapitel 3.2.

6. Einfluss des sek. Amids in Pos. 3 auf die Aktivität:

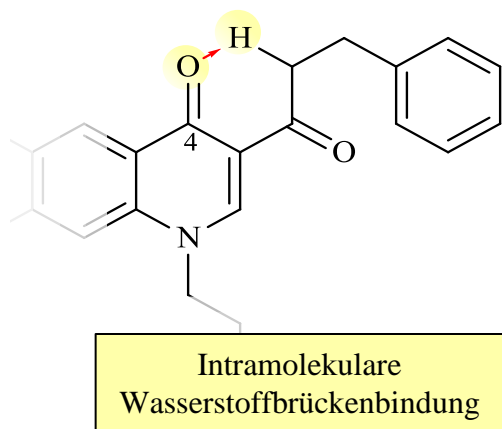


Abb. 21: Ausbildung einer fixen Struktur durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen Carbonyl-Gruppe (C4) und sek. Amid.

Zuletzt wurde auf die Bedeutung des *sek.* Amids in Pos. 3 genauer eingegangen. Dieses ist in der Lage, sowohl eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zur β -Carbonyl-Funktion auszubilden (**Abb. 21**) als auch intermolekulare Interaktionen einzugehen. Um den Einfluss dieser HBA-Funktion auf die Aktivität zu untersuchen, wurde das Amid durch einen Ester ersetzt (**39**) bzw. in ein *tert.* Amid (**40**) überführt (**Tab. 15**).

Tab. 15: Variation des sek. Amids.

Verbdg	R ⁴	X	R ⁵	<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI	Molare Masse [g/mol] logP
				48 h (Stabw)	72 h (Stabw)			
39		O		0.85 (± 0.46)	1.22 (± 0.19)	43.1	50.7	438.5 2.30
40		NMe		21.2 (± 0.56)	> 40	> 100	> 4.72	492.6 -

Für Verbindung **40** wurde bedingt durch das *tert.* Amid ein Aktivitätsverlust (Faktor 19) im Vergleich zum *sek.* Amid-Analogen **27** (IC₅₀ = 1.09 μM) beobachtet. Durch die zusätzliche Methyl-Gruppe ist zum einen die Ausbildung von intra- bzw. intermolekularen Wasserstoffbrückenbindung nicht mehr möglich, zum anderen aber auch die Rotationsfreiheit eingeschränkt (Kap. 3.1.1.1.7). Auch das Ester-Analogen **39** zeigte im Vergleich zum bislang aktivsten Derivat **33** (IC₅₀ = 0.047 μM) eine um Faktor 18 verringerte Aktivität. Hier war zwar die Rotationsfreiheit gegeben, allerdings die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen erneut nicht möglich. Anhand dieser beiden Derivate war ersichtlich, dass der durch

intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung fixierten Struktur eine essenzielle Bedeutung zukommt und dass das Fehlen der HBA-Funktion des *sek.* Amids in Pos. 3 zu deutlichen Aktivitätsverlusten führt.

In Summe war es durch die synthetische Variation des 4-Chinolon-3-carboxamid-Gerüsts gelungen, zum einen die für die antitrypanosomale Aktivität essenziellen Strukturelemente zu identifizieren und zum anderen auch die physiko-chemischen Parameter schrittweise an die Anforderungen der ADME-Eigenschaften anzupassen. Während die Ausgangsverbindung **IV**⁶¹ noch geringe biologische Aktivität und Selektivität (SI = 30) zeigte, konnte in dieser Arbeit durch Strukturvariationen die biologischen aber auch physiko-chemischen Eigenschaften der 4-Chinolon-3-carboxamide weiterentwickelt und verbessert werden. Das aus dieser Optimierung resultierende 7-Morpholino-4-chinolon-3-carboxamid **33**, mit vielversprechender Aktivität in niedrigen nanomolaren Bereich (IC₅₀ = 0.047 µM), geringfügiger Zytotoxizität (IC₅₀ = 57.0 µM) und angepassten physiko-chemischen Parametern wurde daher als erste Leitstruktur angesehen.

3.1.2 Versuch der Leitstrukturfindung mittels Variation des Amin-Substituenten in Pos. 7

Mittels rekombinatorischer Chemie konnte E. Kugelmann Metabolite von Ciprofloxacin und 6-Fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinoline-3-carbonsäure **V** (Kapitel 2) gewinnen und identifizieren.^{62,63} Speziell die Abbauprodukte des Piperazin-Restes stellen potenzielle neue Amin-Substituenten für Pos. 7 dar. Einige dieser Metabolite wurden daher selektiv synthetisiert und mit Benzylamin in Pos. 3 zu möglichen neuen Leitstrukturen amidiert.

3.1.2.1 Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten

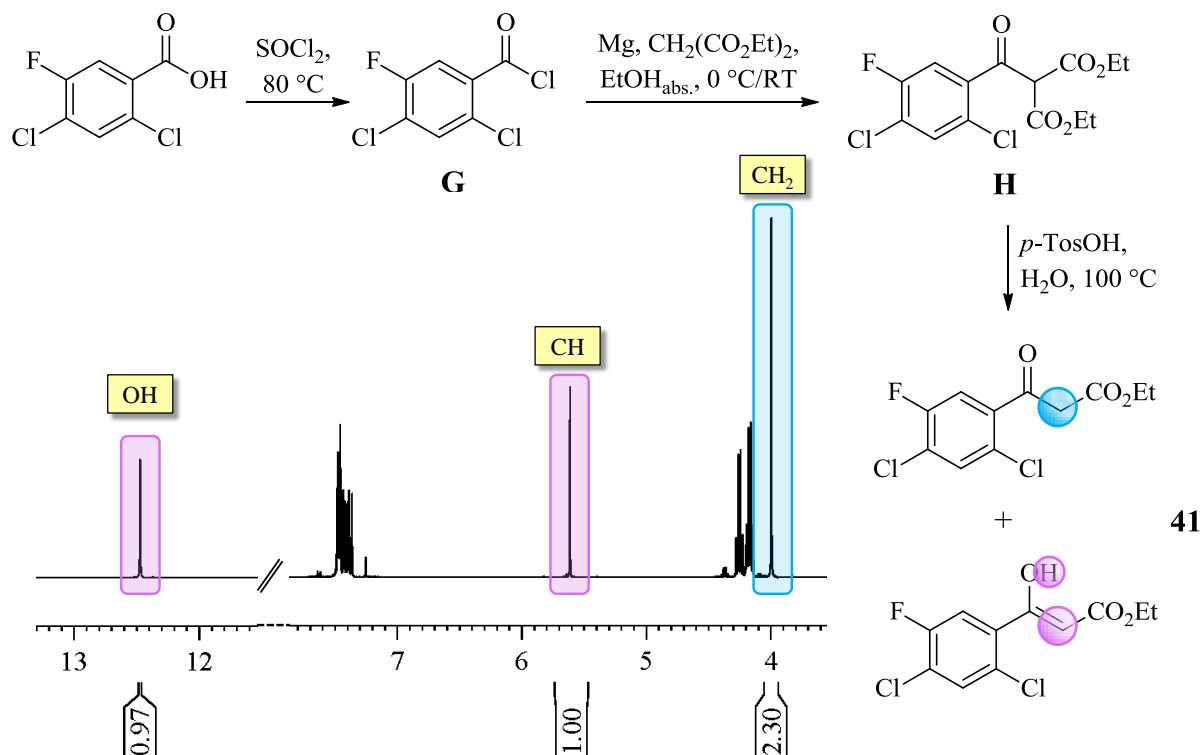
Durch die Grohe-Heitzer-Methode war es möglich, Ciprofloxacin, eines der bekanntesten Chinolon-Antibiotika, zu synthetisieren. Sie erlangte daher neben der Gould-Jacobs-Synthese große Bedeutung für den Aufbau von 4-Chinolon-Grundgerüsten.^{99,100} Dieses Cycloaracylierungsverfahren ermöglicht es, Cyclopropylgruppen und aromatische Reste in Pos. 1 einzuführen, weshalb dieses Verfahren für den Aufbau der zweiten 4-Chinolon-Bibliothek in dieser Arbeit verwendet wurde. Bereits zuvor konnte mit dieser Methode im

Arbeitskreis Holzgrabe neben zahlreichen 1-Aryl-4-chinolon-Derivaten auch die für diese Arbeit relevante 7-Chlor-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**43**) erfolgreich synthetisiert werden. Daher orientierte sich die Synthese dieser Zwischenstufe an den teilweise modifizierten Cycloaracylierungsverfahren von S. Niedermeier, E. Kugelmann und J. Jürgens.^{61,62,101,102}

3.1.2.1.1 Synthese von 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoylessigsäureethylester

Verbindung **41** stellt eine für das Cycloaracylierungsverfahren essenzielle Zwischenstufe dar. In Anlehnung an Grohe *et al.*⁹⁹ wurde zunächst 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoesäure mittels Thionylchlorid in das entsprechende Säurechlorid **G** überführt. In einem separaten Ansatz wurde unter Argonatmosphäre aus 1.5 Äquivalenten Magnesium, suspendiert in abs. EtOH, und katalytischen Mengen an Tetrachlormethan Magnesiummethanolat *in situ* hergestellt, welches in der Folge mit 1.5 Äquivalenten Malonsäurediethylester umgesetzt wurde. Durch die Zugabe eines Äquivalents des zuvor hergestellten Benzoylchlorids **G** erfolgte der Angriff des deprotonierten Malonsäurediethylesters in einem Additions-Eliminierungs-Schritt am Säurechlorid, woraus der Aroylmalonsäureester **H** resultierte. Nach 24 h Rühren bei RT wurde dieser aus wässriger Lösung mit Toluol extrahiert und ohne weitere Aufreinigung in Gegenwart katalytischer Mengen an *para*-Toluolsulfonsäure (*p*-TosOH) partiell decarboxyliert. Das gewünschte Produkt konnte anschließend mittels Et₂O extrahiert und säulenchromatographisch aufgereinigt werden (**Schema 14**).

Wie von Chu *et al.*¹⁰³ beschrieben lag Verbindung **41** in beiden tautomeren Formen vor, was anhand eines doppelten Signalsatzes im ¹H- und ¹³C-NMR-Spektrum ersichtlich war. Die Signale der Protonen bei $\delta = 12.5$ ppm und $\delta = 5.6$ ppm konnten der Hydroxyl- und der Vinyl-Gruppe (Enol-Form), das Signal bei $\delta = 4.00$ ppm der Methylen-Gruppe (Keto-Form) zugeordnet werden. Anhand der Integration der entsprechenden Signale wurde auf ein Verhältnis von ungefähr 1:1 geschlossen (**Schema 14**).



Schema 14: Synthese des Schlüsselintermediats **41** und Bestimmung des Tautomeren-Verhältnisses mittels $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie.

3.1.2.1.2 Synthese von Z/E-2-(2,4-Dichlor-5-fluorbenzoyl)-3-((2-fluorphenyl)amino)-acrylsäureethylester und 7-Chlor-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure

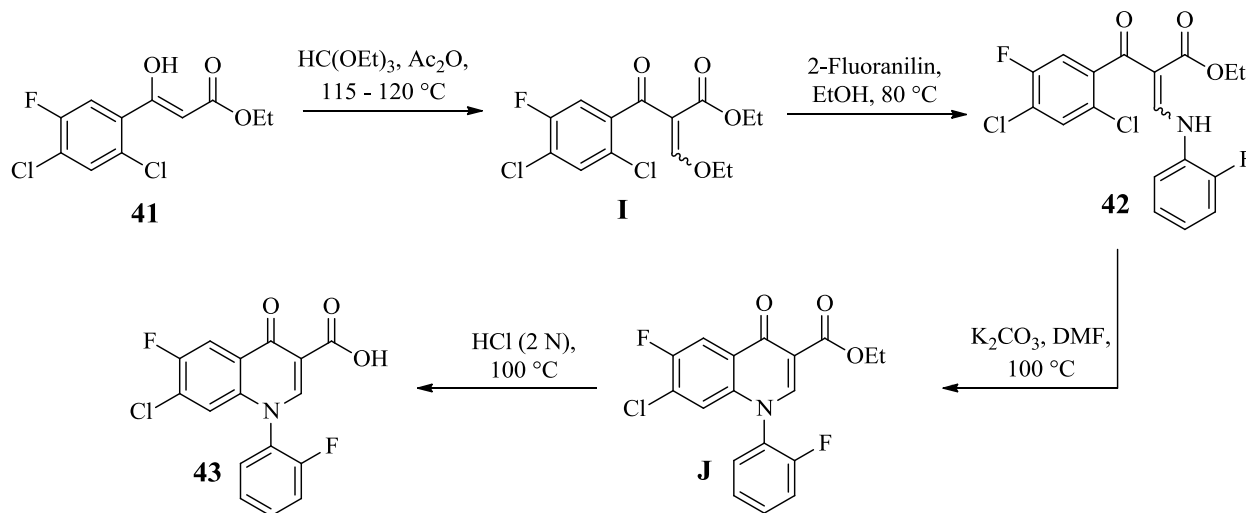
Ausgehend vom Tautomerengemisch **41** wurde analog der Vorschrift von J. Jürgens¹⁰¹ in einer vierstufigen Synthesesequenz das 1-Aryl-4-chinolon-Derivat **43** hergestellt, welches als Ausgangspunkt für die anschließende Einführung *prim.* und *sek.* Amine in Pos. 7 diente. **41** wurde zunächst in 2.5 Äquivalenten Essigsäureanhydrid gelöst und mit 1.5 Äquivalenten *ortho*-Ameisensäuretriethylester für 3 h bei $120\text{ }^\circ\text{C}$ zur Reaktion gebracht. Das α -Kohlenstoffatom der Enol-Form griff dabei nukleophil am *ortho*-Ameisensäuretriethylester unter Abspaltung eines Ethanolats an, welches durch Essigsäureanhydrid abgefangen wurde. Dieser Angriff wiederholte sich insgesamt zweimal, wodurch der vinyloge Ester **I** resultierte. Nach Entfernen der flüchtigen Bestandteile i. Vak. wurde die Zwischenstufe **I** ohne weitere Aufreinigung in EtOH gelöst und mit 1.1 Äquivalente 2-Fluoranilin bei $80\text{ }^\circ\text{C}$ für 2 h umgesetzt. In einer Additions-Eliminierungs-Reaktion wurde der vinyloge Ester durch den Anilin-Stickstoff nukleophil angegriffen und somit in das vinyloge Amid **42** überführt. Nach Entfernen des

Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt und aus PE bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ kristallisiert.

Wie von J. Jürgens bereits gezeigt, lag das Acrylat **42** in einem Gemisch aus Z/E-Isomeren vor, was anhand eines doppelten Signalsatzes im ^1H - und ^{13}C -NMR Spektrum zu erkennen war.¹⁰¹

Die Zuordnung gelang J. Jürgens in seiner Dissertation über die vicinalen CH-Kopplungskonstanten des Ketocarbonyl- und Estercarbonyl-Kohlenstoffatoms (gekoppelte ^{13}C -NMR-Experimente) der ^1H - und ^{13}C -NMR-Signale. Wie aus sterischen Gründen zu erwarten war, entsprach der Hauptanteil dem E-Isomer.¹⁰¹ Analog zu J. Jürgens wurde das Isomerenverhältnis anhand der Integration der Ester-Methyl-Gruppen auf 7:1 (Z/E) bestimmt.

Die Cyclokondensation gelingt via intramolekularer nukleophiler aromatischer Substitution. In Gegenwart von Basen wird der vinyloge Amid-Stickstoff deprotoniert und greift nukleophil am zur Keto-Gruppe *ortho*-ständigen Kohlenstoff nach dem Mechanismus der $\text{S}_{\text{N}}\text{Ar}$ (Kapitel 3.1.1.1.4) an, wobei der Chlor-Substituent abgespalten wird. Hierzu wurde das E/Z-Isomerengemisch **42** mit 1.1 Äquivalenten K_2CO_3 unter Argonatmosphäre in abs. DMF suspendiert und 90 min bei $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wurde das Rohprodukt aus wässriger Lösung mit EtOAc extrahiert. Der erhaltene Ester **J** wurde im Anschluß ohne weitere Charakterisierung in siedender wässriger HCl-Lösung (2 N) zum gewünschten Produkt **43** hydrolysiert (**Schema 15**).



Schema 15: Reaktionssequenz zur Darstellung der 1-Aryl-4-chinolon-3-carbonsäure **43**.

Im Vergleich zur Gould-Jacobs-Synthese erfordert das Cycloaracylierungsverfahren mit insgesamt 7 Syntheseschritten (**Schema 14** und **Schema 15**) einen deutlich höheren Zeit- und Arbeitsaufwand um 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivate herzustellen.

Aus diesem Grund wurde die Mikrowellen-unterstützte Synthese auf dieses Verfahren angewandt und mit der konventionellen Synthese verglichen. Die Mikrowellen-unterstützte Umsetzung von Verbindung **41** mit 20 Äquivalenten Essigsäureanhydrid und 5 Äquivalenten *ortho*-Ameisensäuretriethylester bei 115 °C lieferte analog zur klassischen Synthese quantitative Ausbeute der Zwischenstufe **I**. Erwähnenswert ist allerdings die deutliche Reduzierung der Reaktionszeit auf 30 min, die zur vollständigen Umsetzung nötig war. Auch die anschließende Mikrowellen-unterstützte Anilin-Substitution in Ethanol bei 80 °C erbrachte Vorteile. Während Verbindung **42** durch konventionelle Reaktionsführung nach 2 h in einer Ausbeute von 40 % isoliert werden konnte, wurde durch den Mikrowelleneinsatz bereits nach 15 min eine Ausbeute von 68 % erzielt. Die Ausbeuten der Cyclokondensation waren für beide Varianten annähernd gleich, allerdings gelang es durch den Einsatz der Synthesemikrowelle, die Reaktionszeit von 90 min auf 60 min zu reduzieren. Lediglich die säurekatalysierte Esterhydrolyse erfolgte bei beiden Verfahren in derselben Reaktionszeit (7 h) und mit annähernd identischen Ausbeuten (**Tab. 16**).

Tab. 16: Vergleich von Mikrowellen-unterstützter und klassischer Synthese der Verbindung **43**.

Verbindung	Mikrowelle			klassisch			J. Jürgens ¹⁰¹		
	T [°C]	t [min]	Ausbeute [%]	T [°C]	t [min]	Ausbeute [%]	T [°C]	t [min]	Ausbeute [%]
I	115	30	quant.	120	180	quant.	140	120	98
42	80	15	68	80	120	40	RT	Über Nacht	66
J	100	60	89	100	90	89	150	180	49
43	100	420	96	100	420	93	100	120	61
Gesamt	-	525 (8.8 h)	58	-	810 (13.5 h)	33	-	> 20 h	19

In der Summe führte der Einsatz der Synthesemikrowelle sowohl zu höherer Gesamtausbeute (58 %) als auch zu deutlich reduzierter Reaktionszeit (< 9 h) gegenüber dem klassischen Ansatz

(33 %, > 13 h; J. Jürgens:¹⁰¹ 19 %, > 20 h), wodurch es möglich war, die Synthese von Verbindung **43** effizienter zu gestalten.


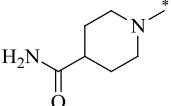
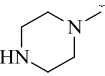
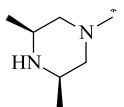
3.1.2.1.3 Einführung *prim.* und *sek.* Amine in Pos. 7 via S_NAr

Die Substitution des Chlor-Atoms in Pos. 7 mit *prim.* und *sek.* Aminen erfolgte nach dem in Kapitel 3.1.1.1.4 beschriebenen S_NAr-Mechanismus.

1. S_NAr mit *sek.* Aminen:

Die Reaktionen von **43** mit cyclischen Aminen wurden aufgrund der Ergebnisse der Gould-Jacobs-Methode (Kapitel 3.1.1.1.4) ausschließlich Mikrowellen-unterstützt durchgeführt. Ebenso wurde der Morpholin-Substituent erneut unter Lösungsmittel-freien Bedingungen eingeführt. Analog der in Kapitel 3.1.1.1.4 beschriebenen Methode wurde Verbindung **43** in 10 ml Morpholin suspendiert und für 3 h unter Mikrowellenstrahlung bei 110 °C zur Reaktion gebracht.

Tab. 17: Übersicht der synthetisierten 7-Amino-1-aryl-chinolone **44a - d**.

Verbindung	R ⁴	Ausbeute
44a		87 %
44b ⁶²		76 % (Lit ⁶² : 31 %)
44c ¹⁰¹		76 % (Lit ¹⁰¹ : 61 %)
44d ¹⁰⁴		60 % Lit ¹⁰⁴ : 69 %

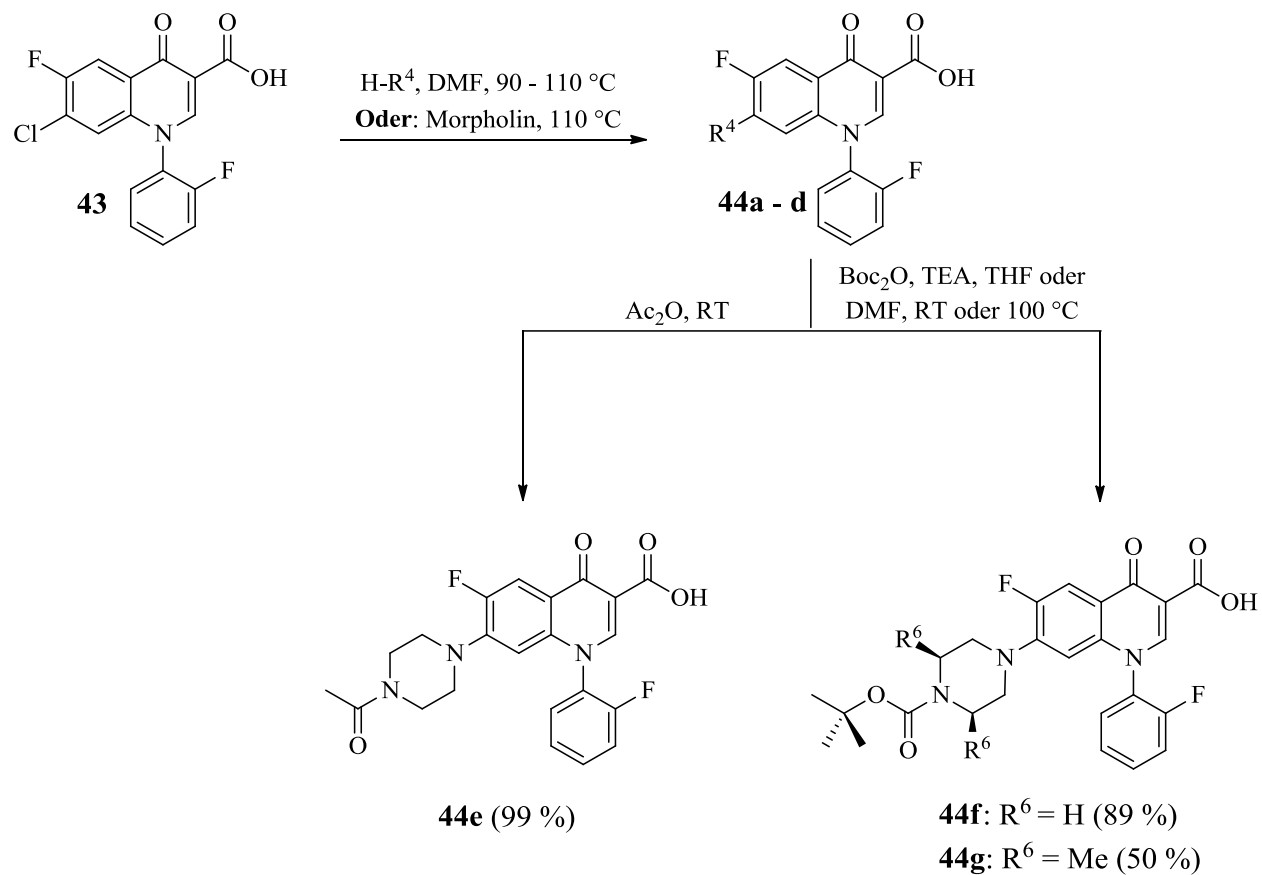
4-Piperidincarboxamid, Piperazin und (2R,6S)-Dimethylpiperazin wurden, gelöst in DMF, mit Verbindung **43** umgesetzt. 8 Äquivalente des entsprechenden Amins wurden dazu mit einem Äquivalent **43** unter Mikrowellenstrahlung für 2 - 3 h bei 90 - 110 °C zur Reaktion gebracht. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurden die Rückstände in 20 ml dem. Wasser aufgenommen. Im Fall des Morpholin- und 4-Piperidincarboxamid-Ansatzes wurden die

Rohprodukte mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) ausgefällt (pH = 4). Umkristallisieren aus MeOH oder EtOH lieferte die entsprechenden 7-Amino-Derivate **44a-b**. Die Rohprodukte des Piperazin- und (2R,6S)-Dimethylpiperazin-Ansatzes fielen bei pH = 6 aus, welcher mittels Ameisensäure eingestellt wurde. Durch anschließendes Waschen mit MeOH oder Aceton wurden die 7-Piperazinyl-Deivate **44c - d** erhalten (**Schema 16, Tab. 17**).

Verbindungen **44c - d** waren Ausgangspunkte weiterer Derivatisierung des Piperazin-Restes. Analog zu E. Kugelmann wurde Verbindung **44c** mit Essigsäureanhydrid bei RT acetyliert.⁶² Das

entsprechende Acetylpiperazin-Derivat **44e** konnte in einer Ausbeute von 99 % isoliert werden (Lit⁶²: 69 %).

Die im nächsten Schritt folgende Amidierung und damit verbundene Aktivierung mit Isobutylchlorformiat würde im Fall der Verbindungen **44c - d** zur ungewollten Carbamatbildung mit dem Piperazin-Rests führen. Daher wurden beide Verbindungen vor der weiteren Umsetzung mittels 2 Äquivalenten Di-*tert*-butyldicarbonat und 3 Äquivalenten TEA in die entsprechenden Boc-geschützten Derivate **44f - g** überführt (Schema 16).

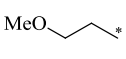
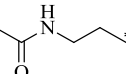
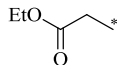


Schema 16: Synthese der 7-Amino-1-aryl-4-quinolon-Derivate **44a - d** und Derivatisierung des Piperazin-Restes.

2. S_NAr mit *prim.* Aminen:

Desweiteren wurden für den Aufbau der 1-Aryl-4-chinolon-Bibliothek auch *prim.* Amine zur Substitution des Chlor-Atoms in Pos. 7 eingesetzt. Begonnen wurde mit 2-Methoxyethylamin das, analog zu E. Kugelman, mit Verbindung **43** in DMF gelöst und unter Mikrowellenstrahlung bei 110 °C erwärmt wurde.⁶² Im Gegensatz zu E. Kugelman (Ausbeute: 29 %) konnte dünn-schichtchromatographisch aus bislang unbekanntem Gründen keine Umsetzung beobachtet werden, weshalb der Versuch nach 8 h abgebrochen wurde. Im Vergleich zu *sek.* Aminen besitzen *prim.* aliphatische Amine aufgrund des +I-Effektes nur einer Alkyl-Gruppe geringere Nukleophilie und neigen daher im Allgemeinen zu längeren Reaktionszeiten. Aus diesem Grund wurden die folgenden Substitutionsreaktionen ausschließlich auf klassische Weise im Bombenrohr durchgeführt.

Tab. 18: Ausbeuten und Verhältnis der isolierten Regioisomere.

Verbindung	R ⁴ (Schema 17)	Ausbeute		Chemoselektivität	
		Pos. 7	Pos. 6	Pos. 7	Pos. 7
44h ⁶² / 44h'		59 % Lit. ⁶² : 29 %	5 %	92 %	8 %
44i / 44i'		51 %	17 %	75 %	25 %
44j ⁶² / 44j'	Me	60 % Lit. ⁶² : 61 %	21 %	74 %	26 %
44k / 44k'		21 %	6 %	77 %	23 %

Verbindung **43** wurde mit 4 - 10 Äquivalenten des entsprechenden *prim.* Amins in 3 - 7 ml abs. DMSO gelöst und für 1 - 4 d bei 80 - 120 °C gerührt. Die

erhaltenen Lösungen wurden mit 100 ml dem. Wasser verdünnt und mittels Ameisensäure auf pH = 6 eingestellt. Im mit CHCl₃ extrahierten Substanzgemisch konnte dünn-schichtchromatographisch neben der gewünschten Verbindung (**44h - k**) noch eine weitere fluoreszierende Substanz (**44h' - k'**) beobachtet werden. Geeignete Fließmittel ermöglichten es schließlich, die Substanzgemische säulenchromatographisch zu trennen, wobei die gewünschten 7-Amino-Derivate als Hauptprodukte isoliert werden konnten (**Tab. 18**).

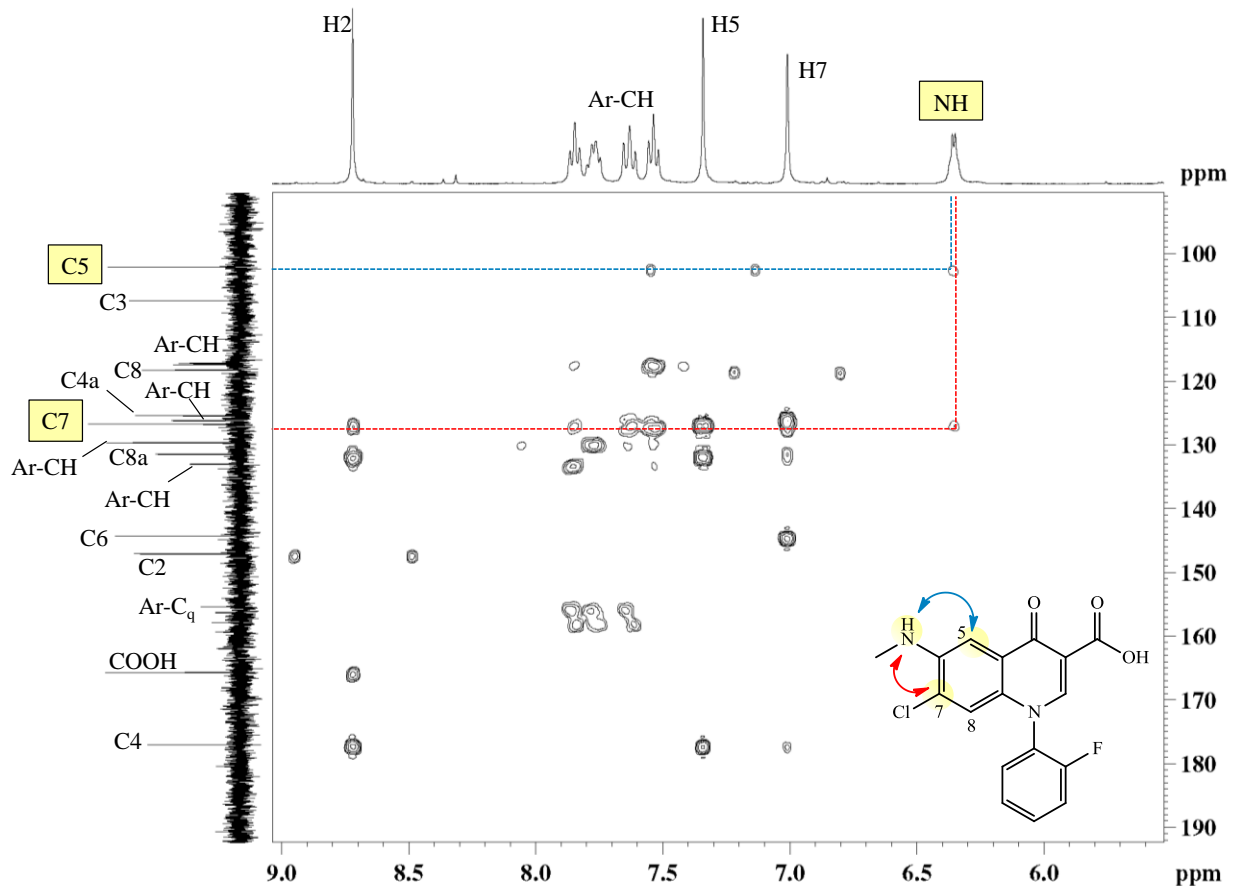
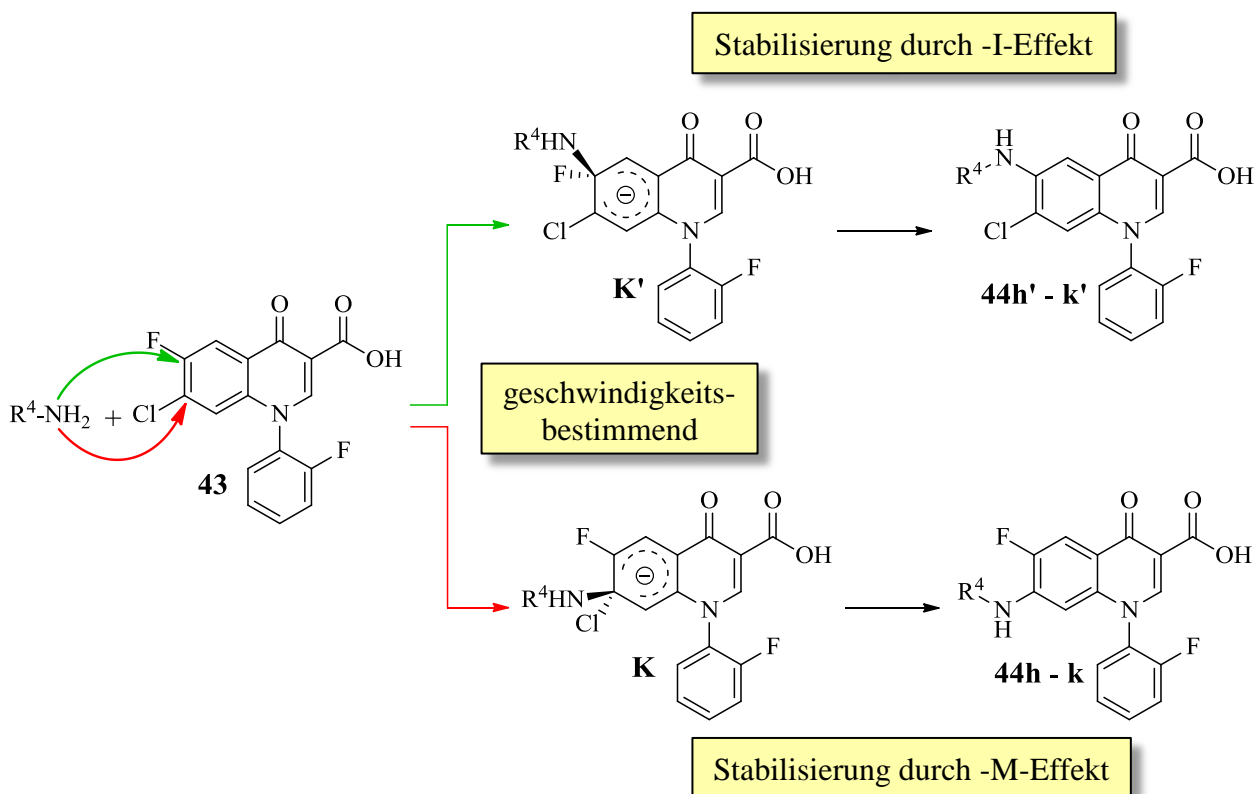


Abb. 22: Kreuzkopplungen von Anilin-NH und C5, C7 am Beispiel des HMBC-NMR-Spektrums von Verbindung **44j'**.

Die Strukturen aller Nebenprodukte (**44h'** - **k'**) konnten mittels spektroskopischer Methoden aufgeklärt werden. Exemplarisch soll dies anhand Verbindung **44j'** gezeigt werden: Die für 6-Fluor-chinolone typischen Fluor-Kopplungen, welche zur Dublettaufspaltung der Signale von **H5** und **H8** im ^1H -NMR-Spektrum sowie der Kohlenstoffsignale des Chinolon-Grundgerüsts im ^{13}C -NMR-Spektrum führen, konnten im Fall von **44j'** nicht beobachtet werden. Während die Protonensignale **H5** und **H8** des 6-Fluor-Derivats **44j** als Dubletts bei $\delta = 7.86$ ppm ($^3J_{\text{H,F}} = 11.8$ Hz, **H5**) und $\delta = 5.80$ ppm ($^4J_{\text{H,F}} = 7.0$ Hz, **H8**) erschienen, konnten im ^1H -NMR-Spektrum die Signale des Nebenprodukts **44j'** bei $\delta = 7.35$ ppm (s, **H5**) und $\delta = 7.02$ ppm (d, $^5J = 1.4$ Hz) gefunden werden. Das Fehlen der Fluor-Kopplungen deutete somit darauf hin, dass die Nebenprodukte durch nukleophilen Angriff auf Pos. 6 entstanden sind. Das Auffinden von Kreuzsignalen zwischen Anilin-NH und den Kohlenstoffen **C5** und **C7**, sowie das Fehlen eines Kreuzsignals zum Kohlenstoff **C8** im HMBC-NMR-Spektrum erhärtete die Hypothese (Abb. 22), zumal für 7-Amin-Derivate der umgekehrte Fall beobachtet wurde (Kreuzsignal

zwischen Anilin-NH und C6, C8). Letztendlich bestätigten auch die aufgenommenen ESI-Massenspektren diese Vermutung: Für das 7-Amino-Derivat **44j** wurde das Masse-Ladungs-Verhältnis zu $m/z = 330.7$ $[M+H]^+$ bestimmt ($M = 330.3$ g/mol). Für **44j'** wurde ein Masse-Ladungs-Verhältnis von $m/z = 347.9$ $[M+H]^+$ gefunden, was mit der berechneten molaren Masse von $M = 346.7$ g/mol übereinstimmte und die 6-Amino-Struktur bestätigte.

Durch die elektronenziehende Carbonyl-Funktion in Pos. 4 war die Substitution des *para*-ständigen Chlor-Atoms über die Stabilisierung des im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt gebildeten Meisenheimer-Komplex-Analogen **K** bevorzugt. Allerdings war auch der Angriff auf den Fluorid-Substituenten denkbar. Aus theoretischer Betrachtung ist ein Chlorid-Substituent ohne zusätzliche elektronenziehende Gruppen zwar prinzipiell die bessere Abgangsgruppe, der starke -I-Effekt eines Fluorid-Substituenten ermöglicht allerdings die Stabilisierung der negativen Ladung des nach Angriff eines Nucleophils entstehenden Meisenheimer-Komplex-Analogs, wodurch die Bildung dieser Zwischenstufe (z. B. **K'** im **Schema 17**) im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt um Faktor $10^2 - 10^3$ schneller erfolgt. Die anschließende Eliminierung der Abgangsgruppe fällt dabei nicht mehr ins Gewicht.¹⁰⁵



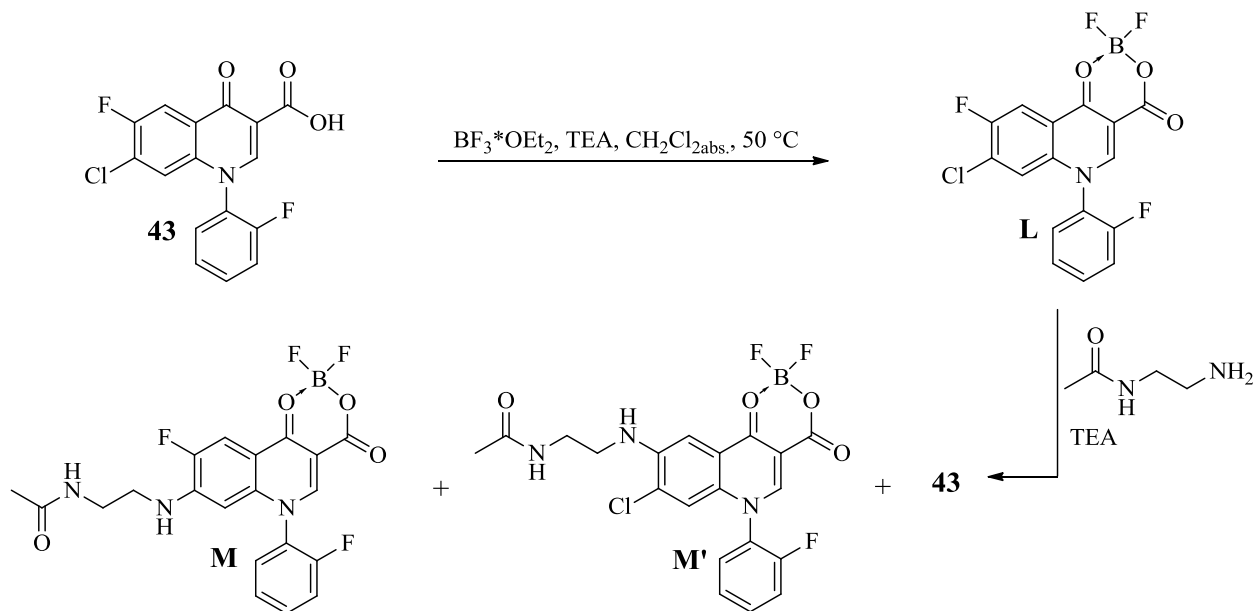
Schema 17: Nucleophile aromatische Substitution mit prim. Aminen.

Sowohl Pos. 7 als auch Pos. 6 standen somit über unterschiedliche Stabilisierungseffekte in Konkurrenz bzgl. des nukleophilen Angriffs durch aliphatische Amine (**Schema 17**).

Prinzipiell zeichnen sich *sek.* Amine, im Unterschied zu *prim.* Aminen, durch höhere Reaktivität in Substitutionsreaktionen aus. Hall *et al.*¹⁰⁶ zeigte dies durch die Reaktion verschiedener *prim.* und *sek.* Amine mit 2,4-Dinitro-chlorbenzol. Verglichen mit *n*-Butylamin beobachtete man für Piperazin und Piperidin gesteigerte Reaktionsgeschwindigkeiten um mehr als Faktor 20. Erhöhte Nukleophilie korreliert allerdings mit verringerter Chemoselektivität. Aus diesem Grund wäre für cyclische Amine das Entstehen beider Regioisomere denkbar gewesen. Umso erstaunlicher ist, dass die Bildung der 6-Amino-Nebenprodukte nur mit *prim.* Aminen erfolgte. Es ist schwierig, das hier beobachtete Paradoxon zu erklären: Da Pos. 5 und 8 nicht substituiert waren, konnten sterische Effekt durch Nachbargruppen nicht in die Betrachtung einbezogen werden. Allerdings könnte die sterische Abstoßung zwischen Abgangsgruppe und Nukleophil eine Rolle spielen. Zwar ist Pos. 7 durch den -I- und -M-Effekt der *para*-ständigen Carbonyl-Gruppe das bevorzugte Reaktionszentrum, im Vergleich zu Fluorid ist Chlorid aber die größere Abgangsgruppe, weshalb es für geringfügig polarisierbare Nukleophile zur sterischen und elektronischen Abstoßung bei Annäherung an C7 kommen könnte. Durch größere, besser polarisierbare Nukleophile kann der Angriff auf das elektrophile Zentrum aufgrund eines diffuseren Orbitals aus größerer Distanz erfolgen, wodurch die Abstoßung minimiert wird.¹⁰⁷ Im Unterschied zu *prim.* Aminen trägt die zusätzliche Alkyl-Gruppe bei *sek.* Aminen zur Erhöhung der Elektronendichte am Stickstoff und damit auch zu leichterem Polarisierbarkeit des freien Elektronenpaares bei. Somit könnten die hier verwendeten cyclischen Amine in der Lage sein, Pos. 7 aus größerer Entfernung anzugreifen und sterische sowie elektronische Abstoßung mit dem Chlor-Substituenten minimieren. *Prim.* Amine hingegen könnten dieser Abstoßung unterliegen, weshalb sie sich vermehrt der kleineren Fluorid-Abgangsgruppe nähern und auf die Substitution dieser in Pos. 6 ausweichen. Ähnlich könnte man mittels des HSAB-Konzepts argumentieren.⁷⁸ *Sek.* Amine können als größere, leichter polarisierbare „weiche“ Nukleophile betrachtet werden, welche eine höhere Affinität zu „weichen“ Elektrophilen, wie in diesem Fall die Chlor-substituierte Pos. 7, haben. Im Gegensatz dazu können *prim.* Amine mehr als „harte“ Nukleophile eingestuft werden und neigen daher auch vermehrt zur Substitution des Fluor-Atoms in Pos. 6 („hartes“ Elektrophil).

Das unerwartete Entstehen der 6-Amino-Nebenprodukte **44h'** - **k'** wirkte sich nachteilig auf die Ausbeuten der gewünschten 7-Amino-Derivate **44h** - **k** aus. Aus diesem Grund wurde versucht, die Chemoselektivität dieser Reaktion zu steigern. Das in Kapitel 3.1.1.1.4 bereits vorgestellte

Konzept des 4-Chinolon-Boresters wurde hierfür erneut angewandt. Der als intramolekulare Lewis-Säure agierende Borester steigert die Reaktivität von Pos. 7 und somit auch die Regioselektivität der S_NAr . Synthetisiert wurde dieser in Anlehnung an Heravi *et al.*⁸⁷ durch Umsetzung von Verbindung **43** mit Diethylether-Bortrifluorid-Komplex und TEA in abs. CH_2Cl_2 unter Argonatmosphäre. Nach 2 h Rühren bei 50 °C konnte der Ester **L** nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. und Waschen des Rohprodukts mit einer Mischung aus dem. Wasser und MeOH (1:1) in einer Ausbeute von 98 % isoliert werden. Am Beispiel von *N*-Acetylethylendiamin wurde versucht, die Regioselektivität zur Bildung des gewünschten 7-Amino-Derivats **44i** zu optimieren. Dazu wurden unterschiedliche Äquivalente des Amins bei variierenden Reaktionsbedingungen jeweils mit einem Äquivalent **L** in Gegenwart von TEA umgesetzt (**Schema 18, Tab. 19**).



Schema 18: Versuche zur Optimierung der Regioselektivität mittels des Boresters **L**.

Nach beendeter Reaktion wurde in allen Ansätzen das Lösungsmittel entfernt und die Rückstände in 50 ml dem. Wasser aufgenommen. Mittels Ameisensäure wurde ein pH-Wert von 6 eingestellt und die wässrige Lösung mit $CHCl_3$ extrahiert. Anschließend wurden die Produktgemische säulenchromatographisch getrennt (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 70:10:1; R_{fM} = 0.66, $R_{fM'}$ = 0.48).

Tab. 19: Reaktionsbedingungen und erzielte Ausbeuten.

Ansatz	Eingesetzte Äquivalente		Lösungsmittel	Ausbeute der Regioisomere		Ausbeute an Edukt (43)	Reaktionsbedingungen
	Amin	TEA		6-Amino (M')	7-Amino (M)		
a	1.5	3.0	THF _{abs.}	0 %	0 %	100 %	RT, 72 h
b	2.5	2.5	CHCl ₃ _{abs.}	0 %	0 %	100 %	60 °C, 2 h
c	2.5	2.5	ACN _{abs.}	1 %	5 %	91 %	RT, 84 h
d	2.0	2.0	ACN _{abs.}	2 %	8 %	89 %	60 °C, 13 h
e	3.0	4.0	DMSO _{abs.}	1 %	6 %	65 %	RT für 32 h 60 °C für 72 h
f	3.0	4.0	DMSO _{abs.}	9 %	55 %	4 %	60 °C, 32 h

In sämtlichen Ansätzen wurde in unterschiedlichem Ausmaß die Boresterspaltung und damit die Rückreaktion zu Verbindung **43** beobachtet. Aus den Ansätzen **a** und **b** konnte nur Verbindung **43** isoliert werden, was sich möglicherweise durch die Wahl des Lösungsmittels erklären lässt: Meisenheimer-Komplex-Analoga werden durch polare aprotische Lösungsmittel stabilisiert und ermöglichen dadurch eine schnellere Umsetzung.¹⁰⁸ THF und CHCl₃ tragen aufgrund ihrer geringen Polarität nur geringfügig zu dieser Stabilisierung bei, wodurch der Angriff des *N*-Acetythyldiamins ausschließlich auf den Borester erfolgte. ACN ist in der Lage, die reaktive Zwischenstufe besser zu stabilisieren, weshalb hier eine nukleophile aromatische Substitution beobachtet werden konnte. Aber selbst durch Variation der eingesetzten Äquivalente und Reaktionsbedingungen blieb die Boresterspaltung die Hauptreaktion (Ansätze **c** und **d**). DMSO ist für S_NAr-Reaktion durch seine hohe Polarität ein prädestiniertes Lösungsmittel. Durch die Optimierung der Reaktionsbedingungen konnte schließlich in Ansatz **f** das gewünschte 7-Amino-Derivat **M** in einem Verhältnis von ca. 6:1 (**M/M'**) isoliert werden. So konnte die Chemoselektivität der Reaktion im Vergleich zur ursprünglichen S_NAr zwar gesteigert werden (3:1 **44i/44i'**), allerdings wurde dadurch keine signifikante Verbesserung der Ausbeute (**44i**: 51 %) erzielt, zumal die Boresterhydrolyse von **M** zu Verbindung **44i** noch nicht durchgeführt wurde (Tab. 19).

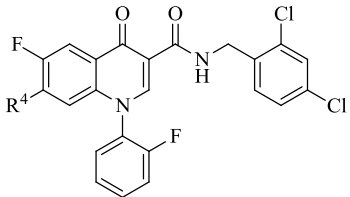
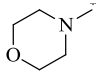

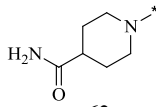
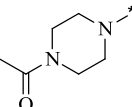

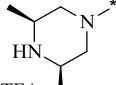
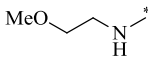
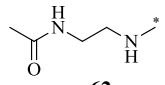

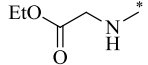
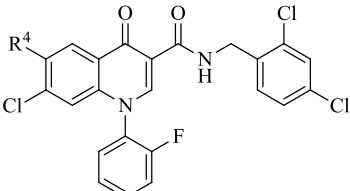
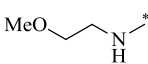
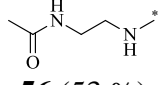
Zusammenfassend führte das Konzept des Boresters zu einer leichten Steigerung der Regioselektivität, die je nach Reaktionsbedingungen in unterschiedlichem Ausmaße auftretende

Boresterspaltung wirkte sich jedoch negativ auf die Ausbeute des gewünschten 7-Amino-Derivats aus. Desweiteren umfasste diese Borester-Methode zusätzliche Reaktionsschritte (Veresterung und Boresterspaltung), was bedingt durch die geringfügige Verbesserung der Regioselektivität einen unverhältnismäßigen Arbeits- und Zeitaufwand mit sich zog und deshalb in diesem Fall keine Alternative zur gängigen S_NAr -Methode darstellte.

3.1.2.1.4 Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamiden

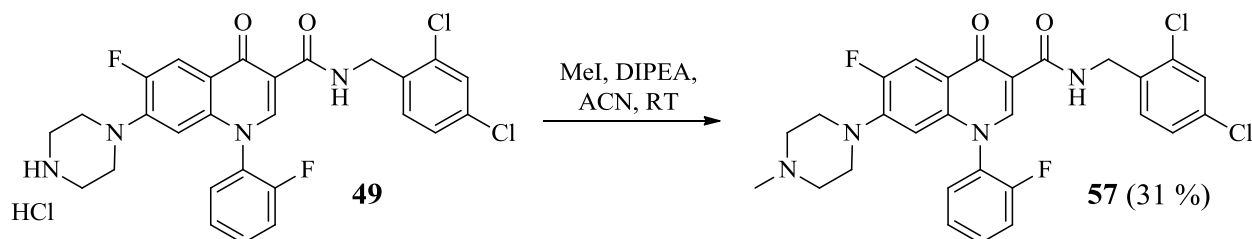
Sämtliche 1-Aryl-7-amino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivate (**44a - b**, **44e - k**) sowie zwei Vertreter der 1-Aryl-6-amino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivate (**44h' - i'**) wurden im abschließenden Schritt in Pos. 3 amidiert. Dazu wurde erneut die in Kapitel 3.1.1.1.7 beschriebene Aktivierungsmethode des *in situ* erzeugten gemischten Anhydrids angewandt. Die Carbonsäure-Derivate wurden unter Argonatmosphäre in abs. DMF gelöst und unter Eiskühlung mit 3 - 4 Äquivalenten NMM sowie 2 - 3 Äquivalenten Isobutylchlorformiat umgesetzt. Nach 1 h Rühren bei 0 °C wurden 2.5 - 3 Äquivalente 2,4-Dichlorbenzylamin bzw. Benzylamin zugegeben und die Reaktionsmischung nach weiteren 45 min Rühren bei RT i. Vak. eingengt. Die Rohprodukte wurden anschließend säulenchromatographisch aufgereinigt und umkristallisiert. Die Carboxamide der Boc-geschützten Ausgangsverbindungen **44f** und **44g** wurden ohne weitere Aufarbeitung in CH_2Cl_2 gelöst und mittels TFA entschützt. Letztendlich wurden die resultierenden Piperazinyl-Derivate **49** und **50** als Hydrochlorid- bzw. Trifluoressigsäure-Salz isoliert (**Tab. 20**).

Tab. 20: Übersicht der synthetisierten 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide.

7-Amino-4-chinolon-3-carboxamid-Derivate	R ⁴ (Ausbeuten)		
	 45^a (63 %)	 46 (63 %)	 47⁶² (75 %; Lit ⁶² : 50 %)
	 48⁶² (47 %; Lit ⁶² : 39 %)	 HCl 49 (53 %)	 TFA 50 (26 %)
	 51 (64 %)		 52⁶² (59 %; Lit ⁶² : 33 %)
	 53 (50 %)		 54 (73 %)
6-Amino-4-chinolon-3-carboxamid-Derivate	R ⁴ (Ausbeuten)		
	 55 (47 %)		 56 (53 %)

^a: Verbindung **45** weicht insofern von der allgemeinen Struktur ab, als dass es einen unsubstituierten Benzylamid-Rest in Pos. 3 besitzt.

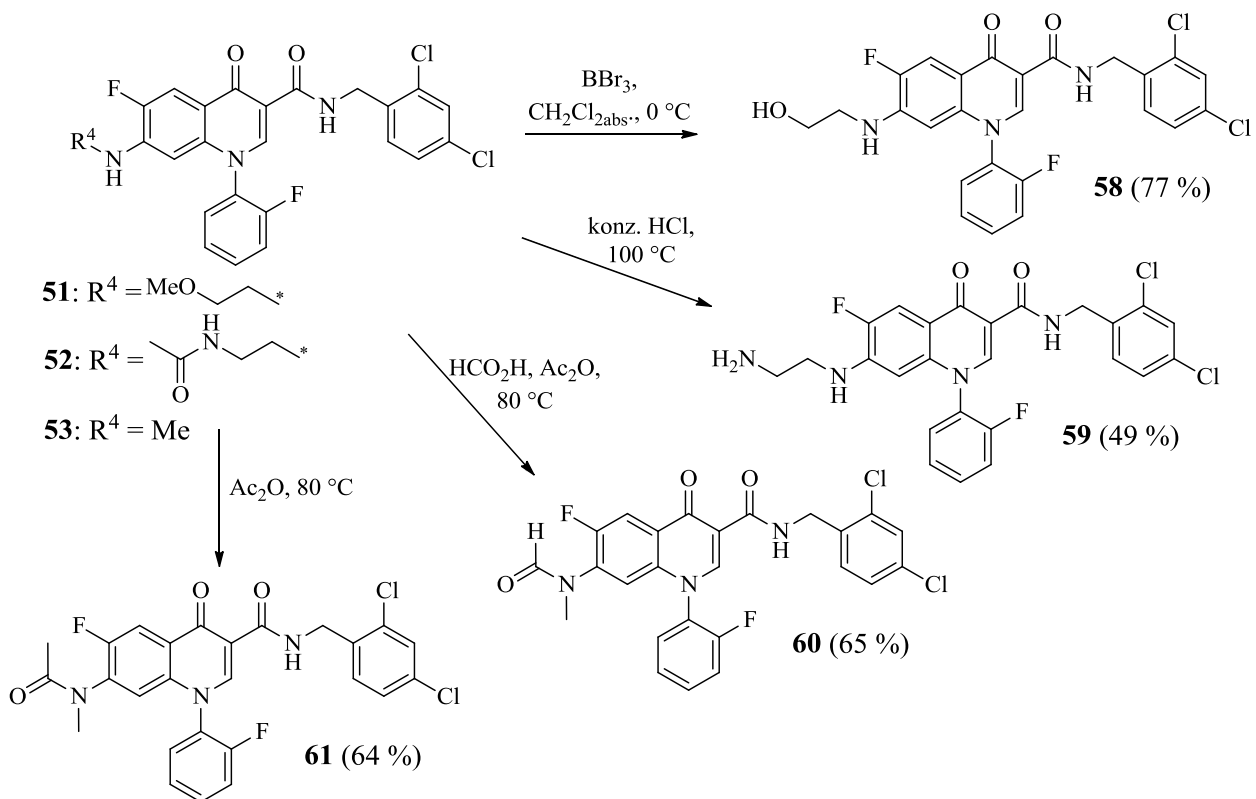
Das Piperazinyl-Derivat **49** wurde mittels Methyljodid in Gegenwart von *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) in ein *tert.* Amin überführt. Nach wässriger Aufarbeitung konnte Verbindung **57** säulenchromatographisch in einer Ausbeute von 31 % isoliert werden (Schema 19).

Schema 19: Methylierung von Verbindung **49**.

Desweiteren wurde der endständige Methylether der Verbindung **51** mittels Bortribromid zum entsprechenden Hydroxy-Derivat gespalten. Säulenchromatographische Aufreinigung und Umkristallisation aus Toluol lieferte Verbindung **58** in einer Ausbeute von 77 % (**Schema 20**).

Durch die hohe Hydrolysestabilität des aromatischen Amids in Pos. 3 konnte das aliphatische Amid der Verbindung **52** selektiv gespalten werden. Das Derivat **52** wurde dazu in konz. HCl suspendiert und 24 h bei 100 °C gerührt. Anschließend wurde der pH-Wert mittels wässriger NaOH-Lösung (2 N) auf 8 - 9 eingestellt und das Rohprodukt mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die Aufreinigung des *prim.* Amins **59** erfolgte säulenchromatographisch und durch anschließende Umkristallisation aus ACN.

Verbindung **53** wurde zum einen mittels Ameisensäure und Essigsäureanhydrid für 16 h bei 80 °C formyliert (**60**). Zum anderen konnte durch Lösen der Ausgangsverbindung in Essigsäureanhydrid und anschließendes Erwärmen auf 80 °C für 6 h auch die Acylierung des *sek.* Anilins realisiert werden (**61**) (**Schema 20**).

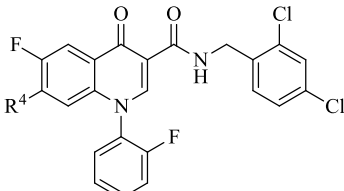


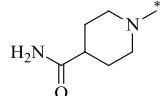
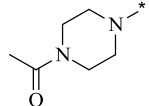
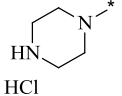
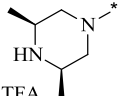
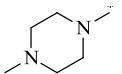


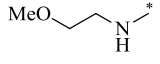
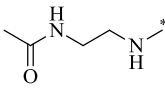

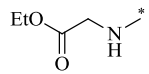
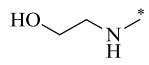
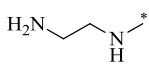


Schema 20: Derivatisierung des Amino-Substituenten in Pos. 7.

3.1.2.2 Biologische Untersuchung der 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide

Analog den Derivaten aus Kapitel 3.1.1 wurden auch die synthetisierten 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide im Teilprojekt Z1 des SFB630 auf ihre antitrypanosomale Wirksamkeit an der *T. b. brucei*-Zelllinie TC221 sowie auf ihre zytotoxischen Eigenschaften an der murinen Makrophagen-Zelllinie J774.1 untersucht. Die erhaltenen biologischen Daten, der Selektivitätsindex ($SI = IC_{50}(J774.1) / IC_{50}(T. b. b. \text{ nach } 48 \text{ h})$) sowie die experimentell bestimmten logP-Werte sind in **Tab. 21** dargestellt.

Tab. 21: Biologische Daten der synthetisierten 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide.

		<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI	Molare Masse [g/mol]	
Verbdg.	R ⁴	48 h (Stabw)	72 h (Stabw)			logP	
Sekundäre Amine	45^a		0.62 (± 0.62)	1.14 (± 0.90)	>100	>161.3	475.5 / 3.70
	46		0.62 (± 0.17)	0.77 (± 0.07)	>100	>161.3	544.4 / 4.87
	47⁶²		1.19 (± 0.02)	2.93 (± 0.05)	10.5	8.82	585.4 / -
	48⁶²		0.39 (± 0.15)	0.52 (± 0.10)	22.5	57.7	585.4 / -
	49	 HCl	0.57 (± 0.03)	0.71 (± 0.01)	8.5	14.9	579.9 / 5.07
	50	 TFA	0.64 (± 0.07)	0.72 (± 0.02)	6.5	10.2	685.5 / 5.29
	57		2.95 (± 0.41)	3.46 (± 0.15)	18.5	6.3	557.4 / 5.35

Primäre Amine	51		1.83 (± 0.12)	2.93 (± 0.11)	41.4	22.6	532.4 / 4.32
	55^b		n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	548.8 / 5.07
	52⁶²		1.18 (± 0.26)	1.33 (± 0.18)	>100	>84.8	559.4 / -
	56^b		> 40	> 40	> 100	> 2.5	575.9 / 4.00
	53		5.85 (± 0.18)	7.64 (± 0.23)	>100	>17.1	488.3 / 4.19
	54		4.04 (± 0.60)	3.93 (± 0.08)	26.9	6.66	560.4 / 4.10
	58		2.62 (± 0.32)	3.31 (± 0.01)	45.5	17.4	518.3 / 4.78
	59		0.78 (± 0.11)	0.73 (± 0.03)	8.8	11.3	517.4 / 4.15
	60		1.37 (± 0.12)	4.07 (± 0.33)	>100	>73.0	516.3 / 4.08
61		12.32 (± 0.83)	15.67 (± 1.71)	40.6	3.30	530.4 / 4.14	

^a: Verbindung **45** weicht insofern von der allgemeinen Struktur ab, als dass es einen unsubstituierten Benzylamid-Rest in Pos. 3 besitzt.

^b: Verbindungen **55** und **56** weichen von der allgemeinen Struktur ab, als dass sich der Amin-Rest in Pos. 6 befindet, Pos. 7 enthält eine Chlor-Substituent.

Auffällig waren die 6-Amino-4-chinolon-3-carboxamide **55** und **56**: Zum einen machte die extrem schlechte Wasserlöslichkeit des Methoxyethylanilin-Derivats **55** die Bestimmung der *In-vitro*-Aktivität unmöglich. Zum anderen zeigte das Anilinoethylacetamid **56** lediglich eine Wirksamkeit von > 40 µM gegenüber *T. b. brucei*. Aufgrund dieser unbefriedigenden Ergebnisse wurde die Substanzklasse der 6-Amino-Chinolone nicht weiter untersucht.

Die Aktivität von Verbindung **45** (IC₅₀ = 0.62 µM), welche das 1-Aryl-Homologe zur bislang aktivsten Verbindung **33** (IC₅₀ = 0.047 µM, Kapitel 3.1.1) ist, zeigte, dass der Phenyl-Rest in Pos. 1 dem zuvor gefundenen *n*-Butyl-Rest unterlegen war. Dies äußerte sich in einem Aktivitätsverlust um mehr als Faktor 10. Desweiteren beeinflussten die Chlor-Substituenten der Benzylamid-Reste im Vergleich zu unsubstituierten Benzylamiden die Wirksamkeit nur in sehr

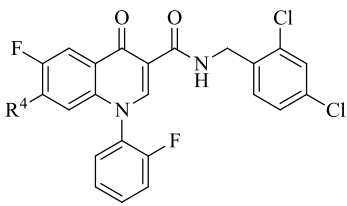
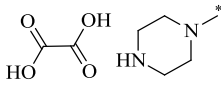

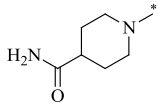
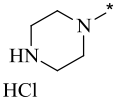
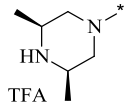
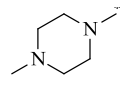
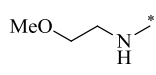

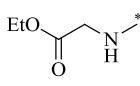
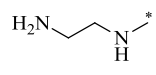

geringem Maße. Sowohl die IC_{50} -Werte des Dichlorbenzylamid-Derivats **46** ($IC_{50} = 0.62 \mu\text{M}$), als auch die seines unsubstituierten Homologen **45** ($IC_{50} = 0.62 \mu\text{M}$) wurden in einem identischen Bereich gefunden. Generell beobachtete man bei den cyclischen Amin-Resten, ähnlich wie in Kapitel 3.1.1.2, eine Abhängigkeit der antitrypanosomalen Aktivität von der Größe des jeweiligen Substituenten. Unter Einbezug der an J774.1-Zellen bestimmten Zytotoxizität wurde für die Derivate **45** und **46** die höchste Selektivität gefunden und somit der Morpholin-Rest erneut als vielversprechendstes Strukturelement identifiziert. In der Gesamtbetrachtung der hier eingeführten Amin-Substituenten waren die cyclischen Amin-Derivate mit Aktivitäten im niedrigen mikromolaren bis submikromolaren Bereich den acyclischen Amin-Derivaten deutlich überlegen. Da die eingeführten *prim.* Amine sich durch geringeres Volumen sowie höhere Flexibilität gegenüber den *sek.* Aminen auszeichneten, konnte die Größe der Substituenten hier nicht für die Aktivitätsabnahme verantwortlich gemacht werden. Vielmehr schien sich ein *sek.* Anilin-Strukturelement, das allen acyclischen 7-Amino-Derivaten gemein war und diese gleichzeitig von allen cyclischen 7-Amino-4-chinolonen unterschied, negativ auf die Aktivität auszuwirken und wurde somit als unvorteilhaft identifiziert. Eine Sonderstellung nahmen die Amide **60** und **61** ein, die mittels Formylierung bzw. Acylierung aus Verbindung **53** gewonnen wurden. Während das Formamid **60** noch im niedrigen mikromolaren Bereich aktiv war ($IC_{50} = 1.37 \mu\text{M}$), bewirkt die zusätzliche Methyl-Gruppe des Acetamids **61** eine drastische Aktivitätsabnahme ($IC_{50} = 12.32 \mu\text{M}$). Wodurch diese letztendlich hervorgerufen wurde, konnte auf Grundlage dieser beiden Verbindungen nicht geklärt werden, da beide Amide HBA-Funktionen darstellen und die zusätzliche Methyl-Gruppe der Verbindung **61** nur zu einer vernachlässigbaren Größenzunahme beitrug.

Eine weitere Leitstruktur konnte mittels dieses Ansatzes nicht gefunden werden. Einige Verbindungen dieser Substanzgruppe zeigten zwar Aktivität im submikromolaren Bereich, mit durchschnittlichen $\log P$ -Werten von > 4 und Molekülmassen von $> 500 \text{ g/mol}$ besaßen diese Moleküle jedoch nicht dieselbe Qualität wie die zuvor gefundene Leitstruktur **33** (Kapitel 3.1.1).

Überraschenderweise zeigten einige 1-Aryl-4-chinolon-Derivate auffällig hohe Zytotoxizität gegenüber der Makrophagen-Zelllinie J774.1. Während die 4-Chinolon-3-carboxamide der ersten Bibliothek (Kapitel 3.1.1) bislang durch unbedenkliche toxische Eigenschaften überzeugten ($IC_{50}(\text{J774.1}) > 40 \mu\text{M}$), wurde für die Verbindungen **49**, **50** und **59** IC_{50} -Werte $< 10 \mu\text{M}$ gefunden. Das herausragende Strukturelement, das diese drei Verbindungen

miteinander verband und sie gleichzeitig von allen bisherigen 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivaten unterschied, war ein *prim.* oder *sek.* aliphatisches Amin. Bereits zuvor wurde diese Auffälligkeit für Verbindung **34** (Kapitel 3.1.1) beobachtet. Auch dieses Derivat besaß ein *sek.* aliphatisches Amin und neigte zu erhöhter Zytotoxizität (IC_{50} (J774.1) = 8.9 μ M). Somit war ein Zusammenhang zwischen diesen aminischen Strukturelementen und der erhöhten Zytotoxizität wahrscheinlich. Diese Korrelation wurde allerdings durch Ciprofloxacin in Frage gestellt. Dieses Chinolon der zweiten Generation besitzt, analog zu Verbindung **34** und **49**, einen Piperazin-Rest, sprich ein aliphatisches *sek.* Amin, belegt aber durch seine langjährige praktische Anwendung als Antibiotikum sein geringes zytotoxisches Potential. Eine Erklärung dieser Extreme könnte die Substitution in Pos. 3 liefern: Während Ciprofloxacin durch seine Carbonsäure als zwitterionische Struktur im physiologischen pH-Bereich vorlag,¹⁰⁹ stellen die 4-Chinolon-3-carboxamide reine Basen dar. Durch die Analyse großer Substanz-Datenbanken ist bekannt, dass basische Substanzen mit einem pK_s -Wert > 7 , welche bei physiologischem pH-Wert positiv geladen vorliegen, gegenüber zwitterionischen Verbindungen ein ausgeprägteres polypharmakologisches Verhalten aufweisen.⁴⁵ Das Ausmaß dieser sog. Promiskuität (Kapitel 1.2.2.2) wird neben dem Ionisierungszustand auch durch die Lipophilie festgelegt. Die Bindung lipophiler Moleküle zu einem biologischen Target basiert häufig auf unspezifischen Wechselwirkungen, d. h. auf der Freisetzung von in Bindetaschen fixierten Wassermolekülen (entropiegetriebene Bindung). Ein hoher logP-Wert einer Verbindung erhöht somit die Wahrscheinlichkeit der Entropie-geleiteten Wechselwirkung und damit auch die unspezifische Interaktion mit zahlreichen biologischen Strukturen.^{42,45} Ein weiterer Indikator ist die Anzahl der aromatischen Ringe. Erhöhte Promiskuität wird für positiv geladenen Strukturen mit zwei oder mehr aromatischen Ringen beobachtet.¹¹⁰ Mit logP-Werten von > 4 , insgesamt vier aromatischen Ringen und pK_s -Werten > 8 (berechnet mit MoKa[®], Version 1.1.0) boten die Verbindungen **49**, **50** und **59** alle Voraussetzungen für erhöhte polypharmakologische Eigenschaften. Zusätzlich beinhalteten **49** und **50** einen Piperazin-Rest, der durch Azzaoui *et al.*¹¹¹, als ein zu hoher Promiskuität neigendes Strukturelement identifiziert wurde.

Tab. 22: Zytotoxizität ausgewählter Verbindungen an Leber- und Nierenzellen.

		J774.1 IC ₅₀ [μM]	HepG-2 IC ₅₀ [μM] (Stabw)	HEK293T IC ₅₀ [μM] (Stabw)	Molare Masse [g/mol]
Verbindung	R⁴				logP
34^a		8.9	12.25 (± 0.00)	9.51 (± 0.24)	526.6 3.42
46		>100	>160	>160	544.4 4.87
47⁶²		10.5	13.79 (± 0.54)	14.31 (± 0.60)	585.4 -
49	 HCl	8.5	3.28 (± 0.15)	3.24 (± 0.14)	579.9 5.07
50	 TFA	6.5	3.03 (± 0.12)	3.30 (± 0.11)	685.5 5.29
57		18.5	7.40 (0.73)	6.89 (0.33)	557.4 5.35
51⁶²		41.4	7.87 (± 0.42)	8.35 (± 0.95)	532.4 4.32
53		>100	10.66 (± 1.87)	12.98 (± 0.35)	488.3 4.19
54		26.9	15.93 (± 1.26)	9.08 (± 1.18)	560.4 4.10
59		8.8	4.66 (± 0.11)	3.55 (± 0.34)	517.4 4.15
61		40.6	26.22 (± 0.42)	22.55 (± 1.53)	530.4 4.14

^a: Verbindung **34** resultiert aus dem SAR-Ansatz und weicht daher von der allgemeinen Struktur ab. In Pos. 1 befindet sich ein n-Butyl-Substituent; in Pos. 3 ein unsubstituiertes Benzylamid.

Um detailliertere Einblicke in die polypharmakologischen Eigenschaften dieser Substanzen zu erhalten, wurden sie, zusammen mit einigen gegenüber der Zelllinie J774.1 geringfügiger toxischen Verbindungen dieser Substanz-Bibliothek, an der Leberzelllinie HepG-2 und der Nierenzelllinie HEK293T getestet (**Tab. 22**). Die zytotoxischen Eigenschaften der Verbindungen **34**, **49**, **50** und **59** konnten erneut in Leber- und Nierenzellen beobachtet werden. Enzymatische Demethylierung des *N*-Methylpiperazin-Restes, wie bereits für das Chinolon-Antibiotikum Perfloxacilin beobachtet,¹¹² könnte Verbindung **57** in das Piperazin-Derivat **49** überführen, womit sich die beobachteten IC₅₀-Werte von < 10 µM erklären ließen. Überraschenderweise wurde auch für die gegenüber J774.1-Zellen geringfügig toxischen acyclischen 7-Amino-Derivate **51**, **53** und **54** gesteigerte Toxizität gegenüber HepG-2- und HEK293T-Zellen gefunden. Einzig die Derivate **46** und **61**, welche sich durch das Fehlen eines basischen Strukturelements auszeichneten, zeigten in allen drei Zelllinien moderate bis keine Toxizität. Wie bereits vermutet, bestätigten auch diese Ergebnisse eine Korrelation der Zytotoxizität mit *prim.* und *sek.* Amin- und Anilin-Substituenten. Prinzipiell können zytotoxische Effekte von der Konzentration einer Substanz an einem bestimmten Ort abhängig sein. Übertragen auf die hier gemachten Beobachtungen würde dies bedeuten, dass die aminischen Substanzen, im Gegensatz zu **46** und **61**, in der Lage sind, sich in höherem Maße im Zellinneren anzureichern. Somit könnte der aktive Transport dieser Verbindungen eine entscheidende Rolle spielen. Eine breite Substanzspezifität weist die Familie der organischen Anionen Transporter („*organic anion transporter polypeptide*“, OATP) auf, welche sowohl in Leberzellen, als auch in zahlreichen anderen Organen exprimiert werden.^{113,114} Zu den Substraten dieser Transporter zählen amphiphilische endogene Substanzen wie z. B. Gallensalze und Schilddrüsenhormone sowie zahlreiche Wirkstoffe. Die orale Bioverfügbarkeit letzterer wird durch OATPs entscheidend beeinflusst, da sie die Aufnahme exogener Stoffe in Leberzellen ermöglichen und somit an der hepatischen Eliminierung entscheidend beteiligt sind.¹¹⁵

Falls die Verbindungen **34**, **49**, **50** und **59** Substrate der OATPs sind, sollte die Inhibition dieser möglicherweise zur Reduzierung der toxischen Effekte führen. Basierend auf dieser Hypothese, wurde, im Teilbereich Z1 des SFB630, Verbindung **49** in einem modifizierten HepG-2-Assay untersucht. Als Referenz dienten die moderat toxische Verbindung **61** und die nicht toxische Verbindung **46** (**Tab. 23**).

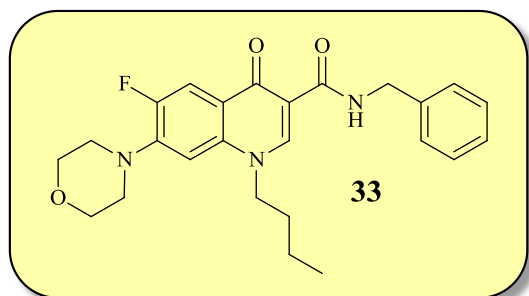
Tab. 23: Zytotoxizität in OATP-inhibierten HepG-2 Zellen.

Verbdg.	Ohne Inhibitor			Cyclosporin A 2.5 μM			Cyclosporin A 7.5 μM			Rifampicin 20 μM		
	HepG-2 IC₅₀ [μM]	49	61	46	49	61	46	49	61	46	49	61
	3.28	26.2	>160	3.20	31.7	>160	3.25	37.0	>160	3.35	36.6	>160

IC₅₀ (Cyclosporin A): 20.9 ± 5.9 μM , IC₅₀ (Rifampicin): > 160 μM

Dieses Molekül-Set wurde in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von selektiven OATP-Inhibitoren (Cyclosporin A, Rifampicin) an Hepatocyten untersucht. Die Hemmung des Transporters führte in keiner der Versuchsreihen zu signifikanten Änderungen der IC₅₀-Werte, weshalb die aktive Aufnahme der Verbindung **49** durch OATPs und die damit verbundene Anreicherung der Verbindungen in der Zelle weitestgehend ausgeschlossen werden konnte. Somit rückte allerdings die Vermutung einer strukturspezifischen Interaktion in den Vordergrund. Um die Zusammenhänge zwischen *prim.* und *sek.* aliphatischen Amin-Substituenten der 4-Chinolon-3-carboxamide (**34**, **49**, **50**, **59**) und das damit verbundene toxische Potential besser verstehen zu können, wird im Teilprojekt Z1 versucht, mögliche Targets schrittweise einzukreisen. Die Auswirkung dieser Verbindungen auf die Zellproliferation und das mitochondriale Potential sind daher Gegenstand aktueller Untersuchungen.

3.2 Weiterführende Untersuchungen der 7-Morpholino-4-chinolon-3-carboxamid-Leitstruktur **33**



Aus dem Ansatz der qualitativen Struktur-Wirkungs-Beziehung (Kapitel 3.1.1) war Verbindung **33** als vielversprechende Leitstruktur hervorgegangen, die in der Folge genauer auf ihre biologische Wirksamkeit sowie zytotoxischen und physiko-chemischen Eigenschaften untersucht wurde.

Neben der im Teilprojekt Z1 des SFB630 bestimmten Aktivität an *T. b. brucei* (TC221), konnte in Zusammenarbeit mit Prof. Brun und M. Kaiser vom Schweizer Tropeninstitut (Swiss Tropical and Public Health Institute, Basel) zusätzlich die Wirksamkeit an der humanpathogenen Unterart

T. b. rhodesiense (STIB900) evaluiert werden. Verbindung **33** erwies sich auch an dieser Unterart mit einem IC_{50} -Wert von 3 nM als äußerst potent (**Tab. 24**)

Tab. 24: Übersicht der biologischen Daten von Verbindung **33**.

	IC_{50} [μ M]		Makrophagen J774.1		Leberzellen HepG-2		Nierenzellen HEK293T	
	48 h (Stabw)	72 h (Stabw)	IC_{50} [μ M]	SI	IC_{50} (Stabw) [μ M]	SI	IC_{50} (Stabw) [μ M]	SI
<i>T. b. brucei</i>	0.047 (\pm 0.00)	0.05 (\pm 0.01)	57.0	1140	47.05 (\pm 3.04)	1001	26.30 (\pm 5.35)	560
<i>T. b. rhodesiense</i>	n. b.	0.003		19000	15683	8767		

$$SI = IC_{50Tox.} / IC_{50T. brucei}$$

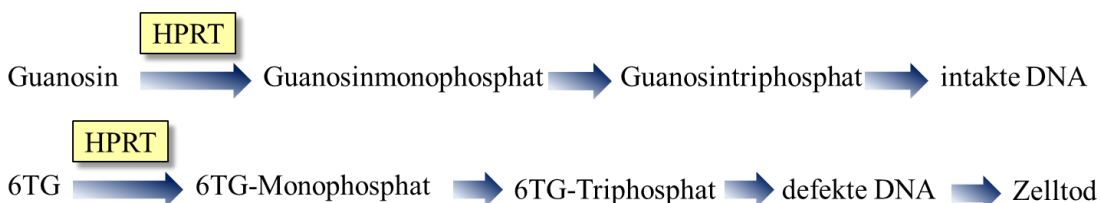
Während der Phase der Leitstrukturfindung wurde die Zytotoxizität von Verbindung **33** an der murinen Makrophagenzelllinie J774.1 zu 57.0 μ M bestimmt. In Kombination mit der herausragenden antitrypanosomalen Aktivität dieser Struktur ergab sich somit eine ausgeprägte Selektivität ($SI_{T. b. brucei} = 1140$, $SI_{T. b. rhodesiense} = 19000$). Die unerwartet hohe Toxizität einiger 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivate (Kapitel 3.1.2) machte weitere Zytotoxizitätsuntersuchungen der Leitstruktur **33** an der Leberzelllinie HepG-2 und Nierenzelllinie HEK293T notwendig. Während der IC_{50} -Wert (47.05 μ M) in Leberzellen im Bereich der J774.1-Zelllinie lag, zeigte sich eine um Faktor 2 höhere Toxizität gegenüber Nierenzellen ($IC_{50} = 26.3 \mu$ M). Dennoch konnte durch Einbezug der hohen antitrypanosomalen Aktivität auch gegenüber Nierenzell-Toxizität eine deutliche Selektivität ($SI_{T. b. brucei} = 560$, $SI_{T. b. rhodesiense} = 8767$) beobachtet werden (**Tab. 24**).

Zusätzlich wurde eine mögliche genotoxische Wirkung von Verbindung **33** mittels eines Standard-HPRT-Tests¹¹⁶ (Hypoxanthin-Guanin-Phosphorribosyl-Transferase) durch A. Albrecht (AK Prof. Lehmann, Lebensmittelchemie) untersucht. HPRT ist ein Enzym im Purinstoffwechsel von Eukaryonten und auf dem X-Chromosom lokalisiert. Es katalysiert die Wiederaufbereitung von endogenen Purinbasen zu Nucleotiden, welche für die DNS-Synthese benötigt werden. Desweiteren katalysiert HPRT die Verknüpfung des Zucker-Phosphat-Rests mit dem exogenen Guanin-Analogon 6-Thioguanin (6TG). Das resultierende 6TG-haltige Nucleotid bewirkt schwere DNS-Schäden, was letztlich letal für die Zelle ist. Die Funktion des Enzyms reagiert

sehr empfindlich auf Veränderungen am Gen, weshalb es zur Bestimmung des mutagenen Potentials exogener Substanzen nutzbar ist. Der Assay basiert auf dem durch induzierte Genmutation hervorgerufenen Aktivitätsverlust des Enzyms: Während unveränderte Zellen durch die Zugabe von 6TG (Aufbau 6TG-haltiger Nucleotide) absterben, überleben mutierte, sprich HPRT-inaktive Zellen (**Abb. 23**). Die Auswertung erfolgt schließlich über die Mutantenfrequenz, d.h. über den Anteil der mutierten Zellen bezogen auf die Gesamtzahl der ausgestreuten Zellen 24 h nach Substanzinkubation:¹¹⁶

$$\text{Mutantenfrequenz} = \frac{\text{Anzahl 6TG Mutanten}}{\text{Anzahl der ausgestreuten Zellen} \times \text{Koloniebildungsfähigkeit nach 24 h Substanzinkubation}}$$

Nicht-mutierte Zellen



Mutierte Zellen

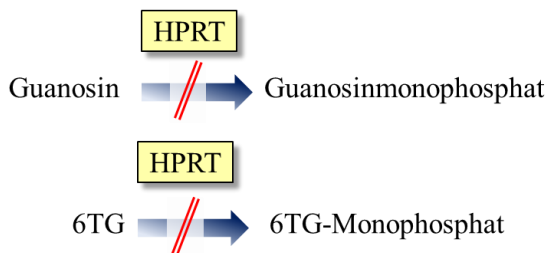


Abb. 23: In nicht-mutierten Zellen katalysiert HPRT die Aufbereitung von endogenen Purinbasen zu Nucleotiden (DNS-Synthese) aber auch den Aufbau 6TG-haltiger Nucleotide (DNS-Schädigung). Die Mutation des HPRT-Enzyms verhindert die Verknüpfung von Zucker-Phosphat-Resten mit Purinbasen und damit das Überleben dieser Mutanten in 6TG-haltigem Selektionsmedium.

Da mögliche toxische Effekte der Testsubstanz die Mutantenfrequenz verfälschen können, wurde die zytotoxische Aktivität der Verbindung **33** an der für die Testung verwendeten Nierenzelllinie V79 (chinesischen Hamsters) zunächst bestimmt. Ab einer Konzentration von 47 μM konnten signifikante Änderungen in der Kolonialbildungsfähigkeit und Zellzahl beobachtet werden. Folglich wurde die Untersuchung der potentiellen mutagenen Eigenschaften von **33** im HPRT-Assay im Bereich von 0 - 47 μM durchgeführt. Nach 24 h Inkubation mit Verbindung **33** und

anschließender sechs-tägiger Nachinkubation ohne Testsubstanz wurden die Zellen schließlich in 6TG-haltigem Selektionsmedium ausgestreut. Nach 7 d bei 37 °C wurde anhand der resultierenden Mutantenfrequenz keine durch Verbindung **33** induzierte Genmutation beobachtet. In Summe konnte durch die Testung von Verbindung **33** an verschiedenen Zelllinien ein moderates toxisches Potential gefunden werden, die herausragenden antitrypanosomalen Aktivitäten gegen die hier getesteten *T. brucei*-Unterarten führten damit zu einer ausgeprägten antiprotozoischen Selektivität, wodurch sich die vielversprechenden biologischen Eigenschaften dieser Leitstruktur weiter bestätigen ließen.

Zusätzlich wurde Verbindung **33** im Rahmen des SFB630 an weiteren parasitären, bakteriellen und mykotischen Erregern untersucht (**Tab. 25**).

Tab. 25: Antibakterielle, antimykotische und antiparasitäre Eigenschaften der Verbindung **33**.

<i>S. aureus</i> MIC [µM]	<i>S. epidermidis</i> MIC [µM]	<i>E. faekalis</i> MIC [µM]	<i>E. faecium</i> MIC [µM]	<i>E. coli</i> MIC [µM]	<i>P. aeruginosa</i> MIC [µM]
> 40	> 40	> 40	> 40	> 40	> 40

<i>Y. pseudotuberculosis</i> MIC [µM]	<i>Y. pestis</i> MIC [µM]	<i>C. albicans</i> MIC [µM]	<i>L. major</i> IC ₅₀ [µM]	<i>P. falciparum</i> IC ₅₀ [µM]
> 40	> 40	> 40	73.3	> 100

Weder gegen die Parasiten *L. major* und *P. falciparum* noch gegen *C. albicans* und zahlreiche Bakterien zeigte Verbindung **33** Aktivität, womit sich dieses Molekül auch durch eine ausgeprägte Erregerselektivität auszeichnet. 4-Chinolone sind prinzipiell für ihre antibakterielle Wirksamkeit bekannt, allerdings zeigte Verbindung **33** gegenüber keiner der hier untersuchten Bakterien Aktivität. Die Ursache für die nicht vorhandene antibakterielle Wirksamkeit lag in der Amidierung der Carbonsäure-Funktion in Pos. 3. Für die Interaktion zwischen Chinolon-Antibiotikum und dem Gyrase-DNS-Komplex ist die Carbonsäure essenziell.¹¹⁷ In Kapitel 3.2.2 wird dieser Befund genauer diskutiert.

Auch die physiko-chemischen Parameter der Verbindung **33** sagen vielversprechende ADME-Eigenschaften vorher. Sowohl Lipinski's Ro5³⁷ als auch die von Veber *et al.*⁴⁶ betrachteten Bereiche der PSA (< 140 Å²) und Anzahl der rotationsfähigen Bindungen (RB < 10) werden

durch das 4-Chinolon-3-carboxamid erfüllt und sprechen daher für eine ausreichende orale Bioverfügbarkeit (**Tab. 26**).

Tab. 26: Physiko-chemische Parameter von **33**.

Molekülmasse	logP	HBA	HBD	PSA	RB	Proteinbindung
437.5 g/mol	3.76	6	1	61.9	8	80.5 %

Entscheidenden Einfluss auf die Bioverfügbarkeit eines Wirkstoffs hat auch dessen Bindung an Plasmaproteine. Maßgeblich von der Proteinbindung abhängig sind die Prozesse der Verteilung und Eliminierung, da jeweils nur der ungebundene Wirkstoffanteil verteilt bzw. ausgeschieden wird. Das Verteilungsvolumen eines Wirkstoffs ist direkt proportional zum ungebundenen Anteil, sprich eine geringere Proteinbindung führt zur schnelleren Verteilung im Körper und damit einhergehend auch zum schnelleren Erreichen des Wirkorts. Ebenfalls proportional zur Proteinbindung ist die Eliminierung. Ein erhöhter ungebundener Anteil führt somit auch zu einer schnelleren Ausscheidung eines Wirkstoffs.

Nicht nur die pharmakokinetischen Prozesse werden durch die Proteinbindung beeinflusst, sondern auch die Pharmakodynamik. Das Ansprechen auf einen Wirkstoff korreliert mit dem freien, ungebundenen Anteil am Wirkort. Somit sind auch EC_{50} -Werte oder minimale Hemmkonzentrationen eines Wirkstoffs von dessen Affinität zu Plasmaproteinen abhängig.¹¹⁸ Die Proteinbindung einer Substanz ist daher für die Planung von *In-vivo*-Studien und das Festlegen von Dosierungen von entscheidender Bedeutung.

Die *In-vitro*-Bestimmung der Proteinbindung von Verbindung **33** wurde durch A. Hörst mittels kontinuierlicher Ultrafiltration durchgeführt. Die Substanz wurde dazu in Phosphatpuffer mit 2 mM Polysorbat 20 gelöst und mit humanem Serumalbumin inkubiert. Nach Filtration (wirkstoffgesättigter Polyethersulfonfilter) wurde UV-metrisch eine Bindung von ca. 80 % gefunden, welche im Gegensatz zu den 4-Chinolon-Antibiotika mit Plasmaproteinbindung von < 40 % deutlich höher liegt,¹¹⁷ aber noch nicht als kritisch anzusehen ist.¹¹⁹

Die Penetration der Blut-Hirn-Schranke („*blood-brain-barrier*“, BBB) ist eine weitere wichtige Eigenschaft, die Wirkstoffe zur Behandlung des Spätstadiums der afrikanischen Schlafkrankheit aufweisen müssen (Kapitel 1.1.3). Laut einer Analyse von Kelder *et al.*¹²⁰ zeichnen sich BBB-gängige Wirkstoffe durch eine PSA von < 70 Å² aus. Für die hier betrachtete Leitstruktur **33** mit

einer PSA von 61.9 \AA^2 sollte diese Anforderung somit gegeben sein. Ein Versuch zur experimentellen Bestimmung dieser Substanzeigenschaft wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Förster (Universitätsklinikum Würzburg) vorgenommen. Mittels eines Transwell-Assays wurde, wie von Förster *et al.*¹²¹ beschrieben, die passive BBB-Penetration mit Hilfe von murinen zerebralen Endothelzellen (cEND) untersucht. Die für die Testung nötige Konzentration ($100 \mu\text{M}$) in wässriger Lösung konnte jedoch für Verbindung **33** nicht erreicht werden. Die starke Präzipitation aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit (Kapitel 3.2.3) machte die Untersuchung der BBB-Penetration unmöglich.

3.2.1 Metabolismusuntersuchungen von Verbindung 33

Die Metabolisierung und die damit verbundene Eliminierung bestimmen, zusammen mit der verabreichten Dosis, die Konzentration eines Wirkstoffes am Wirkort und somit auch das Ausmaß der Wirkung. Bei einer oralen Applikation gelangt ein Pharmakon nach Resorption über den Magen-Darm-Trakt via Pfortader direkt zur Leber („*first-pass-effect*“). Viele für die Biotransformation von körperfremden Stoffen (Xenobiotika) relevante Enzyme (mikrosomale Enzyme) sind hier im glatten endoplasmatischen Retikulum lokalisiert. Meist lipophile Wirkstoffe werden nach Erreichen der Leber in einer Phase-I-Reaktion durch Cytochrom-P450 abhängige Monooxygenasen bzw. Hydrolasen in hydrophilere Stoffe überführt und durch anschließende Konjugation mit endogenen Substraten wie z. B. Glukuronsäure ausgeschieden (Phase-II-Reaktion). Eine geringe Stabilität eines Wirkstoffs gegenüber dieser mikrosomalen Umsetzung bewirkt eine rasche Eliminierung und damit einhergehend eine kurze Halbwertszeit.¹¹⁷ Da die entscheidenden Enzyme des Phase-I-Metabolismus in Mikrosomen (Cytochrom-P450-Monooxygenase-System) und im Cytosol (Hydrolasen) hepatischer Zellen vorkommen, können entsprechende Zellfraktionen für *In-vitro*-Metabolismusuntersuchungen einer Verbindung verwendet werden.

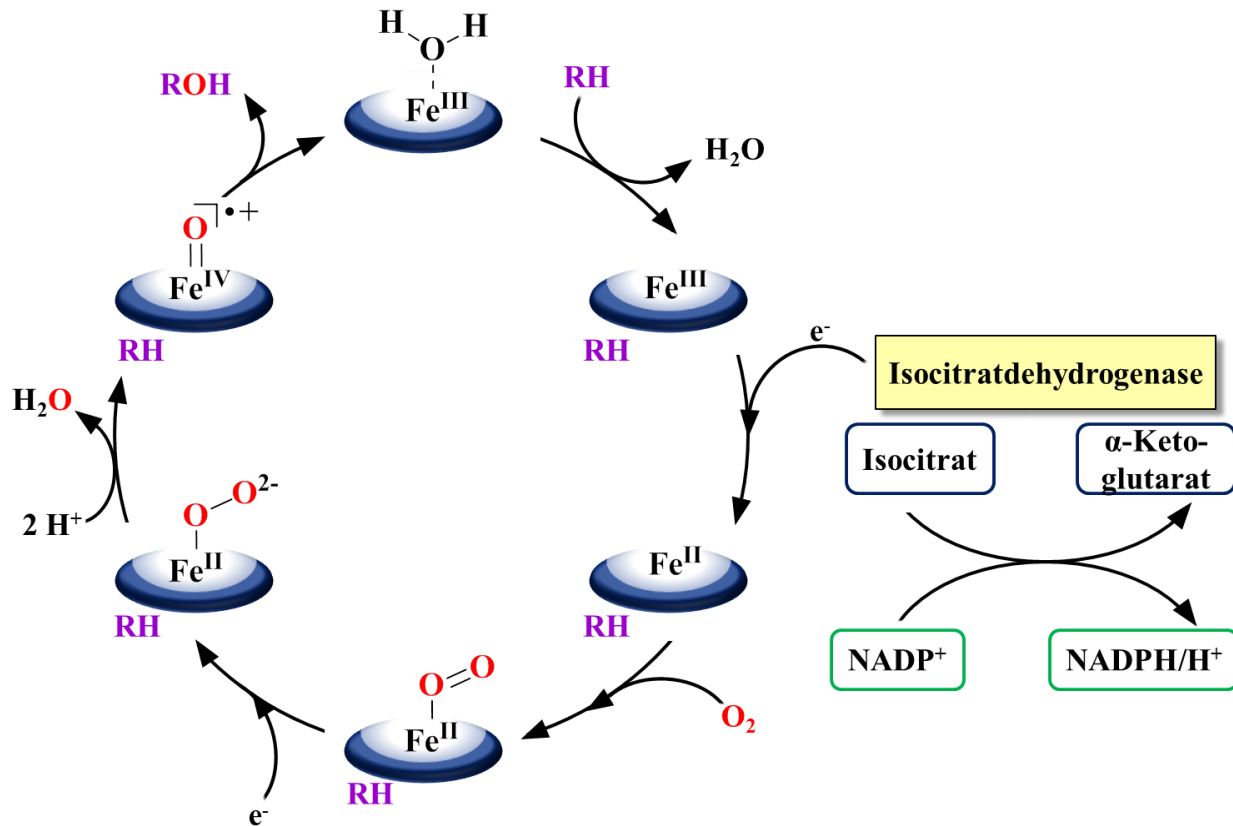
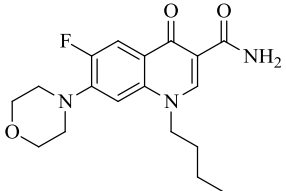
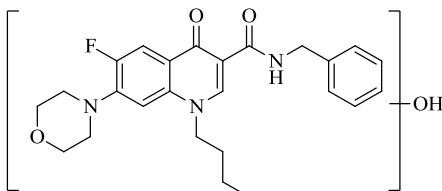
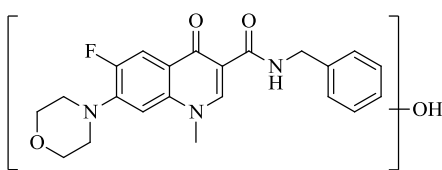


Abb. 24: Mechanismus der Cytochrom-P450 Substratoxidation (adaptiert nach Shaik et al.¹²²).

Hydroxylierungen, Dealkylierungen und Epoxidierungen sind gängige Phase-I-Reaktionen, die durch Cytochrom-P450 abhängige Monooxygenasen induziert werden. Der diesen Oxidationsprozessen zugrundeliegende Mechanismus ist in **Abb. 24** dargestellt. Im ersten Schritt des Katalysezyklus wird das am Hämprotein koordinierte Wasser-Molekül durch das Substrat (RH) verdrängt. Der pentakoordinierte Eisen(III)-Porphyrin-Komplex wird durch die Aufnahme eines Elektrons, welches durch eine NADPH/H⁺-Reduktase (u. a. Isocitratdehydrogenase) bereitgestellt wird, zum Eisen(II)-Komplex reduziert. Dem folgt die Anlagerung von molekularem Sauerstoff und ein zweiter Reduktionsschritt, welcher zu einer Eisenperoxoanionspezies führt. Doppelte Protonierung und anschließende Wasserabspaltung resultiert im hoch reaktiven Perferryl(IV)-Sauerstoff-Komplex FeO³⁺. Dieses Intermediat ist schließlich für die Oxidation des Substrats verantwortlich, wobei das Hämprotein seine ursprüngliche Oxidationszahl zurückerhält.¹²² Um die katalytischen Eigenschaften der Cytochrom-P450 Enzyme im *In-vitro*-Assay zu gewährleisten, muss der Mikrosomenfraktion ein NADPH/H⁺ generierendes System beigelegt werden, da ohne diesen Cofaktor die entscheidenden Redox-Prozesse nicht ablaufen können. Dieses System enthält u. a. das Enzym Isocitratdehydrogenase,

welches Isocitrat durch Abspaltung von Kohlenstoffdioxid in α -Ketoglutarat unter gleichzeitiger Regeneration von NADP^+ zu NADPH/H^+ überführt.¹²³

Tab. 27: Masse-Ladungs-Verhältnisse und mögliche Strukturen der gefundenen Metabolite von Verbindung **33**.

Metabolit	Mögliche Struktur	m/z [M+H] ⁺
M1		348
M2		454
M3		412
M4	Nicht bestimmbar	348

In der Lebensmittelchemie (Prof. Lehmann) wurde im Rahmen einer wissenschaftlichen Abschlussarbeit die mikrosomale sowie cytosolische Umsetzung von Verbindung **33** untersucht und einzelne Metabolite identifiziert. Die verwendeten Mikrosomen- und Cytosol-Fractionen stammten dabei von Phenobarbital und β -Naphthoflavon bzw. Aroclor 1254 induzierten männlichen Rattenlebern.

Mittels einer HPLC-MS Methode wurden nach 90 minütiger

Inkubation bei 37 °C insgesamt vier Metabolite gefunden, welchen anhand der detektierten Masse-Ladungs-Verhältnissen mögliche Strukturen zugeordnet werden konnten (**Tab. 27**). Die durch oxidative Benzylspaltung erhaltene Verbindung **M1** ist der Hauptmetabolit und entstand wie Metabolit zwei (**M2**) unter den Bedingungen der mikrosomalen Umsetzung. Die übrigen Metabolite wurden zusätzlich in hitzeinaktivierten Negativkontrollen gefunden, weshalb deren Bildung wahrscheinlich nicht auf enzymatische Reaktion zurückzuführen ist.

Die Quantifizierung der Abnahme von **33** durch mikrosomale Umsetzung wurde unter Verwendung eines internen Standards (Verbindung **48**, Kapitel 3.1.2.1.4) durchgeführt. Die Hauptmetabolisierung erfolgte während der ersten 30 min und flachte über die restliche Inkubationszeit ab, was anhand des Umsatzes von **33** pro Milligramm Protein erkennbar war: Dieser sank von $161.6 \pm 35.4 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg Protein}^{-1}$ nach 30 min auf $47.1 \pm 20.8 \text{ pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg Protein}^{-1}$ nach 90 min. Die deutliche Abnahme legte die Vermutung nahe, dass das NADPH/H^+ -generierende System, speziell die Isocitratdehydrogenase, durch Verbindung **33**

inhibiert wurde. Allerdings konnte dies in weiterführenden Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Tab 28: Abnahme von Verbindung 33 über einen Zeitraum von 90 min.

t [h]	Abnahme [μM]	C(t) [μM]	lnC(t) [μM]
0.5	4.76	95.2	4.56
1	11.2	88.8	4.49
1.5	15.4	84.6	4.44

Unter Annahme einer Abbaukinetik 1. Ordnung kann die Geschwindigkeitskonstante der hepatischen Eliminierung k_e mittels folgender Formel berechnet werden:

$$\ln C(t) = -k_e \times t + C_0$$

Mit den gefundenen absoluten Konzentrationsabnahmen (**Tab 28**) ließ sich bei einer Anfangskonzentration (C_0) von $100 \mu\text{M}$ $C(t)$ berechnen und logarithmiert gegen die Zeit graphisch auftragen. Die Steigung der durch lineare Regression erhaltenen Geraden entsprach k_e mit einem Wert von 0.12 h^{-1} (**Abb. 25**).

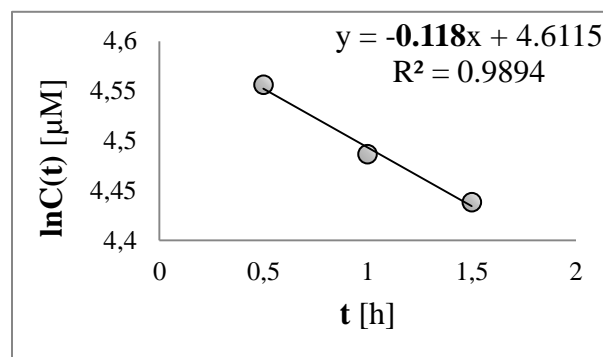


Abb. 25: Graphische Bestimmung von k_e .

Zwischen k_e und der Eliminationshalbwertszeit besteht folgende Beziehung:

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_e}$$

Für Verbindung **33** wurde eine Halbwertszeit von 5.78 h berechnet. Diese liegt im Bereich der klassischen 4-Chinolon-Antibiotika (3 - 8 h)¹¹⁷ und würde für eine mehrmalige tägliche Gabe des Wirkstoffs sprechen. Daneben ist k_e auch für die Ermittlung der Clearance einer Verbindung von großer Bedeutung, welche für das Design einer *In-vivo*-Studie mittels der Software Simcyp[®] (Version 12.0.79.0) benötigt wird. Die genauen Zusammenhänge werden in den Kapiteln 3.3.1.2.3 und 3.4.3.3 beschrieben.

3.2.2 Identifizierung von Target und Wirkmechanismus

3.2.2.1 4-Chinolon Antibiotika als Topoisomerase-Inhibitoren

Die antibakterielle Wirksamkeit der Chinolone basiert auf der Inhibition zweier für die DNS-Synthese essenzieller Enzyme: Topoisomerase-II (Gyrase) und Topoisomerase-IV (Topo-IV). Beide Enzyme sind Heterotetramere (A_2B_2), die zu den Typ-II-Topoisomerasen zählen. Während die einzig in Bakterien vorkommende Gyrase aus zwei GyrA- und zwei GyrB-Untereinheiten besteht, ist Topo-IV in ähnlicher Weise aus Paaren von ParC- und ParE-Untereinheiten aufgebaut.

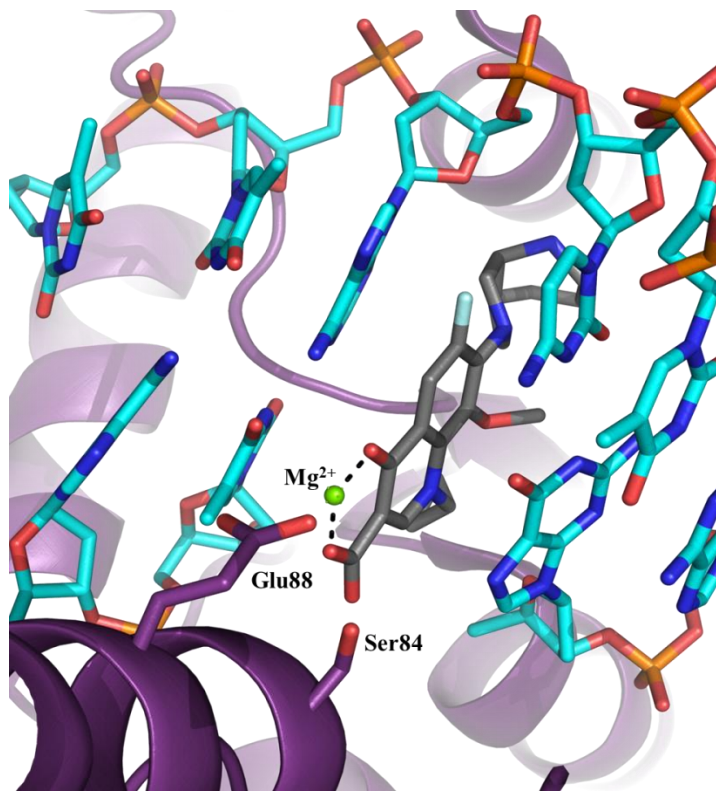


Abb. 26: Kristallstruktur des ternären Komplexes aus Topo IV (lila), Moxifloxacin (grau) und DNS (türkis) (Wohlkonig et al.¹²⁸, pdb: 2XKK).

Lage, durch induzierte ATP-abhängige Doppelstrangbrüche und anschließendes Zusammenführen die überspiralisierte DNS zu entspannen und der stetig ansteigenden Torsionsspannung entgegenzuwirken. Allerdings unterscheiden sich die Enzyme in ihren weiteren Funktionen. Während eine negative Überspiralisierung („*negative supercoiling*“) nur

Die Replikation der DNS setzt die Trennung beider Stränge voraus. Helikasen ermöglichen dies, indem sie die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den DNS-Basen trennen und die α -Helix-Struktur auflösen. Während die entwundenen Stränge hinter dieser sogenannten Replikationsgabel durch Polymerasen nachgebildet werden können, erfährt der davor liegende verdrillte DNS-Strang zusätzliche positive Überspiralisierung („*positive supercoiling*“). Um den Fortlauf der Replikation zu gewährleisten, befinden sich vor jeder Replikationsgabel Typ-II-Topoisomerasen wie die Gyrase oder die Topo-IV. Beide Enzyme sind in der

durch die Gyrase eingeführt werden kann, ist Topo-IV für die Trennung der nach der Replikation miteinander verbundenen zirkulären Tochterchromosomen verantwortlich (Dekatenierung).¹²⁴ Chinolone interagieren mit Typ-II-Topoisomerasen im Schritt des Doppelstrangbruchs und verhindern die erneute Verknüpfung der DNS, wodurch die Funktion der Enzyme blockiert wird. Da jeder Schritt der DNS-Replikation (Transkription, Replikation, Reparatur, Rekombination, Teilung des Genoms) von topologischen Umstrukturierungsvorgängen begleitet ist, führt die Ausbildung dieses ternären Komplexes aus Chinolon, Topoisomerase (II oder IV) und DNS zum Erliegen der DNS-Synthese und letztendlich zum Zelltod.^{125,126} Lange Zeit gab es nur eine Hypothese zum Wirkmechanismus der 4-Chinolone.¹²⁷ Diese wurde durch die von Wohlkonig *et al.*¹²⁸ gelöste Kristallstruktur von Moxifloxacin im Komplex mit Topo-IV (*A. baumannii*) und der DNS bestätigt. Die für die Interaktion des Chinolons mit der DNS-Spaltungs-Domäne des Enzyms entscheidenden Strukturelemente sind das Carboxylat (Pos. 3) und die β -Carbonyl-Funktion (Pos. 4), welche ein nicht-katalytisches Magnesium-Ion chelatisieren. Diese Koordination verdeutlicht zum einen die Notwendigkeit der β -Ketocarbonsäure, zum anderen die sterische Einschränkung für Substituenten in Pos. 2 und 3. Die Interaktion zwischen Chinolon und DNS erfolgt hauptsächlich durch π - π - und van der Waals-Wechselwirkungen, wobei sich der nichtplanare Amin-Substituent in Pos. 7 in eine deformierte Region der gebundenen DNS einlagert (**Abb. 26**).¹²⁸

3.2.2.2 Untersuchungen zur Identifikation des Targets der 4-Chinolon-3-carboxamide

Vor allem die Erkenntnis, dass die β -Ketocarbonsäure der Chinolone essenziell für die Inhibition von Typ-II-Topoisomerasen ist, stellt einen analogen Wirkmechanismus der in dieser Arbeit synthetisierten 4-Chinolon-3-carboxamide in Frage. Durch die sterisch anspruchsvollere Benzylamid-Struktur in Pos. 3 ist eine Chelatisierung des Magnesium-Ions - analog den klassischen Chinolon Antibiotika - fraglich. Dies und die um Faktor 1000 unterschiedliche antitrypanosomale Aktivität zwischen Ciprofloxacin ($IC_{50} = 52 \mu M$)⁵⁸ und Verbindung **33** ($IC_{50} = 0.047 \mu M$) machen die Vorstellung einer anderen Zielstruktur der 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate wahrscheinlich. In Zusammenarbeit mit Prof. Engstler und N. Jones (Zell- und Entwicklungsbiologie) wurde dieser Vermutung nachgegangen.

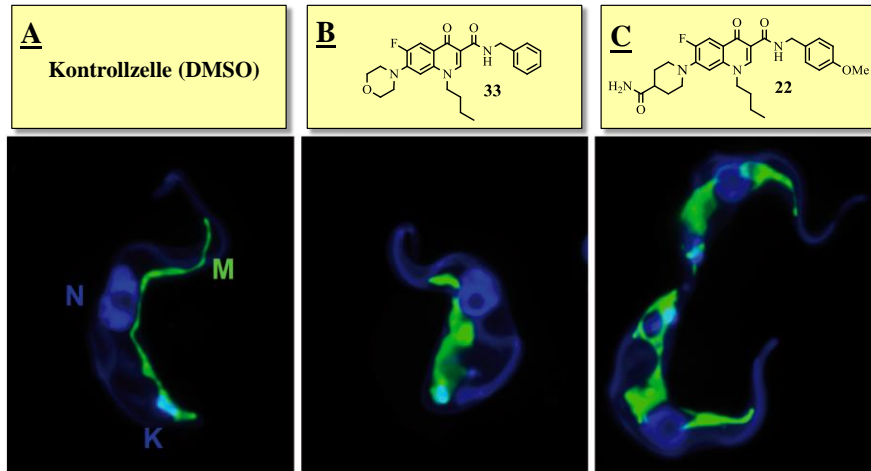


Abb. 27: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von unbehandelten (A) und behandelten (B, C) BSF *T. b. brucei*-Zellen. Die Zelloberfläche (mit AMCA gefärbt), der Zellkern (N, mit DAPI gefärbt) und der Kinetoplast (K, mit DAPI gefärbt) sind in blau dargestellt, das Mitochondrium (M) in grün (Reprinted with permission from Hiltensperger et al.¹²⁹ Copyright 2012 American Chemical Society).

Um mögliche Targets der antitrypanosomal wirksamen 4-Chinolon-3-carboxamide einzukreisen, wurden die Auswirkungen von Verbindung **33** sowie der etwas weniger potenten Verbindung **22** ($IC_{50} = 0.78 \mu M$) auf die Organellen von Blutstromform (BSF) *T. b. brucei*-Zellen mittels

Fluoreszenzmikroskopie untersucht. Verwendet wurden dazu transgene Zelllinien, in denen spezifische Organellen durch GFP- und YFP-gekoppelte Makroproteine visualisiert wurden. Nach einer Inkubationszeit von 42 h mit den 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivaten konnte in beiden Fällen eine deutliche Änderung der Morphologie des Mitochondriums verglichen mit unbehandelten BSF-*T. b. brucei*-Zellen beobachtet werden. In unbehandelten BSF-Kontrollzellen zeigte das Mitochondrium eine längliche, röhrenförmige Struktur; hingegen wurde durch die Inkubation mit 4-Chinolon-3-carboxamiden ein neuer Phenotyp beobachtet, welcher eine über die Zelle verteilte, durchlöchernde Struktur des Mitochondriums zeigte (**Abb. 27**).¹²⁹

Der Kinetoplast ist ein in Protozoen vorkommendes und für deren Überleben notwendiges Organell. Diese in der Natur einzigartige Struktur aus verknüpfter zirkulärer mitochondrialer DNS ist in das Mitochondrium eingebettet.¹³⁰ Da Verbindungen **22** und **33** zum einen Auswirkungen auf die mitochondriale Struktur zeigten (**Abb. 27**), zum anderen mit dem bekannten Topoisomerase-II-Inhibitor Ciprofloxacin strukturverwandt sind, wurde in der folgenden Zellzyklus-Analyse deren Effekt auf den Kinetoplasten genauer betrachtet. Während der Zellteilung durchlaufen Trypanosomen verschiedene Phasen. Im Anfangsstadium besitzen die Zellen einen Kinetoplasten und einen Zellkern (1K1N). Die Zellteilung wird durch die Replikation der mitochondrialen DNS eingeleitet (Segregation, 1K^{seg}1N). Nach der Teilung des Kinetoplasten (2K1N) folgt die Replikation des Zellkerns (2K2N) und letztendlich die

Zellteilung. Diese Stadien wurden in einer Zellzyklus-Analyse für behandelte (Ciprofloxacin, Verbindung **22** und **33**) und unbehandelte Zellen betrachtet (**Abb. 28**).

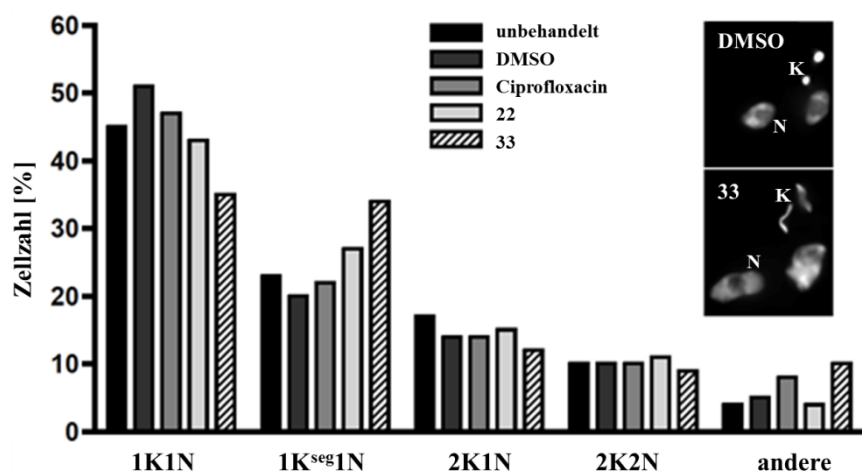


Abb. 28: Zellzyklus-Analyse (Kinetoplast **K**, Zellkern **N**) von behandelten und unbehandelten BSF Trypanosomen. Im rechten Bild ist der durch Verbindung **33** hervorgerufene Segregationsdefekt abgebildet (Reprinted with permission from Hiltensperger et al.¹²⁹ Copyright 2012 American Chemical Society).

Während für Ciprofloxacin kein Effekt beobachtet wurde (kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle), zeigten die mit Verbindungen **22** und **33** inkubierten Zellen eine Anhäufung von segregierenden Kinetoplasten ($1K^{seg}1N$), was darauf hindeutete, dass beide 4-Chinolon-3-carboxamide mit der

Segregation des Kinetoplasten interagierten. Dies führte zu einem Segregationsdefekt, wobei der replizierte Kinetoplast ohne vorherige Segregation auseinander wanderte, was sich in einer ungewöhnlichen, V-ähnlichen Struktur zeigte (rechte Darstellung von **Abb. 28**). Für Ciprofloxacin wurde dieser Phenotyp hingegen nicht beobachtet.¹²⁹

Diese Beobachtung gab jedoch keine Hinweise darauf, ob der Segregationsdefekt aus Wechselwirkung der Verbindungen **22** und **33** mit der mitochondrialen Topoisomerase II (TbTopoII_{mt}) oder mit alternativen Zielstrukturen resultierte. Um diese Frage zu klären, wurde die Expression der TbTopoII_{mt} in BSF-Zellen durch RNSi unterdrückt und somit die Funktion der Topoisomerase ausgeschaltet („Knockdown“). Dies führte zu einer zeitlichen Abnahme des Kinetoplasten und damit auch des Zellwachstums. 72 h nach der Induktion von RNSi mit Tetracyclin wurden sowohl ein Rückgang des Zellwachstums als auch das Fehlen des Kinetoplasten beobachtet. Allerdings konnte während dieser zeitlichen Abnahme nicht ansatzweise der Segregationsdefekt aus der vorangegangenen Zellzyklus-Analyse (Behandlung mit **33**) beobachtet werden (**Abb. 29**).¹²⁹

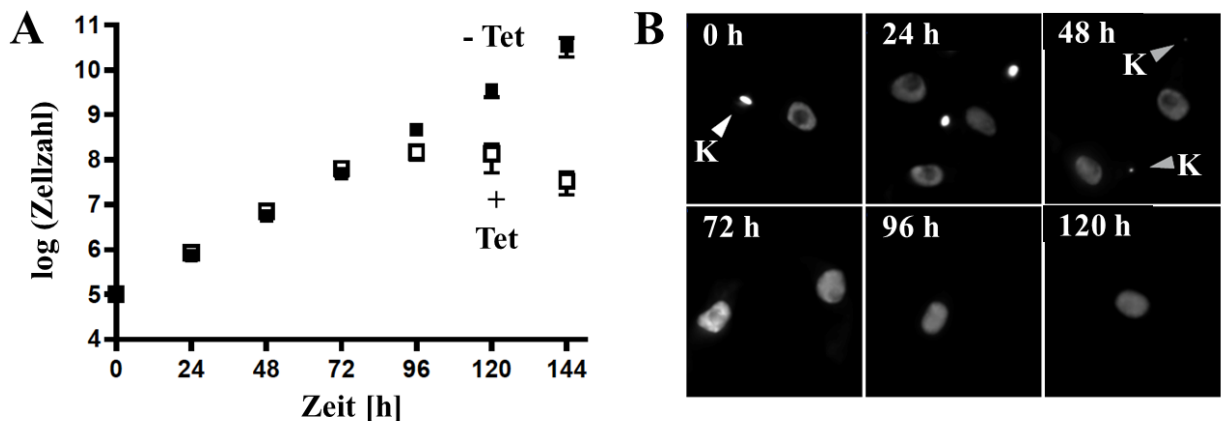


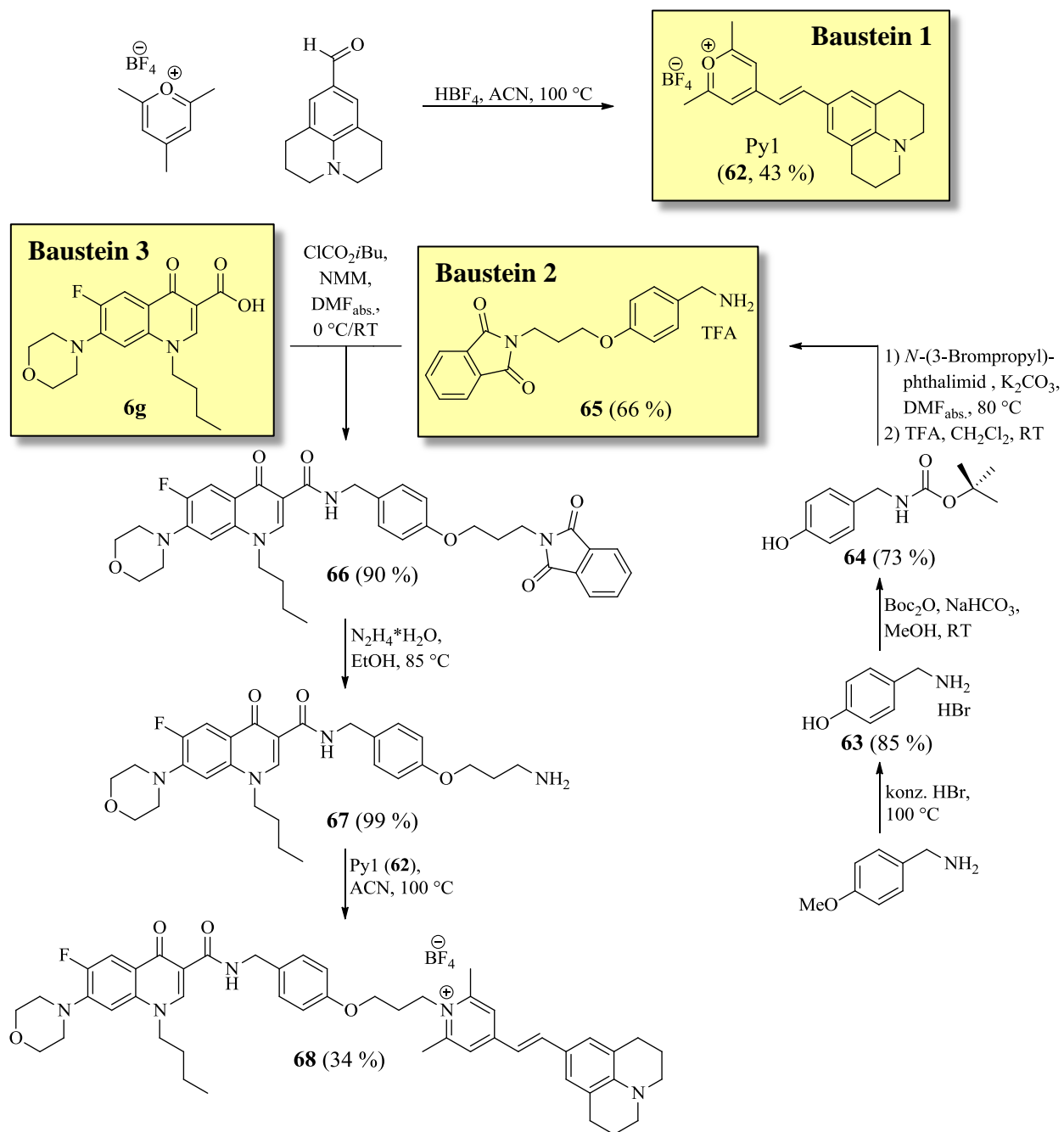
Abb. 29: Knockdown von *TbTopoII_{mt}*: (A) Einfluss der mit Tetracyclin induzierten RNSi (+Tet) auf das Zellwachstum im Vergleich zur Kontrolle (-Tet). (B) Zeitliche Abnahme und Verlust (72 h) des Kinetoplasten (Reprinted with permission from Hiltensperger et al.¹²⁹ Copyright 2012 American Chemical Society).

Diese Experimente konnten die Möglichkeit, dass *TbTopoII_{mt}* das einzige Target der 4-Chinolon-3-carboxamide ist, ausschließen. Desweiteren wiesen diese Ergebnisse auf eine Wechselwirkung mit anderen Zielstrukturen hin, welche in den Segregationsprozess des Kinetoplasten involviert sind und bekräftigten somit die Vorstellung eines zu Ciprofloxacin alternativen Wirkmechanismus.

Um diese Ergebnisse zu festigen, wurde Verbindung **33** in Zusammenarbeit mit A. Schnauer (School of Biological Science, University of Edinburgh) an einer Dyskinetoplast (DK)-Zelllinie untersucht. Sofern die herausragende antitrypanosomale Wirksamkeit der 4-Chinolon-3-carboxamide auf der Interaktion mit der Kinetoplast-Segregation basiert, sollte für DK-Zellen ein deutlicher Aktivitätsverlust beobachtet werden. Gefunden wurde jedoch nur eine Verschlechterung um Faktor 10, was keiner Resistenz entsprach. Dieses Ergebnis widerlegte somit die Vermutung, dass die Interaktion der 4-Chinolon-Derivate mit der Kinetoplast-Replikation oder -Expression für den Zelltod verantwortlich war. Möglicherweise war die Interaktion im Segregationsprozess des Kinetoplasten nicht die für den Zelltod entscheidende Wechselwirkung, was im Umkehrschluss bedeuten würde, dass es für die 4-Chinolon-3-carboxamide weitere Zielstrukturen gibt.

3.2.2.3 Fluoreszenzfarbstoffmarkierung von Verbindung 33

Ein Verfahren zur Lokalisierung eines neuen Wirkstoffs im Zell-Assay ist die Fluoreszenzfarbstoffmarkierung. Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin sind für eine intrinsische Protein-Fluoreszenz im Bereich von 300 - 350 nm verantwortlich, weshalb Fluoreszenzfarbstoffe mit langwelligen Absorptions- und Emissionsmaxima notwendig sind. Auch Verbindung **33** besitzt ein Absorptionsmaximum von 280 nm und ein Emissionsmaximum von 420 nm (gemessen in ACN), welches sich mit der Protein-Fluoreszenz überlagern würde. Daher wurde, um weitere Zielstrukturen der Verbindung **33** identifizieren zu können, eine Synthesesequenz entwickelt, um das 4-Chinolon-3-carboxamid mit einem langwellig emittierenden Farbstoff zu markieren. Hierfür wurden drei separate Bausteine benötigt: Zum einen ein geeigneter Fluoreszenzfarbstoff. Durch E. Heller wurde die Synthese des Pyrylium-Farbstoffs Py1 (**62**)¹³¹ mittels Mikrowelleneinsatz optimiert, wodurch dieser leicht zugänglich war und für die Markierung in Betracht gezogen wurde.¹³² Abhängig vom Farbstoff wurde ein geeigneter Linker als zweiter Baustein designt. Der Benzylamid-Substituent wurde als geeigneter und synthetisch einfach zugänglicher Anknüpfungspunkt für den Farbstoff erachtet. Ausgegangen wurde von 4-Methoxybenzylamin, welches analog zu Chichak *et al.*¹³³ zunächst in siedender konz. HBr demethyliert und anschließend mit Di-*tert*-butyldicarbonat Boc-geschützt wurde. Verbindung **64** wurde mit *N*-(3-Brompropyl)-phthalimid alkyliert und die Boc-Schutzgruppe im Anschluß mit TFA abgespalten (**65**). Das erhaltene Benzylamin konnte nun mit dem 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivat **6g** (dritter Baustein, Kapitel 3.1.1), welches mittels der Gould-Jacobs-Synthese hergestellt wurde, via gemischtem Anhydrid gekoppelt werden. Voraussetzung für die abschließende Verknüpfung mit dem Pyrylium-Farbstoff war ein *prim.* Amin. Aus diesem Grund wurde zuvor am Benzyl-Rest die Phthalimid-Gruppe eingebaut, die im Folgenden durch eine Gabriel-Synthese (Hydrazinolyse) zum *prim.* Amin **67** abgebaut werden konnte. Die Kopplung mit Py1 (blauer Farbstoff) gelang unter Mikrowellenstrahlung und lieferte nach säulenchromatographischer Aufreinigung (neutrales ALOX, CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH Gradient: 10:20:1 → 10:10:1 → 10:5:1) den gewünschten roten Farbstoff **68** in einer Ausbeute von 34 % (**Schema 21**).



Schema 21: Synthesesequenz zur Herstellung der farbstoffmarkierten Verbindung **68**.

Für das markierte Molekül **68** wurden im Anschluß Absorptions- und Fluoreszenzmaxima bestimmt. Gelöst in ACN (10 µM) wurden zwei Absorptionsmaxima bei 282 nm (Chinolon) und 505 nm (Farbstoff) sowie Emissionsmaxima bei 429 nm (Chinolon) und 647 nm (Farbstoff) gefunden, womit das Ziel einer langwelligen Detektion der Verbindung erreicht wurde. Im Unterschied zum unmarkierten 4-Chinolon-3-carboxamid **33** wurde für Verbindung **68** eine deutlich geringere Fluoreszenzempfindlichkeit beobachtet. Während für Verbindung **33** bei einer

Konzentration von 1 μM eine Intensität von 231 gefunden wurde, zeigte das farbstoffmarkierte Derivat **68** bei gleicher Konzentration nur Intensitäten von 12 (429 nm) und 4 (647 nm) (**Abb. 30**).

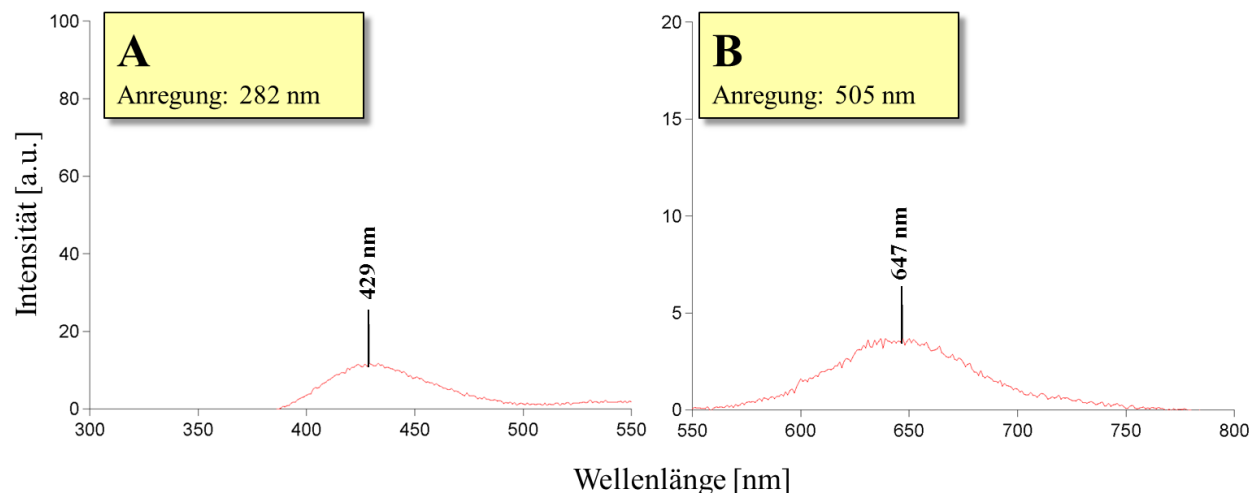


Abb. 30: Fluoreszenzspektren von Verbindung **68** bei den Anregungswellenlängen 282 nm (A) und 505 nm (B).

Diese deutlichen Intensitätseinbußen weisen auf eine durch die kovalente Verknüpfung der beiden Fluorophore hervorgerufene Fluoreszenzlöschung hin. Die geringe Intensität der Emission bei 429 nm könnte mit dem Förster-Theorem erklärt werden: Hierbei wird die Energie eines angeregten Fluorophors (Donor) auf ein zweites (Akzeptor) übertragen. Voraussetzung für diesen Mechanismus ist das Überlappen von Emissions- (Donor) und Absorptionsspektrum (Akzeptor) beider Fluorophore. Diese Situation wurde für **68** gefunden. Durch die Überlappung des Donor-Emissionsspektrums (Chinolon-Struktur, 429 nm) und des Akzeptor-Absorptionsspektrums (Farbstoff-Struktur, 505 nm) könnte die geringe Intensität dieses Fluoreszenzmaximums erklärt werden.¹³⁴ Die Ausbildung eines intramolekularen Heterodimers könnte für die Löschung des zweiten Fluoreszenzmaximums (647 nm) verantwortlich sein: Der flexible Linker könnte die Aggregation zwischen Chinolon und Farbstoff über intra- und intermolekulare π - π -Wechselwirkungen ermöglichen, was zur Bildung eines schwach oder nicht fluoreszierenden Komplexes führt. Die Fluoreszenzintensität ist somit abhängig vom Ausmaß dieser Komplexbildung. Im Unterschied zur intramolekularen Wechselwirkung ist die Fluoreszenzlöschung basierend auf intermolekulare Interaktion konzentrationsabhängig. Da Verbindung **68** im *In-vitro*-Assay bei Konzentrationen im niedrigen nanomolaren Bereich detektierbar war (siehe S. 98), konnte davon ausgegangen werden, dass die Fluoreszenzlöschung des Maximums bei 647 nm auf eine intermolekulare Komplexbildung zurückzuführen war.¹³⁴

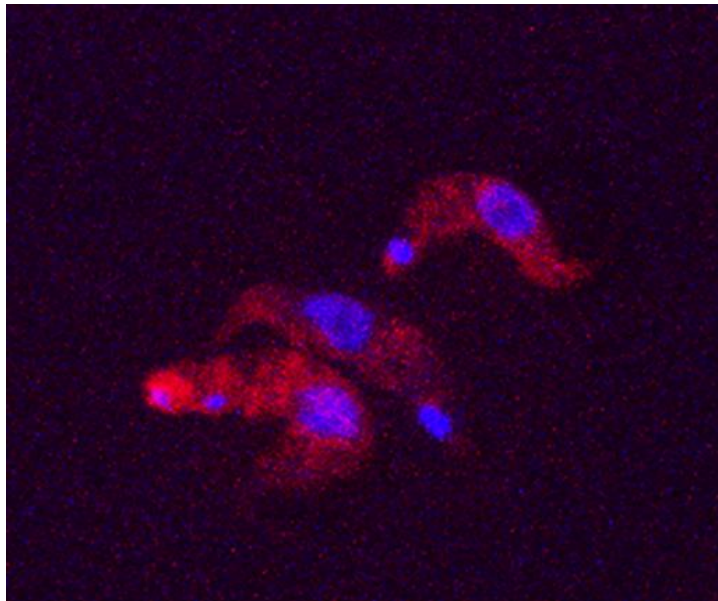


Abb. 31: Mit Verbindung **68** (rot) inkubierte BSF-*T. b. brucei*-Zellen. Der Zellkern und Kinetoplast sind in blau dargestellt (DAPI-Färbung).

Verbindung in einem Fluoreszenzmikroskopie-basierten Assay. BSF-Zellen wurden dabei mit Verbindung **68** für 36 h bei IC_{50} -Konzentrationen inkubiert. Anhand des Fluoreszenzmikroskopiebildes (**Abb. 31**) war zu erkennen, dass sich das farbstoffmarkierte Derivat **68** über das gesamte Cytosol verteilte, was entweder auf die Toxizität oder unspezifische Interaktionen zwischen Farbstoff und sämtlichen Zellbestandteilen zurückzuführen war. Das Vorhaben der Lokalisierung des farbstoffmarkierten 4-Chinolons in einzelnen Zellbestandteilen und damit die Identifizierung weiterer möglicher Targets konnte mittels dieses Ansatzes nicht realisiert werden.

3.2.3 Problematik der sehr geringen Wasserlöslichkeit

Die *In-vivo*-Untersuchung der Leitstruktur **33** sollte am Schweizer Tropeninstitut in Basel erfolgen. In einem standardisierten Verfahren werden Testsubstanzen an mit *T. b. rhodesiense* (STIB900) infizierten NMRI-Mäusen untersucht. Die für diese Testung verwendete Standard-Konzentration von 5 mg/ml in wässriger Lösung mit 10 % DMSO konnte für Verbindung **33** jedoch nicht hergestellt werden, da starke Präzipitate beobachtet wurden. Daraufhin wurde anhand einer Verdünnungsreihe in PBS-Puffer (pH = 7.4) die Löslichkeit für **33** im Wässrigen ermittelt. Da auch bei einer Konzentration von 10 μ M (10 % DMSO) noch Präzipitate beobachtet wurden, wurde die Verbindung als „sehr schwer in Wasser löslich“ eingestuft.

Zum einen wurde Verbindung **68** im Teilprojekt Z1 des SFB630 auf dessen antiprotozoische und zytotoxische Aktivität untersucht. Dabei zeigte diese eine zu Verbindung **33** ($IC_{50} = 0.047 \mu$ M) vergleichbare antitrypanosomale Wirksamkeit ($IC_{50} = 0.03 \mu$ M), die aber, im Gegensatz zu **33**, höchstwahrscheinlich mit der beobachteten hohen Zytotoxizität (IC_{50} (J774.1) = 1.7μ M) korrelierte. Zum anderen untersuchte N. Jones die farbstoffmarkierte

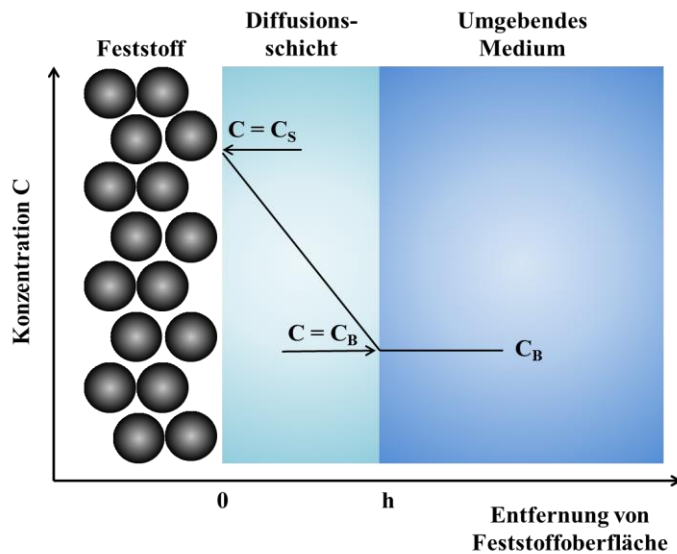


Abb. 32: Diffusionsmodell zur Beschreibung des Auflösungsprozesses von Feststoffen (adaptiert nach Wouters et al.¹³⁵).

aufgestellten Gleichung kinetisch beschrieben werden:¹³⁵

$$\frac{dW}{dt} = \frac{DS}{h}(C_S - C_B)$$

dW/dt ist hierbei die Auflösungsgeschwindigkeit (aufgelöste Masse pro Zeit), D der Diffusionskoeffizient der zu lösenden Substanz im jeweiligen Lösungsmittel, S die Kontaktfläche zwischen Lösungsmittel und Feststoff, h die Dicke der angenommenen Diffusionsschicht, C_S die Sättigungskonzentration des gelösten Stoffes im jeweiligen Lösungsmittel und C_B die Konzentration der gelösten Substanz im umgebenden Medium („*bulk solution*“) zum Zeitpunkt t . Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Auflösung ist die Diffusion der gelösten Moleküle aus der Grenzschicht in das umgebende Medium, welche durch einen Konzentrationsgradienten zwischen Sättigungskonzentration (C_S) und der mit der Zeit veränderlichen Konzentration (C_B) ermöglicht wird. Leicht lösliche Substanzen besitzen eine hohe Sättigungskonzentration, was zu einem großen Konzentrationsgefälle in der Diffusionsschicht führt und damit die Auflösung des Feststoffs beschleunigt (Sink-Bedingung). Demgegenüber ist die Sättigungskonzentration von schwerlöslichen Verbindungen sehr gering, was ein kleines Konzentrationsgefälle zur Folge hat. Die Konzentration des umgebenden Mediums C_B nähert sich dabei rasch C_S an, wodurch der Auflösungsprozess zum Erliegen kommt.¹³⁵

Der Auflösungsprozess eines Feststoffs kann mit dem Diffusionsmodell beschrieben werden (Abb. 32). Bei Kontakt mit einem Lösungsmittel bildet sich um den Feststoff (Wirkstoff) eine dünne Diffusionsschicht aus, in der der gelöste Stoff in seiner Sättigungskonzentration (C_S) vorliegt. Aus dieser Schicht diffundieren die gelösten Moleküle schließlich in das umgebende Medium. Dieser Prozess kann mit der von Noyes und Whitney

Das Abschätzen der Löslichkeit einer Verbindung wird durch die Formel von Jain und Yalkowsky unter Einbeziehung des logP-Werts und des Schmelzpunkts (Schmp.) ermöglicht:¹³⁶

$$\log S_w = -0.01(\text{Schmp.} - 25 \text{ } ^\circ\text{C}) - \log P + 0.5$$

S_w ist dabei die Löslichkeit in mol/l.

Laut dieser Gleichung ergibt sich für Verbindung **33** bei einem Schmelzpunkt von 164 °C und einem logP-Wert von 3.8 eine Löslichkeit von ca. 22 µM im wässrigen Medium. Dies korrelierte jedoch nicht mit den beobachteten Ergebnissen aus der Verdünnungsreihe (< 10 µM mit 10 % DMSO). Ein möglicher Erklärungsansatz für diese Abweichung könnte die kristalline Modifikation und die damit verbundene hohe Gitterenergie von Verbindung **33** sein. Thermodynamisch betrachtet setzt sich die freie Energie des Lösungsprozesses von Kristallen aus drei energetischen Beiträgen zusammen: Um ein Molekül aus einer kristallinen Struktur zu lösen, muss zum einen die Gitterenergie, sprich die intermolekularen Wechselwirkungen im Festkörper, überwunden werden, zum anderen aber auch die Lösungsmittelstruktur aufgebrochen werden, um Platz für das gelöste Molekül zu schaffen (Kavitationsenergie). Sobald ein gelöstes Molekül vom Lösungsmittel umgeben ist, werden neue stabilisierende Wechselwirkungen ausgebildet (Solvatationsenergie).¹³⁷ Starke intermolekulare Wechselwirkungen resultieren daher in hohen Kristallkräften, die sich nachteilig auf die Thermodynamik des Auflösungsprozess auswirken.¹³⁵

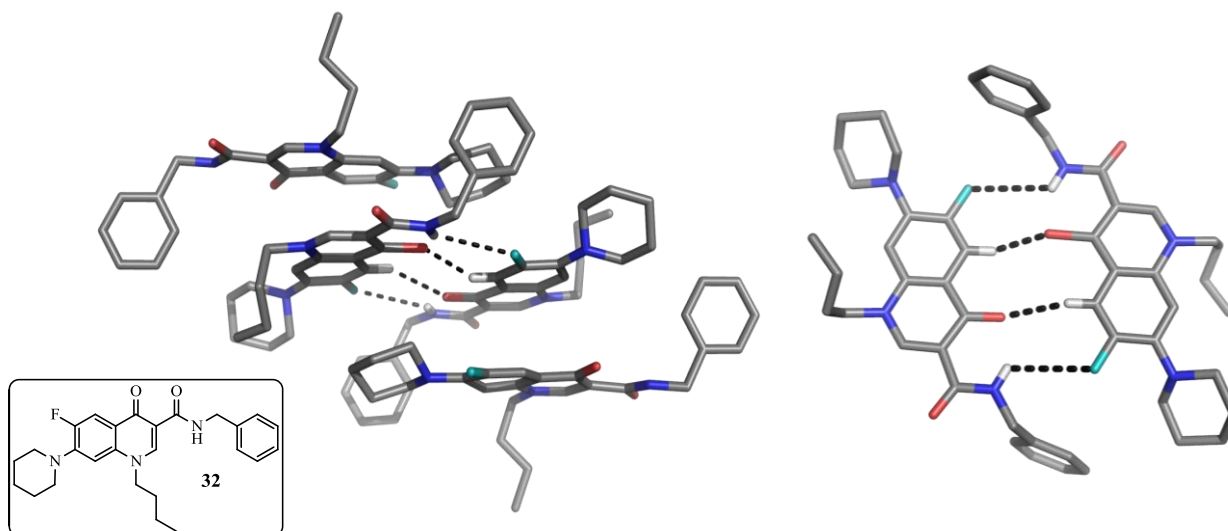


Abb. 33: Elementarzelle der Verbindung **32** (links) und Wasserstoffbrückenbindungen zweier Chinolone (rechts), welche die Tetramer-Bildung ermöglichen (Reprinted with permission from Hiltensperger et al.¹²⁹ Copyright 2012 American Chemical Society).

In diesem Zusammenhang konnte in Zusammenarbeit mit K. Radacki (AK Braunschweig, Institut für anorganische Chemie) mittels Röntgenstrukturanalyse die Festkörperstruktur von Verbindung **32** gelöst werden. Aufgrund des geringen strukturellen Unterschieds zwischen **32** und der Leitstruktur **33** wurde für letztere eine vergleichbare Kristallstruktur angenommen:

Jedes Molekül ist Teil eines Tetramers (**Abb. 33**). Je zwei Moleküle bilden durch π - π -Wechselwirkung des aromatischen Chinolon-Gerüsts ein Dimer mit einem Abstand von 3.6 Å. Eine ähnliche Dimerbildung wurde von Mafra *et al.*¹³⁸ bereits für Ciprofloxacin beobachtet (Abstand 3.3 Å). Im Unterschied zu Ciprofloxacin sind die Moleküle von Verbindung **32** jedoch um 90° gegeneinander gedreht. Diese Torsion ermöglicht die Aggregation zweier Dimere zum einen über schwache Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Proton in Pos. 5 und der Carbonyl-Gruppe in Pos. 4 (Abstand: 2.2 - 2.6 Å), zum anderen über die Wechselwirkungen zwischen Amid-Proton in Pos. 3 und dem Fluor-Substituenten in Pos. 6 (Abstand: 3.1 Å). Diese Wasserstoffbrückenbindungen ermöglichen auch die Wechselwirkung der Tetramere untereinander, wodurch ein hochgeordnetes kristallines Netzwerk entsteht, welches auf hohe Gitterkräfte hinweist und daher als möglicher Erklärungsansatz für die sehr geringe Wasserlöslichkeit von **33** angesehen werden kann.

3.3 Ansätze zur Verbesserung der Löslichkeit in Wasser

Permeabilität	hoch	I	II
	niedrig	III	IV
		hoch	niedrig
		Wasserlöslichkeit	

Abb. 34: Einteilung des biopharmazeutischen Klassifizierungssystems (BCS).

Wasserlöslichkeit und Zellmembran-Permeabilität einer Substanz sind die Voraussetzungen sämtlicher Prozesse der oralen Bioverfügbarkeit. Auf der Grundlage dieser beiden Parameter werden Wirkstoffe nach dem biopharmazeutischen Klassifizierungssystem (BCS) eingeteilt, um eine Prognose darüber zu erhalten, ob die orale Resorption einer Verbindung eher durch physikalische Eigenschaften der Substanz oder eher durch die physiologischen Gegebenheiten bestimmt ist (**Abb. 34**).¹³⁹

Die Wasserlöslichkeit ist ein gegenwärtiges Problem der Wirkstoffentwicklung. Mehr als 40 % der seit 1995 zugelassenen Wirkstoffe können in die Klassen II und IV eingeteilt werden.¹⁴⁰ Um die *In-vivo*-Wirksamkeit dieser hydrophoben Moleküle zu gewährleisten, wurden

unterschiedliche Ansätze zur Verbesserung der Löslichkeit entwickelt, die sich im Wesentlichen in drei Kategorien gliedern lassen:¹⁴¹

1. *Lösungsmittel-Modifikation*: Hierzu zählen u. a. die Verwendung lipidhaltiger organischer Vehikel sowie die Entwicklung emulgierender Systeme.
2. *Physikalische Modifikation*: Dies umfasst u. a. die Umwandlung eines kristallinen Wirkstoffs in eine amorphe oder metastabile Kristallform.
3. *Modifikation der chemischen Struktur*: a) Durch chemische Synthese werden polare Substituenten eingeführt, um die Lipophilie zu verringern oder den Wirkstoff als Salz/Co-Kristall darzustellen. b) Einführung von voluminösen Strukturelementen, um die Bildung von hochgeordneten kristallinen Strukturen zu stören.

Durch die in Vorversuchen ermittelte Wasserlöslichkeit von $< 10 \mu\text{M}$ (10 % DMSO) konnte Verbindung **33** den Klassen II oder IV zugeordnet werden. Löslichkeitsbedingt konnten keine Permeabilitätsdaten mittels eines Caco-2-Assays erhoben werden, weshalb eine genauere Einteilung der Leitstruktur nach dem BCS nicht möglich war. Allerdings legt ein logP-Wert von 3.76 und eine PSA von 61.9 \AA^2 die Vermutung einer moderaten bis hohen Permeabilität nahe, wonach Verbindung **33** eher der Klasse II zuzuordnen ist. Die Bioverfügbarkeit von Wirkstoffen dieser Klasse wird maßgeblich durch die Wasserlöslichkeit bestimmt. Somit galt ein verstärktes Interesse der Verbesserung der Löslichkeit von Verbindung **33**. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden zum einen Ansätze aus den Kategorien 1 und 2 (pharmazeutisch-technische Ansätze) angewandt, zum anderen mittels chemischer Synthese die Leitstruktur **33** modifiziert (Kategorie 3).

3.3.1 Pharmazeutisch-technische Ansätze

3.3.1.1 Selbstemulgierende Systeme (SEDDS)

Formulierungen auf Lipidbasis bestehen im Allgemeinen aus einem lipophilen Wirkstoff, gelöst in einem oder mehreren Hilfsstoffen (u. a. Glyceride, Öle, Tenside, Kosolventien). Diese oralen Darreichungsformen ermöglichen es, einen lipophilen Wirkstoff während der Passage des Gastrointestinaltrakts im gelösten Zustand zu halten und dessen Resorption somit entscheidend zu beeinflussen. Die für die orale Applikation verwendeten Formulierungsansätze werden aufgrund ihrer Zusammensetzung in verschiedene Gruppen eingeteilt:¹⁴²

1. *Typ I:* Der Wirkstoff wird in Pflanzenölen (z. B. Maisöl) gelöst. Nach oraler Gabe reichert sich der Wirkstoff durch die Fettverdauung in den resultierenden, u. a. aus Gallensalz-Lezithin bestehenden mizellaren Dispersionen an (Reservoirbildung) und kann über das Darmepithel aufgenommen werden. Allerdings ist die Lösungskapazität dieser Öle meist gering, weshalb diese Formulierung nur für hoch potente und lipophile ($\log P > 4$) Wirkstoffe in Betracht kommt.
2. *Typ II:* Diese Formulierungen sind aus verschiedenen Anteilen einer Lipidkomponente (z. B. Glyceride) und lipophilen Tensiden ($HLB < 12$, „*hydrophilic-lipophilic-balance*“) zusammengesetzt. Durch die Zugabe letzterer wird zum einen die Lösungskapazität für schlecht wasserlösliche Wirkstoffe im Vergleich zu Typ I erhöht, zum anderen aber auch die Emulgierbarkeit gefördert.
3. *Typ III:* Die Formulierung basiert auf einer Lipidkomponente (z. B. Glyceride), welcher verschiedene Anteile an hydrophilen Tensiden ($HLB > 11$) und/oder hydrophilen Co-Solventien (z. B. EtOH) zugesetzt werden. Die Zugabe letzterer verbessert neben der Lösungskapazität auch die Selbstemulgierbarkeit.

Durch die orale Applikation von lipidbasierten Formulierungen werden im Gastrointestinaltrakt Emulsionen vom Typ Öl-in-Wasser (O/W) ausgebildet. Prinzipiell sind Emulsionen thermodynamisch instabil und neigen aufgrund der hohen Grenzflächenspannung zwischen den Phasen zur Koaleszenz der dispersen Phasen (innere Phase). Tenside, die im Allgemeinen aus einem hydrophilen und einem lipophilen Molekülteil bestehen, lagern sich an der Grenzschicht zwischen den Phasen an, wodurch die Grenzflächenspannung gesenkt und die Emulsion stabilisiert wird. Formulierungen, die unter sehr geringer Energiezufuhr im umgebenden Medium (z. B. Wasser) emulgieren, werden als selbstemulgierende Systeme (SEDDS, „*self-emulsifying drug delivery systems*“) bezeichnet und stellen eine physikalisch stabile Darreichungsform dar. Die Bioverfügbarkeit schwer löslicher Wirkstoffe kann durch ihre langsame Auflösungs geschwindigkeit begrenzt sein. Selbstemulgierende Systeme ermöglichen es, einen lipophilen Wirkstoff nach oraler Gabe im gastrointestinalen Medium in gelöstem Zustand zu halten und somit den limitierenden Faktor der Auflösungs geschwindigkeit zu überwinden.¹⁴³

Aus diesem Grunde sollte für die schwer wasserlösliche Leitstruktur **33** in Zusammenarbeit mit Prof. Meinel (Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie) ein SEDDS mit hoher

Lösungskapazität (Typ III) entwickelt werden, das den Wirkstoff in möglichst hohen Konzentrationen in gelöstem Zustand am Absorptionsort nach oraler Gabe bereitstellt.

3.3.1.1.1 Entwicklung eines geeigneten SEDDS

Zunächst musste eine geeignete Lipidkomponente gefunden werden. Hierfür wurden insgesamt neun unterschiedliche Hilfsstoffe getestet, in welchen Verbindung **33** in jeweils zwei Konzentrationen (10 mg/ml und 5 mg/ml) suspendiert wurde. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 17 d bei Raumtemperatur gemischt und das Löslichkeitsverhalten von **33** beobachtet.

In Maisöl, Miglyol[®]812 (Glycerolmonocaprylocaprat), 1,2-Propylenglycol, Labrafil[®]M2125CS (Macrogolglycerollinoleat) und Etocas[™]35 (Macrogolglycerolricinoleat) war Verbindung **33** in beiden Konzentrationen über den gesamten Zeitraum unlöslich. Ab Tag 2 konnte mit PEG400 ein Auflösungsprozess beobachtet werden. Nach 17 d war die 5 mg/ml Konzentration in PEG400 vollständig gelöst, während im 10 mg/ml Ansatz noch zahlreiche Kristalle vorhanden waren. Ähnlich verhielt sich **33** in Crovol[™]A70 (Polyoxyethylen). Hier waren allerdings nach 17 d in beiden Konzentrationen noch Kristalle zu finden. Mit Capmul[®]MCM C8 EP (Glycerolmonocaprylat) war nach einem Tag eine Auflösung zu erkennen. Nach 3 d bzw. 6 d waren der 5 mg/ml und 10 mg/ml Ansatz vollständig gelöst. Bis Versuchsende wurde in beiden Ansätzen keine erneute Präzipitation von Verbindung **33** beobachtet. Die schnellste Auflösung wurde in Triethylcitrat erzielt. Bereits 30 min nach der Probenzubereitung war die 5 mg/ml Konzentration und nach 2 d schließlich auch der 10 mg/ml Ansatz vollständig gelöst. Analog zu Capmul[®]MCM C8 EP wurde für beide Konzentrationen keine erneute Präzipitation beobachtet. Somit konnten mit Capmul[®]MCM C8 EP und Triethylcitrat zwei lipidhaltige Komponenten gefunden werden, in welchen Verbindung **33** in Konzentrationen von mindestens 10 mg/ml löslich war.

Zur Entwicklung eines SEDDS wurden als weitere Komponenten Cremophor[®]RH40 (Macrogolglycerolhydroxystearat, nicht-ionischer Emulgator) und EtOH (Co-Solvens) ausgewählt. Zusammen mit der ermittelten Lipidgrundlage wurden insgesamt vier selbstemulgierende Formulierungen (SEDDS 1 - 4) verwendet (**Tab. 29**).¹⁴⁴

Tab. 29: Zusammensetzungen der selbstemulgierenden Systeme SEDDS 1 - 4.

Hilfsstoffe	SEDDS 1 [%]	SEDDS 2 [%]	SEDDS 3 [%]	SEDDS 4 [%]	Um die Löslichkeit des Wirkstoffs in den oben genannten Formulierungen zu untersuchen, wurde Verbindung 33 pro
Capmul® MCM C8 EP	31.5	35	35	45	
Triethylcitrat	43.5	35	25	10	
Cremophor® RH40	12.5	20	30	35	
EtOH	12.5	10	10	10	

SEDDS in drei Konzentrationen (5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml) suspendiert und die Auflösung über einen Zeitraum von 8 d beobachtet. Die Ansätze wurden dazu mittels einer Schüttelplatte bei RT gemischt:

Da SEDDS 1 mit dem größten Anteil an Triethylcitrat die höchste Lösungskapazität besaß, waren alle angesetzten Konzentrationen von Verbindung **33** nach 5 d bei RT gelöst. In SEDDS 2 war **33** bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml bei RT löslich. Für SEDDS 3 und 4 konnte nach 8 d nur noch eine Löslichkeit bis zu einer Konzentration von 5 mg/ml festgestellt werden. Die nicht vollständig gelösten 10 mg/ml Ansätze wurden daraufhin für 2.5 h bei 37 °C im Wasserbad erwärmt, wodurch auch diese Konzentrationen in SEDDS 3 und 4 gelöst werden konnten.

Im Hinblick auf mögliche *In-vivo*-Studien wurde die Verdünnung der Formulierungen im Magen-Darm-Trakt nach oraler Gabe (1:10-Verdünnung mit dem. Wasser) simuliert und dabei die Emulgierbarkeit der Formulierungen untersucht. Da am Schweizer Tropeninstitut standardmäßig eine Konzentration von 5 mg/ml Einsatz findet, wurden alle 10 mg/ml Konzentrationen vorweg mit gleichen Anteilen dem. Wasser versetzt (1:1) und anschließend 1:10 verdünnt, während alle 5 mg/ml Konzentrationen direkt 1:10 gemischt wurden. Nach erfolgter Verdünnung wurden alle Proben für 60 sek. gemischt und die resultierenden Emulsionen für 48 h bei RT gelagert.

In SEDDS 1 erfolgte die Phasentrennung für beide Konzentrationen (nach Verdünnen mit dem. Wasser) bereits nach 5 h, weshalb dieses System als Darreichungsform für Verbindung **33** nicht verwendet wurde. Im Unterschied dazu waren die Emulsionen der übrigen Formulierungen (SEDDS 2 - 4) über einen Zeitraum von 48 h stabil. Desweiteren konnten in sämtlichen Verdünnungen über diesen Zeitraum keine Präzipitate von **33** gefunden werden, womit auch die Löslichkeit des Wirkstoffs in wässrigem Medium gewährleistet wurde. Dies konnte mittels dynamischer Lichtstreuung (DLS) bestätigt werden. S. Puhl (AK Prof. Meinel, Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie) fand eine Partikelgrößenverteilung der 1:10-Verdünnungen von

ca. 300 - 700 nm, was aufgrund der Größe vermutlich auf Emulsionströpfchen hinwies und nicht auf Präzipitate des Wirkstoffs (**Abb. 35**).

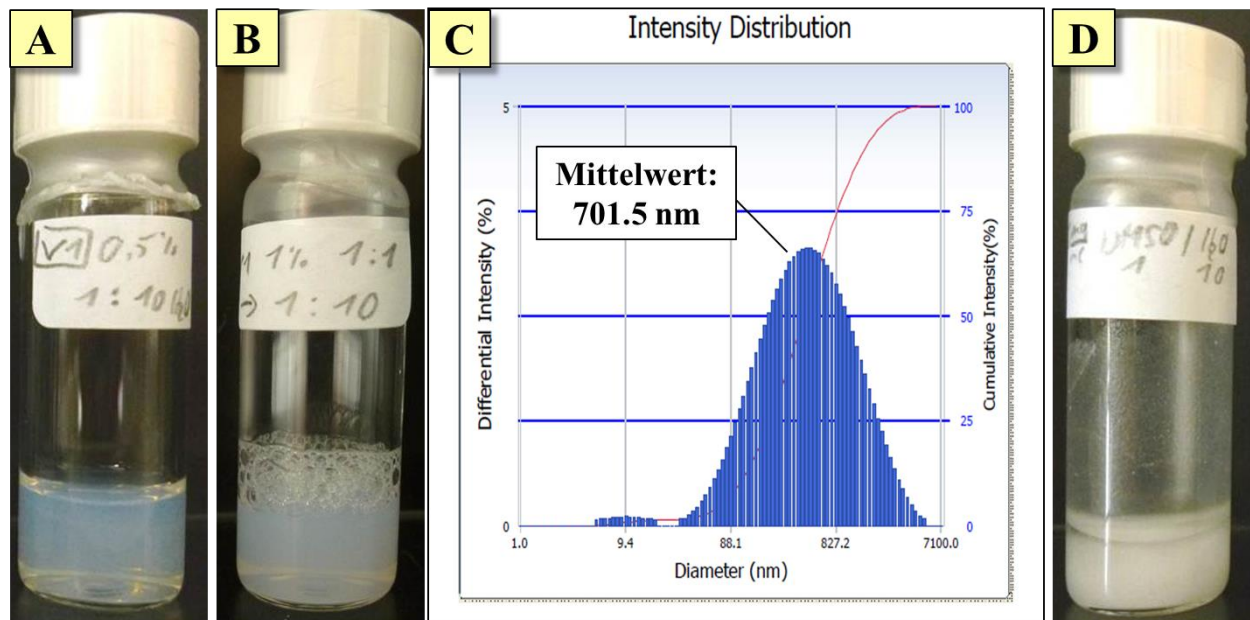


Abb. 35: Emulsionsbildung am Beispiel von SEDDS 4 für 5 mg/ml (A) und 10 mg/ml (B) Konzentrationen nach 1 : 10 Verdünnung sowie Bestimmung der Partikelgrößen des 5 mg/ml Ansatzes mittels DLS (C). Im Vergleich dazu präzipitiert **33** deutlich in wässrigem Medium (10 % DMSO) ohne SEDDS (D).

Für die folgende *In-vivo*-Untersuchung am Schweizer Tropeninstitut wurde schließlich SEDDS 4 als Darreichungsform von Verbindung **33** ausgewählt. Aufgrund des geringsten Triethylcitrat-Anteils wurde hier eine ausreichende Freisetzung des Wirkstoffs aus der Lipidphase und eine damit korrelierende schnelle Resorption angenommen.

3.3.1.1.2 *In-vivo*-Untersuchung von **33** mittels entwickeltem SEDDS

Die *In-vivo*-Untersuchung von Verbindung **33** am Schweizer Tropeninstitut erfolgte an mit BSF-*T. b. rhodesiense* (STIB900)-infizierten weiblichen NMRI-Mäusen. Eine 10 mg/ml Konzentration des Wirkstoffs in SEDDS 4 wurde zunächst 1:1 mit Wasser verdünnt und anschließend peroral appliziert. Insgesamt wurde eine Testgruppe von vier Mäusen über einen Zeitraum von 4 d mit einer täglichen Dosis von 50 mg/kg der zuvor hergestellten 1:1-Mischung behandelt. Nach 4 d konnte keine Verbesserung der Parasitämie der Testgruppe gegenüber der Kontrollgruppe (4 unbehandelte Mäuse) beobachtet werden.

Zusätzlich wurde die parenterale Verwendung von SEDDS 4 untersucht. Dazu wurde das Vehikel ohne Wirkstoff und ohne vorheriges Verdünnen einem einzelnen Tier intraperitoneal verabreicht.

Binnen weniger Minuten zeigte das Tier starke Vergiftungsanzeichen und verstarb, weshalb diese Formulierung nicht für die parenterale Applikation in Frage kam.

Ob fehlende *In-vivo*-Wirksamkeit der Leitstruktur **33** oder unzureichende Wirkstofffreisetzung aus der entwickelten Formulierung für dieses negative Ergebnis verantwortlich waren, konnte wegen nicht vorhandener Pharmakokinetik-Daten nicht geklärt werden.

Mit EtOH als Co-Solvens und 45 % Capmul®MCM C8 EP war davon auszugehen, dass das SEDDS eine hohe Lösungskapazität für Verbindung **33** besaß, was möglicherweise zu einer ungenügenden Freisetzung des Wirkstoffs aus den Emulsionströpfchen führen könnte. Zudem werden Formulierungen unter *In-vivo*-Bedingungen modifiziert. So könnte die Verdauung der Lipidphase zu signifikanten Änderungen der Lösungskapazität führen, weshalb auch die Präzipitation des Wirkstoffs unter diesen Bedingungen in Betracht gezogen werden muss. Außerdem lagen keine Permeabilitätsdaten zu **33** vor, weshalb die Absorptionsfähigkeit des Wirkstoffs experimentell noch nicht bewiesen war. Die Verbindung wurde lediglich aufgrund ihrer physiko-chemischen Parameter in Klasse II des BCS eingestuft.

3.3.1.2 Amorphe sprühgetrocknete Dispersion (ASDD)

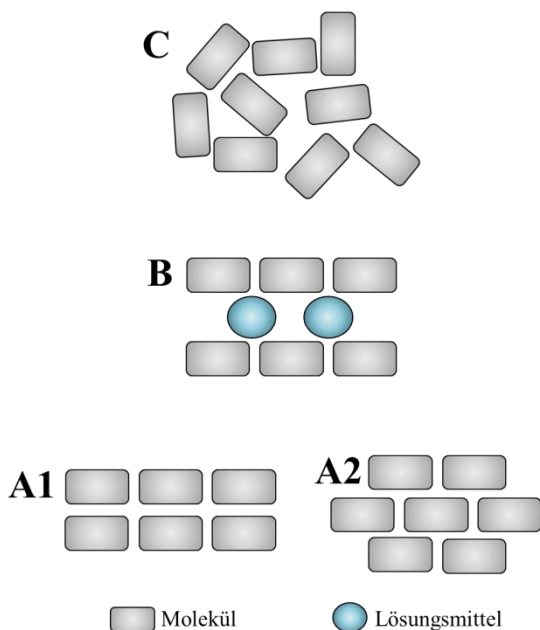


Abb. 36: Mögliche Erscheinungsformen eines Feststoffs: Polymorphe Struktur (A1, A2), Hydrate/Solvate (B) und amorphe Modifikation (C).

Die Wasserlöslichkeit eines Wirkstoffs ist im Wesentlichen eine Funktion seiner Lipophilie und der Gitterenergie (intermolekulare Wechselwirkung) der jeweiligen Modifikation. Nur die Modifikation mit der geringsten freien Enthalpie ist thermodynamisch stabil, jedoch oft durch den höchsten Schmelzpunkt und häufig durch die geringste Löslichkeit charakterisiert. Daher wurden Festkörper-Techniken entwickelt, um die Struktur einer Substanz physikalisch zu verändern, sprich die Gitterenergie zu senken und somit in eine

höherenergetische, thermodynamisch instabilere, aber auch besser wasserlösliche Modifikation

umzuwandeln. Mittels dieser Methoden können Wirkstoffe in unterschiedlichen kristallinen Strukturen (Polymorphe), als Hydrate/Solvate (Pseudomorphe) sowie amorpher Form hergestellt werden. Im Vergleich aller Modifikationen besitzt letztere die höchste freie Energie, was mit der geringsten Stabilität aber auch der höchsten Wasserlöslichkeit einer Substanz korrelieren kann (**Abb. 36**). Dieser Zusammenhang konnte in vielen Fällen experimentell bestätigt werden, weshalb sich das Konzept der physikalischen Strukturmodifikation im Bereich der Wirkstoffentwicklung etabliert hat.¹⁴⁵ Dementsprechend stehen u. a. mit der Gefrier- und Sprühtrocknung unterschiedliche Methoden zur Herstellung amorpher Modifikationen zur Verfügung.¹⁴⁵

Das Prinzip der amorphen sprühgetrockneten Dispersion („*amorphous spray-dried dispersion*“, ASDD) wurde auch für Verbindung **33** verwendet. Da die Verbindung in einer stabilen kristallinen Modifikation vorlag (**Abb. 33**), sollte durch Sprühtrocknung eine energiereiche, amorphe Erscheinungsform des Wirkstoffs gewonnen werden. Um diese thermodynamisch instabile Form über einen therapeutischen Zeitraum aufrecht zu erhalten, wurden polymere Träger eingesetzt, die neben der Stabilisierung der amorphen Struktur auch die Löslichkeit und/oder Übersättigung sowie die Freisetzung des Wirkstoffs beeinflussen können.¹⁴⁵ In dieser Arbeit wurden zum einen das neutrale Polyvinylpyrrolidon (PVP, Kollidon[®]30), zum anderen, ein auf Methacrylsäure und Methacrylsäureethylester basierendes anionisches Copolymer (Eudragit[®]L100), eingesetzt, welche sich durch unterschiedliches Löslichkeitsverhalten auszeichnen: Während PVP eine pH-unabhängige Wasserlöslichkeit besitzt, ist Eudragit[®]L100, bedingt durch die Carbonsäure-Gruppen, erst ab einem pH-Wert > 5 in Wasser löslich.¹⁴⁶

3.3.1.2.1 Herstellung von ASDDs

Mittels Sprühtrocknung lassen sich Lösungen, Emulsionen und Suspensionen in gepulverter Form herstellen. Dazu wird das zu trocknende Gut (z. B. Wirkstoff und Polymer gelöst in einem flüchtigen Lösungsmittel) mittels einer Düse in Form kleinster Tröpfchen in die Trockenkammer eingebracht. Ein mit oder entgegen der Sprührichtung (von oben nach unten) verlaufender Heißluftstrom bewirkt die schnelle Verdampfung des Lösungsmittels und somit das Trocknen des Guts, welches sich an einem elektrostatischen Partikelsammler abscheidet.¹⁴⁵

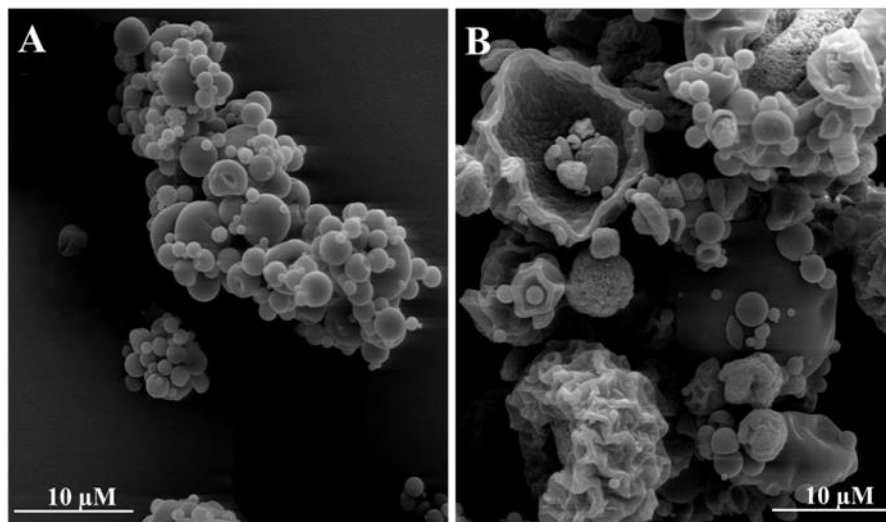


Abb. 37: SEM-Aufnahmen von ASDD_{PVP} (A) und ASDD_{Eudragit} (B).

Lösung schließlich vernebelt. Die wirkstoffbeladenen Partikel wurden in Ausbeuten von 87 % (w/w, ASDD_{PVP}) und 92 % (w/w, ASDD_{Eudragit}) erhalten. Mittels eines Rasterelektronenmikroskops („scanning electron microscopy“, SEM) wurde die Größe der PVP-Partikel (ASDD_{PVP}) auf < 10 μm bestimmt. Für die Eudragit[®]L100-Partikel (ASDD_{Eudragit}) hingegen wurde eine diffusere Größenverteilung gefunden. Die SEM-Aufnahmen beider Partikel zeigten jedoch keine kristallinen Strukturen, was auf eine amorphe Modifikation hinwies (Abb. 37).

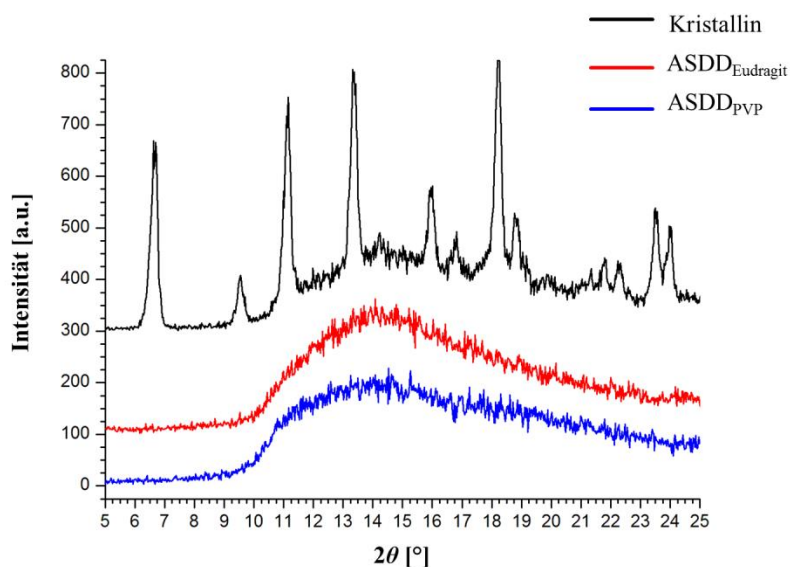


Abb. 38: Diffraktogramm von Verbindung 33 in kristalliner (schwarz) und amorpher Form (ASDD_{Eudragit} rot; ASDD_{PVP}, blau).

Die sprühgetrockneten Partikel sollten eine Wirkstoffbeladung von 10 % (w/w) enthalten. Daher wurden 200 mg PVP bzw. Eudragit[®]L100 sowie 20 mg 33 in einem Falkontube eingewogen, mit 10 ml *i*PrOH oder MeOH im Ultraschallbad gelöst und die klare

Die gängigste Methode zum Nachweis kristalliner Strukturen ist die Pulverdiffraktometrie („X-ray powder diffraction“, XRPD). Trifft die verwendete monochromatische Cu-K α -Strahlung aus dem sog. Bragg-Winkel θ auf einen Kristall, wird die Röntgenstrahlung gebeugt

und kann als Reflex im Diffraktogramm (Strahlungsintensität aufgetragen gegen Winkel 2θ aus Strahlungsquelle, Probe und Detektor) erkannt werden. Im Umkehrschluß werden amorphe Strukturen durch das Fehlen von Reflexen im Diffraktogramm identifiziert.

Das Diffraktogramm von **33** zeigte deutlich zu erkennende Reflexe und bestätigte die Kristallinität der Verbindung (schwarz). Hingegen wurden weder für ASDD_{Eudragit} (rot) noch für ASDD_{PVP} (blau) Reflexe gefunden, was die amorphe Modifikation von **33** in den sprühgetrockneten Partikeln bestätigte (**Abb. 38**).

3.3.1.2.2 Untersuchung der Wirkstofffreisetzung

Mittels HPLC (RP-C12-Säule) wurde ein zeitliches Auflösungsprofil von Verbindung **33** aus den sprühgetrockneten Partikeln (ASDD_{PVP} und ASDD_{Eudragit}) sowie aus der kristallinen Modifikation mit und ohne Zugabe von PVP in PBS-Puffer (pH = 7.4) erstellt.

Die Quantifizierung erfolgt mittels einer Kalibriergeraden, welche zunächst mit Standardlösungen von Verbindung **33** (50 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml, 0.1 µg/ml) und linearer Regression erstellt wurde.

Untersucht wurde nun die Auflösung von **33** aus den sprühgetrockneten Partikeln (10 % Wirkstoff und 90 % Polymer, w/w), der kristallinen Modifikation und der kristallinen Modifikation bei Zugabe von PVP (10 % Wirkstoff und 90 % PVP, w/w). Mit einer maximalen Wirkstoffkonzentration von 250 µg/ml wurden die Feststoffe in wässrigen PBS-Puffer (pH = 7.4) suspendiert und bei 37 °C gemischt. Für die Gehaltsbestimmung wurden zu bestimmten Zeitpunkten (t = 0.5, 2, 5, 10, 30, 60, 120, 240, 1320 min) Proben von 100 µl entnommen und mittels HPLC analysiert. Anhand der Kalibriergerade konnten für jeden Zeitpunkt die absolute Konzentrationen von Verbindung **33** in wässrigem Medium erhalten werden (Kapitel 6.6.3), welche in **Abb. 39** graphisch aufgetragen sind.

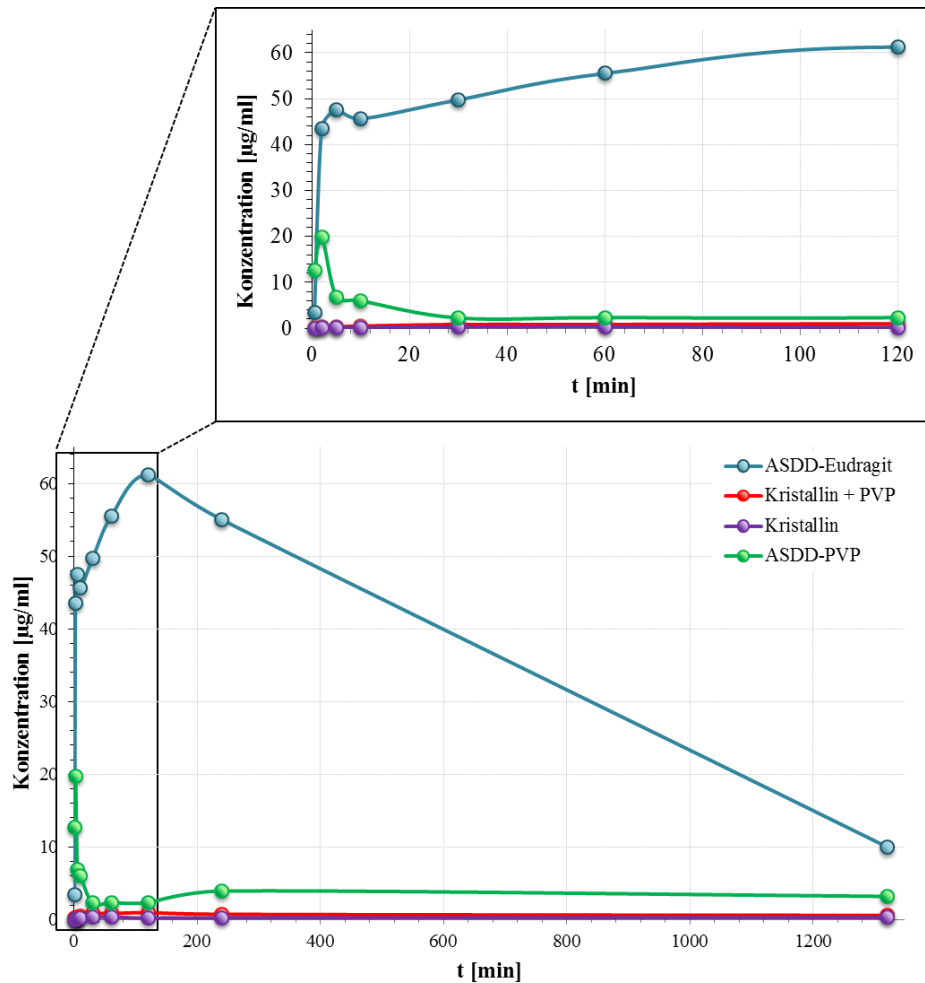


Abb. 39: Graphische Darstellung der Auflösungsprofile von Wirkstoff_{krist.} (lila), Wirkstoff_{krist.} + PVP (rot), ASDD_{PVP} (grün) und ASDD_{Eudragit} (blau).

Die kristalline Modifikation (Wirkstoff_{krist.}, lila) erreichte nach 30 min eine maximale Wirkstoffkonzentration von ca. $0.30 \mu\text{g/ml}$, welche über den Zeitraum der Untersuchung annähernd konstant blieb. Durch die Zugabe von PVP (Wirkstoff_{krist.} + PVP, rot) verbesserte sich die Löslichkeit von **33** nur geringfügig. Nach 120 min wurde eine maximale Konzentration von ca. $1 \mu\text{g/ml}$ erreicht, welche in der Folge wieder langsam auf ca. $0.60 \mu\text{g/ml}$ absank (**Abb. 39**). Die sprühtrockneten Dispersionen führten zur Übersättigung und somit zu signifikanten Löslichkeitsverbesserungen: ASDD_{PVP} (grün) erzielte nach 2 min eine Wirkstoffkonzentration von ca. $20 \mu\text{g/ml}$, welche nach 5 min bereits wieder auf ca. $5 \mu\text{g/ml}$ abgesunken war und sich in der Folge bei ca. $3 \mu\text{g/ml}$ einpendelte. Diese Übersättigung führte zu einer ca. 70-fachen Löslichkeitsverbesserung verglichen mit der kristallinen Form, allerdings war die Dauer (ca. 5 min) für einen therapeutischen Nutzen nicht ausreichend. Verbindung **33** versprüht in Eudragit[®]L100 (ASDD_{Eudragit}, blau) zeigte ebenfalls einen raschen Konzentrationsanstieg. Nach

2 min wurde eine Wirkstoffkonzentration von ca. 40 µg/ml bestimmt, welche in einem Zeitraum von 120 min auf ein Maximum von ca. 60 µg/ml anstieg. Im Anschluß fiel die Konzentration wieder auf ca. 10 µg/ml ab (1320 min). In Summe erzielten die ASDD_{Eudragit}-Partikel eine Übersättigung, welche eine Wirkstoffkonzentration von 40 - 60 µg/ml über einen Zeitraum von 2 h in gelöster Form bereitstellte. Gegenüber der kristallinen Modifikation entsprach das einer zeitabhängigen Löslichkeitsverbesserung um den Faktor 200 (**Abb. 39**). Die Dauer der Übersättigung wurde dabei maßgeblich durch die Art des Polymers beeinflusst: Während das neutrale PVP nur zu einer kurzen Übersättigung führte, wurde durch das anionische Eudragit[®]L100 eine Übersättigungsdauer von ca. 2 h erzielt, was womöglich auf eine deutlich bessere Interaktion zwischen Wirkstoff und Polymer zurückzuführen ist.

Dieses Ergebnis bestätigte die zuvor aufgestellte Hypothese (Kapitel 3.2.3): Die intermolekularen Wechselwirkungen, welche zur Ausbildung kristalliner Schichtgitter mit hohen Kristallkräften führen, sind hauptverantwortlich für die geringe Löslichkeit von Verbindung **33**. Durch die Herstellung in energiereicher amorpher Form (ASDD_{Eudragit}) konnte eine langanhaltende Übersättigung mit einer deutlichen Löslichkeitsverbesserung (bis Faktor 200) erzielt werden, weshalb diese Darreichungsform von Verbindung **33** für eine erneute *In-vivo*-Untersuchung im Mausmodell ausgewählt wurde.

3.3.1.2.3 *In-vivo*-Testung von ASDD_{Eudragit}

Durch die Modifizierung des PBS-Freisetzungsmediums (pH = 7.4) mit 5 % Glucose (w/v) und 1 % Tween80 (w/v) konnte die Löslichkeit von Verbindung **33** in Form sprühgetrockneter Eudragit[®]L100-Partikel (ASDD_{Eudragit}) auf 400 µg/ml erhöht werden. Mit dieser maximalen Löslichkeit und der aus der Metabolismusuntersuchung erhaltenen Eliminierungskonstante k_e von 0.12 h⁻¹ (Kapitel 3.2.1) konnte mittels der Software Simcyp[®] (Version 12.0.79.0) eine *In-vivo*-Studie simuliert werden. Benötigt wurde dazu die intrinsische Clearance Cl_{int} , welche sich aus dem Verteilungsvolumen V_d und k_e berechnen ließ:

$$Cl_{int} = k_e \times V_d \times m_{Maus}$$

V_d war von der Software gegeben: Diese Vorhersage basiert auf der Methode von Berezhkovskiy *et al.*¹⁴⁷ unter Einbezug der Plasma-Gewebe-Verteilung, welche anhand der *In-vitro*-bestimmten Plasmaproteinbindung und des logP-Werts berechnet wurde. Mit einem V_d -Wert von 8.65 l/kg, einer k_e 0.12 h⁻¹ und einem Mausgewicht von 0.025 kg wurde eine Cl_{int}

für Verbindung **33** von 0.43 ml/min berechnet. Mittels dieser Daten wurde folgende Studie simuliert:

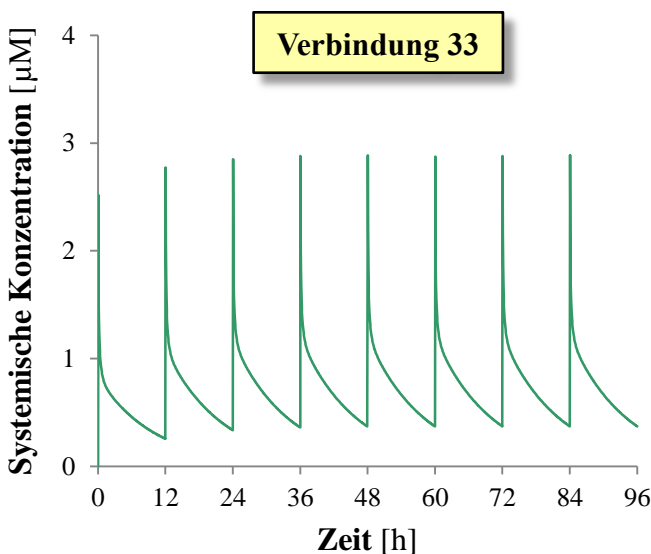


Abb. 40: Systemische Plasmakonzentrationsimulation von Verbindung **33** bei zweifacher täglicher Gabe von 200 nmol über einen Zeitraum von 4 d.

Plasmakonzentrationsprofil via Simcyp® erstellt werden (**Abb. 40**), welches allerdings folgenden Einschränkungen unterlag:

- Es wurde nur von hepatischer Eliminierung ausgegangen.
- Cl_{int} wurde unter Annahme einer Kinetik 1. Ordnung berechnet.
- V_d wurde von Simcyp® berechnet.

Durch die Verabreichung von 200 nmol der Verbindung **33** wurden maximale Plasmakonzentrationen von ca. 2 µM vorhergesagt, die über einen Zeitraum von 12 h auf ein Minimum von ca. 300 nM absanken. Letzteres lag immer noch um Faktor 100 über dem IC_{50} -Wert von Verbindung **33** gegenüber *T. b. rhodesiense* (0.003 µM). Auch die toxische Grenze der Verbindung von 26 µM (Nieren-Toxizität, HEK293T) wurde durch das Maximum um ca. Faktor 13 unterschritten, weshalb dieser Studien-Aufbau für die *In-vivo*-Untersuchung am Schweizer Tropeninstitut verwendet wurde (**Abb. 40**).

Die Behandlung von *T. b. rhodesiense* (STIB900) infizierten NMRI-Mäusen erfolgte nach dem mittels Simcyp® festgelegten Therapieschema: 3 d nach der Infektion wurde die erste Dosis (200 nmol/250 µl = ca. 3.5 mg/kg) intraperitoneal verabreicht. Nach 8-tägiger Behandlung (zweifacher täglicher Gabe) waren in 3 von insgesamt 4 Mäusen keine Parasiten mehr zu finden,

Die Studie wurde über eine Dauer von 4 d mit einer zweifachen täglichen intraperitonealen Gabe simuliert. Als Dosis wurden ca. 90 % der maximalen Löslichkeit von ASDD_{Eudragit} in der Formulierung (PBS-Puffer, 5 % Glukose (w/v), 1 % Tween80 (w/v)) gewählt, was bei einem Injektionsvolumen von 250 µl einer Stoffmenge von 200 nmol (87.5 µg an reinem Wirkstoff bzw. 875 µg ASDD_{Eudragit} (10 % Beladung)) entsprach. Mittels dieser Parameter konnte ein zeitabhängiges

während die Kontrollgruppe (keine Behandlung) nach 5 bzw. 8 Tagen wegen zu hoher Parasitämie eingeschläfert wurde.

Tab. 30: Vorläufige Ergebnisse nach 8-tägiger Behandlung.

Dosis	Gabe	Vehikel	Parasiten-negativ/ Anzahl der Mäuse	
			5 Tage Behandlung	8 Tage Behandlung
3.5 mg/kg	i.p.	PBS-Puffer		
		Glukose (5 %)	3 ^a /4	3/4
		Tween80 (1 %)		

^a: Nach der fünften Gabe verstarb eine Maus aus bislang unbekanntem Gründen.

Aufgrund dieses vielversprechenden Resultats wird die Behandlung zurzeit fortgesetzt, weshalb zum Abschluß dieser Arbeit noch kein endgültiges Ergebnis verfügbar war (**Tab. 30**).

Festzuhalten ist jedoch die bereits beobachtete *In-vivo*-Wirksamkeit der Verbindung **33** in sprühgetrockneter Form.

3.3.2 Verbesserung der Wasserlöslichkeit durch chemische Strukturmodifikation

Prinzipiell ist die Löslichkeit eines Wirkstoffs eine Funktion der Lipophilie sowie der Festkörperstruktur: beides kann durch chemische Strukturmodifikation beeinflusst werden. Durch das Einführen polarer Gruppen kann die Hydrophilie eines Wirkstoffs erhöht werden. Sofern es sich hierbei um basische oder azide Gruppen handelt, besteht zusätzlich die Möglichkeit durch die Wahl geeigneter Gegenionen bzw. Co-Kristall-Bildner auch die Kristallstruktur eines Wirkstoffs zu modifizieren und somit die Wasserlöslichkeit zu verbessern.

3.3.2.1 Erhöhung der Hydrophilie der Leitstruktur 33

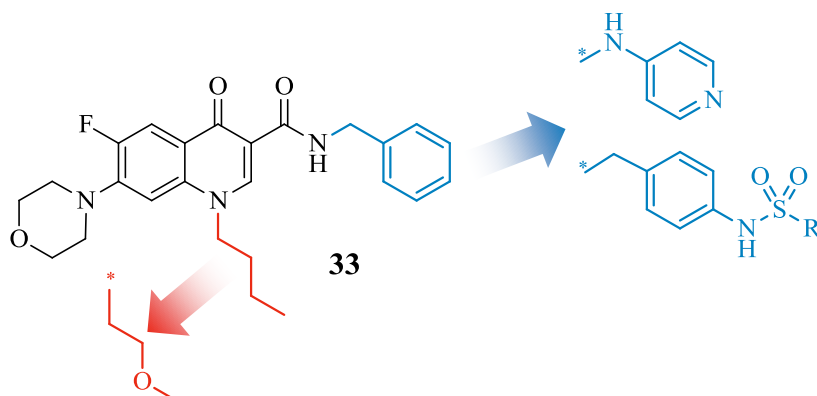


Abb. 41: Übersicht der Strukturmodifikationen zur Verringerung der Lipophilie.

Der logP-Wert ist ein Maß für die Lipophilie eines Moleküls. Wie bereits in dieser Arbeit hervorgehoben wurde, sind die Prozesse der Pharmakokinetik entscheidend von diesem Deskriptor abhängig, ebenso die Wasserlöslichkeit. Daher wurde im Folgenden versucht,

die Lipophilie der Leitstruktur **33** ($\log P = 3.76$) durch das Einführen polarer Strukturelemente wie Sulfonamide, Pyridine und Ether zu verringern und somit die Hydrophilie des Moleküls zu steigern (Abb. 41).

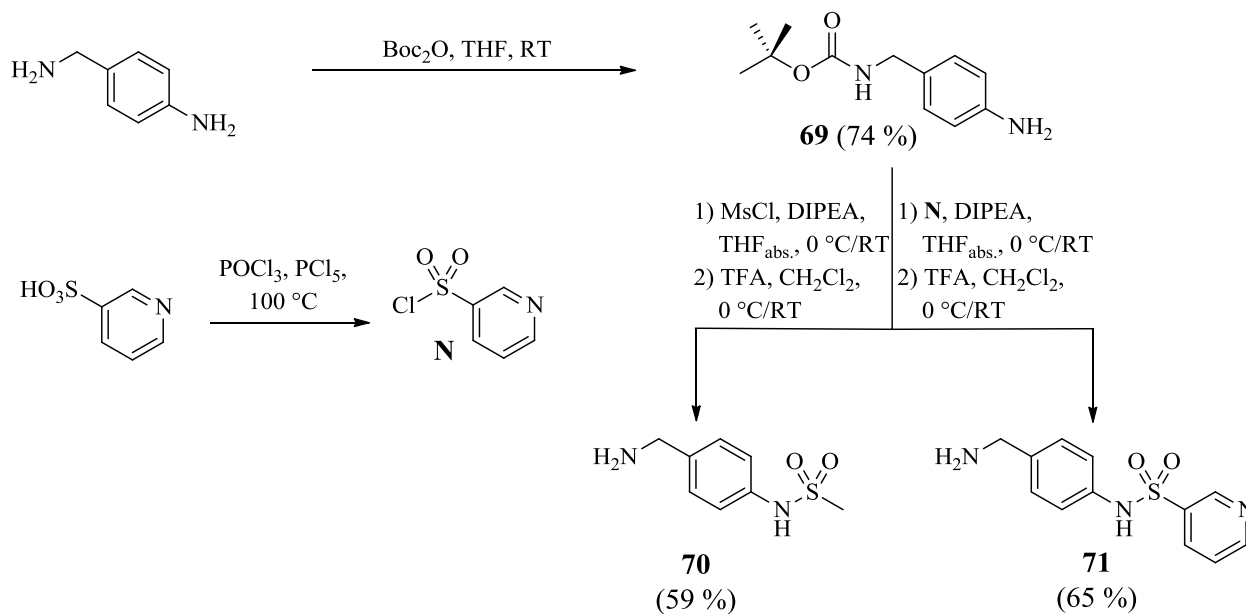
3.3.2.1.1 Synthese von 7-Morpholino-4-chinolon-3-carboxamiden mit verringerter Lipophilie

3.3.2.1.1.1 Synthese von Sulfonamid-substituierten Benzylaminen

Für die Einführung von Sulfonamid-Gruppen war der Benzylamin-Rest synthetisch am einfachsten zugänglich. Ausgegangen wurde von 4-Aminobenzylamin, welches analog der Synthesevorschrift von Lee *et al.*¹⁴⁸ mit Di-*tert*-butyldicarbonat in THF umgesetzt wurde. Das gewünschte einfach Boc-geschützte Derivat **69** konnte nach 16 h Rühren bei RT säulenchromatographisch in einer Ausbeute von 74 % (Lit¹⁴⁸: 96 %) isoliert werden (Schema 22).

Diese Zwischenstufe wurde nun mit Mesitylchlorid und Pyridin-3-sulfonsäurechlorid **N** amidiert. Letzteres wurde zuvor aus Pyridin-3-sulfonsäure und einer Mischung aus POCl₃/PCl₅ hergestellt. Die Amidierung erfolgte in Anlehnung an Lee *et al.*¹⁴⁸ Verbindung **69** wurde unter Argonatmosphäre in abs. THF gelöst, mit 3 Äquivalenten DIPEA versetzt und auf 0 °C gekühlt. 1.2 Äquivalente des entsprechenden Sulfonsäurechlorids wurden, gelöst in abs. THF, über einen Zeitraum von 20 min zugetropft und die resultierende Lösung für 16 h bei RT gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung wurden die Boc-geschützten Sulfonsäureamide säulenchromatographisch isoliert und im Anschluß die Schutzgruppe mittels TFA abgespalten. Säulenchromatographisch

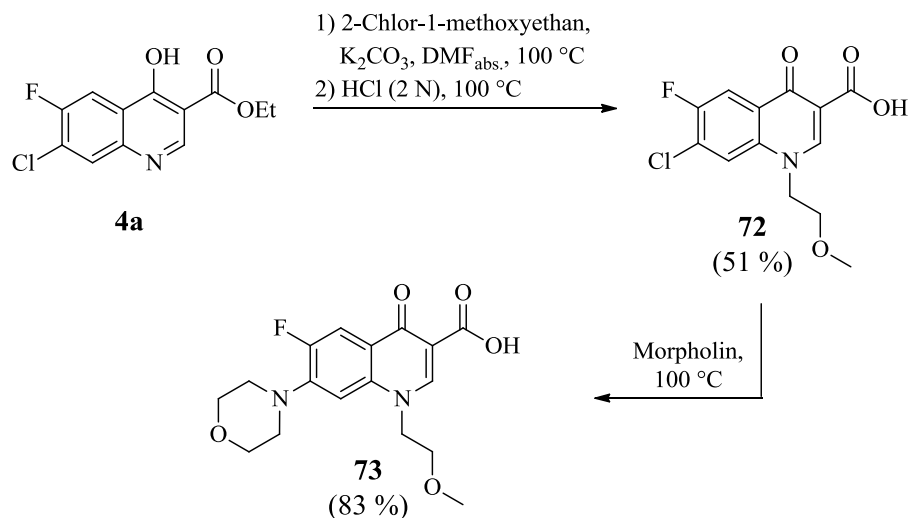
konnten die entsprechenden Benzylamine in Ausbeuten von 59 % (**70**, Lit¹⁴⁸: 92 %) und 65 % (**71**) erhalten werden (**Schema 22**).



Schema 22: Synthese Sulfonamid-substituierter Benzylamine.

3.3.2.1.1.2 Synthese von 1-(2-Methoxyethyl)-4-chinolon-3-carbonsäure

Neben dem Benzyl-Rest stellte auch der Chinolon-Stickstoff eine einfach zu derivatisierende Position dar und ermöglichte den Austausch der lipophilen *n*-Butyl-Kette gegen einen polareren Methylpropylether. Die Synthese erfolgte analog der 7-Morpholino-4-chinolon-3-carbonsäure **6g** (Kapitel 3.1.1.1): Ausgehend vom 4-Hydroxy-chinolin **4a** erfolgte die Alkylierung unter Argonatmosphäre mit 6 Äquivalenten 2-Chlor-1-methoxyethan in Gegenwart von 5 Äquivalenten K_2CO_3 in abs. DMF bei 100 °C. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung wurde die Esterhydrolyse in siedender wässriger HCl-Lösung (2 N) durchgeführt. Verbindung **72** wurde in einer Ausbeute von 51 % isoliert. Die nukleophile aromatische Substitution wurde in Morpholin unter Mikrowellenstrahlung bei 100 °C (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 600 W) durchgeführt. Nach 4 h wurde der Reaktionsansatz mit dem. Wasser verdünnt, das Rohprodukt durch Ansäuern mit wässriger HCl-Lösung (2 N) ausgefällt und gründlich mit EtOH gewaschen, wodurch Verbindung **73** in einer Ausbeute von 83 % erhalten wurde (**Schema 23**).



Schema 23: Synthese von Verbindung 73.

3.3.2.1.1.3 Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden mit zusätzlichen polaren Strukturelementen

Die 1-Butyl- und 1-(2-Methoxyethyl)-7-morpholino-4-chinolon-3-carbonsäuren **6g** (Kapitel 3.1.1.1.4) und **73** (**Schema 23**) wurden mit substituierten (**70**, **71**) und unsubstituierten Benzylamin-Derivaten sowie mit dem von M. Prinz synthetisierten und zur Verfügung gestellten 4-Hydrazinpyridin-Hydrochlorid amidiert. Zur Aktivierung wurde erneut die bewährte Anhydrid-Methode (Kapitel 3.1.1.1.7) angewandt. **6g** bzw. **73** und 4 - 5 Äquivalente NMM wurden dazu unter Argonatmosphäre in abs. DMF gelöst, auf 0 °C gekühlt und mit 3 - 4 Äquivalenten Isobutylchlorformiat umgesetzt. Nach einstündigem Rühren bei 0 °C wurden 3 - 4 Äquivalente des entsprechendenamins zugegeben und die Lösung für weitere 45 min bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend i. Vak. entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt. Umkristallisation aus ACN oder Toluol lieferte schließlich die gewünschten 4-Chinolon-3-carboxamide **74** - **77** (**Tab. 31**).

3.3.2.1.2 Biologische und physiko-chemische Eigenschaften der modifizierten 4-Chinolon-3-carboxamide

Die biologische Testung erfolgte im Z1 Teilprojekt des SFB630. In **Tab. 31** ist neben der antitrypanosomalen und zytotoxischen Aktivität auch die Selektivität des jeweiligen Derivats aufgeführt ($SI = IC_{50}(J774.1) / IC_{50}(T. b. b. \text{ nach } 48 \text{ h})$).

Tab. 31: Ausbeuten und biologische Daten der modifizierten Leitstruktur.

Verbdg.	X	R ⁵	Ausbeute	<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI
				48 h (Stabw)	72 h (Stabw)		
74	CH ₂		84 %	1.83 (± 0.12)	3.49 (± 1.26)	> 100	54.6
75	CH ₂		42 %	4.32 (± 0.71)	12.71 (± 12.4)	> 100	> 23.2
76	CH ₂		19 %	2.83 (± 0.86)	4.05 (± 2.02)	41.8	14.8
77	O		72 %	0.17 (± 0.06)	0.47 (± 0.12)	> 100	> 588

Neben dem experimentell bestimmten logP-Wert und der berechneten PSA (ChemBioDraw Ultra 12.0) wurde auch die Löslichkeit der Derivate **74 - 77** anhand einer Verdünnungsreihe (10 μM, 100 μM, 500 μM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM, 2.5 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM) in PBS-Puffer (pH = 7.4) mit und ohne Zusatz von 1 % Tween80 ermittelt, wodurch eine mögliche Verbesserung der Wasserlöslichkeit im Vergleich zur Leitstruktur **33** überprüft wurde. Ausgehend von einer 1 mM bzw. 20 mM DMSO-Stammlösung der Derivate **74 - 77** wurde die Verdünnung in einer 96-Loch-Platte durchgeführt (die endgültige DMSO-Konzentration pro Loch betrug 10 %). Nach 30 min wurden die Löslichkeitsgrenzen anhand auftretender Präzipitate ermittelt (mikroskopisch, **Tab. 32**).

Tab. 32: Physiko-chemische Parameter und Löslichkeiten der Derivate **74 - 77** im Vergleich zur Leitstruktur **33**.

Verbdg.	Molekül- masse [g/mol]	logP	PSA [Å ²]	Protein- bindung [%]	Löslichkeit	
					PBS [µM]	PBS/Tween80 (1%) [µM]
74	530.6	1.61	108.1	73.6	10	100
75	593.7	0.32	120.4	n.b.	10	100
76	439.5	1.81	86.3	n.b.	1000	2000
77	439.5	2.38	71.1	n.b.	100	500
33	437.5	3.67	61.9	80.5	< 10	100

Die Einführung polarer Strukturelemente führte bei allen Derivaten (**74 - 77**) zur gewünschten Verringerung der Lipophilie. Dies zeigte sich in reduzierten logP-Werten und erhöhter PSA im Vergleich zur Leitstruktur **33**, was im Fall der Sulfonamid-Derivate **74** und **75** aber zu keiner Löslichkeitsverbesserung führte. Deutlich höhere Konzentrationen im Wässrigen wurden mit dem Carbohydrazid **76** erzielt (2000 µM). Durch diese Strukturmodifikation wurde allerdings eine um Faktor 56 geringere antitrypanosomale Aktivität im Vergleich zu Leitstruktur **33** beobachtet und konnte somit nicht als neue Leitstruktur in Betracht gezogen werden. Aus dieser Substanzreihe zeigte lediglich Verbindung **77**, welche analog zu Leitstruktur **33** keine Veränderung des Benzylamid-Rests erfuhr, eine antitrypanosomale Aktivität im nanomolaren Bereich (IC₅₀ = 0.17 µM). Durch die Einführung eines 2-Methoxyethyl-Rests in Pos. 1 konnte mittels einer einfachen Strukturvariation, welche nur geringen Einfluss auf die antitrypanosomale Aktivität zeigte, die Lipophilie bei nahezu gleichbleibender Molekülmasse verringert (logP, PSA) und die Löslichkeit um Faktor 5 erhöht werden. Die verbesserten „drug-like“-Eigenschaften bei geringer Aktivitätsabnahme (Faktor 3) machte somit das Methoxyethyl-Derivat **77** zu einer potenziellen neuen Leitstruktur.

3.3.2.2 Löslichkeitsverbesserung durch Synthese pharmazeutischer Salze und Co-Kristalle

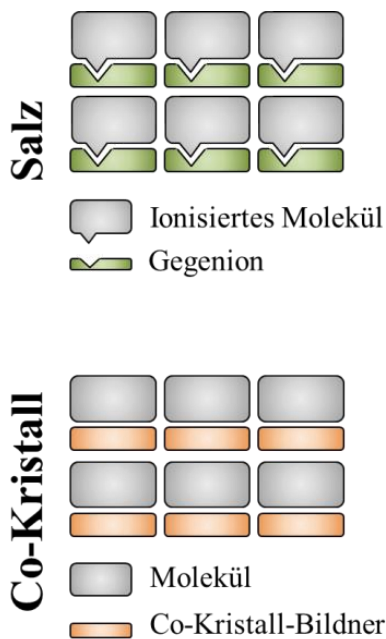


Abb. 42: Schematische Darstellung von Salzen und Co-Kristallen.

Die physiko-chemischen Eigenschaften einer Substanz werden entscheidend durch dessen Kristallstruktur bestimmt. Somit können signifikante Löslichkeitsunterscheide für verschiedene polymorphe Modifikationen eines Wirkstoffs beobachtet werden. Die in der Wirkstoffentwicklung am häufigsten angewandte Methode zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit ist die Salz- und Co-Kristallbildung (Abb. 42), sprich die Festkörpermodifikation durch die Wahl geeigneter Gegenionen bzw. Co-Kristall-Bildner („*crystal engineering*“).¹⁴⁹ Während durch Gegenionen (Halogenide, Sulfate, Phosphate) nur Verbindungen mit ionisierbaren funktionellen Gruppen in pharmazeutische Salze überführt werden können, adressieren Co-Kristall-

Bildner (Fumarsäure, Malonsäure, 4-Aminobenzoesäure, Oxalsäure) auch schwach basische oder azide Gruppen, womit Substanzeigenschaften wie Stabilität, Löslichkeit und Auflösungsgeschwindigkeit optimiert werden können.¹⁵⁰ Co-Kristalle definieren sich, im Unterschied zu Salzen, als kristalline Strukturen bestehend aus mindestens zwei unterschiedlichen Feststoffen.^{135,151,152}

Desweiteren unterscheiden sich Salze und Co-Kristalle durch die Art der Wechselwirkung der einzelnen Komponenten: Während Salze ausschließlich auf ionischen Bindungen basieren (geladen), werden Co-Kristalle durch Wasserstoffbrücken ausgebildet (neutral). Um den Ionisierungszustand im Festkörper vorhersagen zu können, kann der pK_S -Wert in Betracht gezogen werden. Eine ionische Bindung wird für eine möglichst große pK_S -Differenz zwischen Säure und Base erwartet ($\Delta pK_S > 3$). Je kleiner die pK_S -Differenz ($\Delta pK_S < 2$), desto höher auch die Wahrscheinlichkeit der Co-Kristall-Bildung.¹³⁵

Die Löslichkeit eines Wirkstoffs (API) ist abhängig von der Gitterenergie, die aufgebracht werden muss, um ein Molekül aus einem Kristallgitter herauszulösen, und der anschließenden Interaktion zwischen gelöstem Stoff und dem Lösungsmittel (Solvation). Durch die Salz- bzw.

Co-Kristallbildung wird eine vom freien API unterschiedliche kristalline Struktur ausgebildet, wodurch höhere Sättigungskonzentrationen (C_s , Kapitel 3.2.3) und somit ein steilerer Konzentrationsgradient in der Diffusionsschicht erzielt werden können (schnellere Auflösung). Desweiteren werden die Lösungsmittel-Wirkstoff-Interaktionen u. a. durch Ionisation und Komplexierung verbessert. Somit besitzen pharmazeutische Salze und Co-Kristalle die Möglichkeit, beide Teilprozesse zu beeinflussen, was in Summe für die verbesserte Löslichkeit dieser Wirkstoffformen verantwortlich ist.¹³⁵

3.3.2.2.1 Synthese von 4-Chinolon-Hydrochlorid- und -Natrium-Salzen

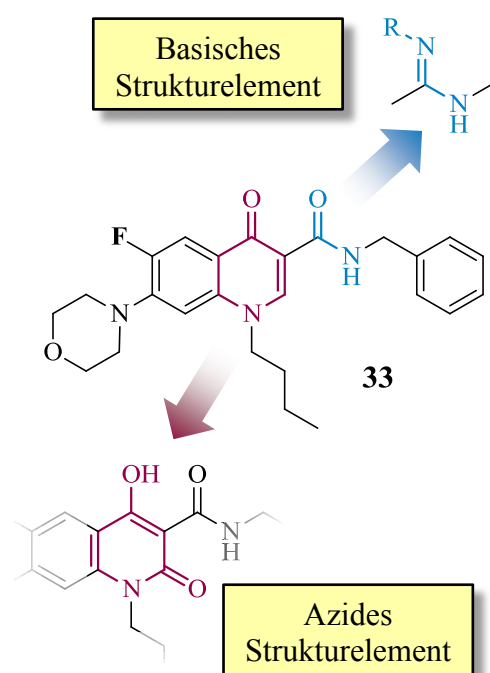


Abb. 43: Ansätze zur Einführung basischer und azider Strukturelemente.

Verbindung **33** enthielt keine ionisierbaren Gruppen, welche sich in pharmazeutische Salze überführen ließen. Da die Strukturmodifikation sich auch auf die biologische Aktivität eines Wirkstoffs auswirkt, wurde versucht, unter möglichst geringer Strukturänderung basische und azide Funktionen einzuführen und die für die antitrypanosomale Wirksamkeit von Verbindung **33** essenziellen Gruppen (Morpholin in Pos. 7, *n*-Butyl in Pos. 1, Benzylamid in Pos. 3) beizubehalten. Unter diesen Einschränkungen wurden zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen: Einerseits die Überführung der Amid-Funktion in Pos. 3 in ein basisches Carboamidin, andererseits die Modifikation der 4-Chinolon-Grundstruktur zu einer 4-Hydroxy-2-chinolon-Struktur, sprich einer vinylogenen Carbonsäure. Die erhaltenen

basischen bzw. aziden Strukturelemente konnten anschließend in Form der entsprechenden Hydrochlorid- und Natrium-Salze hergestellt werden (**Abb. 43**).

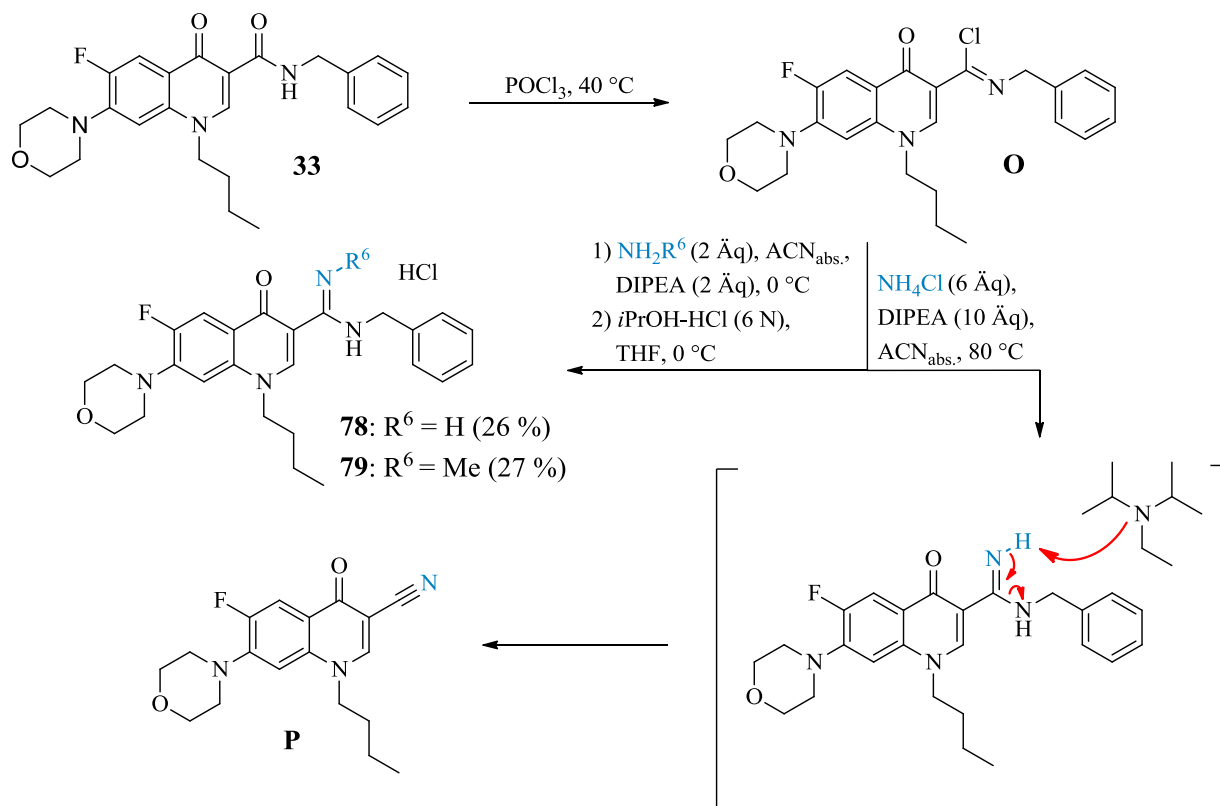
3.3.2.2.1.1 Synthese von *N*-Benzyl-4-chinolon-3-carboxamidin-Derivaten

Die Überführung eines *sek.* Amids in eine Amidin-Struktur erfolgte in Anlehnung an Steiner *et al.*¹⁵³ über eine der Vilsmaier-Hack-Synthese ähnliche Zwischenstufe (**O**, **Schema 24**), welche aus dem *sek.* Amid der Verbindung **33** in Gegenwart von POCl_3 bei 40 °C *in situ* gebildet wurde. Nach 24 h wurden 20 ml Toluol zugegeben und die Lösung i. Vak. zur Trockene

eingedampft, um überschüssiges POCl_3 zu entfernen. Das erhaltene Intermediat **O** sollte anschließend mit Ammoniak bzw. Methylamin zu den entsprechenden Carboxamidinen via nukleophiler Substitution umgesetzt werden. Da der Einsatz von konz. NH_3 (ca. 25 % in Wasser) zur Rückbildung von **33** geführt hätte, wurde als NH_3 -Quelle 6 Äquivalente NH_4Cl eingesetzt, welche zuvor mit 10 Äquivalenten DIPEA unter Argonatmosphäre in 5 ml abs. ACN suspendiert und für 30 min bei RT gerührt wurden. Die Suspension wurde anschließend bei RT zur in 10 ml abs. ACN gelösten Zwischenstufe **O** gegeben und für 2 h zum Sieden erhitzt. Nach wässriger Aufarbeitung und säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1) konnte ein weißer Feststoff gewonnen werden, welcher allerdings nicht dem gewünschten Produkt entsprach: Im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum dieser Verbindung konnten die Signale des Benzylamin-Rests nicht mehr gefunden werden. Dafür wurde im ^{13}C -NMR-Spektrum ein zusätzliches Signal bei 116.4 ppm beobachtet. Diese chemische Verschiebung ist charakteristisch für Nitril-Kohlenstoffe (generell im Bereich von 105 - 130 ppm).⁸³ Auch im FTIR-Spektrum konnte eine typische Nitril-Bande bei 2221 cm^{-1} gefunden werden (generell im Bereich von $2200 - 2260\text{ cm}^{-1}$)⁸³. Letztendlich konnte durch ein ESI-Massenspektrum ($m/z = 329.7\text{ [M+H]}^+$) der Verdacht einer 4-Chinolon-3-carbonitril-Struktur **P** ($M = 329.4\text{ g/mol}$) bestätigt werden. Durch den Überschuss an DIPEA und das Erhitzen auf ca. $80\text{ }^\circ\text{C}$ könnte das gebildete Amidin deprotoniert worden sein, was schließlich zur Abspaltung von Benzylamin geführt haben könnte. Ein möglicher Mechanismus ist in **Schema 24** dargestellt.

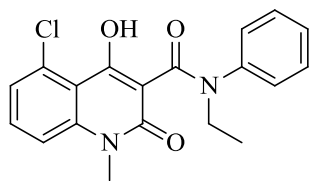
Aufgrund dieses Ergebnisses wurde in einem neuen Ansatz NH_4Cl und DIPEA im zweifachen Überschuss zu Intermediat **O** eingesetzt. Erneut wurde vorab NH_4Cl und DIPEA in 5 ml abs. ACN suspendiert und 30 min bei RT gerührt. Zeitgleich wurde 1 Äquivalent der Zwischenstufe **O** unter Argonatmosphäre in abs. ACN gelöst, auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt und die erhaltenen $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{DIPEA}$ -Suspension mittels eines Tropftrichters über einen Zeitraum von 15 min langsam zugegeben. Nach 3 h Rühren bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ wurde die Lösung mit 20 ml dem. Wasser versetzt, der pH-Wert mittels konz. NH_3 auf 8 - 9 eingestellt und das Rohprodukt mit CH_2Cl_2 extrahiert. Säulenchromatographisch konnte schließlich das gewünschte Carboxamidin-Derivat isoliert werden. Dieses wurde in THF gelöst und mit 1 ml isopropanolischer HCl (6 N) versetzt, wodurch Verbindung **78** als Hydrochlorid erhalten wurde. In analoger Weise konnte auch Verbindung **79** hergestellt werden: Zu einer gekühlten Lösung von **O** in abs. ACN wurden unter Argonatmosphäre 2 Äquivalente Methylamin (2 M Lösung in THF) zugetropft. Nach wässriger

Aufarbeitung und säulenchromatographischer Isolierung wurde Verbindung **79** mittels isopropanolischer HCl (6 N) ebenfalls in Form eines Hydrochlorids erhalten (**Schema 24**).



Schema 24: Synthese von Verbindung **78** und **79** sowie ein möglicher Mechanismus zur Bildung des 4-Chinolon-3-carbonitrils **P**.

3.3.2.2.1.2 Synthese eines aziden 4-Hydroxy-2-chinolon-3-carboxamid-Analogon der Verbindung **33**



Die 4-Hydroxy-2-chinolon-Struktur ist ein bekanntes Pharmakophor in der Wirkstoffentwicklung. U. a. wurde mit Laquinimod ein auf dieser Grundstruktur basierender Arzneistoff zur Behandlung von Autoimmunerkrankheiten (Multiple Sklerose) entwickelt, welcher sich

Abb. 44: Struktur von am Ende der klinischen Prüfung befindet (**Abb. 44**).¹⁵⁴
Laquinimod.

Zum Aufbau dieser Grundstruktur existieren unterschiedliche synthetische Ansätze, welche Zugang zu hochfunktionalisierten 4-Hydroxy-2-chinolon-Derivaten ermöglichen. Eine gängige Syntheseroute verfährt dabei über eine Isatosäureanhydrid-Zwischenstufe, welche aus einem Anthranilsäure-Derivat aufgebaut wird (**Abb. 45**).^{155,156,157}

Diese Methode wurde auch in der vorliegenden Arbeit zur Synthese des 7-Morpholino-4-hydroxy-2-chinolon-3-carboxamid-Analogon von Verbindung **33** angewandt.

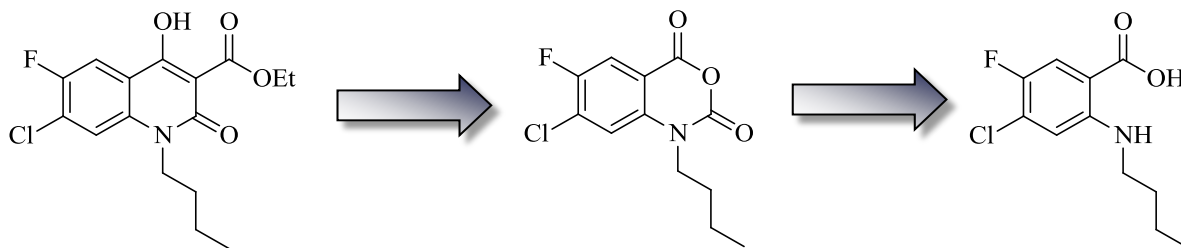


Abb. 45: Retrosynthese der 4-Hydroxy-2-chinolon-Grundstruktur.

1. Synthese von *N*-Butyl-4-chlor-5-fluoranthranilsäure

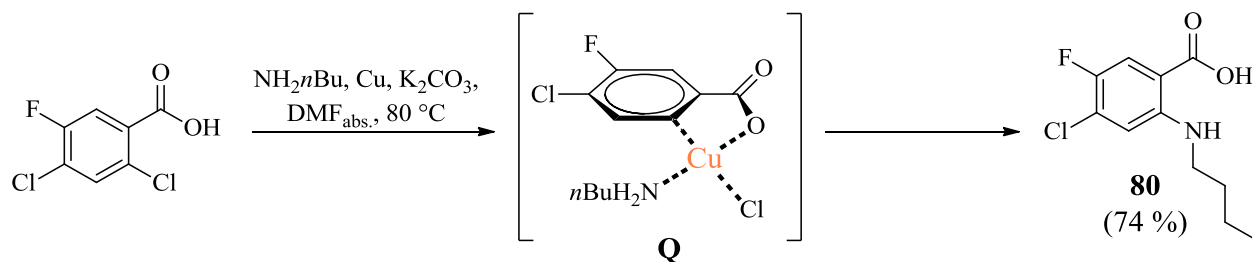
Da das für die Synthese der 4-Hydroxy-2-chinolon-Grundstruktur benötigte Anthranilsäure-Derivat nicht kommerziell erhältlich war, umfasste der erste Syntheseschritt die Aminierung der zur Verfügung stehenden 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoesäure. Eine gängige Methode zur Kopplung von aromatischen Halogeniden und Aminen ist die Kupfer-katalysierte Ullmann-Reaktion. Der exakte Mechanismus der Kopplung ist noch nicht vollständig geklärt. Ebenso ist umstritten, welche Kupfer-Spezies der „wahre“ Katalysator ist. Vielfach wird angenommen, dass Cu(I) die Reaktion katalysiert, obwohl auch Cu(0) und Cu(II) katalytische Aktivität zeigten.¹⁵⁸

Prinzipiell werden Kupfer-katalysierte Kopplungen in polaren Lösungsmitteln mit organischen oder anorganischen Basen durchgeführt, weshalb in unterschiedlichen Ansätzen die Kupfer-Spezies und die Base sowie die entsprechenden Reaktionsbedingungen variiert wurden, um die für die hier gewünschte Aminierung optimalen Reaktionsbedingungen zu finden (**Tab. 33**).

Tab. 33: Reaktionsansätze zur Optimierung der Synthese von Anthranilsäure-Derivat **80**.

Ansatz	Katalysator	Base	Butylamin	Lösungsmittel	Reaktionsbedingungen	Ausbeute
a	CuSO ₄ (1.5 Äq)	K ₂ CO ₃ (0.5 Äq)	2 Äq	H ₂ O	100 °C (MW) / 5 h	0 %
b	CuI (1 Äq)	Pyridin (2 Äq)	2.5 Äq	DMF _{abs.}	70 °C / 20 h	54 %
c	Cu (1 Äq)	K ₂ CO ₃ (1 Äq)	2 Äq	THF _{abs.}	60 °C / 24 h	46 %
d	Cu (1 Äq)	K ₂ CO ₃ (1 Äq)	2 Äq	DMF _{abs.}	80 °C / 5 h	74 %

Die Durchführung und Aufarbeitung aller Ansätze erfolgten nach folgendem Prozedere: Die Benzoesäure und *n*-Butylamin wurden zusammen mit der Base und dem entsprechenden Kupfer-Katalysator im jeweils angegebenen Lösungsmittel unter Argonatmosphäre (mit Ausnahme von Ansatz **a**) gelöst und bei den jeweiligen Reaktionsbedingungen zur Reaktion gebracht. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand mit 50 ml dem. Wasser versetzt und der pH-Wert mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) auf 4 eingestellt. Das Rohprodukt wurde mit CH₂Cl₂ extrahiert und anschließend säulenchromatographisch gereinigt. In Anlehnung an Martin *et al.*¹⁵⁹ wurde die Aminierung in Gegenwart von CuSO₄ im Wässrigen unter Mikrowellenstrahlung versucht (Ansatz **a**). Nach 2 h bei 100 °C konnte via Dünnschichtchromatographie keinerlei Umsetzung beobachtet werden, weshalb der Versuch abgebrochen wurde. Wahrscheinlich war dies auf die geringe Wasserlöslichkeit der Ausgangsverbindung zurückzuführen. Daher wurden die folgenden Reaktionen ausschließlich mit absolutierten organischen Lösungsmitteln unter Argonatmosphäre durchgeführt. O'Neill *et al.*¹⁶⁰ verwendete für ein ähnliches System eine Cu(I)-Spezies (CuI) und Pyridin. Dieser Ansatz wurde auf die hier vorliegende Reaktion übertragen (Ansatz **b**). Nach 20 h bei 70 °C konnte Verbindung **80** in einer Ausbeute von 54 % isoliert werden. Zuletzt wurde in Anlehnung an Docampo *et al.*¹⁶¹ Kupferpulver (Cu(0)) in Gegenwart von K₂CO₃ eingesetzt. In abs. THF (Ansatz **c**) konnte nach 24 h bei 60 °C eine Ausbeute von 46 % erzielt werden, in abs. DMF (Ansatz **d**) nach 5 h bei 80 °C sogar eine Ausbeute von 74 % (**Tab. 33, Schema 25**).



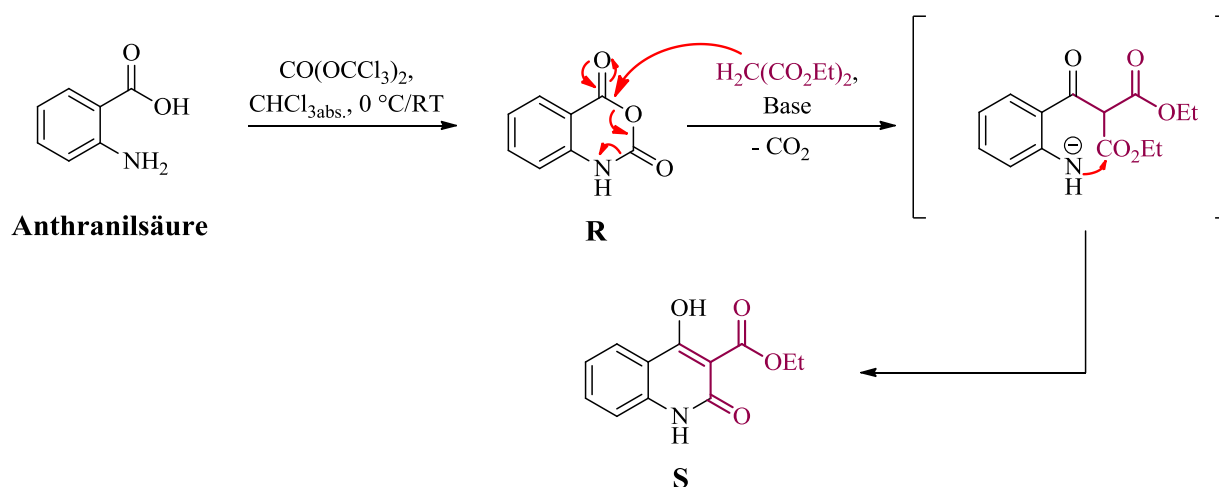
Schema 25: Synthese von Anthranilsäure-Derivat **80** via Kupfer-katalysierter Aminierung.

Obwohl die Ausgangsverbindung zwei Chlor-Substituenten enthielt, wurde in allen Ansätzen ausschließlich die *ortho*-Position der Benzoesäure substituiert. Entscheidend für diese Regioselektivität ist die Carbonsäure, welche einen dirigierenden Effekt auf die Kupfer-katalysierte C-N-Kopplung hat. Ein möglicher Mechanismus wurde u. a. von Zeng *et al.*¹⁶² beschrieben: Die deprotonierte Carbonsäure chelatisiert die Kupfer-Spezies (Oxidationsstufe ist nicht eindeutig geklärt) und beschleunigt die oxidative Addition in *ortho*-Position. Das eingesetzte Amin koordiniert an den Kupfer-Komplex, woraus das Intermediat **Q** resultiert.

Durch reduktive Eliminierung wird schließlich das gewünschte Anthranilsäure-Derivat (**80**) erhalten (**Schema 25**).

2. Synthese des 4-Hydroxy-2-chinolon-Grundgerüsts mittels einer Isatosäureanhydrid-Zwischenstufe

Die Synthese des 4-Hydroxy-2-chinolon-Grundgerüsts wurde zunächst an einem Modellsystem optimiert (**Schema 26**): Ausgegangen wurde von der kommerziell erhältlichen Anthranilsäure, welche in Anlehnung an Tedesco *et al.*¹⁵⁵ unter Argonatmosphäre in abs. CHCl_3 mit 1.3 Äquivalenten Triphosgen bei $0\text{ }^\circ\text{C}$ umgesetzt wurde. Nach 20 h wurde das überschüssige Triphosgen durch Zugabe von ges. NaHCO_3 -Lösung hydrolysiert und das Produkt mit CHCl_3 extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wurde Isatosäureanhydrid **R** in einer Ausbeute von 75 % erhalten.



Schema 26: Modellsystem zur Optimierung der 4-Hydroxy-2-chinolon-Synthese.

Die Isatosäureanhydrid-Zwischenstufe wird durch Malonsäurediethylester, welcher zuvor mittels einer geeigneten Base deprotoniert wurde, am elektronisch weniger abgesättigten Carbonyl-Kohlenstoff angegriffen. Dadurch wird das Anhydrid geöffnet, die resultierende instabile Carbamidsäure decarboxyliert und die 4-Hydroxy-2-chinolon-Struktur durch intramolekulare Amidierung erhalten. Anhand dieses Modellsystems wurde nun der Aufbau der 4-Hydroxy-2-chinolon-Grundstruktur **S** optimiert. Dazu wurden neben den eingesetzten Äquivalenten auch die Base und die Reaktionsbedingungen variiert (**Tab. 34**).

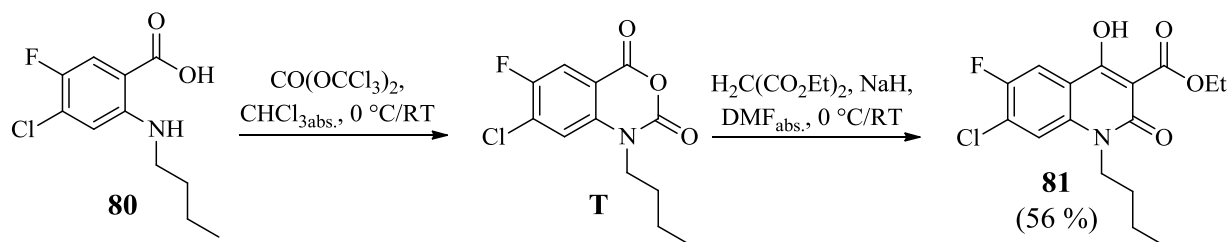
Tab. 34: Ansätze zur Optimierung der Synthese der 4-Hydroxy-2-chinolon-Grundstruktur.

Ansatz	Base	CH ₂ (CO ₂ Et)	Lösungsmittel	Reaktionsbedingungen	Ausbeute
a	NaOEt (2 Äq)	2 Äq	EtOH _{abs.}	85 °C / 3 h	Rückreaktion zur Anthranilsäure
b	KOtBu (2 Äq)	2 Äq	DMF _{abs.}	95 °C / 2 h	Rückreaktion zur Anthranilsäure
c	KOtBu (2 Äq)	2 Äq	DMF _{abs.}	0 °C/RT / 4 h	22 %
d	KOtBu (1.2 Äq)	2 Äq	DMF _{abs.}	0 °C/RT / 20 h	49 %
e	NaH (4 Äq)	3 Äq	THF _{abs.}	0 °C/RT / 24 h	33 %
f	NaH (1.5 Äq)	2 Äq	DMF _{abs.}	0 °C/RT / 16 h	66 %

Die Durchführung der Reaktion und die Aufarbeitung sämtlicher Ansätze erfolgte nach demselben Prozedere: Malonsäurediethylester und die entsprechende Base wurden im jeweiligen Lösungsmittel gelöst und für 30 min bei RT unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wurde 1 Äquivalent **R**, gelöst im angegebenen Lösungsmittel, entweder in einer Portion bei RT (Ansätze **a** - **b**) oder bei 0 °C mittels eines Tropftrichters über einen Zeitraum von 10 min zugetropft (Ansätze **c** - **f**) und bei der jeweiligen Temperatur zur Reaktion gebracht. Im Anschluß wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand mit 20 ml dem. Wasser versetzt und der pH-Wert mittels wässriger HCl-Lösung auf 3 eingestellt, wobei der gewünschte 4-Hydroxy-1,2-dihydro-2-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester **S** (Ansätze **c** - **f**) bzw. die Ausgangsverbindung (Ansätze **a** - **b**) ausfiel.

In Anlehnung an Wennerberg *et al.*¹⁵⁷ wurde frisch hergestelltes NaOEt als Base verwendet und die Umsetzung von **R** mit Malonsäurediethylester bei 85 °C durchgeführt. Dies führte allerdings zur Ringöffnung des Isatosäureanhydrids und somit zur Rückbildung der Anthranilsäure (Ansatz **a**). Ähnliches wurde auch für das von Beutner *et al.*¹⁶³ verwendete KOtBu beobachtet. Hier wurde ebenfalls bei einer Reaktionstemperatur von 95 °C die Ausgangsverbindung zurückgewonnen (Ansatz **b**). Dementsprechend wurde in der Folge auf hohe

Reaktionstemperaturen verzichtet. Isatosäureanhydrid **R** wurde bei 0 °C zum deprotonierten Malonsäurediethylester gegeben und anschließend bei RT zur Reaktion gebracht. Durch die milden Reaktionsbedingungen wurde Verbindung **S** in Gegenwart von KO t Bu mit einer Ausbeute von 22 % bzw. 49 % erhalten (Ansätze **c** - **d**). In Anlehnung an Jönsson *et al.*¹⁵⁶ wurde NaH verwendet. Die Umsetzung der Reaktanden erfolgte erneut bei 0 °C bzw. RT, wobei mit abs. THF als Lösungsmittel eine Ausbeute von 33 % erhalten wurde (Ansatz **e**). Bei Verwendung von abs. DMF und Verringerung der eingesetzten Äquivalente an Base sowie Malonsäurediethylester konnte schließlich die höchste Ausbeute von 66 % an Verbindung **S** erzielt werden, weshalb Ansatz **f** auch zur Synthese der angestrebten Verbindung **81** verwendet wurde.



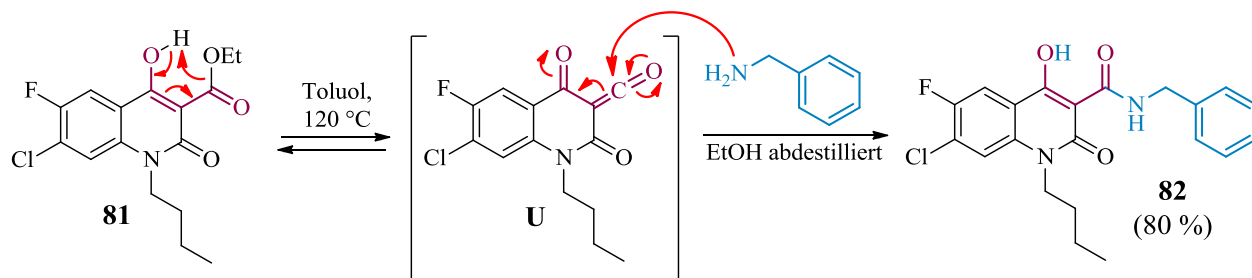
Schema 27: Synthese von Verbindung 81.

Entsprechend dem Modellsystem wurde Verbindung **80** zunächst mit 1.3 Äquivalenten Triphosgen zum Isatosäureanhydrid-Derivat **T** umgesetzt und anschließend ohne weitere Charakterisierung analog Ansatz **f** (**Tab. 34**) mit 2 Äquivalenten Malonsäurediethylester in Gegenwart von 1.5 Äquivalenten NaH zur Reaktion gebracht. Das nach wässriger Aufarbeitung ausgefällte Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt, wodurch Verbindung **81** in einer Ausbeute von 56 % erhalten wurde (**Schema 27**).

3. Amidierung in Pos. 3

Im Unterschied zu den 4-Chinolone-3-carbonsäureethylester-Derivaten, welche in Lösung stabil sind, liegen die gelösten Ester der 4-Hydroxy-2-chinolone in einem Gleichgewicht mit Keten **U** vor. Dieses Gleichgewicht wurde von Jansson *et al.*¹⁶⁴ ausführlich untersucht: Die Keten-Bildung ist entscheidend von der Ausbildung der intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Enol (Pos. 4) und der Carbonyl-Gruppe (Pos. 3) abhängig, wodurch der Protonentransfer und die begleitende Ethanol-Abspaltung ermöglicht wird. Somit wird die Keten-Zwischenstufe bevorzugt in unpolaren Lösungsmitteln beobachtet, während polare Solventien die Bildung der intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung erschweren. Dieser Befund wurde bereits für die

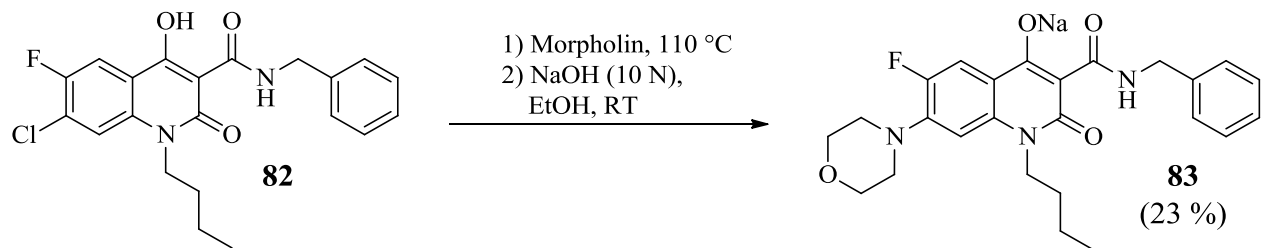
Synthese von Laquinimod (**Abb. 44**) ausgenutzt, da die Amidierung in Pos. 3 somit ohne weitere Aktivierungsschritte über das Keten-Derivat möglich ist. Allerdings steht auch das erhaltene Amid im Gleichgewicht mit Keten **U**. Um das Gleichgewicht auf die Amid-Seite zu verlagern, ist es daher notwendig, das *in situ* abgespaltene Ethanol kontinuierlich aus der Reaktionslösung zu entfernen. In Anlehnung an Jansson *et al.*¹⁶⁴ wurde daher 1 Äquivalent **81** mit 2.5 Äquivalenten Benzylamin in 100 ml Toluol gelöst und zum Sieden erhitzt. Mittels eines Wasserabscheiders wurde über einen Zeitraum von 60 min 3×10 ml Toluol und somit das abgespaltene Ethanol azeotrop abdestilliert. Der Lösungsmittelverlust wurde durch Zugabe von frischem Toluol kompensiert. Nach 1 h wurde das Lösungsmittel i. Vak. auf ca. 5 ml eingengt. Beim Abkühlen auf RT kristallisierte Verbindung **82** in Form eines weißen Feststoffs in einer Ausbeute von 80 % (**Schema 28**).



Schema 28: Synthese von **82** via Keten-Zwischenstufe **U**.

4. Einführung des Morpholin-Substituenten in Pos. 7 und Herstellung des gewünschten 7-Morpholino-4-hydroxy-2-chinolon-3-carboxamid-Derivats als Natrium-Salz

Abschließend wurde der Morpholin-Substituent analog zu Verbindung **33** via Mikrowellen-unterstützter nukleophiler aromatischer Substitution eingeführt (Kapitel 3.1.1.1.4). Verbindung **82** wurde dazu in 15 ml Morpholin in einem Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) gelöst und für 4 h bei 110 °C (Aufheizrate: in 3 min auf 110 °C, 600 W) gerührt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung mit 50 ml dem. Wasser verdünnt, der pH-Wert mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) auf 6 eingestellt und die erhaltene Suspension mit EtOAc extrahiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung wurde die vinyloge Carbonsäure in Anlehnung an die Synthesevorschrift von Jansson *et al.*¹⁶⁴ in EtOH suspendiert, mit 1.1 Äquivalenten NaOH (10 N-Lösung) versetzt und für 15 h bei RT gerührt. Nach zwischenzeitiger Auflösung des Feststoffs fiel das Natrium-Salz **83** schließlich als weißer Feststoff aus (Ausbeute: 23 %), welcher nach Filtration gründlich mit einer 1:1-Mischung aus EtOH und dem. Wasser gewaschen wurde (**Schema 29**).



Schema 29: Synthese des Natrium-Salzes **83**.

3.3.2.2.2 Synthese von Oxalsäure-Salzen und -Co-Kristallen

Die Robustheit eines Co-Kristalls ist abhängig von der Wechselwirkung zwischen API und Co-Kristall-Bildner. Durch zahlreiche Versuche der Homo- und Heterosynthonbildung in Gegenwart zusätzlicher HBD- und HBA-Gruppen konnte über die letzten Jahrzehnte eine Fülle an Kristallstrukturen erhalten werden, welche in der „*Cambridge Structural Database*“ (CSD) hinterlegt sind.¹³⁵ Anhand dieser Strukturen lässt sich eine sogenannte Synthon-Hierarchie festlegen: Mit am stärksten ist dabei die Wechselwirkung zwischen Carbonsäure und Pyridin ($\text{COOH}\cdots\text{N}_{\text{Py}}$), weshalb dieses Heterosynthon als sehr robust angesehen wird.¹⁶⁵

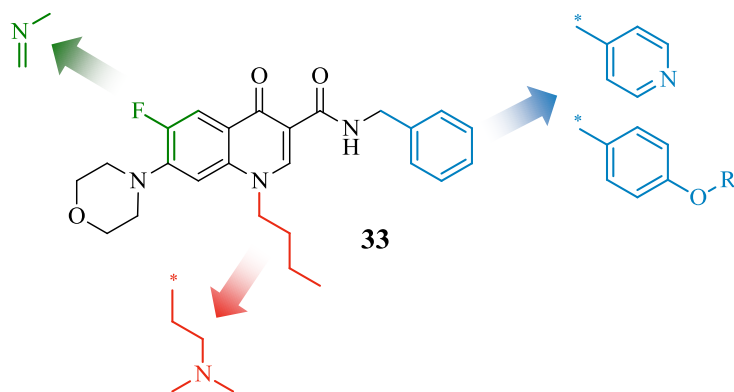


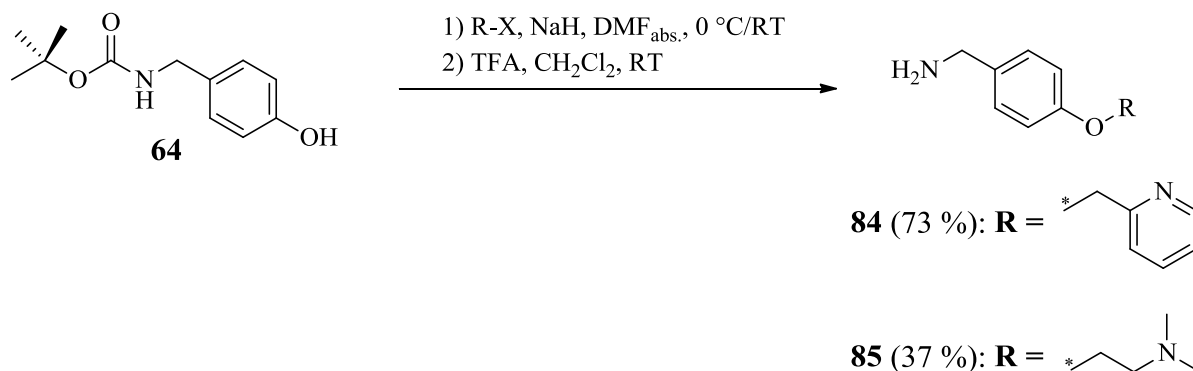
Abb. 46: Strukturmodifikationen zur Herstellung von Oxalat-Salzen und Co-Kristallen.

Ziel war es, Verbindung **33** strukturell so zu modifizieren, dass mit Oxalsäure (Co-Kristall-Bildner)¹³⁵ auf einem $\text{COOH}\cdots\text{N}_{\text{Py}}$ -Heterosynthon basierende Co-Kristalle bzw. auf einer Carbonsäure-*tert.* Amin-Wechselwirkung basierende Salze erhalten werden können. Zur Einführung eines Pyridin- bzw. *tert.* Amin-Substituenten wurde das Benzylamid in Betracht gezogen. Durch geringen synthetischen Aufwand konnte der Benzyl-Rest gegen Pyridin bzw. Methylpiperidin ersetzt werden. Desweiteren war es möglich, über eine Ether-Brücke aliphatische und aromatische Stickstoff-Substituenten einzuführen (**Abb. 46**, blau). Ein weiterer Ansatz war, die Fluor-substituierte Pos. 6 durch einen Stickstoff zu ersetzen und somit ein Naphthyridon-Analogon von Verbindung **33** zu erhalten (**Abb. 46**, grün). Pos. 1 stellte ebenfalls eine synthetisch einfach zu variierende Stelle dar (**Abb. 46**, rot). Da aromatische Reste

in dieser Position bereits negativen Einfluss auf die antitrypanosomale Aktivität zeigten (Kapitel 3.1.2), wurde hier die Einführung eines *tert.*amins angestrebt.

3.3.2.2.2.1 Synthese von Benzylaminen mit Ether-verbrückten Pyridin und *tert.* Amin Substituenten

Ausgehend vom Boc-geschützten 4-Hydroxybenzylamin **64**, welches bereits für die Farbstoffmarkierung von Verbindung **33** synthetisiert wurde (Kapitel 3.2.2.3), erfolgte die Etherbildung mit 1.2 Äquivalenten 2-(Brommethyl)pyridin-Hydrobromid bzw. 1.2 Äquivalenten *N*-(2-Chlorethyl)-*N,N*-dimethylamin-Hydrochlorid in Gegenwart von 2 Äquivalenten NaH. Unter Argonatmosphäre wurde NaH in abs. DMF suspendiert und unter Eiskühlung Verbindung **64** portionsweise zugegeben. Nach 30 minütigem Rühren wurde das Pyridin- bzw. *tert.* Amin-Derivat, gelöst in abs. DMF, langsam zugetropft und anschließend bei RT für 15 h gerührt. Nach wässriger Aufarbeitung wurden die Rohprodukte säulenchromatographisch gereinigt und anschließend in Gegenwart von TFA die Schutzgruppe abgespalten, wobei die Benzylamine **84**¹⁶⁶ und **85**¹⁶⁷ in Ausbeuten von 70 % (Lit¹⁶⁶: 90 %) und 37 % (Lit¹⁶⁷: 82 %) erhalten wurden (Schema 30).

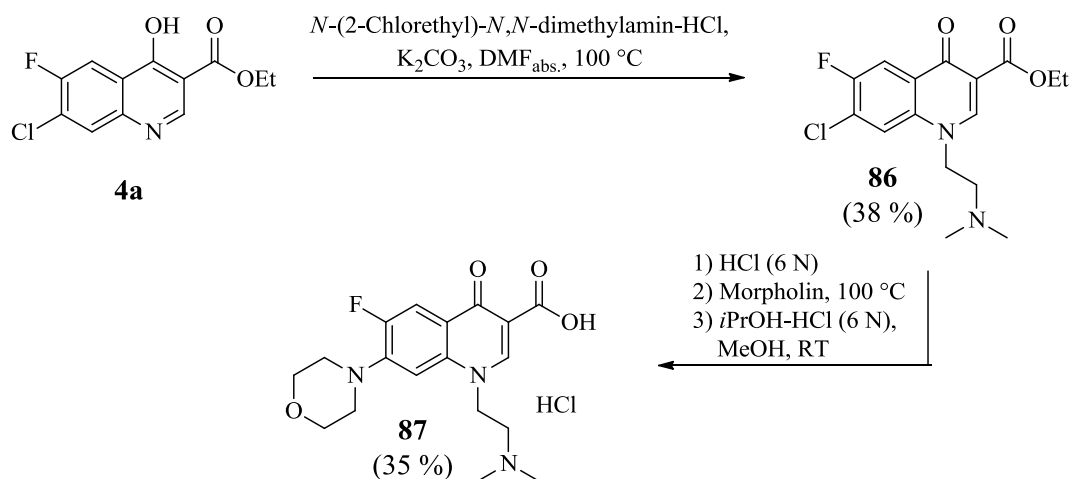


Schema 30: Synthese von Benzylamin **84** und **85**.

3.3.2.2.2.2 Synthese eines 7-Morpholino-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivats mit *tert.* Amin-Rest in Pos. 1

In Anlehnung an die Synthese der 1-Alkyl-7-amino-4-chinolon-3-carbonsäuren aus Kapitel 3.1.1 wurde erneut von **4a** ausgegangen, welches unter Argonatmosphäre in abs. DMF gelöst wurde. Die Alkylierung von Pos. 1 erfolgte mit 1.1 Äquivalenten *N*-(2-Chlorethyl)-*N,N*-dimethylamin-

Hydrochlorid in Gegenwart von 1.5 Äquivalenten K_2CO_3 bei $100\text{ }^\circ\text{C}$. Nach wässriger Aufarbeitung konnte Verbindung **86** säulenchromatographisch in einer Ausbeute von 38 % isoliert werden. Die Esterhydrolyse erfolgte mit wässriger HCl-Lösung (6 N), gefolgt von der nukleophilen aromatischen Substitution in Morpholin unter Mikrowellenstrahlung bei $100\text{ }^\circ\text{C}$. Nach 4 h wurde das überschüssige Morpholin i. Vak. entfernt, der Rückstand in MeOH gelöst und mit isopropanolischer HCl-Lösung (6 N) das Rohprodukt als Hydrochlorid ausgefällt. Nach Umkristallisation aus MeOH/dem. Wasser wurde Verbindung **87** in einer Ausbeute von 35 % erhalten (**Schema 31**).



Schema 31: Synthese von 7-Morpholino-4-chinolon-3-carbonsäure **87**.

3.3.2.2.3 Synthese einer 4-Oxo-1,6-naphthyridin-Grundstruktur

Für die Synthese eines Naphthyridon-Analogons der Verbindung **33** wurde ein 4-Oxo-1,6-naphthyridin-Grundgerüst mit einem Chlor-Substituenten in Pos. 7, welcher durch Morpholin ersetzbar war, einem n -Butyl-Rest in Pos. 1 und einer Carbonsäure-Gruppe in Pos. 3 benötigt. Aus retrosynthetischer Sicht konnte diese Struktur aus den in **Abb. 47** aufgeführten Zwischenstufen aufgebaut werden.

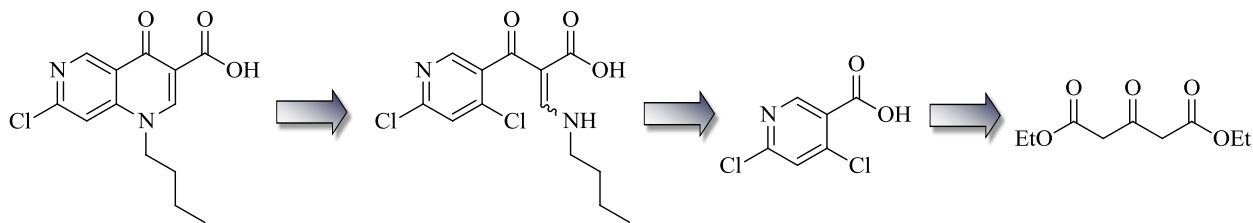
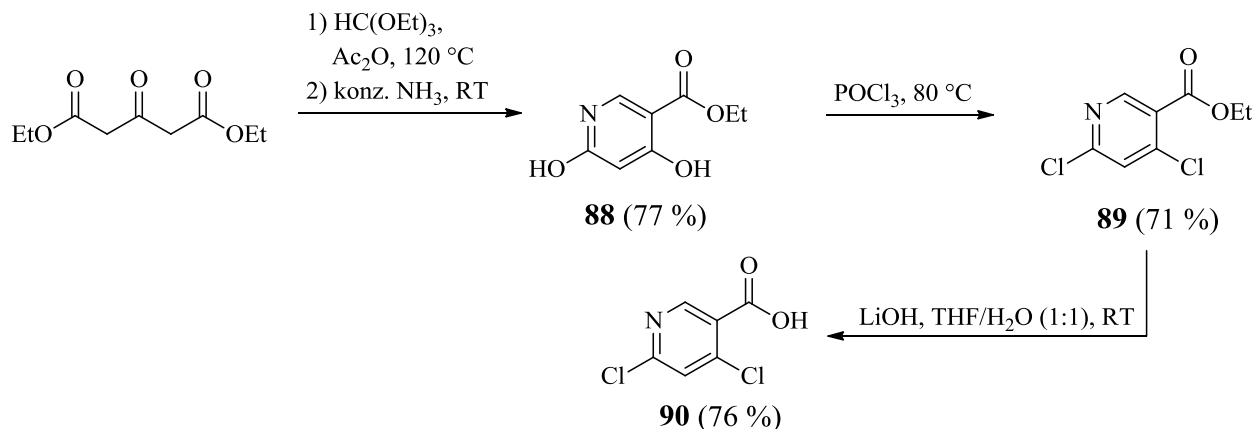


Abb. 47: Retrosynthese des 1,6-Naphthyridon-Grundgerüsts.

1. Synthese von 4,6-Dichlornicotinsäure

Analog der Synthesevorschrift von Kellenberger *et al.*¹⁶⁸ wurde die 4,6-Dihydroxynicotinsäureethylester-Zwischenstufe **88** ausgehend von Acetondicarbonsäurediethylester aufgebaut, welches zunächst mit 1 Äquivalent *ortho*-Ameisensäuretriethylester sowie 2 Äquivalenten Essigsäureanhydrid für 3 h bei 120 °C erhitzt und anschließend bei RT mit konz. NH₃ cyclisiert wurde. Durch Ansäuern der ammoniakalischen Lösung fiel der gewünschte Nicotinsäureester **88** in einer Ausbeute von 77 % aus (Lit¹⁶⁸: 50 %). Dieses Dihydroxy-Derivat wurde anschließend mittels 10 Äquivalenten POCl₃ in die entsprechende Dichlor-Verbindung überführt. Nach 3 h bei 80 °C wurde die Reaktionslösung auf Eis gegossen und das Rohprodukt mit EtOAc extrahiert. Durch säulenchromatographische Aufreinigung wurde Verbindung **89** in einer Ausbeute von 71 % erhalten (Lit¹⁶⁹: 81 %). Die Esterhydrolyse erfolgte entsprechend der Synthesevorschrift von Brunette *et al.*¹⁷⁰ mittels 1.2 Äquivalenten LiOH in einer 1:1-Mischung aus THF und dem. Wasser bei RT. Nach 15 h wurde die Lösung i. Vak. auf die Hälfte eingeeengt und die gewünschte Nicotinsäure **90** durch Ansäuern der Lösung in einer Ausbeute von 76 % (Lit¹⁷⁰: 81 %) ausgefällt (**Schema 32**).

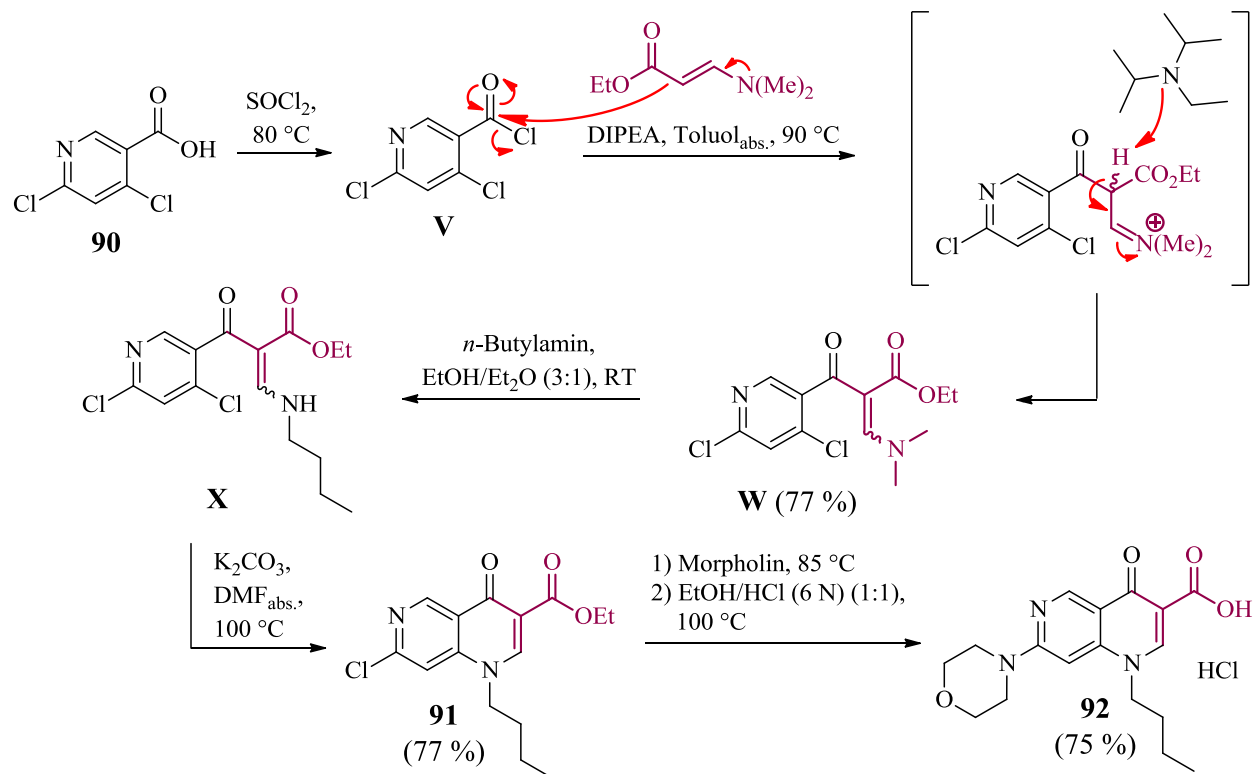


Schema 32: Synthese von Nicotinsäure-Derivat **90**.

2. Aufbau der 1,6-Naphthyridon-Grundstruktur und Einführung eines Morpholin-Substituenten in Pos. 7 via S_NAr

Tabarrini *et al.*¹⁷¹ verwendete für den Aufbau von 1,6-Naphthyridon- bzw. 4-Chinolon-3-carbonsäure-Grundstrukturen ein von der klassischen Gould-Jacobs- und Grohe-Heitzer-Synthese abweichendes Cyclisierungsverfahren über eine 3-(Dimethylamino)-acrylat-Zwischenstufe. Diese Methode wurde auch zum Aufbau des 1-Butyl-1,6-naphthyridon-3-carbonsäure-Grundgerüsts **91** angewendet. In Anlehnung an die Literaturvorschrift von Tabarrini *et al.*¹⁷¹ wurde von 4,6-Dichlornicotinsäure **90** ausgegangen, welche zunächst mittels Thionylchlorid in das entsprechende Säurechlorid **V** überführt und anschließend unter Argonatmosphäre in abs. Toluol mit 1.5 Äquivalenten 3-(Dimethylamino)-acrylsäureethylester und 2 Äquivalenten DIPEA zum entsprechenden Acrylat **W** umgesetzt wurde. Nach 2 h bei 90 °C konnte diese Zwischenstufe säulenchromatographisch in einer Ausbeute von 77 % (Lit¹⁷¹: 37 %) erhalten werden. Intermediat **W** wurde im Anschluß in einer 3:1-Mischung aus EtOH und Et₂O mit 1.5 Äquivalenten *n*-Butylamin bei RT umgesetzt. Nach 10 min wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, die Zwischenstufe **X** ohne weitere Charakterisierung unter Argonatmosphäre in abs. DMF gelöst und in Gegenwart von 2 Äquivalenten K₂CO₃ bei 100 °C cyclisiert. Nach 1 h wurde der Ansatz wässrig aufgearbeitet und das Rohprodukt mit CH₂Cl₂ extrahiert. Durch Umkristallisation aus EtOAc wurde Verbindung **91** in einer Ausbeute von 77 % erhalten (**Schema 33**).

Die Einführung des Morpholin-Substituenten in Pos. 7 erfolgte nach der in Kapitel 3.1.1.1.4 beschriebenen Methode im Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) unter Mikrowellenstrahlung. Der zum Chlor-Rest *ortho*-ständige Naphthyridin-Stickstoff trug zur weiteren Deaktivierung des aromatischen Systems bei, weshalb die nukleophile Substitution der Pos. 7 bereits nach 1.5 h bei 85 °C vollständig war. Abschließend wurde der Ester in Pos. 3 in einer siedenden 1:1-Mischung aus EtOH und wässriger HCl-Lösung (6 N) hydrolysiert. Nach 3 h wurde die Reaktionsmischung i. Vak. zur Trockene eingedampft, der Rückstand in EtOAc suspendiert, zum Sieden erhitzt und tropfenweise MeOH bis zur vollständigen Auflösung zugegeben. Beim Abkühlen auf RT fiel das gewünschte 7-Morpholino-1,6-naphthyridon-Derivat **92** als Hydrochlorid in einer Ausbeute von 75 % aus (**Schema 33**).

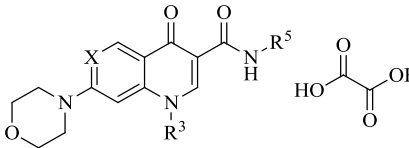
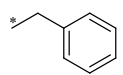
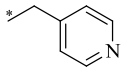
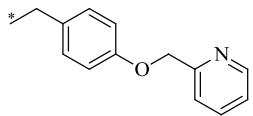
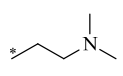
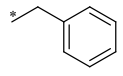
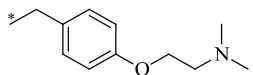
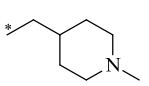


Schema 33: Synthese von **93** und möglicher Reaktionsmechanismus.

3.3.2.2.2.4 Amidierung der Naphthyridon- bzw. 4-Chinolon-3-carbonsäure-Vorstufen und Isolierung als Oxalsäuresalz bzw. -Co-Kristall

Die Amidierung der Carbonsäure-Vorstufen **6g** (Kapitel 3.1.1.1.4), **87** und **92** erfolgte - wie beschrieben (Kapitel 3.1.1.1.7) - über ein gemischtes Anhydrid, gebildet aus 2.5 - 4 Äquivalenten Isobutylchlorformiat und 4 - 8 Äquivalenten NMM, welches anschließend mit kommerziell erhältlichen sowie synthetisierten Aminen (**84** - **85**) umgesetzt wurde. Die nach Entfernen des Lösungsmittels erhaltenen Rohprodukte wurden säulenchromatographisch gereinigt, in 4 ml ACN gelöst und zu einer Lösung aus 5 Äquivalenten Oxalsäure in 6 ml ACN über einen Zeitraum von 5 min langsam zugegeben. Unter kräftigem Rühren fielen einige Salze bei RT aus (**94** - **96**, **98**), einige kristallisierten erst bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (**93**, **97**). Die Feststoffe wurden schließlich abfiltriert und aus ACN oder MeOH umkristallisiert, wodurch die Oxalate **93** - **98** erhalten wurden (Tab. 35). Die Stöchiometrien von Wirkstoff (API) und Oxalat wurde mittels CHN-Analyse bestimmt (Kapitel 6.5.3.4) und lagen zwischen 1:0.5 und 1:2.5.

Tab. 35: Übersicht der synthetisierten Oxalsäure-Salzen bzw. -Co-Kristallen

		Ausbeute	Stöchiometrie (API:Oxalat)		
Verbindung	X	R ³	R ⁵		
93	N	<i>n</i> -butyl		85 %	1:0.5
94	C-F	<i>n</i> -butyl		35 %	1:1.5
95	C-F	<i>n</i> -butyl		73 %	1:2.5
96	C-F			43 %	1:1
97	C-F	<i>n</i> -butyl		54 %	1:1.5
98	C-F	<i>n</i> -butyl		45 %	1:2.5

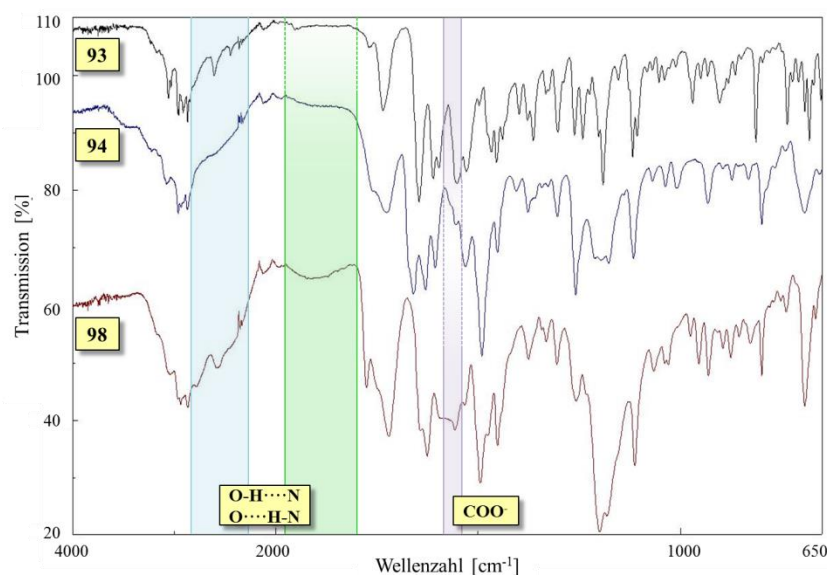
3.3.2.2.5 Salz oder Co-Kristall: Charakterisierung der Oxalat-Verbindungen

Ob eine ionische (Salz) oder neutrale (Co-Kristall) Wechselwirkung zu erwarten ist, kann im Allgemeinen durch die pK_s -Werte der eingesetzten Komponenten abgeschätzt werden. Errechnet sich eine pK_s -Differenz ($\Delta pK_s = pK_{s-Base} - pK_{s-Säure}$) von größer 3, ist mit einem Protonentransfer und deshalb mit einer ionischen Wechselwirkung zu rechnen; bei einem $\Delta pK_s < 2$ überwiegt die Wahrscheinlichkeit einer Co-Kristall-Bildung.^{135,172} Um die Art der Wechselwirkung im Fall der Verbindungen **93** - **98** abschätzen zu können, wurden die pK_s -Werte von B. Merget (AK Sotriffer, Pharmazeutische Chemie) mittels der Software MoKa[®] (Version 1.1.0) berechnet. Für die Berechnung von ΔpK_s wurden die pK_s -Werte der basischen Strukturelemente der Derivate **93** - **98** und die literaturbekannten Werte der Oxalsäure ($pK_{s1} = 1.25$, $pK_{s2} = 4.14$)¹³⁵ in Betracht gezogen. Anhand der ΔpK_s -Werte war für die *tert.* Amin-Derivate **96** - **98** und höchstwahrscheinlich auch für das Naphthyridon **93** von einer ionischen Wechselwirkung auszugehen ($\Delta pK_{s1/2} > 3$); für die aromatischen Amine **94** - **95** war sowohl eine Salz- ($\Delta pK_{s1} > 3$) als auch Co-Kristall-Struktur ($\Delta pK_{s2} < 2$) denkbar (Tab. 36).

Tab. 36: ΔpK_s -Werte und vorläufige Einstufung der Wechselwirkung.

Verbindung	pK_s	ΔpK_{s1}^a	ΔpK_{s2}^b	IR (ATR) - Banden [cm ⁻¹]		Vorläufige Einstufung
				COO ⁻	O-H···N O···H-N	
93	6.77	5.52	2.63	1551 (s)	2603 (w)	Salz
94	5.15	3.90	1.01	Nicht beobachtet	2614 (br) 1905 (br)	Co-Kristall
95	5,74	4.49	1.60	1555 (m)	2602 (w)	Salz
96	7.55	6.30	3.41	1571 (s)	2716 (br)	Salz
97	8.52	7.27	4.38	1558 (m)	2593 (w)	Salz
98	9.81	8.56	5.67	1557 (m)	2574 (br) 1921 (br)	Mischform

^a: Berechnet mit pK_{s1} (Oxalsäure); ^b: Berechnet mit pK_{s2} (Oxalsäure)

Abb. 48: IR-Spektren von Verbindungen **93** - **94** und **98**.

Evans *et al.*¹⁷³ untersuchten den Einfluß von Wasserstoffbrückenbindungen auf das IR-Spektrum verschiedener Nicotinsäure-Derivate und konnten damit charakteristische Banden identifizieren. Im Fall einer ionischen Wechselwirkung können N-H-Streckschwingungen (N-H···O) der protonierten Amin-Spezies im Bereich von 2500 - 3000 cm⁻¹ beobachtet werden. Im Umkehrschluss findet man auch eine deutliche Carboxylat-Bande (COO⁻) bei 1610 - 1550 cm⁻¹. Sofern eine neutrale Interaktion vorliegt, werden meist sehr breite N-H- bzw. O-H-

Durch das Fehlen von Kristallstrukturen, welche Aufschluß über die Art der Wechselwirkung, sprich über das Ausmaß des Protonentransfers geben,¹⁷² war eine eindeutige Einteilung nicht möglich. Jedoch gab die IR-Spektroskopie Hinweise auf mögliche intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen bzw. ionische Interaktion:

Streckschwingungsbanden im Bereich von ca. 2500 cm^{-1} und 1900 cm^{-1} sowie meist breite C=O-Streckschwingungen der Carbonsäure-Gruppe bei ca. 1700 cm^{-1} gefunden. Anhand dieser Bereiche wurde nun auch die Einstufung der Verbindungen **93 - 98** vorgenommen: Für Verbindung **93, 95 - 97** wurden deutliche Carboxylat-Banden im Bereich von $1550 - 1570\text{ cm}^{-1}$ beobachtet, welche zusammen mit N-H-Streckschwingungen (ca. $2600 - 2700\text{ cm}^{-1}$) auf eine ionische Wechselwirkung hindeuteten (**Abb. 48**). Im IR-Spektrum von Verbindung **94** wurde keine Carboxylat-Bande gefunden. Mit breiten N-H- bzw. O-H-Streckschwingungsbanden bei 2602 cm^{-1} und 1905 cm^{-1} (schwach) konnte hierfür eine Co-Kristall-Struktur angenommen werden (**Abb. 48**). Einzig das IR-Spektrum von **98** zeigte sowohl eine Carboxylat-Bande (1557 cm^{-1}) als auch charakteristische Banden für eine neutrale Wechselwirkung (2574 cm^{-1} , 1922 cm^{-1}), weshalb dieses Derivat wahrscheinlich als Mischstruktur vorlag (**Abb. 48**). Die IR-Spektroskopie liefert zwar einige Hinweise auf die Art der Interaktion, allerdings sind diese den berechneten ΔpK_s teilweise gegenläufig. Zum Beispiel wird anhand der ΔpK_s -Werte von **98** (8.65, 5.67) eine ionische Struktur erwartet, im IR-Spektrum werden u. a. Hinweise auf eine neutrale Interaktion gefunden. Ohne eine Kristallstruktur ist eine eindeutige Einteilung daher nicht möglich.

3.3.2.2.3 Biologische Aktivitäten und physiko-chemische Eigenschaften der synthetisierten Salz- und Co-Kristall-Derivate

Die synthetisierten Chinolon-Salze und -Co-Kristalle wurden im Rahmen des SFB630 (Teilprojekt Z1) auf ihre antitrypanosomalen (TC221) und zytotoxischen (J774.1) Eigenschaften untersucht (**Tab. 37**).

Desweiteren wurde zur physiko-chemischen Charakterisierung dieser Derivate neben dem logP-Wert und der Proteinbindung auch die Wasserlöslichkeit anhand einer Verdünnungsreihe ($10\text{ }\mu\text{M}$, $100\text{ }\mu\text{M}$, $500\text{ }\mu\text{M}$, 1 mM , 1.5 mM , 2 mM , 2.5 mM , 3 mM , 4 mM , 5 mM) in PBS-Puffer ($\text{pH} = 7.4$) mit und ohne 1 % Tween 80 analog der in Kapitel 3.3.2.1.2 beschriebenen Vorgehensweise bestimmt (**Tab. 38**).

Tab. 37: Biologische Daten der Salze 78 - 79 und 83 sowie der Oxalat-Derivate 93 - 98.

Verbdg.	X	R ³	R ⁵	<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM]		J774.1 IC ₅₀ [μM]	SI
				48 h (Stabw)	72 h (Stabw)		
93	N	<i>n</i> -butyl		0.55 (± 0.08)	1.02 (± 0.33)	>100	>181.8
94	C-F	<i>n</i> -butyl		0.29 (± 0.26)	0.76 (± 0.77)	>100	>344.8
95	C-F	<i>n</i> -butyl		0.79 (± 0.17)	1.03 (± 0.18)	44.7	56.6
96	C-F			0.54 (± 0.01)	0.63 (± 0.01)	42.3	78.3
97	C-F	<i>n</i> -butyl		2.89 (± 0.62)	3.37 (± 0.29)	39.9	13.8
98	C-F	<i>n</i> -butyl		16.43 (± 3.78)	21.79 (± 6.86)	>100	>6.09
78				9.08 (± 0.12)	15.05 (± 1.79)	39.1	4.31
79				13.09 (± 1.89)	16.96 (± 2.01)	>100	>7.64
83				3.08 (± 0.69)	5.73 (± 0.91)	>100	>32.5

$$SI = IC_{50}(J774.1) / IC_{50}(T. b. b. \text{ nach } 48 \text{ h})$$

Die biologische Evaluierung zeigte, dass alle Strukturmodifikationen zu teilweise dramatischen Aktivitätsverlusten im Vergleich zu Leitstruktur **33** ($IC_{50} = 0.047 \mu\text{M}$) führten. Auf der anderen Seite bewirkten diese allerdings auch in einigen Fällen eine deutliche Verbesserung der Wasserlöslichkeit (**Tab. 38**). Im Vergleich zu den Oxalat-Derivaten **93 - 98** war die Löslichkeitsverbesserung der Hydrochlorid- und Natrium-Salze **78 - 79** sowie **83** deutlich geringer. Zudem wurden mit Aktivitäten im Bereich von $3.08 - 13.09 \mu\text{M}$ eine Verschlechterung um Faktor 65 bzw. 279 gegenüber der Leitstruktur **33** beobachtet. Somit wurden diese Derivate nicht als neue Leitstrukturen in Betracht gezogen. Desweiteren verdeutlichte dieses Ergebnis die Wichtigkeit des β -Keto-Amid-Strukturelements für die antitrypanosomale Wirksamkeit der 4-Chinolon-3-carboxamide.

Tab. 38: Physiko-chemische Parameter und Löslichkeiten der Derivate **78 - 79**, **83** und **93 - 98** im Vergleich zur Leitstruktur **33**.

Verbdg.	Molekül- masse ^a [g/mol]	logP	PSA [Å ²]	Protein- bindung [%]	Löslichkeit	
					PBS [μM]	PBS/Tween80 (1%) [μM]
78	436.5	3.47	68.7	85.8	100	500
79	450.6	3.02	57.2	n.b.	500	1000
83	453.5	5.53	71.1	n.b.	10	500
93	420.5	3.05	74.2	67.6	100	1000
94	438.5	1.74	74.2	99.9	> 5000	> 5000
95	544.6	3.27	83.5	93.6	100	1500
96	452.5	2.67	65.1	45.9	1000	1500
97	524.6	3.41	74.4	79.14	> 5000	> 5000
98	458.6	3.20	65.1	n.b.	> 5000	> 5000
33	437.5	3.67	61.9	80.5	< 10	100

^a: Die Molekülmasse wurde für den Wirkstoff ohne Gegenion/Co-Kristall-Bildner berechnet.

Trotz der teilweise deutlich verbesserten Löslichkeiten einiger Oxalat-Derivate (**Tab. 38**) führte die zugrundeliegende Strukturmodifikation in unterschiedlichem Maße zur Aktivitätsabnahme gegenüber **33**. Äußerst signifikant war dies für das Piperidin-Derivat **98** mit einem IC_{50} -Wert von $16.43 \mu\text{M}$ zu erkennen. Der aromatische Benzylamid-Rest der Verbindung **33** wurde gegen einen

Piperidin-Substituenten ersetzt, da die Verringerung von planaren Strukturelementen zu höherer Moleküldiversität und somit auch zu besserer Wasserlöslichkeit beiträgt. Ein Maß dafür ist die Fraktion der sp^3 -hybridisierten Kohlenstoffatome (F_{sp^3}):⁴⁵

$$F_{sp^3} = \frac{\text{Anzahl der } sp^3\text{-hybridisierten Kohlenstoffe}}{\text{Gesamtanzahl der Kohlenstoffe}}$$

Für Verbindung **33** wurde der F_{sp^3} -Wert zu 0.36 berechnet, während dieser für Verbindung **98** bei 0.60 lag, was in verbesserten physiko-chemischen Eigenschaften und vor allem deutlich erhöhter Löslichkeit ($> 5000 \mu\text{M}$) resultierte. Allerdings bewirkte der Verlust der Aromatizität auch eine Aktivitätsabnahme um Faktor 350, weshalb der Benzyl-Rest als ein für die antitrypanosomale Wirksamkeit essenzielles Strukturelement angesehen werden kann. Verbindungen **93 - 96** zeigten geringere Aktivitätsverluste (Faktor 6 - 17). Mit physiko-chemischen Parametern im Bereich der Lipinski's Ro5 und maximalen Löslichkeiten von $1000 - > 5000 \mu\text{M}$ können diese Derivate als potenzielle neue Leitstrukturen in Betracht gezogen werden.

3.4 Auswahl optimierter Leitstrukturen und weitere physiko-chemische sowie biologische Charakterisierung

3.4.1 Ligand efficiency und lipophilic ligand efficiency

Die Auswahl von „Hits“ und Leitstrukturen für die weitere Optimierung bzw. von Wirkstoffkandidaten für die klinische Studien ist ein wichtiger Schritt in der Wirkstoffentwicklung und kann über den Erfolg oder das Scheitern eines Projekts entscheiden. Prinzipiell kann diese anhand der biologischen Aktivität getroffen werden. Allerdings korreliert die Wirksamkeit innerhalb einer Substanzbibliothek häufig mit der Molekülgröße bzw. -masse und der Lipophilie. Diese beiden Moleküleigenschaften beeinflussen die Wahrscheinlichkeit einer Entropie-geleiteten, unspezifischen Wechselwirkung zum biologischen Target. Für große, lipophile Liganden wird daher häufig eine Wirksamkeitsverbesserung beobachtet, allerdings erhöhen sie auch das Risiko von ungenügenden pharmakokinetischen sowie unerwünschten polypharmakologischen Eigenschaften, was letztendlich zum Scheitern eines Projekts führen kann. Die biologische Aktivität alleine ist somit ein „falscher Prophet“.^{39,174} Aus diesem Grund

wurden von Hopkins *et al.*³⁹ bzw. Leeson *et al.*⁴² die Konzepte der „*ligand efficiency*“ (LE) und der „*lipophilic ligand efficiency*“ (LLE) eingeführt, welche die biologische Aktivität einer Verbindung korrigiert um den Einfluß der physiko-chemischen Parameter (Molekülmasse, logP) widergeben.

$$LE = \left(\frac{pIC_{50}}{HA} \right) \times 1.37$$

$$LLE = pIC_{50} - \log P$$

pIC₅₀ ist dabei der negative dekadische Logarithmus der biologischen Aktivität ([M]) und HA die Anzahl an Schweratome („*heavy atom*“), sprich alle nicht-Wasserstoffatome eines Moleküls.

Durch graphisches Auftragen beider Werte kann das Entwicklungspotential einer Verbindung im Vergleich zu anderen einer Substanzbibliothek abgeschätzt werden. Angestrebte LE- und LLE-Werte für Wirkstoffkandidaten sind > 0.3 bzw. > 5.⁴⁹

3.4.2 Auswahl neuer 4-Chinolon-3-carboxamid-Leitstrukturen mittels LE und LLE

Zur Berechnung der LE- und LLE-Werte diverser Vertreter aus allen drei in dieser Arbeit synthetisierten Chinolon-Bibliotheken wurde der IC₅₀-Wert nach 48 h (*T. b. brucei*) verwendet. Die Anzahl der Schweratome bezog sich auf den Wirkstoff ohne evtl. vorhandene Gegenionen (Anhang, Kapitel 7.2).

Die graphische Darstellung (**Abb. 49**) der berechneten LE und LLE-Werte zeigt ein deutliches Clustering der 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivate (grün) mit LLE-Werten von ca. 1 - 2, was auf die erhöhte Lipophilie in Kombination mit Aktivitäten größtenteils im niedrigen mikromolaren Bereich zurückzuführen ist. Für die aus dem Ansatz der qualitativen SAR-Analyse erhaltenen 1-Alkyl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivate (rot) beobachtet man ebenfalls eine Anhäufung. Mit LLE-Werten von ca. 3 - 4 ist der Lipophilie-geleitete Anteil der Aktivität deutlich geringer gegenüber den 1-Aryl-Derivaten. Zudem zeigen sich einige Vertreter dieser Bibliothek als äußerst potent gegen *T. b. brucei*, weshalb vor allem die Leitstruktur **33** die für Wirkstoffkandidaten angestrebte LE-Grenze von 0.3 überwinden kann. Ausgehend von dieser vielversprechenden Verbindung wurden Strukturmodifikationen vorgenommen, mit dem Ziel der Wasserlöslichkeitsverbesserung (blau). Diese Strukturänderungen waren von ungleicher

Zunahme der Schweratom-Anzahl sowie teilweise enormen Aktivitätsunterschieden begleitet, was sich in der diffuseren LE/LLE-Verteilung widerspiegelt.

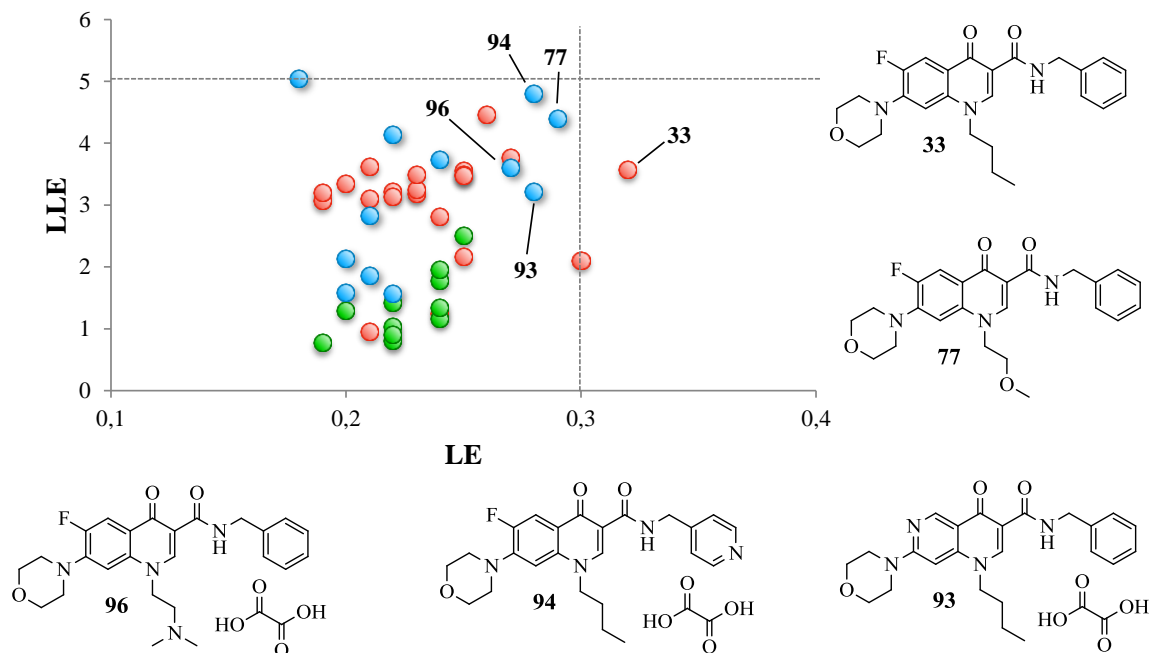


Abb. 49: Graphische Darstellung der LE- und LLE-Werte diverser Chinolon-3-carboxamid-Vertreter aus den Substanzbibliotheken der 1-Alkyl-4-chinolone (rot, Kapitel 3.1.1), der 1-Aryl-4-chinolone (grün, Kapitel 3.1.2) und der strukturmodifizierten Derivate mit verbesserter Wasserlöslichkeit (blau, Kapitel 3.3.2)

Von Interesse sind vor allem die Derivate **77**, **93 - 94** und **96**, da diese dem angestrebten LE/LLE-Bereich von Wirkstoffkandidaten am nächsten kommen. Vor allem für Verbindung **94** mit einem LLE-Werte von 4.8 ist der Lipophilie-geleitete Anteil an der Wirksamkeit deutlich geringer als der von Leitstruktur **33** (LLE = 3.6). Da die Aufgabe darin bestand, neue Leitstrukturen für die weitere Entwicklung bzw. Untersuchung auszuwählen, wurde neben den LE/LLE-Werten auch die Löslichkeiten dieser vier Verbindungen verglichen. Während für **93 - 94** und **96** Löslichkeiten von 1000 - > 5000 μM gefunden wurden (Kapitel 3.3.2.2.3), beobachtete man für **77** in dieser Reihe die geringste Löslichkeit von 500 μM (Kapitel 3.3.2.1.2), weshalb letztere schließlich nicht für die weitere physiko-chemische Charakterisierung und biologische Untersuchung in Betracht gezogen wurde.

3.4.3 Weiterführende Untersuchungen der optimierten Leitstrukturen

Neben den antitrypanosomalen Aktivitäten gegen die *T. b. brucei*-Unterart wurde die Wirksamkeit dieser Derivate (**93** - **94**, **96**) auch an der human-pathogenen Spezies *T. b. rhodesiense* evaluiert. Zudem wurde analog zur Struktur **33** die Zytotoxizität an Leber- (HepG-2) und Nierenzellen (HEK293T) untersucht (**Tab. 39**).

Tab. 39: Biologische Evaluierung der Verbindungen **93** - **94** und **96**.

Verbindung	IC ₅₀ [μM]		Makrophagen J774.1		Leberzellen HepG-2		Nierenzellen HEK293T		
	48 h	72 h	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI	
	(Stabw)	(Stabw)	[μM]		(Stabw)		(Stabw)		
93	<i>T. b. brucei</i>	0.55 (± 0.08)	1.02 (± 0.33)	> 100	>182	> 160	>291	>160	>291
	<i>T. b. rhodesiense</i>	n. b.	0.026		>3891		>6226		>6226
94	<i>T. b. brucei</i>	0.29 (± 0.26)	0.76 (± 0.77)	>100	> 345	53.31 (± 9.47)	184	86.81 (± 6.43)	299
	<i>T. b. rhodesiense</i>	n. b.	0.004		>25000		13323		21703
96	<i>T. b. brucei</i>	0.54 (± 0.01)	0.63 (± 0.01)	42.3	78	48.84 (± 0.12)	90	48.03 (± 1.94)	89
	<i>T. b. rhodesiense</i>	n. b.	0.033		1282		1480		1456

$$SI = IC_{50Tox.} / IC_{50T. brucei}$$

Erstaunlicherweise zeigten alle drei Derivate deutlich höhere Aktivität an der Unterart *T. b. rhodesiense*. Die geringste Toxizität wurde für Verbindung **93** gefunden, womit sich Selektivitätsindizes von > 3800 bzw. > 6000 ergaben. Diese wurden nur von Verbindung **94** übertroffen. Bei einer antitrypanosomalen Aktivität von 0.004 μM (der IC₅₀ (*T. b. rhodesiense*)-Wert von Verbindung **33** betrug 0.003 μM) und akzeptablen Zytotoxizitäten errechneten sich SI-Werte von > 13000 bzw. sogar > 25000 (der maximale SI-Wert von Verbindung **33** betrug 19000). Die höchste Toxizität zeigte in dieser Molekül-Reihe die Verbindung **96**, welche

allerdings im Bereich von Verbindung **33** lag. Nichtsdestotrotz wurde mit einer Aktivität von 0.033 μM auch hier eine ausgeprägte antitrypanosomale Selektivität beobachtet ($\text{SI} > 1200$).

Tab. 40: Physiko-chemische Eigenschaften der Verbindungen **93 - 94** und **96** im Vergleich zu **33**.

Verbdg.	Molekül- masse ^a [g/mol]	logP	PSA [Å ²]	HBA / HBD	RB	Protein- bindung [%]	Intrinsische Löslichkeit	
							PBS [μM]	PBS/Tween80 (1%) [μM]
93	420.5	3.05	74.2	7 / 1	8	67.6	100	1000
94	438.5	1.74	74.2	7 / 1	8	99.9	> 5000	> 5000
96	452.5	2.67	65.1	7 / 1	8	45.9	1000	1500
33	437.5	3.67	61.9	6 / 1	8	80.5	< 10	100

^a: Die Molekülmasse wurde für den Wirkstoff ohne Gegenion/Co-Kristall-Bildner berechnet.

Die Lipinski's Ro5 wurden durch die physiko-chemischen Parameter (**Tab. 40**) der Verbindungen **93 - 94** und **96** erfüllt, was für die orale Bioverfügbarkeit dieser Derivate sprach. Durch die strukturelle Modifikation, sprich die Einführung eines basischen Strukturelements, wurde die Hydrophilie dieser Verbindungen erhöht (logP, PSA) und ermöglichte die Darstellung als Oxalsäure-Salz bzw. Co-Kristall, was zu einer deutlichen Löslichkeitsverbesserung im Vergleich zu **33** führte. Im Fokus der Substanzcharakterisierung stand auch die Bestimmung der Plasmaproteinbindung (PPB), welche für die Oxalat-Derivate **93** und **96** in einem unbedenklichen Bereich gefunden wurden (67.6 %, 45.9 %). Die Proteinbindung von **94** konnte mit 99.9 % hingegen als kritisch angesehen werden, da nur ein freier, ungebundener Anteil von 0.1 % für die therapeutische Wirkung zur Verfügung stand. Im *In-vitro*-System wird allerdings nicht die Clearance berücksichtigt. *In vivo* ist eine hohe PPB mit geringer Clearance begleitet und führt damit zu einer vergleichbaren freien Wirkstoffkonzentration wie Verbindungen mit niedriger PPB aber dafür hoher Clearance.¹⁷⁵ Zudem zeigen auch bekannte *In-vivo*-aktive Wirkstoffe wie Suramin (> 99 %)¹⁷⁶ und das kürzlich zur Behandlung von Mukoviszidose zugelassene Chinolon-3-carboxamid Ivacaftor (99 %)¹⁷⁷ eine sehr hohe Affinität zu Plasmaproteinen, weshalb die hohe Proteinbindung von **94** kein absolutes „Knockout“-Kriterium war.

In Summe zeigten die Oxalate **93 - 94** und **96** zu Verbindung **33** vergleichbare antitrypanosomale Wirksamkeiten gegen *T. b. rhodesiense*, allerdings mit teilweise geringerem zytotoxischem

Potential, was zu ausgeprägteren Selektivitäten führte. Die „*drug-likeness*“ wurde durch die physiko-chemischen Parameter dieser Derivate erfüllt. Vor allem der logP-Wert konnte im Vergleich zu Verbindung **33** weiter reduziert werden, was die Hydrophilie der Moleküle erhöhte und in Kombination mit Oxalsäure Festkörperstrukturen mit deutlich verbesserter Löslichkeit ermöglichte. Anhand dieser Ergebnisse konnten die Verbindungen **93 - 94** und **96** als weiterentwickelte, potenzielle präklinische Kandidaten betrachtet werden.

Für die weitere physiko-chemische Charakterisierung wurden **94** und **96** aufgrund der besseren Wasserlöslichkeit ausgewählt.

3.4.3.1 In-vitro-Bestimmung von Permeabilität und Plasmastabilität

In Zusammenarbeit mit dem Teilprojekt Z1 des SFB630 wurden die Membranpermeabilität und die Plasmastabilität der Verbindungen **94** und **96** bestimmt.

Entsprechend dem Protokoll von Hubatsch *et al.*¹⁷⁸ wurde der Permeabilitätskoeffizient P_{app} („*apparent permeability coefficient*“), welcher zur Vorhersage der oralen Absorption eines Wirkstoffs herangezogen werden kann, mit Hilfe eines Transwell-Assays an einer Caco-2-Zellschicht bestimmt. Bei einer apikal eingesetzten Wirkstoffkonzentration von 100 μM (0.5 % DMSO) wurde für 60 min bei 37 °C inkubiert, gefolgt von der Probenentnahme aus dem basolateralen Volumen ($2 \times 100 \mu\text{M}$). Zusätzlich wurde aus dem apikalen Volumen nach 0 min eine Referenzprobe entnommen. Für die Verbindungen **94** und **96** wurden basolaterale Proben aus drei Zellassays gesammelt, im Verhältnis von 1:1 mit ACN verdünnt und mittels HPLC (RP-C12-Säule) vermessen. Da das basolaterale Volumen (600 μl) um den Faktor vier größer war als das apikale Volumen (150 μl), wurden die erhaltenen Peakflächen der Verbindungen entsprechend multipliziert. Bezogen auf die Peakfläche der Ausgangskonzentration (apikal, $t = 0$) konnte die prozentuale Permeabilität von **94** und **96** bestimmt werden, woraus sich mit einem basolateralen Volumen (V_a) von 0.6 ml, einer Inkubationszeit von 3600 sek. und einer Fläche von 0.33 cm^2 die P_{app} -Werte über folgende Gleichung berechnen ließen:

$$P_{app} = \frac{V_a}{\text{Fläche} \times \text{Zeit}} \times \frac{[\text{Wirkstoff}_{\text{basolateral}}]}{[\text{Wirkstoff}_{\text{apikal}}]}$$

Tab. 41: P_{app} -Werte und Einstufung der Derivate **94** und **96**.

Verbindung	Anteil basolateral [%]	P_{app} [cm/s]	Einstufung
94	3.6 (\pm 0.6)	18.2×10^{-6}	moderat
96	2.6 % (\pm 1.5)	13.1×10^{-6}	moderat

Die Einstufung der untersuchten Verbindungen erfolgte durch Vergleich der berechneten P_{app} -Werte von **94** und **96** mit den P_{app} -Werten von einer gering (Lucifer Yellow, $P_{app} < 5 \times 10^{-6}$ cm/s), einer moderat

(Rodamin, $P_{app} = 5 \times 10^{-6} - 20 \times 10^{-6}$ cm/s) und einer hoch permeablen Verbindung (Propanolol, $P_{app} > 20 \times 10^{-6}$ cm/s). Somit konnte für beide Oxalat-Derivate eine moderate Permeabilität gefunden werden (**Tab. 41**). Zusammen mit einer hohen Wasserlöslichkeit konnten die Verbindungen **94** und **96** nach dem BCS der Klasse I zugeordnet werden, was als ideal für eine orale Bioverfügbarkeit angesehen wird.

Analog dem Protokoll von Di *et al.*¹⁷⁹ wurde die Stabilität der Verbindungen **94** und **96** in männlichem Rattenplasma untersucht. Da geringe Plasmastabilität mit schneller Clearance und kurzer Halbwertszeit eines Wirkstoffs korrelieren, ist dies ein wichtiger Parameter in der Wirkstoffentwicklung. Eingesetzt wurde eine 1 mM DMSO-Stammlösung der Verbindungen **94** und **96**, welche mit einem Plasma/PBS-Puffer (pH = 4.7)-Mix für 2 h bei 37 °C inkubiert wurde (Wirkstoffkonzentration: 10 μ M). Neben einer Referenz, die zum Zeitpunkt $t = 0$ min entnommen wurde, erfolgten Probenziehungen bei $t = 30, 60$ und 120 min. Die Proben (100 μ l) wurden mit 300 μ l ACN versetzt, zentrifugiert und der Überstand (200 μ l, Wirkstoffkonzentration: 2.5 μ M) für die HPLC-Analytik zur Verfügung gestellt. Anhand der erhaltenen Peakflächen (Mittelwert aus zwei Versuchen pro Verbindung) wurde die Stabilität der Oxalat-Derivate bezüglich der Referenzprobe ($t = 0$ min; entsprach 100 %) bestimmt.

Anhand der graphischen Auswertung (**Abb. 50**) der Stabilitätsuntersuchungen war in beiden Fällen keine signifikante Änderung der Wirkstoffkonzentration ersichtlich, was die Stabilität der Verbindungen **94** und **96** im Plasma über einen Zeitraum von 120 min bestätigte.

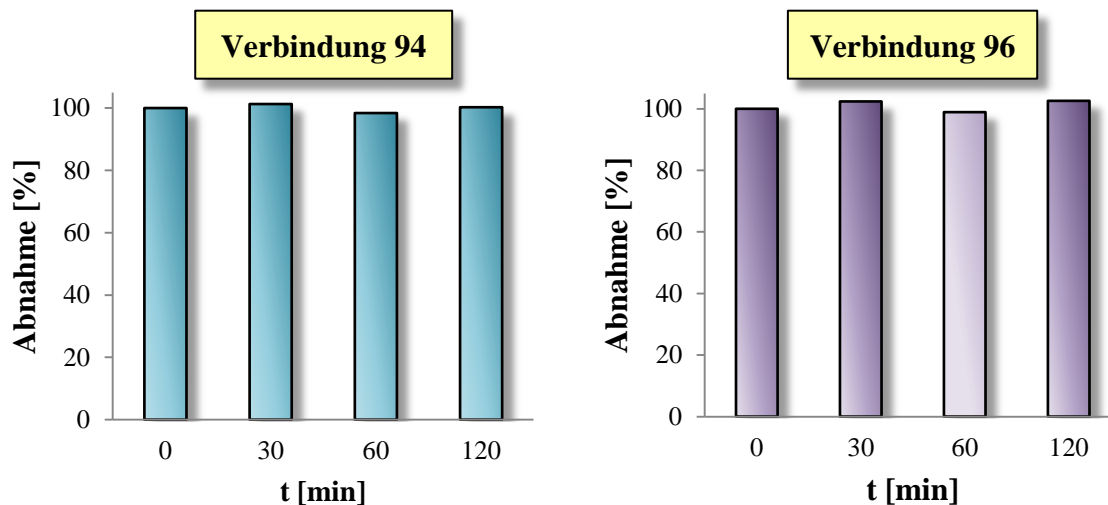


Abb. 50: Plasmastabilität von **94** und **96** über einen Zeitraum von 120 min.

3.4.3.2 Physiko-chemische Charakterisierung mittels Sirius T3

Physiko-chemische Parameter wie pK_s - und $\log P$ -Werte sowie intrinsische Löslichkeit sind wichtige Kenngrößen für die Entwicklung eines Wirkstoffs. Vor allem für pharmazeutische Salze und Co-Kristalle ist eine vollständige Charakterisierung notwendig, da es unter *In-vivo*-Bedingungen zur Dissoziation und somit Präzipitation des Wirkstoffs kommen kann. Insbesondere bei der Festlegung von Dosen für *In-vivo*-Untersuchungen ist die Kenntnis der Löslichkeitsgrenze der freien Säure oder Base, bzw. des Salzes unter den jeweils vorherrschenden physiologischen Bedingungen von essenzieller Bedeutung.

Die physiko-chemische Charakterisierung der Oxalat-Derivate **94** und **96** wurde von N. Hecht im AK Prof. Meinel (Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie) mittels eines Sirius-T3-Titrationssystems vorgenommen.

1. Bestimmung der pK_s -Werte von **94** und **96**

Da sowohl die Verteilung zwischen Lipid- und Wasser-Phase als auch die thermodynamische Löslichkeit eines Wirkstoffs von seinem Ionisierungszustand bei einem bestimmten pH-Wert abhängen, ist die Ermittlung der pK_s -Werte einer Verbindung von großer Wichtigkeit. Die Bestimmung der $\log P$ -Werte und der Löslichkeitsdaten mittels Sirius T3 wird unter Einbeziehung der vorher ermittelten pK_s -Werte vorgenommen, welche sowohl UV- als auch potentiometrisch bestimmt werden können:¹⁸⁰

- UV-metrischer Assay:
Voraussetzung für die Anwendbarkeit der Methode ist, dass der Wirkstoff ein Chromophor und mindestens eine ionisierbare Gruppe im pH-Bereich zwischen 2 und 12 besitzt, welche in räumlicher Nähe zum Chromophor steht. Die Änderung des ionischen Zustands einer Verbindung durch Titration über den angegebenen pH-Bereich resultiert in unterschiedlichen molaren Extinktionskoeffizienten, weshalb der pK_s -Wert anhand von UV-Absorptionsänderungen bestimmt werden kann.
- pH-metrischer Assay:
Die Änderung des elektrochemischen Potentials und damit die Änderung der Konzentration der H^+ -Ionen in der Analysenlösung in Abhängigkeit von Säure- oder Basenzugabe wird mit einer pH-Elektrode bestimmt. Der Äquivalenzpunkt und damit der pK_s -Wert wird durch eine sprunghafte pH- bzw. Spannungsänderung pro Volumenzugabe ermittelt. Die Visualisierung erfolgt in einem Bjerrum-Diagramm, welches eine Funktion aus pH-Wert (x-Achse) und mittlerer molaren Ladung (y-Achse) darstellt. Für monoprotische Basen bzw. Säuren ergibt sich somit eine Skalierung von +1 bzw. -1 bis 0, wobei der Äquivalenzpunkt und somit der pK_s -Wert bei +0.5 bzw. -0.5 gefunden wird.

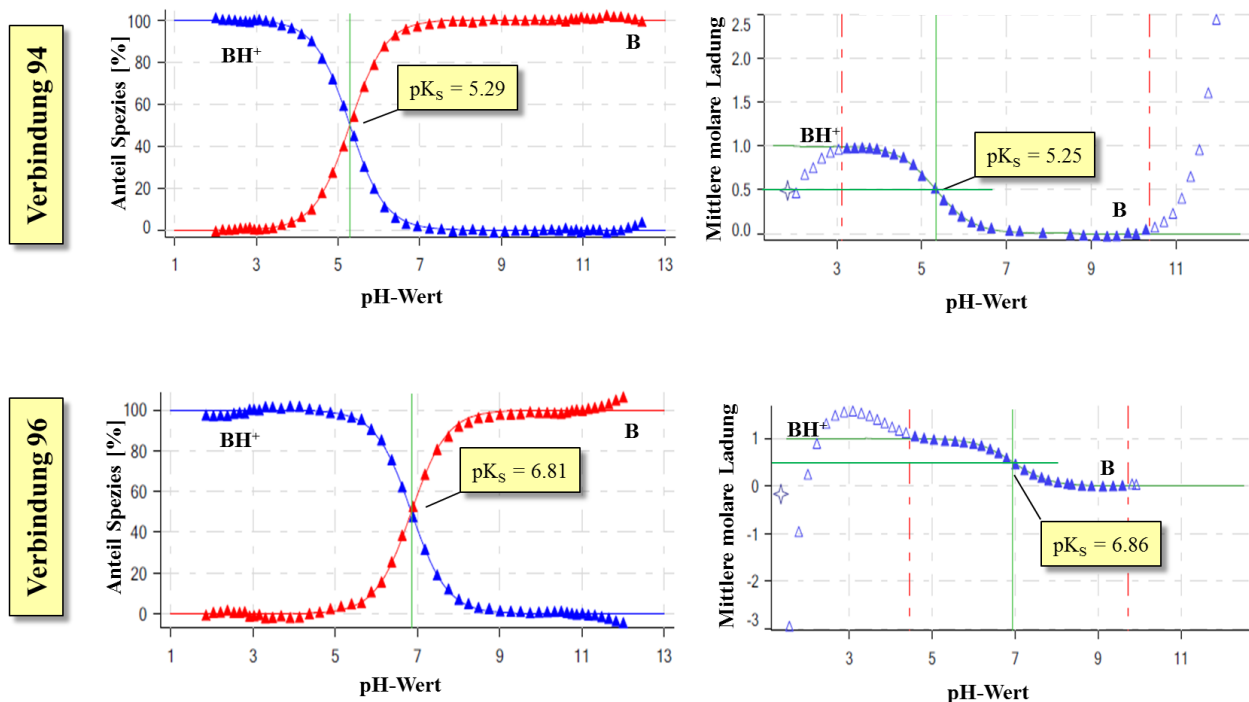


Abb. 51: UV-metrische (links) und potentiometrische pK_s -Bestimmung (rechts) von Verbindungen 94 und 96.

Die UV-metrische pK_s -Bestimmung der Derivate **94** und **96** erfolgte in ISA-Wasser („*ionic-strength adjusted*“-Wasser, KCl 0.15 M). Beginnend im Sauren, erfolgte die Titration mit 0.5 M KOH-Lösung bis zu einem pH-Wert von 12. Dabei wurde für beide Verbindungen jeweils ein pK_s -Wert gefunden, welcher dem basischen Pyridin-Ring der Verbindung **94** ($pK_s = 5.29$) bzw. dem *tert.* Amin-Rest der Verbindung **96** ($pK_s = 6.81$) zugeordnet werden konnte (**Abb. 51**).

Analog dazu wurde die pH-metrische pK_s -Bestimmung durchgeführt. Die Titration erfolgte erneut vom niedrigen zum hohen pH-Bereich. In beiden Fällen konnten wieder je ein pK_s -Wert gefunden werden, welcher sich mit den Werten der UV-metrischen Bestimmung deckte (**Abb. 51**). Der schnelle UV-metrische Assay hat den Zweck eines Vorscreenings, der pH-metrische Assay gilt als Goldstandard, weshalb für die weitere Charakterisierung der pH-metrisch bestimmte pK_s -Wert beider Verbindungen verwendet wurde.

2. $\log P$ -Bestimmung von **94** und **96**

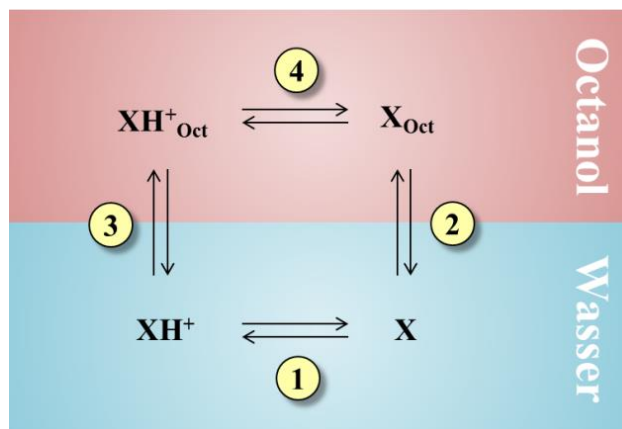


Abb. 52: Gleichgewichte einer basischen Verbindung in einem Octanol-Wasser-System.

Die Bestimmung des $\log P$ -Werts einer Verbindung basiert auf einer wässrigen potentiometrischen Titration in Gegenwart eines mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittels (Octanol). **Abb. 52** zeigt die in diesem zwei-Phasen System vorherrschenden Gleichgewichte: In einem rein wässrigen System ist der Grad der Ionisation einer Verbindung abhängig vom pK_s -Wert, wodurch das Gleichgewicht **1** gegeben ist. Die

Zugabe einer Octanol-Phase ermöglicht der neutralen Verbindung (**X**) sich in einem Zwei-Phasen-System zu verteilen (Gleichgewicht **2**, entspricht $\log P$ -Wert). Die Diffusion der geladenen Verbindung (**XH⁺**) in die Octanolphase findet nur in sehr geringem Ausmaß statt (Gleichgewicht **3**, $\log P_{\text{ion}}$). Durch den Entzug von **X** und **XH⁺** aus der Wasser- in die Octanol-Phase wird automatisch Gleichgewicht **1** beeinflusst. Diese Störung wird durch die Einstellung eines neuen Gleichgewichts (**4**) kompensiert. Die Diffusion in die Octanol-Phase führt zu einer Konzentrationsänderung der neutralen bzw. geladenen Spezies in der wässrigen Phase, woraus für Basen eine Linksverschiebung der Titrationskurve mit einem neuen pK_s -Wert (p_oK_s -Wert) im Vergleich zum rein wässrigen System resultiert. Für Säuren verhält sich dies umgekehrt.¹⁸⁰

Durch das Sirius-T3-Titrationssystem wird somit pH-metrisch der p_oK_s -Wert einer Verbindung bestimmt. Anhand des Unterschieds zum pK_s -Wert wird schließlich der $\log P$ -Wert nach folgender Gleichung berechnet:¹⁸⁰

$$\log P = \sqrt{(p_oK_s^{\text{neutral}} - pK_s)^2} - \sqrt{(p_oK_s^{\text{neutral}} - p_oK_s^{\text{Ion}})^2} - \log R$$

$\log R$ ist dabei das logarithmierte Volumenverhältnis von Octanol zu Wasser.

Je größer der Betrag der Verschiebung auf der x-Achse, desto mehr Substanz diffundiert aus der Wasser- in die Octanol-Phase und desto höher ist der $\log P$ -Wert einer Verbindung.

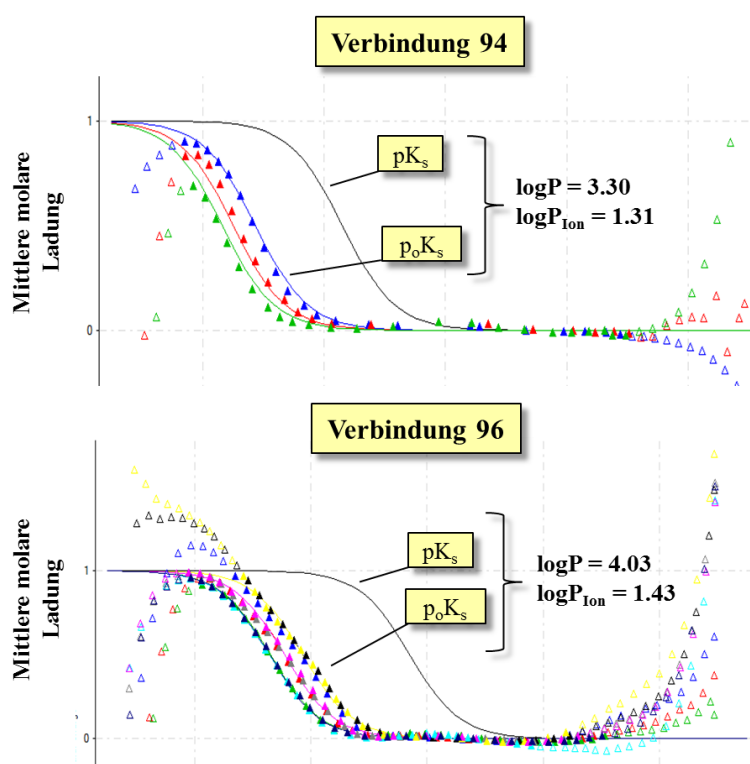


Abb. 53: pH-metrische $\log P$ -Bestimmung von **94** und **96**.

Zur Bestimmung der $\log P$ -Werte von Verbindung **94** und **96** wurde der p_oK_s -Wert beider Derivate in unterschiedlichen Volumenverhältnissen von Octanol und ISA-Wasser pH-metrisch gemessen (farbige Titrationskurven, **Abb. 53**). Die Titration erfolgte erneut vom niedrigen zum hohen pH-Bereich mit 0.5 M KOH-Lösung, wodurch letztendlich $\log P$ -Werte von 3.30 (**94**) und 4.03 (**96**) erhalten wurden. Auffällig ist hierbei eine starke Abweichung von den Ergebnissen der $\log P$ -Bestimmung mittels HPLC

(Verbindung **94**: 1.74, Verbindung **96**: 2.67). Dabei ist allerdings zu beachten, dass durch die Sirius-T3-Experimente die Octanol-Wasser-Verteilung der neutralen Spezies bestimmt werden, während die HPLC-Methode die Ermittlung der Verteilung einer Verbindung bei festem pH-Wert (7.4) ermöglicht. Da sowohl **94** ($pK_s = 5.25$) als auch **96** ($pK_s = 6.86$) basische Strukturelemente besitzen, liegen beide Derivate bei einem pH-Wert von 7.4 in unterschiedlichem Maße ionisiert vor. Nach Henderson-Hasselbalch¹⁸¹ betragen die Anteile der neutralen Spezies von **94** und **96** bei physiologischen pH-Wert 99.9 % und 78.6 %. Mit der HPLC-Methode wurde somit der

logD_{7.4}-Wert statt des logP-Werts dieser Verbindungen bestimmt. Verbindung **96** liegt bei physiologischem pH-Wert zu über 20 % protoniert vor, weshalb hier der deutliche Unterschied zwischen logD_{7.4} (HPLC)- und logP (Sirius T3)-Wert erklärt werden kann. Verbindung **94** hingegen liegt nur zu < 0.1 % protoniert vor, was nicht die Ursache für die sich um mehr als eine log-Einheit unterscheidenden Verteilungskoeffizienten sein kann. Ein Kritikpunkt der logD_{7.4}-Bestimmung mit HPLC ist in der Wahl der Referenzsubstanzen zu finden, auf welchen die Validierung der Methode basiert (Kapitel 6.9): Diese literaturbekannten Verbindungen¹⁸² decken zwar einen logP-Bereich von ca. 1 - 5 ab, sind aber mit den zu untersuchenden 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivaten nicht strukturverwandt. Unter Einbezug des mit Sirius T3 ermittelten logP-Werts von **94** kann somit vermutet werden, dass die HPLC-Methode nur zur Abschätzung des Verteilungskoeffizienten der 4-Chinolon-3-carboxamide, aber nicht zur exakten Bestimmung geeignet ist.

3. Bestimmung der Löslichkeit von **94** und **96**

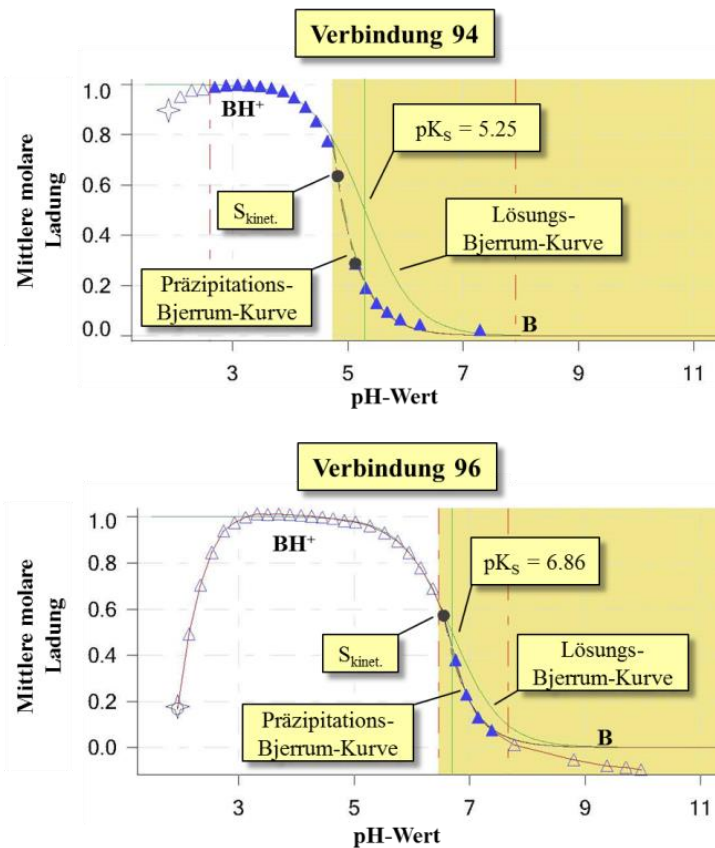


Abb. 54: Bestimmung von kinetischer und intrinsischer Löslichkeit von **94** und **96**.

Zur Löslichkeitsbestimmung mittels Sirius-T3 wird die Titration in einem pH-Bereich begonnen, in welchem die Verbindung vollständig ionisiert vorliegt und somit laut Theorie besser in Wasser löslich ist als die neutrale Spezies. Die Titration in Richtung des pK_s-Werts der Verbindung führt zur Erhöhung der Konzentration der neutralen Spezies. Sobald die Löslichkeitsgrenze überschritten wird, präzipitiert die Verbindung (gelbe Fläche im Bjerrum-Diagramm, **Abb. 54**). Die kinetische Löslichkeit ($S_{\text{kinet.}}$), sprich die Konzentration einer Verbindung in Lösung bei erstmaligem Auftreten von

Präzipitaten, wird über den Anstieg der UV-Absorption bei 500 nm detektiert. Die Ermittlung der

intrinsischen Löslichkeit (S_0), d. h. der Sättigungslöslichkeit der neutralen Spezies, erfolgt mit der „Curve-fitting“-Methode: Dazu wird zunächst, ausgehend von eingesetzter Substanzmenge, pK_s - und pH-Wert ein Ionisierungsprofil der Substanz im gelösten Zustand (Lösungs-Bjerrum-Kurve) erstellt. Die während der Präzipitation gesammelten Datenpunkte liegen auf einer Kurve (Präzipitations-Bjerrum-Kurve) für die zum jeweiligen pH-Wert gegebene thermodynamische Löslichkeit, weshalb der pH-Wert, bei dem diese Kurve vom Ionisierungsprofil des gelösten Zustands abweicht, zur Berechnung der intrinsischen Löslichkeit S_0 verwendet wird.¹⁸⁰

Tab. 42: $S_{kinet.}$ und S_0 von **94** und **96**.

Verbindung	$S_{kinet.}$		S_0	
	[μ M]	[μ g/ml]	[μ M]	[μ g/ml]
94	726.2	416.6	664.4	381.1
96	366.9	199.1	381.9	206.7

Da es sich bei den Verbindungen **94** und **96** um monoprotische Basen handelt, erfolgte die Titration vom niedrigen zum hohen pH-Bereich, um die Verbindungen zu Beginn vollständig ionisiert und damit gelöst

vorzulegen. Die intrinsischen Löslichkeiten S_0 beider Derivate in ISA-Wasser wurden anschließend mit der „Curve-fitting“-Methode potentiometrisch zu 664.6 μ M (**94**) und 381.9 μ M (**96**) bestimmt. Da sich diese in beiden Fällen nicht signifikant von der jeweiligen kinetischen Löslichkeit unterscheidet, handelt es sich bei diesen Verbindungen um sogenannte „Non-Chaser“, sprich Substanzen, die nicht supersaturieren (**Abb. 54, Tab. 42**).

3.4.3.3 In-vivo-Untersuchung der Oxalat-Derivate **94** und **96**

Analog zu Verbindung **33** (Kapitel 3.3.1.2.3) wurde auch für die Wirkstoffkandidaten **94** und **96** basierend auf den experimentell bestimmten physiko-chemischen Parametern (pK_s , $\log P$, Plasmaproteinbindung) eine *In-vivo*-Studie mittels Simcyp[®] simuliert. Da für diese Verbindungen keine Metabolismus-Daten zur Verfügung standen, wurde die hepatische Clearance unter der Annahme berechnet, dass die Oxalat-Derivate einer ähnlichen Abbau-Kinetik wie Verbindung **33** unterliegen. Somit wurde die Eliminierungskonstante k_e (0.12 h^{-1}), welche aus den Metabolismus-Daten von Verbindung **33** ermittelt wurde (Kapitel 3.2.1), zur Abschätzung der Clearance von Verbindungen **94** und **96** verwendet. Mit einem Verteilungsvolumen V_d , welches von der Software Simcyp[®] unter Einbezug der Plasmaproteinbindung und des $\log P$ -Werts zu 1.51 l/kg (**94**) und 9.34 l/kg (**96**) vorhergesagt wurde, und dem Gewicht einer Maus (0.025 kg) erfolgte die Berechnung von Cl_{int} nach folgender Gleichung:

$$Cl_{\text{int}} = k_e \times V_d \times m_{\text{Maus}}$$

Für die Oxalat-Derivate wurden auf diese Weise Cl_{int} -Werte von 0.08 ml/min (**94**) und 0.47 ml/min (**96**) ermittelt, welche deutlich den Einfluss der Plasmaproteinbindung zeigen. Im Vergleich zu Verbindung **96** mit einer Proteinbindung von ca. 46 % spricht der Cl_{int} -Wert von Verbindung **94** aufgrund der sehr viel höheren Affinität zu Albumin (> 99 %) für eine langsame hepatische Eliminierung.

Bei der Dosisfestlegung wurde darauf geachtet, möglichst identische Parameter wie im Fall von Verbindung **33** (Kapitel 3.3.1.2.3) zu wählen, um nach erfolgter Testung aussagekräftige Vergleiche zwischen den Substanzen ziehen zu können. Zur intraperitonealen Applikation einer Stoffmenge von 200 nmol (**94**: 115 µg, **96**: 109 µg) in einem Injektionsvolumen von 250 µl wurde daher eine Formulierung bestehend aus PBS-Puffer (pH = 7.4), 5 % Glucose, 1 % Tween80 und 5 % DMSO verwendet. Die Studiendauer wurde dabei auf 4 d bei zweifacher täglicher Applikation festgelegt (**Abb. 55**).

Anhand dieser Parameter wurde nun für beide Verbindungen Plasmakonzentrationssimulationen erstellt, welche folgenden Einschränkungen unterlagen:

- Die Kinetik (k_e) der Metabolisierung von **94** und **96** entsprach jener von Verbindung **33**.
- Es wurde von einer vollständig hepatischen Eliminierung ausgegangen.
- Cl_{int} wurde unter Annahme einer Kinetik 1. Ordnung berechnet.
- V_d wurde von Simcyp[®] berechnet.

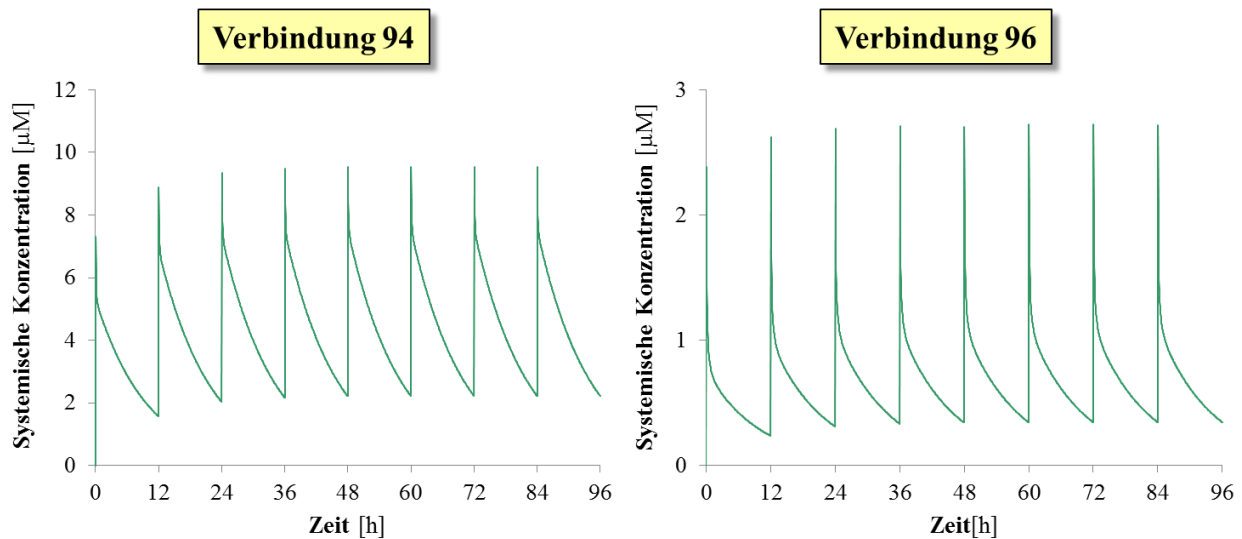


Abb. 55: Plasmakonzentrationssimulation für Verbindungen **94** und **96** bei zweifacher täglicher Gabe (i.p.) einer Stoffmenge von 200 nmol über einen Zeitraum von 4 d.

Bei einer Verabreichung von 200 nmol wurden maximale Plasmakonzentrationen von ca. 7 μM (**94**) und ca. 1 μM (**96**) simuliert, welche nach 12 h auf Minima von ca. 2 μM (**94**) bzw. ca. 300 nM (**96**) absanken. Dabei überstiegen selbst die minimalen Plasmakonzentrationen beider Verbindungen den jeweiligen IC_{50} -Werte (**94**: 0.004 μM , **96**: 0.033 μM) um Faktor 500 (**94**) bzw. Faktor 9 (**96**).

Im Unterschied zu Verbindung **33** (maximale Löslichkeit betrug ca. 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in PBS-Puffer) zeichneten sich die Oxalat-Derivate durch deutlich höhere Löslichkeiten aus (**94**: 381.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$, **96**: 206.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$, in ISA-Wasser), weshalb zusätzlich die Plasmakonzentration einer höheren Dosis simuliert wurde. Da beide Verbindungen ab einer Konzentration von ca. 40 - 50 μM im Zellassay Leber- und Nierentoxizität zeigten, wurde die Dosis letztendlich auf 1 μmol erhöht (Faktor 5).

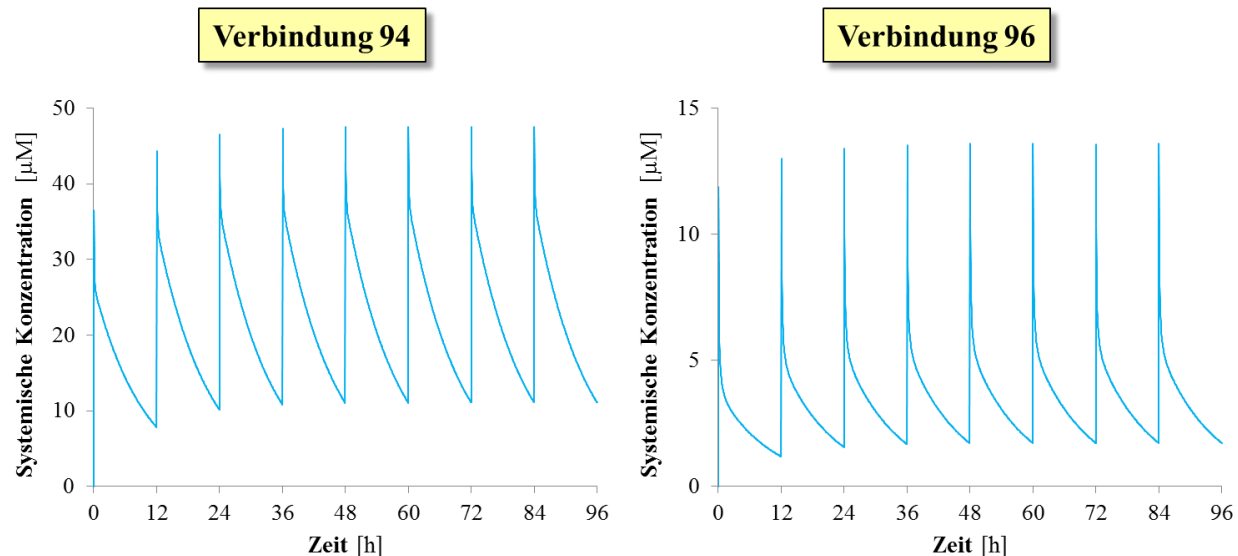


Abb. 56: Plasmakonzentrationssimulation für Verbindungen **94** und **96** bei zweifacher täglicher Applikation (i.p.) einer Stoffmenge von 1 μmol über den Zeitraum von 4 d.

Die Simulationen (**Abb. 56**) einer zweifache tägliche Applikation von 1 μmol pro 250 μl (**94**: 573 μg , **96**: 543 μg) ergab maximale Plasmakonzentrationen, welche die toxischen Grenzen der Verbindungen nicht überschritten. Zudem wurde im Fall von Verbindung **94** selbst nach 12 h (minimale Plasmakonzentration) die therapeutisch notwendige Konzentration ($\text{IC}_{50} = 0.004 \mu\text{M}$) um ein Vielfaches überschritten (Faktor 2500). Für Verbindung **96** war der Unterschied geringer, dennoch lag die Plasmakonzentration nach 12 h um Faktor 45 über dem IC_{50} -Wert (0.033 μM).

Tab. 43: Vorläufige Ergebnisse nach 8-tägiger Behandlung.

Verbdg.	Dosis	Gabe	Vehikel	Parasiten-negativ/ Anzahl der Mäuse	
				5 Tage Behandlung	8 Tage Behandlung
94	22.9 mg/kg	i.p.	PBS-Puffer	4/4	0 ^a /4
			DMSO (5 %)		
			Glukose (5 %)		
			Tween80 (1 %)		
96	21.7 mg/kg	i.p.	PBS-Puffer	4/4	1 ^a /4
			DMSO (5 %)		
			Glukose (5 %)		
			Tween80 (1 %)		

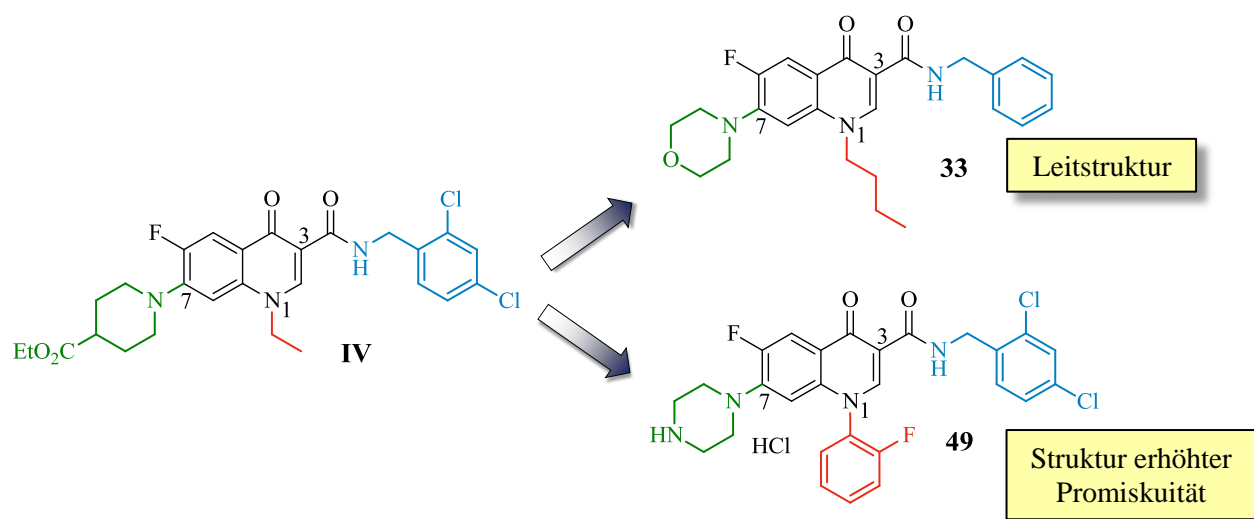
^a: Rückfall wurde an Tag 8 beobachtet. Die Parasitenanzahl übersteigt noch nicht die kritische Grenze.

Analog zu Verbindung **33** (Kapitel 3.3.1.2.3) dienten die Simcyp[®]-Simulationen auch im Fall der Oxalat-Derivate als Grundlage für die *In-vivo*-Testung. An mit *T. b. rhodesiense* infizierten (STIB900) NMRI-Mäusen wurde zunächst die hohe Dosis (1 µmol/250 µl) von **94** und **96** untersucht. Nach 5-tägiger intraperitonealer Behandlung (zweifache täglicher Gabe) waren bei sämtlichen Mäusen beider Versuchsgruppen (je 4 Mäuse) keine Parasiten mehr nachweisbar. An Tag 8 der Behandlung wurden in beiden Versuchsgruppen mehrheitlich Rückfälle beobachtet. Die kritische Parasitenanzahl wurde dabei aber noch nicht überschritten, weshalb die Behandlungen mit **94** und **96** zurzeit fortgesetzt werden. Ein endgültiges Ergebnis war zum Abschluß dieser Arbeit noch nicht verfügbar, dennoch ist die beobachtete *In-vivo*-Aktivität beider Derivate während der ersten 8 Behandlungstage hervorzuheben (**Tab. 43**).

4 ZUSAMMENFASSUNG

Die humane afrikanische Trypanosomiasis (Schlafkrankheit, HAT) wird durch die Parasiten *Trypanosoma brucei rhodesiense* und *Trypanosoma brucei gambiense* ausgelöst und führt unbehandelt zum Tod. Wegen begrenzter Therapiemöglichkeiten sowie vernachlässigter Kontrollprogramme ist HAT eine gegenwärtige Bedrohung, was die Suche nach neuen Wirkstoffen notwendig macht.

Im Fokus dieser Arbeit stand die Entwicklung erster Leitstrukturen (SAR) und anschließende Optimierung zu biologisch hoch aktiven sowie physiko-chemisch ausbalancierten („drug-like“) Wirkstoffkandidaten (SPR) für die *In-vivo*-Untersuchung.

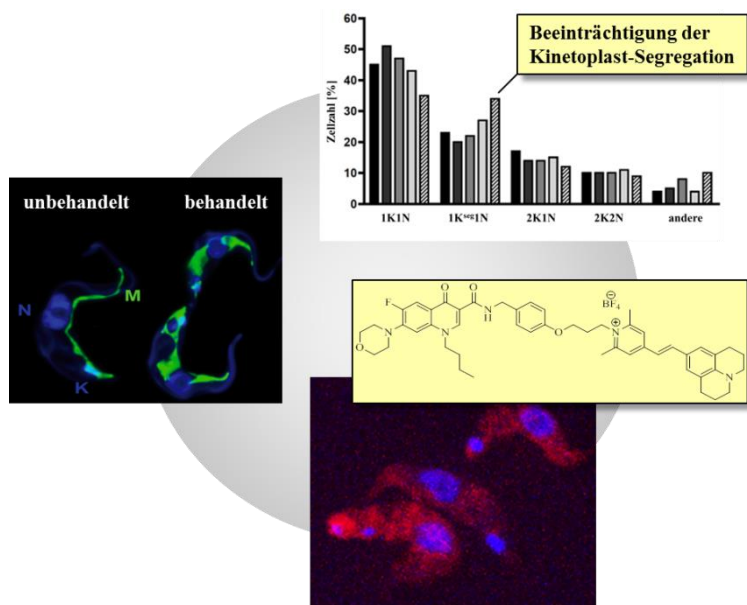


Ausgangspunkt für die Leitstrukturfindung war das 7-Amino-4-chinolon-3-carboxamid **IV** mit einem IC_{50} -Wert (*T. b. brucei*) von 1.2 μ M. Die 4-Chinolon-3-carboxamid-Grundstrukturen wurden unter Verwendung der Gould-Jacobs- (1-Alkyl-Derivate) bzw. der Grohe-Heitzer-Synthese (1-Aryl-Derivate) aufgebaut und anhand strukturierter Variation der Substituenten in Pos. 1, 3 und 7 die für die antitrypanosomale Wirksamkeit essenziellen Strukturelemente identifiziert:

- Pos. 1 (rot): Die Alkylkettenverlängerung von Ethyl zu *n*-Butyl bewirkte eine stetige Aktivitätssteigerung, welche auch einem Aryl-Rest in dieser Position überlegen war.
- Pos. 3 (blau): Benzylamide mit HBD-Funktionen führten zur Aktivitätsabnahme, während HBA-Funktionen und unsubstituierte Reste zur Steigerung der Wirksamkeit, teilweise in den nanomolaren Konzentrationsbereich, beitrugen.

- Pos. 7 (grün): Neben cyclischen *sek.* Aminen wurden auch aliphatische *prim.* Amine via konventioneller oder Mikrowellen-unterstützter S_NAr eingeführt. Dabei zeigten sich die *sek.* Amine mit einer antitrypanosomalen Aktivität im teilweise submikromolaren Bereich den acyclischen Aminen deutlich überlegen. Vor allem der Morpholin-Rest bewirkte eine sprunghafte Wirksamkeitsverbesserung.

Durch Kombination der Einzelresultate konnte schließlich die den Lipinski's „Rule of 5“ entsprechende Leitstruktur **33** mit vielversprechender antitrypanosomaler Wirksamkeit ($IC_{50}(T. b. brucei) = 47$ nM, $IC_{50}(T. b. rhodesiense) = 9$ nM) und geringer Zytotoxizität erhalten

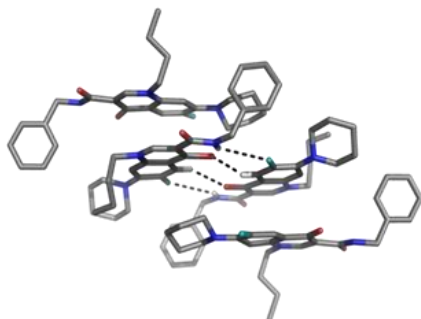


werden ($SI = 19000$). Dementgegen wurde für die lipophileren 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide (logP 4 - 5, z. B. **49**) mit aliphatischen, *sek.* und *prim.* Amin-Resten erhöhte Promiskuität festgestellt, wodurch wichtige Erkenntnisse über das zytotoxische Potential dieser Substanzklasse gewonnen wurden. Erste Untersuchungen zur Identifikation des Targets der

4-Chinolon-3-carboxamide ergaben folgende Erkenntnisse:

- Fluoreszenzmikroskopieuntersuchungen zeigten eine deutliche Veränderung der Morphologie des Mitochondriums bei behandelten BSF-*T. b. brucei*-Zellen.
- Anhand einer Zellzyklus-Analyse wurde die Beeinträchtigung der Segregation des Kinetoplasten beobachtet, was zu einem Segregationsdefekt führte.
- Die Topoisomerase (TbTopoII_{mt}) wurde durch ein „Knockdown“-Experiment als Haupt-Target ausgeschlossen.
- Die Fluoreszenzfarbstoffmarkierung von **33** erbrachte keine weiteren Erkenntnisse über die biologische Zielstruktur.

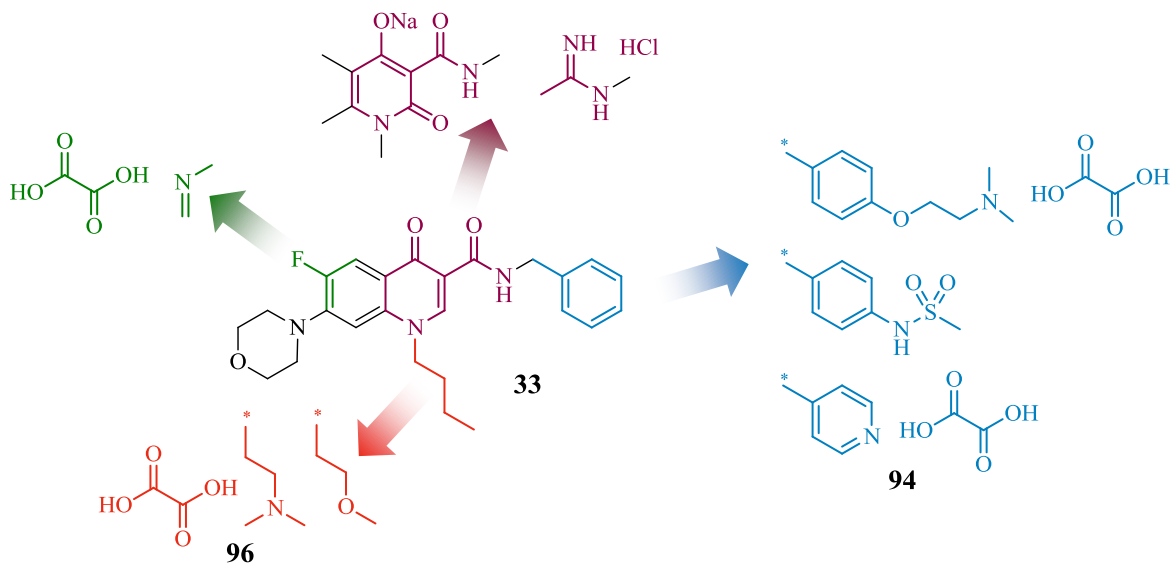
Trotz der bemerkenswerten biologischen Aktivität war eine *In-vivo*-Untersuchung der Leitstruktur wegen zu geringer Wasserlöslichkeit nicht möglich, welche auf eine hochgeordnete Schichtgitterstruktur zurückzuführen war.



Da die Löslichkeit im Wesentlichen eine Funktion der Lipophilie und der intermolekularen Wechselwirkungen ist, wurden zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit pharmazeutisch-technische Methoden angewandt sowie chemische Strukturmodifikationen vorgenommen:

- Es wurde eine Lipid-basierte, selbstemulgierende Formulierung entwickelt (SEDDS). Durch Ausbildung stabiler Emulsionen war **33** bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml im Wässrigen löslich und somit für die *In-vivo*-Untersuchung zugänglich. Nach 4-tägiger peroraler Behandlung von NMRI-Mäusen (mit *T. b. rhodesiense* infiziert) mit einer wässrigen 1:1-Verdünnung der Formulierung (Dosis: 5 mg/ml/24 h) konnte keine *In-vivo*-Aktivität festgestellt werden.
- Die Sprühtrocknung von **33** resultierte in amorpher Modifikation (bestätigt mit XRPD), welche in Gegenwart von PVP (Kollidon[®]30) bzw. Eudragit[®]L100 stabilisiert wurde (ASDD). Beide Partikel ermöglichten die Übersättigung von **33** im Wässrigen, was im Fall der Eudragit[®]L100-Partikel zu 200-facher Löslichkeitssteigerung gegenüber der kristallinen Wirkstoffmodifikation führte und somit die *In-vivo*-Untersuchung ermöglichte. Zusammen mit ersten Metabolismus-Untersuchungen von **33**, welche die Berechnung einer Abbau-Kinetik bzw. Clearance ermöglichte, konnte mittels der Software Simcyp[®] (Version 12.0.79.0) ein Plasmakonzentrationsprofil der Verbindung **33** (Eudragit[®]L100-Partikel) erstellt werden (Dosis: 0.20 µmol/250 µl/12 h). Basierend auf diesem Studiendesign wurde die *In-vivo*-Untersuchung von **33** (ASDD_{Eudragit}) an mit *T. b. rhodesiense* infizierten Mäusen durchgeführt und zeigte nach 8-tägiger Behandlung einen deutlichen Rückgang der Parasitämie. Aufgrund der *In-vivo*-Aktivität von **33** wird die Testung zurzeit fortgesetzt.
- Im Fokus der chemischen Strukturmodifikation stand das Einführen polarer und ionisierbarer Strukturelemente, um 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate mit erhöhter Hydrophilie (logP 1 - 3) bzw. Salz- und Co-Kristall-Strukturen zu erhalten. Sämtliche Strukturvariationen trugen zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit und der „drug-like“ Eigenschaften im Vergleich zu Verbindung **33** bei, waren allerdings von Aktivitätsverlusten gegenüber *T. b. brucei* begleitet. Anhand der „ligand efficiency“- und „lipophilic ligand efficiency“-Analyse wurden schließlich die vielversprechendsten

Derivate (**94** und **96**) für die weitere Untersuchung ausgewählt. Mit IC_{50} (*T. b. rhodesiense*)-Werten von 4 nM (**94**) und 33 nM (**96**) und geringer Zytotoxizität wurden Selektivitätsindizes bis zu 25000 gefunden, welche jene von **33** übertrafen.

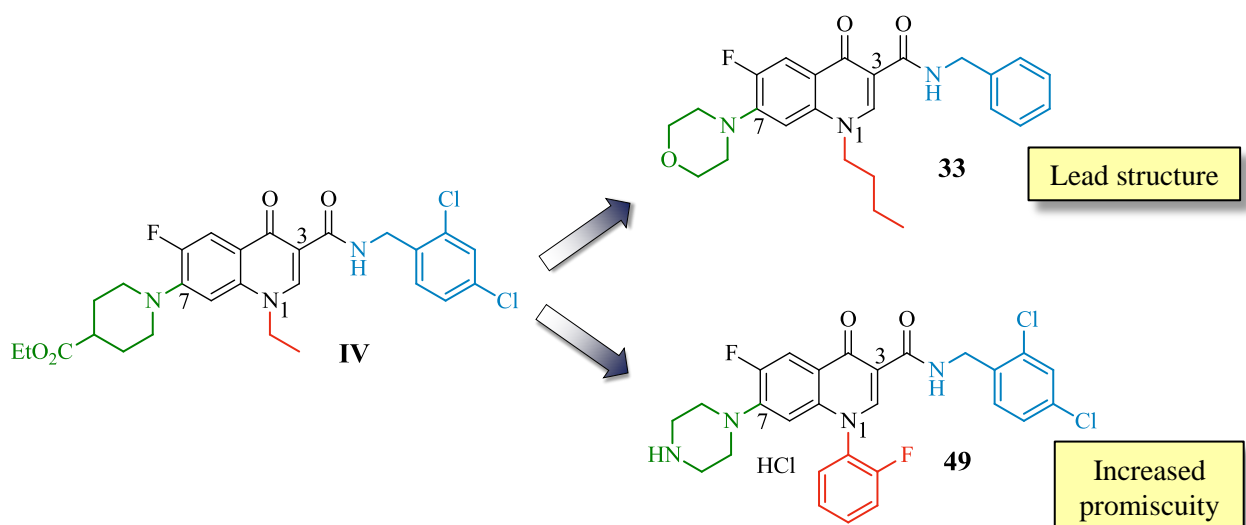


Aufgrund einer Löslichkeit im millimolaren Bereich, einer moderaten Membranpermeabilität (Caco-2-Assay) und einer Plasmastabilität von > 2 h (Stabilitäts-Assay) können die Verbindungen **94** und **96** somit als erste Wirkstoffkandidaten angesehen werden. Die vollständige physiko-chemische Charakterisierung (pK_s , logP, exakte Löslichkeit) wurde mittels eines Sirius-T3-Titrationssystems durchgeführt. Unter Verwendung dieser Parameter wurden für die Derivate **94** und **96** je zwei Plasmakonzentrationsprofile mit der Software Simcyp[®] (niedrige Dosis: 0.20 $\mu\text{mol}/250 \mu\text{l}/12 \text{ h}$, hohe Dosis: 1.00 $\mu\text{M}/250 \mu\text{l}/12 \text{ h}$) simuliert. Basierend auf diesem Studiendesign wurde jeweils die hohe Dosis beider Derivate im Mausmodell (*T. b. rhodesiense*) untersucht. Während nach 5-tägiger Behandlung mit **94** und **96** bei sämtlichen Tieren keine Parasiten mehr nachweisbar waren, wurde ein leichter Rückfall in beiden Versuchsgruppen an Tag 8 beobachtet. Gegenwärtig wird die Behandlung mit beiden Derivaten fortgesetzt.

5 SUMMARY

The human African trypanosomiasis (HAT, sleeping sickness) is caused by the human pathogenic subspecies *Trypanosoma brucei gambiense* and *Trypanosoma brucei rhodesiense* which are transmitted by the bite of the tsetse fly. Without medical treatment patients fall into coma and finally die. Due to limited therapeutic options and neglected surveillance programs HAT is a current threat and makes the search for new easy accessible active compounds inescapable.

The aim of this work was the development of a first lead structure (SAR) and subsequent optimization to achieve a highly potent drug candidate with balanced physico-chemical, drug-like properties (SPR).

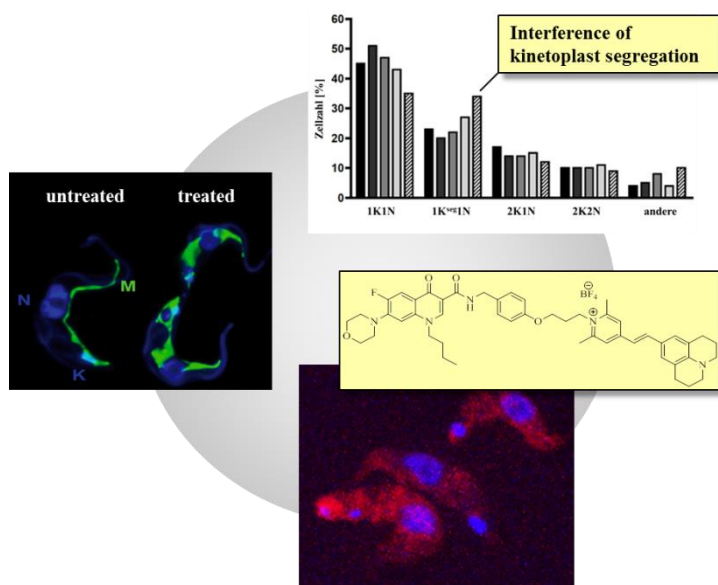


The lead identification step was based on the 7-amino-4-quinolone-3-carboxamide-derivative **IV** showing an IC_{50} value of 1.2 μ M against *T. b. brucei*. Thus, the 4-quinolone-motif was build up by either using the Gould-Jacobs-(1-alkyl-4-quinolone-derivatives) or the Grohe-Heitzer-procedure (1-aryl-4-quinolone-derivatives) followed by SAR (substituents in pos. 1, 3 and 7) to identify essential structural elements:

- pos. 1 (red): Prolongation of the aliphatic chain from ethyl to *n*-butyl led to increased antitrypanosomal activity which also surpassed the aromatic substituent.
- pos. 3 (blue): Benzylamides with HBD-functions decreased the activity, while HBA-functions and unsubstituted benzylamides increased the antitrypanosomal potency, partially to submicromolar concentration range.

- pos.7 (green): Cyclic *sec.* and aliphatic *prim.* amines were introduced in pos. 7 by conventional and microwave-assisted S_NAr. In comparison, *sec.* amines showed higher activity, especially a morpholine residue led to an strong rise in potency.

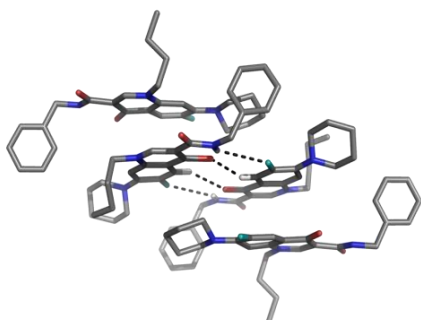
The SAR analysis on the one hand revealed lead structure **33** with promising antitrypanosomal activity (IC₅₀ (*T. b. brucei*) = 47 nM, IC₅₀ (*T. b. rhodesiense*) = 9 nM), drug-like properties



(Lipinski's rule of five are fulfilled), and noncritical cytotoxicity (SI = 19000). On the other hand some 1-aryl-derivatives with aliphatic, *prim.* or *sec.* amine residues and increased lipophilicity (logP 4 - 5, i. e. **49**) showed growing polypharmacological properties which gave new insights in the cytotoxic potential of this molecules crucial for further lead optimization steps.

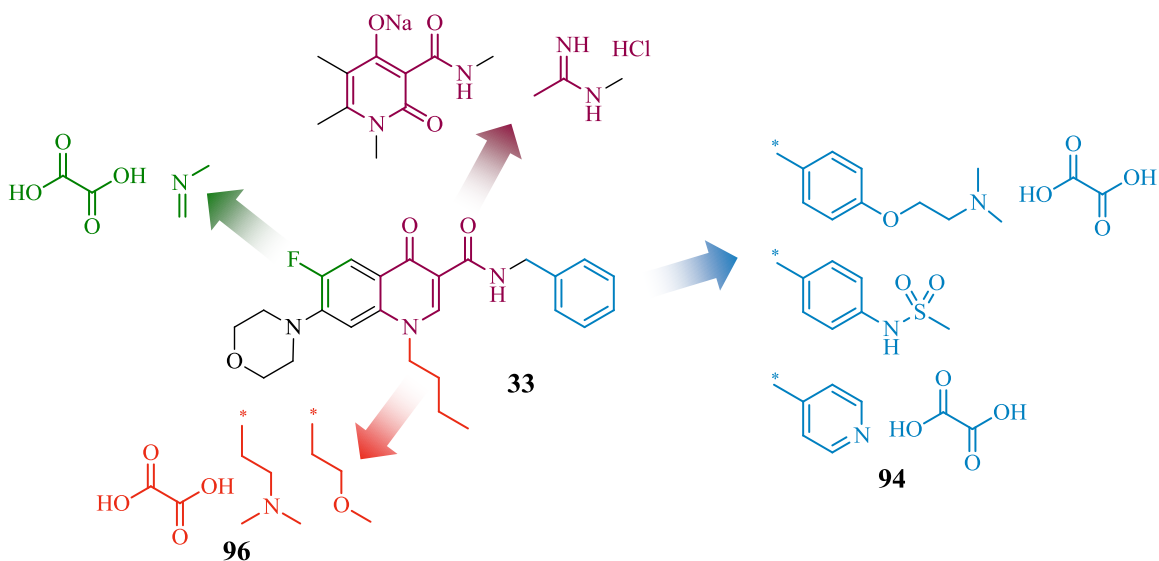
To identify the target of 4-quinoline-3-carboxamide-derivatives first investigations were accomplished:

- Fluorescence microscopy based screening revealed significant change in the morphology of the mitochondrion for treated BSF-*T. b. brucei* cells.
- Interference of kinetoplast segregation was observed in a cell cycle analysis which resulted in a segregation defect.
- By means of knockdown-experiments the topoisomerase (TbTopoII_{mt}) was excluded as main target for 4-quinolone-3-carboxamide-derivatives.
- Fluorescence dye labeling of **33** did not reveal further information about the target.



Despite promising potency of **33**, *in-vivo*-investigation failed due to very low water solubility caused by a highly ordered layer lattice crystal structure. Since solubility is a function of lipophilicity and intermolecular interactions, approaches from the fields of pharmaceutics and chemical structure modifications were used to overcome the problem:

- A lipid-based, self-emulsifying formulation was developed (SEDDS). The formation of stable emulsions enabled a drug concentration in aqueous solution of 10 mg/ml. Thus, the formulation was selected for *in vivo* investigation of **33** with *T. b. rhodesiense* infected NMRI mice. Unfortunately, the daily peroral application of a 1:1 dilution with a drug concentration of 5 mg/ml did not show any activity after four days of treatment.
- Spray drying of **33** in the presence of PVP (Kollidon®30) and Eudragit®L100 respectively, resulted in amorphous modification confirmed by means of XRPD (ASDD). Both ASDDs enabled the supersaturation of **33** in aqueous media which in case of Eudragit®L100-ASDD contributed to a 200 fold enhanced solubility compared to the crystalline modification. Based on these results (Eudragit®L100-particle) a pharmacokinetic profile was simulated by means of the software Simcyp® (version 12.0.79.0) using a dose of 0.20 µmol/250 µl/12 h over a period of 4 d and a hepatic clearance value calculated from metabolic degradation data of compound **33**. Evaluation of *in vivo* efficacy of **33** (ASDD-Eudragit®L100) in *T. b. rhodesiense* infected NMRI mice using the Simcyp® simulation revealed significant reduction of parasitaemia after 8 days of treatment. Thus, *in vivo* investigation is still ongoing.
- The main focus of the chemical modification approach was the introduction of polar and ionizable structural elements in order to decrease lipophilicity (logP 1 - 3) and to achieve 4-quinolone-3-carboxamide derivatives as salts or co-crystals.



The obtained derivatives showed improved water solubility and better drug-like properties compared to **33**, associated with less antitrypanosomal activity against *T. b. brucei*. According to *ligand efficiency* and *lipophilic ligand efficiency* analysis two promising compounds (**94** and **96**) were selected for further investigations. Both compounds showed IC₅₀ values against *T. b. rhodesiense* in the low nanomolar concentration range (**94**: 4 nM, **96**: 33 nM) and low *in vitro* cytotoxicity resulting in selectivity indices up to 25000 surpassing those of **33**. Due to aqueous solubility in the millimolar range, moderate membrane permeability (Caco-2-assay) and plasma stability of > 2 h (stability-assay), both compounds were considered as potential drug candidates which were subjected to a complete physico-chemical characterization (pK_a, logP, intrinsic solubility) by means of the Sirius-T3-instrument. Subsequently, these parameters were used to simulate two pharmacokinetic profiles (Simcyp[®]) for each compound (low dose: 0.20 μmol/250 μl/12 h, high dose: 1.00 μM/250 μl/12 h). Based on these simulations the *in vivo* investigations of **94** and **96** (high dose) revealed significant reduction of parasitaemia after 5 days of treatment but in both cases relapse was observed on day 8. Nevertheless *in vivo* investigations of **94** and **96** are currently ongoing.

6 EXPERIMENTALTEIL

6.1 Allgemeine Methoden

6.1.1 Verwendete Apparaturen und Messgeräte

Schmelzpunkte (Schmp.): Die Schmelzpunkte wurden an einer MPD350.BM 3.5 Schmelzpunktapparatur der Fa. *Sanyo Gallenkamp BV* (Leicestershire, UK) bestimmt. Die angegebenen Werte sind nicht korrigiert.

IR-Spektroskopie: IR-Spektren wurden mittels eines Jasco FT-IR-6100 Spektrometer der Fa. *Jasco* (Gross-Umstadt, Deutschland) aufgenommen.

' $\tilde{\nu}$ ' bezeichnet die Wellenzahl. Die Intensität der Absorptionsbanden sind gekennzeichnet durch: s = stark, m = mittel, w = schwach und br = breit. Alle Spektren wurden bei Raumtemperatur mittels einer Diamant-ATR-Einheit gemessen.

Mikrowellen-System: Zur Synthese wurden folgende Mikrowellen-Systeme der Fa. *Milestone* (Leutkirch, Deutschland) verwendet.

- *MLS-Ethos 1600*
- *MLS-rotapREP*
- *MLS-synthWAVE*

Reaktionen im offenen System wurden in Dreihalskolben und Reagenzgläsern mit Abrisskante (*MLS*) durchgeführt. Für Reaktionen in geschlossenen Systemen wurden Bombenrohre (*MLS*) aus Polytetrafluorethylen (PTFE) ummantelt mit Polyetheretherketon (PEEK) sowie ein QS-Quarz-Batch-Reaktor (*MLS*) verwendet. Hochtemperaturreaktionen (> 130 °C) und Hydrierungen wurden mit dem *MLS-synthWave* durchgeführt. Bei der Verwendung von apolaren Lösungsmitteln wurden Weflon®-Scheiben (PTFE mit 10 % Graphit) oder Siliziumcarbid zugesetzt um die Absorptionsfähigkeit der Mikrowellenstrahlung zu erhöhen.

NMR-Spektroskopie: ^1H - und ^{13}C -Spektren wurden bei 300 K mittels eines Avance 400 Spektrometer (400.132 MHz für Protonenspektren und 100.623 MHz für ^{13}C -Spektren) der Fa. *Bruker BioSpin MRI GmbH* (Ettlingen, Deutschland) aufgenommen.

Die Auswertung erfolgte mittels 'Topspin3.0'. Zur Kalibrierung dienten die Resonanzsignale der Restprotonen bzw. die ^{13}C -Resonanzsignale der verwendeten deuterierten Lösungsmittel als interner Standard (δ (CDCl_3) = 7.26/77.16 ppm, δ ($\text{DMSO-}d_6$) = 2.50/39.52 ppm, δ ($\text{Methanol-}d_4$) = 3.31/49.0 ppm). Zur Beschreibung der Signalmultiplicitäten werden folgende Abkürzungen verwendet: Singulett = s, Dublett = d, Dublett vom Dublett = dd, Dublett vom Dublett vom Dublett = ddd, Triplett = t, Triplett vom Dublett = td, Triplett vom Triplett = tt, Quartett = q, Quintett = quint, Sextett = sext, Multiplett = m, breites Signal = br. Die Angabe der chemischen Verschiebung erfolgt in ppm, die Kopplungskonstanten nJ in Hz, wobei 'n' die Anzahl der zwischen den Kopplungspartnern liegenden Bindungen angibt.

Elementaranalyse (CHN): Die Bestimmung der gewichtsprozentualen Anteile an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff wurde im Institut für Anorganische Chemie der Universität Würzburg mit dem Gerät CHNS-932 der Fa. *Leco* (Mönchengladbach, Deutschland) durchgeführt.

UV-Vis-Spektroskopie: Die Messung der UV-Vis-Spektren wurde an einem UVmini-1240 Spektrophotometer der Fa. *Shimadzu* (Duisburg, Deutschland) in dem jeweils angegebenen Lösungsmittel bei Raumtemperatur durchgeführt.

Fluoreszenz-Spektrometer: Die Messung der Fluoreszenz-Spektren wurde mittels eines CARY Eclipse Fluoreszenzspektrometers der Fa. *Varian* (Palo Alto, USA) in dem jeweils angegebenen Lösungsmittel bei Raumtemperatur durchgeführt.

Röntgenbeugungsanalysen: Die Messung der Reflexintensitäten erfolgte an einem *Bruker* X8A_{PEX}-Diffraktometer (Ettlingen, Deutschland) mit CCD-Flächendetektor unter Verwendung von monochromatischer Mo_{K α} -Strahlung.

Die Strukturen wurden durch direkte Methoden gelöst und mittels SHELX-Software-Paket verfeinert.¹⁸³ Alle Schweratome wurden anisotrop verfeinert. Die Aufnahme der Röntgenbeugungsanalysen wurde von Dr. Krzysztof Radacki (AK Braunschweig) am Institut für Anorganische Chemie der Universität Würzburg vorgenommen.

Massenspektroskopie: Die Elektronensprayionisations-Massenspektren (ESI) ausgewählter Verbindungen wurden mittels einer LC/MSD Trap G2445D der Fa. *Agilent* (Waldbronn, Deutschland) bestimmt. Die Analyte wurden dazu in Acetonitril (Chromasolv[®], HPLC gradient grade, Fa. *Sigma-Aldrich*) mit 0.1 % Ameisensäure gelöst und im positiven Modus vermessen.

Mischgeräte: Das Mischen von Proben für analytische Zwecke bzw. für die Formulierungsentwicklung erfolgte mittels eines Vortex-Mischgeräts REAX TOP der Fa. *Heidolph* (Kelheim, Deutschland) oder einer OS-500 Schüttelplatte der Fa. *VWR International* (Darmstadt, Deutschland). Außerdem wurde für Freisetzungsexperimente ein Thermomixer comfort der Fa. *Eppendorf* (Hamburg, Deutschland) verwendet

Sprühtrocknung: Die amorphen sprühgetrockneten Dispersionen wurden mittels eines Nano Spray Dryer B90 der Fa. *Büchi* (Flawil, Schweiz) hergestellt. Die Sprühkappengröße betrug 7.0 μm .

Zentrifuge: Für die Zubereitung von HPLC-Proben wurde eine HERAEUS FRESCO 17 der Fa. *Thermo Scientific* (Waltham, USA) verwendet. Die Proben wurden für 5 min bei 13000 rpm zentrifugiert.

Physiko-chemische Charakterisierung: Die Bestimmung der pK_s - und $\log P$ -Werte sowie der exakten Löslichkeit erfolgte mit einem Sirius T3 PhysChem Messsystem der Fa. *Sirius Analytical* (East Sussex, UK).

6.1.2 Chromatographische Methoden

Dünnschichtchromatographie (DC): Für die Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel-Fertigplatten SIL G-25 und Aluminiumoxid-Fertigplatten ALOX-25 (basisch, $pH = 9.5$) mit einer Schichtdicke von 0.25 mm und Fluoreszenz-Indikator UV254 der Fa. *Macherey-Nagel* (Düren, Deutschland) verwendet.

Die Detektion erfolgte je nach Anforderung durch Fluoreszenzlöschung bei 254 nm, durch Anregung der Eigenfluoreszenz bei 366 nm oder durch Anfärben mit Ehrlich- und/oder Dragendorff-Reagenz. Für Carbonsäuren, Amine und Aminosäure-ähnliche Strukturen wurden entsprechende Eluenten wie folgt gemischt:

Carbonsäure-Eluent: $CHCl_3$ /Alkohol/FA: Die angegebenen Volumenanteile an Ameisensäure werden mit entsprechenden Anteilen an Alkohol verdünnt und anschließend mit den jeweils angegebenen Anteilen an $CHCl_3$ gemischt.

Amin-Eluent: $CHCl_3$ /Alkohol/konz. NH_3 : Die jeweils verwendeten Volumenanteile an konz. NH_3 werden vorweg mit entsprechenden Anteilen an Alkohol verdünnt und anschließend mit den jeweils angegebenen Anteilen an $CHCl_3$ gemischt.

Aminosäure-Eluent: H_2O /TEA/Alkohol/ $CHCl_3$ /Toluol: Die angegebenen Volumenanteile an dem Wasser, und TEA werden vorweg mit entsprechenden Anteilen Alkohol gemischt. Die erhaltene Lösung wird zunächst mit entsprechenden Anteilen an $CHCl_3$ gemischt, gefolgt von der Zugabe angegebener Volumenanteile an Toluol.

Säulenchromatographie: Als Füllmaterial für Schwerkraftsäulen dienten Kieselgel 60 (Korngröße: 0.063-0.200 mm) der Fa. *Merck* (Darmstadt, Deutschland) sowie Aluminiumoxid 90 (Korngröße: 0.05 - 0.20 mm, basisch, pH = 9.5) der Fa. *Macherey-Nagel* (Düren, Deutschland).

Sämtliche Säulen wurden feucht befüllt. Die Angabe der Fließmittelzusammensetzung erfolgt in Volumenprozent.

Analytische-HPLC: Für logP-Bestimmungen, Reinheitsanalytik, sowie Stabilitätsuntersuchungen, Permeabilitätsbestimmung und Freisetzungsexperimente wurden *Agilent* HPLC-Systeme (Waldbronn, Deutschland) der Serie 1100 und 1200 verwendet.

Die Detektion erfolgte mittels Diodenarray-Detektor (DAD) oder Variabler-Wellenlängen-Detektor (VWD). Zur Auswertung der Messergebnisse wurde die Software 'ChemStation' verwendet. Die Abkürzung ' t_R ' bezeichnet die Retentionszeit einer Verbindung. Für die Analytik wurden folgende Säulen verwendet:

logP-Bestimmung und Reinheitsanalytik: Inertsil ODS-2 (5 μ m, 150 \times 4.6 mm) der Fa. *MZ-Analysetechnik* (Mainz, Deutschland).

Stabilitätsuntersuchung: Synergi MAX-RP 80A (4 μ m, 150 \times 2.00 mm) der Fa. *Phenomenex* (Aschaffenburg, Deutschland).

Freisetzung- und Permeabilitätsuntersuchung: Synergi MAX-RP 80A (4 μ m, 150 \times 4.60 mm) der Fa. *Phenomenex* (Aschaffenburg, Deutschland).

Zur Bestimmung der HPLC-Reinheiten wurden folgende Methoden entwickelt und verwendet. Als Eluent dienten Phosphat-Puffer (10 mM, pH = 7.4, **A**) und Methanol (**B**). Die Flussrate betrug 1 ml/min. Gemessen wurde bei 25 °C mit einer Detektionswellenlänge von 254.4 nm.

Methode 1:	Isokratisch:	A/B 30:70
Methode 2:	Gradient:	0-5 min: 30 % B auf 80 % B
		5-10 min: 80 % B auf 30 % B
		10-12 min: 30 % B

Methode 3:	Gradient:	0-60 min:	70 % B auf 90 % B
		60-120 min:	90 % B auf 70 % B
Methode 4:	Gradient:	0-25 min:	30 % B auf 80 % B
		25-28 min:	80 % B auf 30 % B
		28-30 min:	30 % B
Methode 5:	Gradient:	0-30 min:	30 % B auf 80 % B
		30-45 min:	80 % B
		45-50 min:	80 % B auf 30 % B
		50-60 min:	30 % B

6.1.3 Verwendete Chemikalien

Lösungsmittel: Mittels einer Milli-Q-Anlage der Fa. *Merck Millipore GmbH* (Schwalbach am Taunus, Deutschland) wurde H₂O für den HPLC-Gebrauch gereinigt und deionisiert. Desweiteren wurden Acetonitril (Chromasolv[®], HPLC gradient grade, Fa. *Sigma-Aldrich*) und Methanol (LiChrosolv[®], HPLC gradient grade, Fa. *Merck*) für die HPLC verwendet.

Sämtliche für die Säulenchromatographie verwendeten Lösungsmittel wurden kommerziell erworben und ohne weitere Reinigung eingesetzt. Reaktionen mit Luft- und/oder feuchtigkeitsempfindlichen Substanzen wurden in ausgeheizten Apparaturen unter Argonatmosphäre und unter Anwendung der Schlenktechnik durchgeführt. Die dafür verwendeten Lösungsmittel wurden nach folgenden Protokollen getrocknet¹⁸⁴:

- Acetonitril wurde über Phosphor(V)-oxid zum Sieden erhitzt und nachfolgend destilliert.
- Chloroform/Dichlormethan wurde mit Calciumchlorid getrocknet und anschließend destilliert.
- Dimethylformamid/Dimethylsulfoxid wurde über Calciumhydrid zum Sieden erhitzt und bei 40 mbar destilliert.
- Ethanol/Methanol wurde mit Magnesiumspänen getrocknet und anschließend destilliert.
- Toluol wurde mittels Natrium getrocknet und anschließend destilliert.

Alle absolutierten Lösungsmittel wurden über Molekularsieb (3.6 Å) und unter Argonatmosphäre gelagert.

Sonstige Chemikalien: Sämtliche Chemikalien und Lösungsmittel wurden kommerziell von folgenden Firmen erworben.

- *Sigma-Aldrich* (Schnelldorf, Deutschland)
- *Fisher Scientific* (Schwerte, Deutschland)
- *Fluka* (Buchs, Schweiz)
- *Alfa-Aesar* (Karlsruhe, Deutschland)
- *VWR International* (Darmstadt, Deutschland)
- *Merck* (Darmstadt, Deutschland)

6.2 Synthese von 1-Alkyl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten mittels Gould-Jacobs Synthese

6.2.1 Synthese von 3-Brom-4-fluoranilin (**1**)

*2-Brom-1-fluor-4-nitrobenzol (1)*⁶⁸

Entsprechend der Vorschrift von Austin *et al.*⁶⁸ werden 10.0 g (57.1 mmol, 6.25 ml) 1-Brom-2-fluorbenzol in 30 ml konz. H₂SO₄ gelöst und die Lösung im Eisbad auf 0 °C gekühlt. 6.68 g (74.2 mmol, 4.77 ml) konz. HNO₃ werden über einen Zeitraum von 15 min zugetropft, wobei die Temperatur nicht über 40 °C steigen darf. Die Reaktionslösung wird für 4 h bei RT gerührt und anschließend auf Eis gegossen. Der dabei ausgefallene gelbfarbene Feststoff wird abfiltriert, gründlich mit Wasser gewaschen und aus *n*-Hexan umkristallisiert. Verbindung **1** wird als hellgelber Feststoff erhalten.

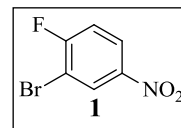
Summenformel: C₆H₃BrFNO₂

Molekülmasse: 220.0 g/mol

Ausbeute: 10.3 g (46.6 mmol / 82 %); Lit¹⁸⁵: 88 %.

Schmp: 54 - 55 °C (*n*-Hexan); Lit: 55 °C (*n*-Hexan).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3102 (m), 3039 (w), 2867 (w), 1531 (s), 1469 (s), 1330 (s), 1255 (m), 1113 (m), 1039 (m), 837 (m), 740 (m).



Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁸⁵

3-Brom-4-fluoranilin (**2**)⁶⁸

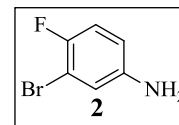
2.00 g (9.09 mmol) **1** und 1.52 g (27.3 mmol) Eisen werden in 10 ml konz. HCl suspendiert und für 1 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird die Lösung mit wässriger KOH-Lösung (3 N) auf pH = 10 eingestellt und der ausgefallene braune Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wird mit Et₂O (3 × 50 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Verbindung **2** wird als hellgelbes Öl erhalten.

Summenformel: C₆H₅BrFN

Molekülmasse: 190.0 g/mol

Ausbeute: 1.54 g (8.11 mmol / 89 %); Lit⁶⁸: 64 %.

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3068 (w), 3045 (w), 2945 (w), 1621 (m), 1534 (m), 1487 (s), 1266 (m), 1050 (m), 868 (m), 815 (m), 759 (m).



Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.⁶⁸

6.2.2 Synthese von Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivaten (**3a - c**)

Allgemeine Vorschrift (AV1): Synthese von **3a - c**

In Anlehnung an Leyva *et al.*⁷¹ werden 1 Äquivalent des entsprechenden Anilin-Derivats und 1.2 Äquivalente EMME in Toluol gelöst und 5 - 15 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und das erhaltene Öl in *n*-Pentan oder *n*-Hexan gelöst. Bei -20 °C kristallisiert der entsprechende Anilinoethylenmalonsäurediethylester (**3a - c**) über Nacht aus. Der Feststoff wird abfiltriert, mit kaltem *n*-Pentan oder *n*-Hexan gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

*2-(3-Chlor-4-fluorphenylamino)methylen-malonsäurediethylester (3a)*⁶⁹

Klassische Synthese:

Gemäß AV1 werden 10.0 g (68.7 mmol) 3-Chlor-4-fluoranilin und 17.8 g (82.4 mmol, 16.7 ml) EMME in 30 ml Toluol gelöst und für 15 h zum Sieden erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird Verbindung **3a** durch Kristallisation aus *n*-Hexan bei -20 °C als beiger kristalliner Feststoff erhalten.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

5.00 g (34.4 mmol) 3-Chlor-4-fluoranilin und 8.91 g (41.2 mmol, 8.33 ml) EMME werden in 50 ml Toluol in einem Dreihalskolben gelöst. Nach Zugabe von 5 Weflon[®]-Scheiben wird die Lösung unter Mikrowellenstrahlung auf 110 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 110 °C, 800 W). Nach 1 h bei konstanter Temperatur wird die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das gewonnene ölige Rohprodukt wird in 50 ml *n*-Hexan gelöst und zur Kristallisation über Nacht bei -20 °C gelagert. Der beige Feststoff wird abfiltriert, mit kaltem *n*-Hexan gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

Summenformel: C₁₄H₁₅ClFNO₄

Molekülmasse: 315.7 g/mol

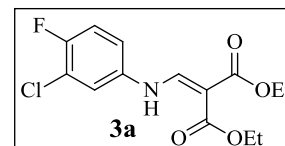
Ausbeute: 21.5 g (68.1 mmol / 99 %; klassisch); Lit⁶⁹: 80 %.

10.8 g (34.2 mmol, 99 %; MW).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.29 (Kieselgel, Cyclohexan/EtOAc 4:1).

Schmp: 60 - 62 °C (*n*-Hexan); Lit⁶⁹: 58 - 60 °C (*n*-Hexan).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3259 (w), 3077 (w), 2979 (m), 2909 (w), 1717 (s), 1655 (s), 1619 (s), 1505 (s), 1263 (m), 1217 (s), 1070 (s), 1025 (m) 837 (m), 795 (m).



Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.⁶⁹

*(3-Brom-4-fluorphenylamino)methylen-malonsäurediethylester (3b)*⁷⁶

Gemäß AV1 werden 1.50 g (7.89 mmol) 3-Brom-4-fluoranilin **2** und 2.05 g (9.47 mmol, 1.91 ml) EMME in 10 ml Toluol gelöst und für 5 h zum Sieden erhitzt. Nach Entfernen des

Lösungsmittels i. Vak. wird Verbindung **3b** durch Kristallisation aus *n*-Pentan bei -20 °C als beiger kristalliner Feststoff erhalten.

Summenformel: C₁₄H₁₅BrFNO₄

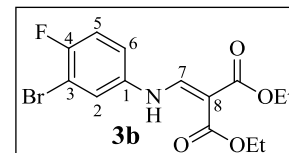
Molekülmasse: 360.2 g/mol

Ausbeute: 2.02 g (5.61 mmol, 71 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.16 (Kieselgel, CHCl₃/PE 1:1).

Schmp: 70 - 72 °C (*n*-Pentan).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3253 (w), 2982 (m), 2931 (w), 2907 (w), 1677 (s), 1637 (s), 1597 (s), 1502 (m), 1447 (m), 1226 (s), 1095 (m), 1026 (m), 796 (s).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.6 (d, 1H, ³*J* = 13.8, NH), 8.29 (d, 1H, ³*J* = 13.8, H-7), 7.83 (dd, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 5.9, ⁴*J* = 2.7, H-2), 7.44 (ddd, 1H, ³*J* = 8.9, ⁴*J*_{H,F} = 4.1, ⁴*J* = 2.7, H-6), 7.38 (dd, 1H, ³*J* = 8.9, ³*J*_{H,F} = 8.9, H-5), 4.20 (q, 2H, ³*J* = 7.1, OCH₂CH₃), 4.12 (q, 2H, ³*J* = 7.1, OCH₂CH₃), 1.26 (t, 3H, *J* = 7.1, OCH₂CH₃), 1.23 (t, 3H, *J* = 7.1, OCH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 166.9 (1C, CO₂Et), 164.8 (1C, CO₂Et), 155.2 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 242.0, C-4), 151.2 (1C, C-7), 137.2 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.9, C-1), 122.6 (1C, C-2), 118.9 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.3, C-6); 117.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.6, C-5), 108.6 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.2, C-3), 94.1 (1C, C-8), 59.6 (1C, OCH₂CH₃), 59.4 (1C, OCH₂CH₃), 14.2 (1C, OCH₂CH₃), 14.1 (1C, OCH₂CH₃).

Gilligan *et al.*⁷⁶ veröffentlichte keine Ausbeuten, Schmelzpunkte und NMR-Daten.

(4-Iodphenylamino)methylen-malonsäurediethylester (**3c**)⁷⁰

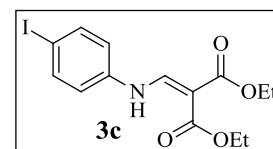
Entsprechend AV1 werden 3.00 g (13.7 mmol) 4-Iodanilin und 3.55 g (16.4 mmol, 3.32 ml) EMME in 30 ml Toluol gelöst und für 5 h zum Sieden erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. kristallisiert Verbindung **3c** aus *n*-Pentan bei -20 °C als beiger Feststoff.

Summenformel: C₁₄H₁₆INO₄

Molekülmasse: 389.2 g/mol

Ausbeute: 5.00 g (12.9 mmol / 94 %); Lit⁷⁰: 58 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.69 (Kieselgel, EtOAc/*n*-Pentan 1:5).



Schmp: 133 - 134 °C (*n*-Pentan); Lit⁷⁰: 110 - 111 °C (EtOAc/*n*-Hexan).
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3158 (w), 2977 (m), 2899 (w), 1682 (s), 1635 (m), 1610 (s), 1492 (w),
1435 (m), 1233 (s), 997 (m), 800 (m).

Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.⁷⁰

6.2.3 Synthese von 4-Hydroxychinolin-3-carbonsäureethylester-Derivaten (4a - c)

Allgemeine Vorschrift (AV2): Synthese von 4a - c

Analog der Synthesevorschrift von Leyva *et al.*⁷¹ wird das entsprechende Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivat (**3a - c**) in 5 - 10 ml Diphenylether gelöst und 2 - 5 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlung auf RT werden 100 ml Et₂O zugegeben und die Lösung für 1 h gerührt. Anschließend wird der ausgefallene Feststoff (**4a - c**) abfiltriert, mit Et₂O (5 × 50 ml) gründlich gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet. Im Fall von unsymmetrisch substituierten Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivaten (**3a - b**) werden Regioisomere erhalten.

*7-Chlor-6-fluor-4-hydroxychinolin-3-carbonsäureethylester (4a)*⁶⁹

Klassische Synthese:

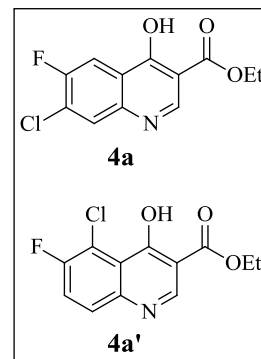
Analog AV2 werden 6.00 g (19.0 mmol) des Anilinomethylenmalonsäurediethylesters **3a** in 10 ml Diphenylether gelöst und für 4 h zum Sieden erhitzt. Anschließendes Waschen mit Et₂O liefert Verbindung **4a** als hellgrauen Feststoff.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

10.0 g (31.7 mmol) des Anilinomethylenmalonsäurediethylester-Derivats **3a** werden in einem Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) in 5 ml Diphenylether gelöst. Nach Zugabe von 3 Weflon[®]-Scheiben wird die Lösung mittels Mikrowellenstrahlung auf 210 °C erhitzt (Aufheizrate: in 5 min auf 210 °C, 800 W). Nach 15 min bei konstanter Temperatur wird die Suspension auf RT abgekühlt und mit 100 ml Et₂O versetzt. Die erhaltene Suspension wird 1 h bei RT gerührt,

anschließend filtriert und gründlich mit Et₂O gewaschen. Nach dem Trocknen i. Vak. über Phosphor(V)-oxid erhält man die Regioisomere **4a** und **4a'** im Gemisch als weißen Feststoff.

Summenformel: C₁₂H₉ClFNO₃
 Molekülmasse: 269.7 g/mol
 Ausbeute: 4.16 g (15.4 mmol / 81 %; klassisch); Lit⁶⁹: 56 %.
 5.26 g (19.5 mmol / 62 %; MW).
 Isomerenverhältnis: **4a/4a'** 10:1.
 Schmp: 315 - 318 °C (Ph₂O); Lit⁶⁹: 290 °C (DMF).



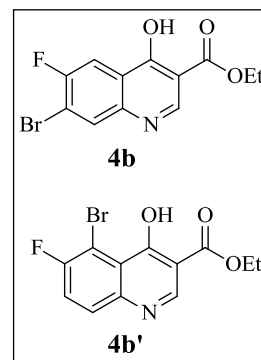
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3102 (br), 2986 (m), 2907 (w), 1688 (s), 1607 (s), 1529 (m), 1471 (s), 1379 (m), 1193 (m), 1171 (s), 1104 (w), 1033 (m), 900 (m), 801 (s).

Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.⁶⁹

7-Brom-6-fluor-4-hydroxychinolin-3-carbonsäureethylester (**4b**)⁷⁶

Gemäß AV2 werden 1.80 g (5.00 mmol) des Anilinomethylenmalonsäurediethylesters **3b** in 5 ml Diphenylether gelöst und für 2 h zum Sieden erhitzt. Anschließendes Waschen mit Et₂O liefert Verbindung **4b** als beigen Feststoff.

Summenformel: C₁₂H₉BrFNO₃
 Molekülmasse: 314.1 g/mol
 Ausbeute: 1.02 g (3.25 mmol / 65 %); Lit⁷⁶: 55 %.
 Isomerenverhältnis: **4b/4b'** 10:1.
 Schmp: 315 - 316 °C (Ph₂O); Lit⁷⁶: > 280 °C (Ph₂O).



IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3096 (br), 2985 (m), 2905 (w), 1691 (s), 1610 (s), 1529 (s), 1466 (s), 1377 (m), 1190 (m), 1170 (s), 1099 (w), 1027 (w), 899 (m), 800 (s).

Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein⁷⁶

*6-Iod-4-hydroxychinolin-3-carbonsäureester (4c)*⁷⁰

Gemäß AV2 werden 4.50 g (11.6 mmol) des Anilinomethylenmalonsäurediethylesters **3c** in 10 ml Diphenylether gelöst und für 5 h zum Sieden erhitzt. Anschließendes Waschen mit Et₂O liefert Verbindung **4c** als weißen Feststoff.

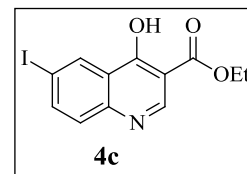
Summenformel: C₁₂H₁₀INO₃

Molekülmasse: 343.1 g/mol

Ausbeute: 3.29 g (9.59 mmol / 83 %); Lit⁷⁰: 96 %.

Schmp: 325 - 327 °C (Ph₂O); Lit⁷⁰: 322 - 324 °C (Ph₂O).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3146 (m), 3086 (br), 2976 (m), 2903 (w), 1688 (s), 1605 (s), 1518 (s), 1463 (m), 1375 (m), 1289 (s), 1182 (m), 1093 (m), 856 (m), 821 (m), 798 (m).



Die erhaltenen physikalischen und spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.⁷⁰

6.2.4 Synthese von 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivaten (**5a - b**) und 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester-Derivaten (**5c - d**)

Allgemeine Vorschrift (AV3): Synthese von **5a - d**

In Anlehnung an Koga *et al.*⁶⁷ werden unter Argonatmosphäre 1 Äquivalent des 4-Hydroxychinolin-3-carbonsäureethylesters (**4a - c**) und 4 - 5 Äquivalente K₂CO₃ in abs. DMF suspendiert und für 30 min auf 60 °C erwärmt. Der Zugabe einer katalytischen Menge an KI folgen 5 - 6 Äquivalente 1-Bromalkan. Die Lösung wird 1 - 2 d bei 80 - 100 °C gerührt und anschließend i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird in 60 ml dem. Wasser aufgenommen und mit EtOAc (4 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung des

Rohprodukts liefert den gewünschten 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester (**5c - d**).

Die isolierten 1-Alkyl-7-chlor-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester-Derivate werden ohne weitere Charakterisierung hydrolysiert. Dazu wird das entsprechende Carbonsäureethylester-Derivat in eine Mischung aus 45 ml wässriger KOH-Lösung (3 N) und 5 ml EtOH suspendiert und für 20 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird die klare Lösung mit wässriger HCl-Lösung (2 N) auf pH = 3 - 4 eingestellt, wobei das gewünschte Produkt (**5a - b**) als weißer Feststoff ausfällt. Der Feststoff wird filtriert, gründlich mit dem Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

7-Chlor-6-fluor-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**5a**)⁶⁷

Entsprechend AV3 werden 1.50 g (5.56 mmol) des Regioisomerengemischs **4a/4a'** und 3.84 g (27.8 mmol) K₂CO₃ unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DMF vorgelegt und nach einstündigem Rühren bei 60 °C eine katalytische Menge an KI sowie 4.10 g (33.4 mmol, 3.04 ml) 1-Brompropan zugegeben. Nach 2 d Rühren bei 100 °C wird das Rohprodukt extrahiert und säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 20:1). Anschließende Hydrolyse liefert Verbindung **5a** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₁₃H₁₁ClFNO₃

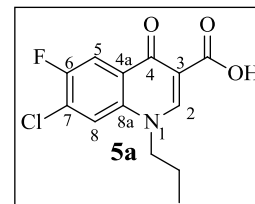
Molekülmasse: 283.7 g/mol

Ausbeute: 1.51 g (5.32 mmol / 96 %); Lit⁶⁷: 92 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.81 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 20:1).

Schmp: 250 - 252 °C (H₂O); Lit⁶⁷: 254 - 255 °C (DMF).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3114 (w), 3049 (w), 2970 (w), 2943 (w), 2880 (w), 1716 (s), 1608 (s), 1507 (m), 1436 (s), 1390 (m), 1214 (m), 1109 (m), 899 (m), 809 (m), 747 (m).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 14.8 (s, 1H, COOH), 9.06 (s, 1H, H-2), 8.45 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.0, H-8), 8.19 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 9.0, H-5), 4.54 (t, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃), 1.79 (quint, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃), 0.91 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.5 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.0$, C-4), 165.5 (1C, COOH), 154.9 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 248.8$, C-6), 150.1 (1C, C-2), 136.4 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.5$, C-8a), 127.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 19.8$, C-7), 126.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.6$, C-4a), 121.1 (1C, C-8), 111.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, C-5), 107.6 (1C, C-3), 55.2 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 22.1 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.43 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

Koga *et al.*⁶⁷ veröffentlichte keine NMR-Daten.

*1-Butyl-7-chlor-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (5b)*⁸⁰

Gemäß AV3 werden 1.00 g (3.71 mmol) des Regioisomerengemischs **4a/4a'** und 2.56 g (18.5 mmol) K₂CO₃ unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DMF vorgelegt und nach einstündigem Rühren bei 60 °C eine katalytische Menge an KI sowie 3.05 g (22.3 mmol, 2.38 ml) 1-Brombutan zugegeben. Nach 24 h Rühren bei 100 °C wird das Rohprodukt extrahiert und säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/*i*PrOH 150:1). Anschließende Hydrolyse liefert Verbindung **5b** als weißen Feststoff, der aus EtOH umkristallisiert wird.

Summenformel: C₁₄H₁₃ClFNO₃

Molekülmasse: 297.7 g/mol

Ausbeute: 960 mg (3.23 mmol / 87 %).

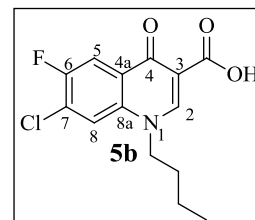
Reaktionskontrolle: R_f = 0.33 (Kieselgel, CHCl₃/*i*PrOH 150:1).

Schmp: 233 - 235 °C (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3048 (w), 2959 (w), 2872 (w), 1717 (s), 1610 (s), 1520 (m), 1458 (s), 1395 (m), 1209 (m), 1032 (m), 897 (m), 808 (m).

CHN: *ber.* C: 56.48, H: 4.40, Cl: 11.91, F: 6.38, N: 4.70, O: 16.12.

gef. C: 56.32, H: 4.67, N: 4.48.



$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 14.7 (s, 1H, COOH), 9.03 (s, 1H, H-2), 8.40 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 5.3$, H-8), 8.13 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 8.6$, H-5), 4.56 (t, 2H, $^3J = 6.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.74 (quint, 2H, $^3J = 6.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.34 (sext, 2H, $^3J = 6.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.90 (t, 3H, $^3J = 6.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.5 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-4), 165.5 (1C, COOH), 154.9 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 249.6$, C-6), 150.0 (1C, C-2), 136.4 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-8a), 127.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 20.5$, C-7), 123.3 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.5$, C-4a), 121.1 (1C, C-8), 111.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, C-5), 107.7 (1C, C-3), 53.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 30.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

Shiyutsurumu *et al.*⁸⁰ veröffentlichte keine Ausbeuten, Schmelzpunkte und NMR-Daten.

7-Brom-1-butyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester (**5c**)

Analog AV3 werden 900 mg (2.87 mmol) des Regioisomerengemischs **4b/4b'** und 1.59 g (11.5 mmol) K₂CO₃ unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DMF vorgelegt und nach einstündigem Rühren bei 60 °C eine katalytische Menge an KI sowie 1.96 g (14.3 mmol, 1.53 ml) 1-Brombutan zugegeben. Nach 24 h Rühren bei 80 °C wird das Rohprodukt extrahiert. Anschließende säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1) liefert Verbindung **5c** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₁₆H₁₇BrFNO₃

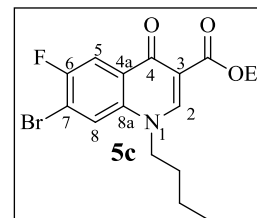
Molekülmasse: 370.2 g/mol

Ausbeute: 697 mg (1.88 mmol / 66 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.70 (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1).

Schmp: 133 - 135 °C (EtOAc/PE).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3077 (w), 2960 (m), 2873 (w), 1721 (s), 1610 (m), 1481 (m), 1311 (m), 1218 (m), 1174 (m), 1097 (m), 1032 (m), 897 (w), 801 (m).



$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 8.64 (s, 1H, H-2), 8.24 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 5.6$, H-8), 7.95 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 8.9$, H-5), 4.36 (t, 2H, $^3J = 7.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.21 (q, 2H, $^3J = 7.1$, OCH₂CH₃), 1.68 (quint, 2H, $^3J = 7.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.31 (sext, 2H, $^3J = 7.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.26 (t, 3H, $^3J = 7.1$, OCH₂CH₃), 0.88 (t, 3H, $^3J = 7.5$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 171.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.1$, C-4), 164.0 (1C, CO₂Et), 155.1 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 245.2$, C-6), 149.4 (1C, C-2), 135.8 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.9$, C-8a), 129.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 5.70$, C-4a), 122.7 (1C, C-8), 114.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.5$, C-7), 111.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.8$, C-5),

109.4 (1C, C-3), 59.6 (1C, OCH₂CH₃), 52.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 18.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 14.0 (1C, OCH₂CH₃), 13.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

*1-Butyl-6-iod-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester (5d)*⁸¹

Gemäß AV3 werden 1.50 mg (4.37 mmol) des 4-Hydroxychinolin-3-carbonsäureethylesters **4c** und 2.42 g (17.5 mmol) K₂CO₃ unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DMF vorgelegt und nach einstündigem Rühren bei 60 °C eine katalytische Menge an KI sowie 3.00 g (21.9 mmol, 2.34 ml) 1-Brombutan zugegeben. Nach 24 h Rühren bei 100 °C wird das Rohprodukt extrahiert. Anschließende säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1) liefert Verbindung **5d** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₁₆H₁₈INO₃

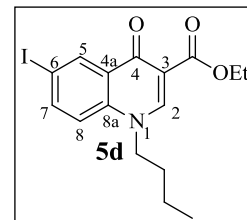
Molekülmasse: 399.2 g/mol

Ausbeute: 1.30 g (3.26 mmol / 75 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.54 (Kieselgel, EtOAc/PE 3:1).

Schmp: 114 - 115 °C (EtOAc/PE).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3103 (w), 2952 (m), 2928 (w), 2870 (m), 1717 (s), 1617 (m), 1477 (s), 1300 (m), 1187 (m), 1092 (s), 816 (m).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 8.68 (s, 1H, H-2), 8.50 (d, 1H, ⁴*J* = 2.0, H-5), 8.04 (dd, 1H, ⁴*J* = 2.0, ³*J* = 9.0, H-7), 7.63 (d, 1H, ⁴*J* = 9.0, H-8), 4.34 (t, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.22 (q, 2H, ³*J* = 7.0, OCH₂CH₃), 1.70 (quint, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.28 (t, 3H, ³*J* = 7.0, OCH₂CH₃), 0.89 (t, 3H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 171.3 (d, 1C, C-4), 164.3 (1C, CO₂Et), 149.5 (1C, C-2), 140.6 (1C, C-7), 138.2 (1C, C-8a), 134.7 (1C, C-5), 129.8 (1C, C-4a), 119.7 (1C, C-8), 110.3 (1C, C-3), 90.0 (1C, C-6), 59.7 (1C, OCH₂CH₃), 52.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 30.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH), 14.2 (1C, OCH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

Alihodzic *et al.*⁸¹ veröffentlichte keine Ausbeuten, Schmelzpunkte und NMR-Daten.

6.2.5 Synthese von 7-Amino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivaten (**6a - j**) via S_NAr

6.2.5.1 Methode 1 (Synthese in DMF)

Allgemeine Vorschrift (AV4): Klassische Synthese von **6a - d**

In einem Bombenrohr werden 1 Äquivalent des 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivats (**5a - b**) bzw. der kommerziell erworbenen 7-Chlor-1-cyclopropyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure und 5 - 6 Äquivalenten des entsprechenden Amins in DMF gelöst und für 7 - 40 h bei 90 - 120°C gerührt. Das Lösungsmittel wird anschließend i. Vak. entfernt und der ölige Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen. Mit wässriger HCl-Lösung (2 N) wird die Lösung auf pH = 4 eingestellt, wobei das Rohprodukt ausfällt. Anschließendes Waschen mit einer Mischung aus dem. Wasser/Aceton (1:1) liefert das gewünschte 7-Amino-substituierte Produkt (**6a-d**).

Allgemeine Vorschrift (AV5): Mikrowellen-unterstützte Synthese von **6b - e**

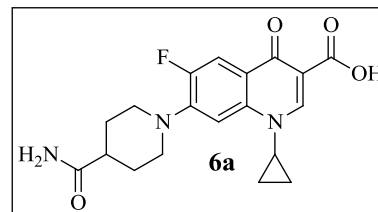
In einem Reagenzglas mit Abrisskante (MLS) werden 1 Äquivalent des 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivats (**5a - b**) und 5 - 8 Äquivalente des entsprechenden Amins in DMF gelöst. Die Lösung wird mittels Mikrowellenstrahlung auf 95 - 110 °C erwärmt und für 2.5 - 3 h bei konstanter Temperatur durchmischt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen. Mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) wird die Mischung auf pH = 4 (im Fall von Piperazin mit Eisessig auf pH = 6) eingestellt, wobei das Rohprodukt ausfällt. Dies wird umkristallisiert oder säulenchromatographisch aufgereinigt.

*7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**6a**)⁸²*

Gemäß AV4 werden 1.00 g (3.55 mmol) der kommerziell erworbenen 7-Chlor-1-cyclopropyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure und 2.28 g (17.8 mmol) 4-Piperidincarboxamid in 20 ml DMF gelöst und bei 100 °C für 7 h gerührt. Nach Ausfällen des Rohprodukts und anschließendem Waschen erhält man Verbindung **6a** als weißen Feststoff.

Experimentaltteil

Summenformel: $C_{19}H_{20}FN_3O_4$
Molekülmasse: 373.4 g/mol
Ausbeute: 980 mg (2.63 mmol / 74 %); Lit⁸²: 60 %.
Reaktionskontrolle: $R_f = 0.63$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 10:1).
Schmp: 278 - 279 °C (H_2O); Lit⁸²: 298 - 299 °C (H_2O).
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3433 (w), 3350 (m), 3181 (w), 2955 (w), 1705 (m), 1627 (s), 1509 (m), 1470 (s), 1380 (w), 1336 (m), 1219 (w), 897 (w), 827 (m), 807 (m).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.⁸²

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6b)

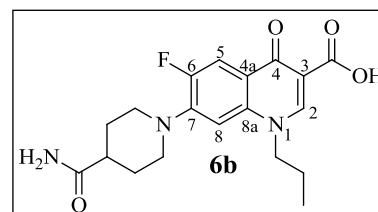
Klassische Synthese:

Gemäß AV4 werden 500 mg (1.76 mmol) 1-Propyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5a** und 1.13 g (8.81 mmol) 4-Piperidincarboxamid in 10 ml DMF gelöst und bei 120 °C für 6 h gerührt. Nach Ausfällen des Rohprodukts und anschließendem Waschen erhält man Verbindung **6b** als weißen Feststoff.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

Entsprechend AV5 werden 500 mg (1.76 mmol) 1-Propyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5a** und 1.13 g (8.81 mmol) 4-Piperidincarboxamid in 10 ml DMF gelöst. Mittels Mikrowellenstrahlung wird die Lösung auf 100 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 800 W) und bei konstanter Temperatur 3 h gemischt. Umkristallisation des Rohprodukts aus DMF liefert Verbindung **6b** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: $C_{19}H_{22}FN_3O_4$
Molekülmasse: 375.4 g/mol
Ausbeute: 410 mg (1.09 mmol / 62 %; klassisch).
350 mg (932 μ mol / 53 %; MW).
Reaktionskontrolle: $R_f = 0.45$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 100:10:1).
Schmp: 249 - 251 °C (DMF).



IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3377 (m), 3193 (m), 3050 (m), 2950 (w), 2921 (w), 1715 (s), 1652 (m), 1625 (s), 1499 (m), 1485 (s), 1446 (m), 1388 (m), 1235 (m), 935 (m), 809 (w), 750 (w).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 2*: 95.6 %.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 15.4 (s, 1H, COOH), 8.92 (s, 1H, **H-2**), 7.89 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.4$, **H-5**), 7.33 (s, 1H, CONH₂), 7.15 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.0$, **H-8**), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 4.53 (t, 2H, $^3J = 7.0$, NCH₂CH₂CH₃); 3.73 – 3.70 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.98-2.92 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.73-2.31 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.84-1.72 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₃), 0.90 (t, 3H, $^3J = 7.0$, NCH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.0$, **C-4**), 176.0 (1C, CONH₂), 166.2 (1C, COOH), 152.9 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.6$, **C-6**), 148.8 (1C, **C-2**), 145.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.2$, **C-7**), 137.4 (1C, **C-8a**), 118.9 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, **C-4a**), 111.0 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.0$, **C-5**), 106.7 (1C, **C-3**), 105.9 (1C, $^2J_{\text{C,F}} = 1.5$, **C-8**), 54.9 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.7$, piperidiny-CH₂), 41.0 (1C, piperidiny-CH), 28.2 (2C, piperidiny-CH₂), 21.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6c)

Klassische Synthese:

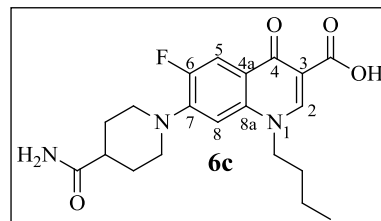
Analog AV4 werde 900 mg (3.02 mmol) 1-Butyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5b** und 1.94 g (15.1 mmol) 4-Piperidincarboxamid in 20 ml DMF gelöst und bei 90 °C für 40 h gerührt. Nach Ausfällen des Rohprodukts und anschließendem Waschen erhält man Verbindung **6c** als weißen Feststoff.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

Gemäß AV5 werden 900 mg (3.02 mmol) 1-Butyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5b** und 1.94 g (15.1 mmol) 4-Piperidincarboxamid in 10 ml DMF gelöst. Mittels Mikrowellenstrahlung wird die Lösung auf 100 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 800 W) und bei konstanter Temperatur 3 h gemischt. Umkristallisation des Rohprodukts aus DMF liefert Verbindung **6c** als weißen kristallinen Feststoff.

Experimentaltteil

Summenformel: $C_{20}H_{24}FN_3O_4$
Molekülmasse: 389.4 g/mol
Ausbeute: 610 mg (1.57 mmol / 52 %; klassisch).
520 mg (1.34 mmol / 44 %; MW).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.53$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 100:10:1).

Schmp: 226 - 228 °C (DMF).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3393 (m), 3196 (m), 3049 (m), 2951 (m), 2872 (w), 1716 (s), 1654 (m), 1625 (s), 1498 (m), 1472 (s), 1388 (m), 1213 (m), 936 (m), 808 (m), 750 (w).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 2*: 94.8 %.

1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 15.3 (s, 1H, COOH), 8.90 (s, 1H, **H**-2), 7.85 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.1$, **H**-5), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.12 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.0$, **H**-8), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 4.54 (t, 2H, $^3J = 7.4$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.72-3.70 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.97-2.92 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.35-2.33 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.85-1.76 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 1.33 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.4$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.0$, **C**-4), 175.8 (1C, CONH₂), 166.1 (1C, COOH), 152.9 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 249.5$, **C**-6), 148.7 (1C, **C**-2), 145.7 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.3$, **C**-7), 137.5 (1C, **C**-8a), 118.9 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 6.6$, **C**-4a), 111.0 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.7$, **C**-5), 106.8 (1C, **C**-3), 105.8 (1C, $^2J_{C,F} = 3.7$, **C**-8), 53.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.7$, piperidiny-CH₂), 40.9 (1C, piperidiny-CH), 30.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidiny-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-6-fluor-7-(piperidin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-quinolin-3-carbonsäure (6d)

Klassische Synthese:

Entsprechend AV4 werden 900 mg (3.02 mmol) 1-Butyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5b** und 1.55 g (18.1 mmol, 1.80 ml) Piperidin in 15 ml DMF gelöst und bei 90 °C für 22 h gerührt. Nach Ausfällen des Rohprodukts und anschließendem Waschen erhält man Verbindung **6d** als weißen Feststoff.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

Gemäß AV5 werden 900 mg (3.02 mmol) 1-Butyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5b** und 1.94 g (15.1 mmol) Piperidin werden in 15 ml DMF gelöst. Mittels Mikrowellenstrahlung wird die Lösung auf 95 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 95 °C, 800 W) und bei konstanter Temperatur 3 h gemischt. Umkristallisation des Rohprodukts aus Aceton liefert Verbindung **6d** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: C₁₉H₂₃FN₂O₃

Molekülmasse: 346.40 g/mol

Ausbeute: 790 mg (2.28 mmol / 76 %; klassisch).

700 mg (2.02 mmol / 67 %; MW).

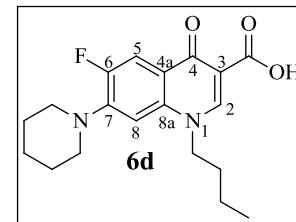
Reaktionskontrolle: R_f = 0.38 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH/FA 100:1:1).

Schmp: 162 - 164 °C (Aceton).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3056 (w), 2959 (w), 2935 (m), 2861 (w), 1719 (s), 1627 (s), 1517 (w), 1474 (s), 1362 (w), 1260 (m), 1216 (m), 948 (w), 804 (w).

CHN: *ber.* C: 65.9, H: 6.69, F: 5.48, N: 8.09, O: 13.86.

gef. C: 65.5, H: 7.04, N: 8.01.



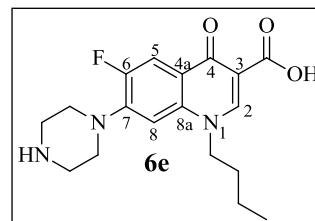
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.4 (s, 1H, COOH), 8.90 (s, 1H, H-2), 7.86 (d, 1H, ³J_{H,F} = 13.5, H-5), 7.11 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 7.0, H-8), 4.54 (t, 2H, ³J = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.29-3.27 (m, 4H, piperidiny-CH₂), 1.78 (quint, 2H, ³J = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.70-1.62 (m, 6H, piperidiny-CH₂), 1.34 (sext, 2H, ³J = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³J = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 1.6, C-4), 166.1 (1C, COOH), 151.6 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 249.7, C-6), 148.6 (1C, C-2), 146.0 (d, 1C, ²J_{C,F} = 10.2, C-7), 137.3 (1C, C-8a), 118.7 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.8, C-4a), 110.9 (d, 1C, ²J_{C,F} = 22.8, C-5), 106.7 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, ²J_{C,F} = 2.1, C-8), 53.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 50.6 (d, 2C, ⁴J_{C,F} = 4.6, piperidiny-CH₂), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 25.2 (2C, piperidiny-CH₂), 23.5 (1C, piperidiny-CH₂), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-6-fluor-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6e)

Gemäß AV5 werden 700 mg (2.35 mmol) 1-Butyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5b** und 1.62 g (18.8 mmol) Piperazin in 15 ml DMF gelöst. Mittels Mikrowellenstrahlung wird die Lösung auf 110 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 110 °C, 800 W) und bei konstanter Temperatur 2.5 h gemischt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, H₂O/TEA/Toluol/CHCl₃/MeOH 8:14:20:40:50) liefert Verbindung **6e** als beigen Feststoff.

Summenformel: C₁₈H₂₂FN₃O₃
 Molekülmasse: 347.38 g / mol
 Ausbeute: 270 mg (777 μmol / 33 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.61 (Kieselgel, H₂O/TEA/Toluol/CHCl₃/MeOH 8:14:20:40:50).
 Schmp: 232 - 233 °C (H₂O/TEA/Toluol/CHCl₃/MeOH).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3398 (m), 2960 (w), 2726 (w), 2474 (m), 1621 (s), 1580 (m), 1491 (s), 1455 (m), 1398 (m), 1271 (m), 1089 (s), 942 (w), 823 (w), 747 (w).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 8.93 (s, 1H, **H-2**), 7.92 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.3, **H-5**), 7.16 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.1, **H-8**), 4.58 (t, 2H, ³*J* = 6.8, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.31 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 3.01 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 1.78 (quint, 2H, ³*J* = 6.8, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (sext, 2H, ³*J* = 6.8, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.93 (t, 3H, ³*J* = 6.8, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

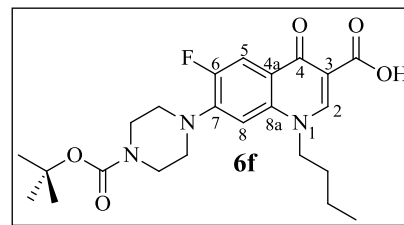
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.2, **C-4**), 166.0 (1C, COOH), 153.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 237.7, **C-6**), 148.8 (1C, **C-2**), 145.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 9.7, **C-7**), 137.3 (1C, **C-8a**), 120.2 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 4.3, **C-4a**), 111.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.9, **C-5**), 106.8 (1C, **C-3**), 105.9 (1C, ³*J*_{C,F} = 2.6, **C-8**), 53.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.8, piperazinyl-CH₂), 44.5 (2C, piperazinyl-CH₂), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.2.5.2 Boc-Schützung von Verbindung 6e

7-(4-(tert-Butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)-1-butyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**6f**).

250 mg (7.20 μmol) des 7-Piperazin-4-chinolon-3-carbonsäure-Derivates **6e** werden mit 219 mg (2.16 mmol, 299 μl) TEA in 10 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 173 mg (792 μmol) Di-tert-butyl-dicarbonat wird die Lösung 2 h bei RT gerührt und anschließend i. Vak. eingengt. Der ölige Rückstand wird in 20 ml dem. Wasser aufgenommen und mit Cl_2CH_2 (4×50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das gelbe Rohprodukt wird aus Aceton umkristallisiert und man erhält die Boc-geschützte Verbindung **6f** in Form eines weißen kristallinen Feststoffs.

Summenformel: $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{FN}_3\text{O}_5$
 Molekülmasse: 447.5 g/mol
 Ausbeute: 170 mg (380 μmol / 53 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.59$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{FA}$ 100/5/1).
 Schmp: 204 - 206 $^\circ\text{C}$ (Aceton).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3048 (w), 2957 (w), 2935 (w), 2857 (w), 1716 (m), 1694 (s), 1622 (m), 1472 (m), 1424 (m), 1245 (m), 1123 (m), 934 (m), 750 (w).



$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 15.3 (s, 1H, COOH), 8.93 (s, 1H, **H-2**), 7.93 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.1$, **H-5**), 7.19 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.0$, **H-8**), 4.57 (t, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.54 (br, 4H, piperazinyl- CH_2), 3.28 (br, 4H, piperazinyl- CH_2), 1.78 (quint, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 1.33 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.91 (t, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 176.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.5$, **C-4**), 166.0 (1C, COOH), 154.0 (1C, COONR), 152.8 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 249.5$, **C-6**), 148.8 (1C, **C-2**), 145.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.6$, **C-7**), 137.2 (1C, **C-8a**), 119.5 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.8$, **C-4a**), 111.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.8$, **C-5**), 106.8 (1C, **C-3**), 106.3 (1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.7$, **C-8**), 79.1 (1C, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 53.3 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 49.2 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.5$, piperazinyl- CH_2), 42.6 (2C, piperazinyl- CH_2), 30.2

(1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 27.9 (3C, C(CH₃)₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.2.5.3 Methode 2 (lösungsmittelfreie Synthese)

Allgemeine Vorschrift (AV6): Mikrowellen-unterstützte Synthese von 6g - i

1 Äquivalent der 1-Butyl-4-chinolon-3-carbonsäure **5b** wird in 10 ml des entsprechenden *sek.* Amins in einem Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) gelöst und unter Mikrowellenstrahlung auf 110 °C erwärmt (Aufheizrate: in 4 min auf 110 °C, 600 W). Bei konstanter Temperatur wird die Lösung 3 - 4 h durchmischt. Anschließend wird die Lösung mit 30 ml dem. Wasser versetzt und unter Eiskühlung der pH-Wert mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) oder Eisessig auf pH = 5 eingestellt. Das ausgefallene Rohprodukt wird abfiltriert und gründlich mit dem. Wasser gewaschen. Anschließende Umkristallisation oder säulenchromatographische Aufreinigung liefert das gewünschte 7-Amino-substituierte Produkt (**6g - i**).

1-Butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6g)

Gemäß AV6 werden 200 mg (672 µmol) der Verbindung **5b** in Morpholin gelöst und unter Mikrowellenstrahlung erwärmt. Nach 4 h wird das Rohprodukt mit wässriger HCl-Lösung (2 N) ausgefällt, in 10 ml EtOH suspendiert und zum Sieden erhitzt. Anschließend wird tropfenweise CHCl₃ zur siedenden ethanolischen Lösung gegeben, bis sich das Rohprodukt vollständig gelöst hat. Beim Abkühlen der Lösung auf RT kristallisiert Verbindung **6g** als hellgelber Feststoff.

Summenformel: C₁₈H₂₁FN₂O₄

Molekülmasse: 348.4 g/mol

Ausbeute: 160 mg (459 µmol / 68 %).

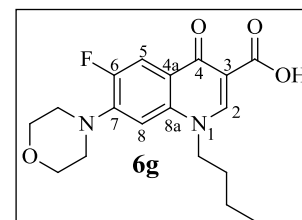
Reaktionskontrolle: R_f = 0.69 (Kieselgel, Cl₂CH₂/*i*PrOH 20:1).

Schmp: 242 - 243 °C (EtOH/CHCl₃).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3058 (w), 3019 (w), 2968 (w), 2872 (w), 1720 (s), 1626 (s), 1506 (m), 1473 (s), 1460 (s), 1362 (m), 1257 (s), 1116 (m), 942 (m), 804 (m).

CHN: *ber.* C: 62.06, H: 6.08, F: 5.45, N: 8.04, O 18.37.

gef. C: 62.01, H: 6.24, N: 7.80.



¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], *J* [Hz]): 14.8 (s, 1H, COOH), 8.61 (s, 1H, **H**-2), 8.04 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.1, **H**-5), 6.86 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.8, **H**-8), 4.22 (t, 2H, ³*J* = 7.0, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.92-3.90 (m, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.29-3.27 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 1.88 (quint, 2H, ³*J* = 7.0, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.43 (sext, 2H, ³*J* = 7.0, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.99 (t, 3H, ³*J* = 7.0, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.7 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.5, C-4), 166.8 (1C, COOH), 153.2 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 252.2, C-6), 147.5 (1C, C-2), 145.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 9.9, C-7), 136.9 (1C, C-8a), 120.8 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.7, C-4a), 112.7 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.0, C-5), 108.0 (1C, C-3), 103.7 (1C, ³*J*_{C,F} = 3.3, C-8), 66.6 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 51.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.9 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 5.0, morpholino-CH₂-N-CH₂), 30.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.6 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6h)

Analog AV6 werden 300 mg (1.01 mmol) der Verbindung **5b** in 1-Ethylpiperazin gelöst und unter Mikrowellenstrahlung erwärmt. Nach 3 h wird das Rohprodukt mit Eisessig ausgefällt und anschließend aus Toluol umkristallisiert. Verbindung **6h** wird in Form eines beigen Feststoffs erhalten.

Summenformel: C₂₀H₂₆FN₃O₃

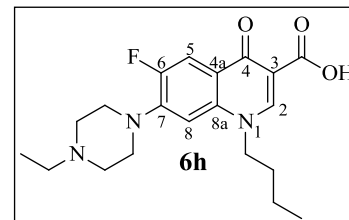
Molekülmasse: 375,44 g/mol

Ausbeute: 0.14 g (3.73 μmol / 37 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.20 (Kieselgel, Cl₂CH₂/iPrOH 10:1).

Schmp: 183 - 184 °C (Toluol).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3050 (m), 2950 (m), 2870 (w), 2808 (w), 2766 (w), 1715 (s), 1624 (s), 1503 (m), 1483(s), 1379 (m), 1252 (m), 938 (m), 829 (m), 750 (m).



¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.1 (s, 1H, COOH), 8.62 (s, 1H, **H**-2), 8.02 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.0, **H**-5), 6.83 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.7, **H**-8), 4.24 (t, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.40 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 2.77 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 2.50 (q, 2H, ³*J* = 5.8, NCH₂CH₃), 1.88 (quint, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.44 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.20 (t, 3H, ³*J* = 5.8, NCH₂CH₃), 1.01 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 176.9 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.7$, C-4), 167.0 (1C, COOH), 153.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 251.6$, C-6), 147.5 (1C, C-2), 145.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.7$, C-7), 137.2 (1C, C-8a), 120.6 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.6$, C-4a), 112.6 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.4$, C-5), 108.1 (1C, C-3), 104.0 (1C, $^2J_{\text{C,F}} = 2.8$, C-8), 54.6 (1C, NCH_2CH_3), 52.2 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 52.1 (2C, piperazinyl- CH_2), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.2$, piperazinyl- CH_2), 30.7 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19.8 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 13.5 (2C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, NCH_2CH_3).

7-(*N*-Benzylmethylamino)-1-butyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**6i**)

Gemäß AV6 werden 400 mg (1.34 mmol) der Verbindung **5b** in *N*-Benzylmethylamin gelöst und unter Mikrowellenstrahlung erwärmt. Nach 3 h wird das Rohprodukt mit wässriger HCl-Lösung (2 N) ausgefällt und anschließend säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, EtOAc/ CHCl_3 /HOAc 100/100/1). Verbindung **6i** wird als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{FN}_2\text{O}_3$

Molekülmasse: 382.43 g/mol

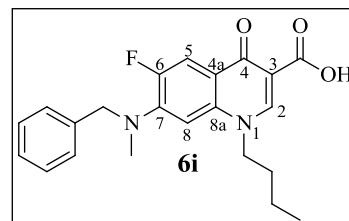
Ausbeute: 335 mg (876 μmol / 65 %).

Reaktionskontrolle: $R_f = 0.20$ (Kieselgel, Cl_2CH_2 /*i*PrOH 10:1).

Schmp: 149 - 150°C (EtOAc/ CHCl_3 /HOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3043 (w), 2972 (w), 2938 (w), 2867 (w), 1699 (s), 1626 (s), 1614 (s), 1508 (s), 1463 (s), 1376 (m), 1256 (s), 951 (w), 813 (m), 736 (m).

HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 4: 97.8 %.



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 15.2 (s, 1H, COOH), 8.54 (s, 1H, H-2), 8.03 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 14.0$, H-5), 7.38-7.28 (m, 5H, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.62 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.0$, H-8), 4.64 (s, 2H, benzyl- CH_2), 4.07 (t, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.18 (d, 3H, $^5J_{\text{H,F}} = 2.4$, NCH_3), 1.67 (quint, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.29 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.90 (t, 3H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 176.6 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.8$, C-4), 167.2 (1C, COOH), 151.9 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 250.3$, C-6), 147.3 (1C, C-2), 144.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, C-7), 137.3 (1C, benzyl- C_q), 136.3 (1C, C-8a), 128.8 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.6 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 126.9 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 126.6 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 5.8$, C-4a), 112.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 24.2$, C-5), 107.7 (1C, C-3), 102.4

(d, 1C, $^3J_{C,F} = 1.7$, C-8), 58.4 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 4.0$, benzyl-CH₂), 54.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 40.3 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 6.0$, NCH₃), 30.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.2.5.4 Methode 3 (Borester-unterstützte S_NAr)

1-Butyl-7-(dimethylamino)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**6j**)

Verbindung **6j** wird mittels eines Boresters in Anlehnung an Heravi *et al.*⁸⁷ synthetisiert. Dazu werden 500 mg (1.68 mmol) der Verbindung **5b** und 255 mg (2.52 mmol, 349 μ l) TEA unter Argonatmosphäre in 20 ml Cl₂CH₂ gelöst, 358 mg (2.52 mmol, 311 μ l) Diethylether-Bortrifluorid-Komplex werden zugegeben und die Lösung für 1 h zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, das Rohprodukt mit dem. Wasser/MeOH (1:1) gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet. Der erhaltene Borester wird ohne weitere Charakterisierung in 10 ml DMF gelöst und die Lösung für 3 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt, suspendiert in 20 ml wässriger NaOH-Lösung (2 N), für 2 h zum Sieden erhitzt. Mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) wird die Lösung auf pH = 4 eingestellt, wobei ein weißer Feststoff ausfällt. Dieser wird abfiltriert, gründlich mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

Summenformel: C₁₆H₁₉FN₂O₃

Molekülmasse: 306.3 g/mol

Ausbeute: 0.36 (1.18 mmol / 70 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.52 (Kieselgel, EtOAc).

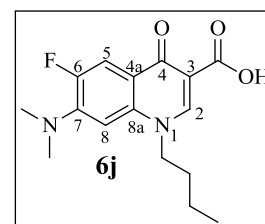
Schmp: 173 - 174°C.

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2958 (m), 2874 (w), 1708 (s), 1627 (s), 1608 (s), 1518 (m), 1439 (s), 1373 (m), 1253 (m), 1225 (m), 957 (w), 811 (m).

MS (ESI, 70eV): m/z = 307.1 [M+H]⁺.

CHN: ber. C: 62.73, H: 6.25, F: 6.20, N: 9.14, O: 15.67.

gef. C: 62.31, H: 6.28, N: 8.77.



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 15.5 (s, 1H, COOH), 8.86 (s, 1H, H-2), 7.81 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 14.3$, H-5), 6.87 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 7.7$, H-8), 4.51 (t, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.09

(d, 6H, $^5J_{\text{H,F}} = 1.5$, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.78 (quint, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.29 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

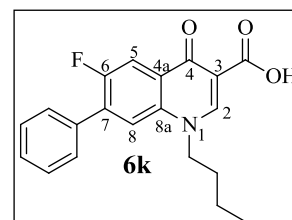
$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 175.8 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.6$, C-4), 166.2 (1C, COOH), 151.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 248.0$, C-6), 148.4 (1C, C-2), 145.1 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 10.1$, C-7), 137.5 (1C, C-8a), 116.9 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.5$, C-4a), 111.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 23.5$, C-5), 106.4 (1C, C-3), 102.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 4.5$, C-8), 53.2 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 41.9 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 6.0$, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 30.0 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19.0 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 13.4 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

6.2.6 Synthese von 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivaten (6k - l) mit C-C-gekoppelten Substituenten in Position 6 oder 7

1-Butyl-6-fluor-7-phenyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6k)

Die Suzuki-Kopplung wird in Anlehnung an das Protokoll von Vice *et al.*¹⁸⁶ durchgeführt. Zu einer Lösung aus 600 mg (1.62 mmol) der Verbindung **5c** in frisch destilliertem DMF/dem. Wasser (9:1) werden 269 mg (1.95 mmol) K_2CO_3 , 85.0 mg (324 μmol) Triphenylphosphan, 36.4 mg (162 μmol) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ und schließlich 217 mg (1.78 mmol) Phenylboronsäure gegeben und die Mischung für 6 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert und der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wird mit EtOAc (3 \times 60 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das ölige Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, PE/*i*PrOH 4:1) und anschließend ohne weitere Charakterisierung hydrolysiert. Dazu wird der erhaltene 7-Phenyl-4-chinolon-3-carbonsäureethylester in 30 ml wässriger NaOH-Lösung (2 N) suspendiert und für 4 h zum Sieden erhitzt. Die klare Lösung wird nach Abkühlen auf RT mit wässriger HCl-Lösung (2 N) angesäuert (pH = 4), wobei das gewünschte Produkt ausfällt. Dieses wird abfiltriert, gründlich mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet. Verbindung **6k** wird in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{FNO}_3$
 Molekülmasse: 339.4 g / mol
 Ausbeute: 312 mg (919 μmol / 57 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.67$ (Kieselgel, PE/*i*PrOH 4:1).



Schmp: 180 - 182 °C.

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3050 (m), 2960 (w), 2929 (w), 1713 (s), 1618 (s), 1498 (m), 1465 (s), 1389 (m), 1212 (m), 934 (m), 810 (m), 755 (m), 701 (m).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 15.0 (s, 1H, COOH), 9.06 (s, 1H, **H-2**), 8.14-8.10 (m, 2H, **H-5**, **H-8**), 7.73-7.71 (m, 2H, Ph-**CH**), 7.60-7.53 (m, 3H, Ph-**CH**), 4.68 (t, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.80 (quint, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.34 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 0.90 (t, 3H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

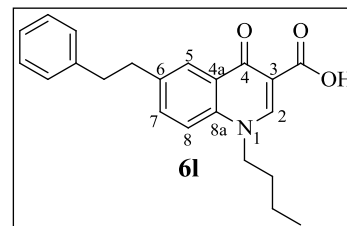
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.4 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.6$, C-4), 165.5 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 249.1$, C-6), 149.3 (1C, C-2), 135.9 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 1.2$, Ph-C_q), 135.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 16.9$, C-7), 133.2 (1C, C-8a), 129.1 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.6$, Ph-CH), 128.9 (1C, Ph-CH), 128.5 (2C, Ph-CH), 126.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 8.1$, C-4a), 120.5 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.2$, C-8), 111.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 24.8$, C-5), 107.0 (1C, C-3), 53.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 30.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 18.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-6-phenethyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (6l)

Sowohl die Hydroborierung, als auch die Suzuki-Kopplung werden in Anlehnung an Vice *et al.*¹⁸⁶ durchgeführt. Unter Argonatmosphäre werden 100 mg (960 μmol , 110 μl) Styrol in 5 ml abs. THF gelöst und mit 2.88 ml (1.44 mmol, 0.5 M in THF) 9-BBN versetzt. Anschließend wird die Lösung 4 h zum Sieden erhitzt. Parallel werden 383 mg (959 μmol) der Verbindung **5d** zusammen mit 159 mg (1.15 mmol) K₂CO₃, 50.3 mg (192 μmol) Triphenylphosphan und 21.5 (95.9 μmol) Pd(OAc)₂ unter Argonatmosphäre in 10 ml frisch destilliertem DMF/dem. Wasser (9:1) gelöst. Die auf RT abgekühlte Styrol/9-BBN-Lösung wird langsam über einen Zeitraum von 10 min zugetropft und die Reaktionslösung 24 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und mit EtOAc (4 \times 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, PE/*i*PrOH 5:1) des Rohprodukts liefert den 6-Phenethyl-4-chinolon-3-carbonsäureethylester als weißen Feststoff. Dieser wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml wässriger NaOH-Lösung (2 N) suspendiert und für 2.5 h zum Sieden erhitzt. Das hydrolysierte Produkt wird mit wässriger HCl-

Lösung (2 N) ausgefällt (pH = 4), gründlich mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet. Verbindung **61** wird in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

Summenformel: $C_{22}H_{23}NO_3$
 Molekülmasse: 349.4 g/mol
 Ausbeute: 183 mg (524 μ mol / 55 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.51$ (Kieselgel, PE/*i*PrOH 5:1).
 Schmp: 195 - 196 °C.
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3045 (w), 2954 (w), 2929 (w), 2863 (w), 1700 (s), 1612 (s), 1518 (m), 1474 (s), 1435 (m), 1390 (m), 1226 (m), 1176 (m), 956 (m), 813 (m), 701 (m).



1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 15.3 (s, 1H, COOH), 9.00 (s, 1H, **H**-2), 8.21 (d, 1H, $^4J = 1.5$, **H**-5); 7.96 (d, 1H, $^3J = 8.0$, **H**-8), 7.85 (dd, 1H, $^4J = 1.5$, $^3J = 9.0$, **H**-7), 7.26-7.12 (m, 5H, phenethyl- $CH_{arom.}$), 4.55 (t, 2H, $^3J = 7.3$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 3.09 (m, 2H, phenethyl- CH_2), 2.96 (m, 2H, phenethyl- CH_2), 1.76 (br, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.34 (br, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 0.90 (t, 3H, $^3J = 7.3$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 177.0 (d, 1C, **C**-4), 165.7 (1C, COOH), 148.3 (1C, **C**-2), 140.5 (1C, **H**-6), 139.5 (1C, phenethyl- C_q), 137.1 (1C, **C**-8a), 134.5 (1C, **C**-7), 127.9 (2C, phenethyl- $CH_{arom.}$), 127.7 (2C, phenethyl- $CH_{arom.}$), 125.4 (1C, phenethyl- $CH_{arom.}$), 125.0 (1C, **C**-4a), 124.2 (1C, **C**-5), 117.6 (1C, **C**-8), 106.9 (1C, **C**-3), 52.9 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 36.1 (1C, phenethyl- CH_2), 36.7 (1C, phenethyl- CH_2), 30.3 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 18.6 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 13.0 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

6.2.7 Synthese von Arylaminen (**7a** - **c**)

6.2.7.1 Synthese von mononitrierten Benzyl- und Phenethylaminen (**7a** - **b**)

Allgemeine Vorschrift (AV7): Synthese von **7a** - **b**

Die Mononitrierung erfolgte analog der Synthesevorschrift von Zhang *et al.*⁹³. Dazu wird 1 Äquivalent 4-Methoxybenzylamin oder 4-Methoxyphenethylamin in 40 ml einer TBME/THF-

Mischung (3:1) gelöst und im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Nach Zugabe von 1 Äquivalent konz. HNO₃ wird die Lösung langsam auf RT erwärmt und anschließend für 45 min gerührt. Das ausgefallene Nitrat-Salz wird abfiltriert, mit TBME gewaschen und anschließend in 15 ml CH₂Cl₂ suspendiert. Unter Eiskühlung werden 5 ml konz. H₂SO₄ über einen Zeitraum von 15 min zugegeben. Im Anschluß wird die Lösung langsam auf RT erwärmt und 3 h gerührt. Das Zweiphasengemisch wird mit 40 ml dem. Wasser versetzt und mit wässriger NaOH-Lösung (5 N) auf pH = 10 eingestellt. Die wässrige Lösung wird mit CH₂Cl₂ extrahiert (3 × 50 ml), die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung des Rohprodukts liefert das mononitrierte Produkt (**7a - b**).

4-Methoxy-3-nitro-benzylamin (**7a**)⁹³

Gemäß AV7 wird 1.00 g (7.29 mmol, 952 µl) 4-Methoxybenzylamin mit 707 mg (7.29 mmol, 500 µl) konz. HNO₃ und konz. H₂SO₄ zur Reaktion gebracht. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOH 3:1) liefert Verbindung **7a** in Form eines orangefarbenen Öls.

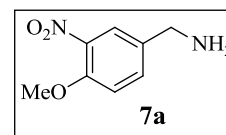
Summenformel: C₈H₁₀N₂O₃

Molekülmasse: 182.2 g/mol

Ausbeute: 750 mg (4.12 mmol / 57 %); Lit⁹³: 89 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.70 (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOH 3:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3047 (w), 2972 (w), 2841 (w), 1617 (m), 1521 (s), 1460 (w), 1352 (m), 1263 (s), 1013 (m), 813 (m).



¹H-NMR (Methanol-*d*₄, δ [ppm], *J* [Hz]): 7.79 (d, 1H, ⁴*J* = 2.2, benzyl-CH_{arom.}), 7.56 (dd, 1H, ³*J* = 8.8, ⁴*J* = 2.2, benzyl-CH_{arom.}), 7.23 (d, 1H, ³*J* = 8.8, benzyl-CH_{arom.}), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 2H, benzyl-CH₂).

¹³C-NMR (Methanol-*d*₄, δ [ppm], *J* [Hz]): 152.8 (1C, benzyl-C_q), 141.1 (1C, benzyl-C_q), 136.5 (1C, benzyl-C_q), 134.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 125.0 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 115.0 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 57.1 (1C, OCH₃), 45.4 (1C, benzyl-CH₂).

Zhang *et al.*⁹³ veröffentlichte keine NMR-Daten.

*4-Methoxy-3-nitro-phenethylamin (7b)*⁹⁴

Analog AV7 werden 2.00 g (13.2 mmol, 1.94 ml) 4-Methoxyphenethylamin mit 1.28 mg (13.2 mmol, 906 μ l) konz. HNO₃ und konz. H₂SO₄ zur Reaktion gebracht. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOH 3:1) liefert Verbindung **7b** als orangefarbenes Öls.

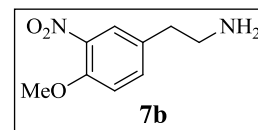
Summenformel: C₉H₁₂N₂O₃

Molekülmasse: 196.2 g/mol

Ausbeute: 1.07 g (5.45 mmol / 41 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.36 (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOH 3:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3334 (w), 2929 (m), 2846 (w), 1622 (m), 1523 (s), 1460 (m), 1348 (s), 1258 (s), 1015 (m), 811 (m).



¹H-NMR (Methanol-*d*₄, δ [ppm], *J* [Hz]): 7.06 (d, 1H, ⁴*J* = 2.2, phenethyl-CH_{arom.}), 6.85 (dd, 1H, ³*J* = 8.6, ⁴*J* = 2.2, phenethyl-CH_{arom.}), 6.59 (d, 1H, ³*J* = 8.6, phenethyl-CH_{arom.}), 4.19 (s, 3H, OCH₃), 2.26 (t, 2H, ³*J* = 6.9, phenethyl-CH₂), 2.15 (t, 2H, ³*J* = 6.9, phenethyl-CH₂).

¹³C-NMR (Methanol-*d*₄, δ [ppm], *J* [Hz]): 152.5 (1C, phenethyl-C_q), 141.1 (1C, phenethyl-C_q), 135.6 (1C, phenethyl-C_q), 133.1 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 126.1 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 115.1 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 57.1 (1C, OCH₃), 43.9 (1C, phenethyl-CH₂), 38.6 (1C, phenethyl-CH₂).

Callow *et al.*⁹⁴ veröffentlichte keine Ausbeuten und NMR-Daten.

6.2.7.2 Synthese von Furfurylamin (7c)

In Anlehnung an Bandgar *et al.*⁹⁵ werden 1.70 g (18.0 mmol, 1.47 ml) Furfural, 2.50 g (36.0 mmol) Hydroxylamin-Hydrochlorid und 2.49 g (18.0 mmol) K₂CO₃ in 60 ml dem. Wasser gelöst und für 2 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird die wässrige Lösung mit CHCl₃ (5 \times 50 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Anschließendes Trocknen i. Vak. liefert das Oxim als

orangefarbenes Öl, welches bei RT kristallisiert. Dies wird ohne weitere Aufreinigung und Charakterisierung hydriert.

Unter Argonatmosphäre werden 1.03 g (27.0 mmol) LiAlH_4 in 30 ml abs. THF suspendiert und auf 0 °C abgekühlt. Eine Lösung aus dem zuvor isolierten Oxim in 20 ml abs. THF wird über einen Zeitraum von 20 min langsam zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird die Mischung auf RT erwärmt und 16 h gerührt. Die Reaktion wird anschließend vorsichtig mit EtOH gestoppt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und mit EtOAc (5×50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und die Lösung i. Vak. eingengt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/ CHCl_3 1:1) liefert das gewünschte Amin **7c** als hellgelbes Öl.

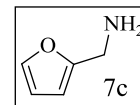
Summenformel: $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}$

Molekülmasse: 97.1 g/mol

Ausbeute: 970 mg (9.99 mmol / 56 %); Lit⁹⁵: 84 %.

Reaktionskontrolle: $R_f = 0.36$ (Kieselgel, EtOAc/ CHCl_3 1:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3376 (w), 3115 (w), 2915 (w), 2854 (w), 1601 (m), 1505 (s), 1147 (s), 1070 (m), 1007 (s), 803 (m), 731 (s).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁸⁷

6.2.8 Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamid und -3-carboxylat-Derivaten (8 - 39)

6.2.8.1 Amidierung mittels gemischten Anhydrid

Allgemeine Vorschrift (AV8): Amidierung von 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivaten (8 - 38)

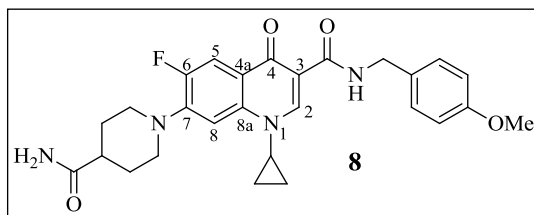
Die Carbonsäure-Aktivierung erfolgt, in Anlehnung an Niedermeier *et al.*⁸², über ein *in situ* erzeugtes gemischtes Anhydrid. Dazu werden zunächst 1 Äquivalent des entsprechenden 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivats (**6a - 1**) mit 5 Äquivalenten *N*-Methylmorpholin (NMM) in 10 ml abs. DMF unter Argonatmosphäre gelöst. Die Lösung wird im Eisbad auf 0 °C abgekühlt und 4 Äquivalente Isobutylchlorformiat zugegeben. Nach 1 h Rühren bei 0 °C werden 4 Äquivalente des entsprechenden Amins zugesetzt, die Lösung auf RT erwärmt und weitere

45 min gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abdestilliert und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt. Bei Bedarf erfolgt eine weitere Aufreinigung durch anschließendes Umkristallisieren.

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-N-(4-methoxybenzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (8)

Gemäß AV8 werden 220 mg (589 μ mol) der Verbindung **6a** und 298 mg (2.95 mmol, 324 μ l) NMM mit 322 mg (2.36 mmol, 308 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 323 mg (2.36 mmol, 308 μ l) 4-Methoxybenzylamin umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 15:1) und anschließende Umkristallisation aus EtOH liefern Verbindung **8** als weißen Feststoff.

Summenformel: $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{FN}_4\text{O}_4$
 Molekülmasse: 492.5 g/mol
 Ausbeute: 143 mg (290 μ mol / 49 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.39$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 15:1).

Schmp: 208 - 209 $^{\circ}\text{C}$ (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3418 (w), 3220 (w), 3048 (w), 2927 (w), 2833 (w), 1673 (m), 1653 (s), 1541 (s), 1508 (s), 1476 (s), 1335 (m), 1235 (m), 1028 (w), 802 (w), 707 (w).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 2.34

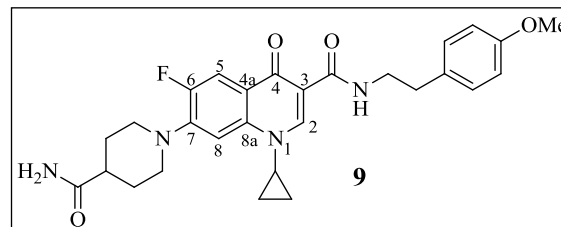
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 10.2 (t, 1H, $^3J = 5.8$, CONHR), 8.64 (s, 1H, **H-2**), 7.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.4$, **H-5**), 7.48 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.6$, **H-8**), 7.34 (s, 1H, CONH₂), 7.25 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl-CH_{arom.}), 6.89 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl-CH_{arom.}), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.46 (d, 2H, $^3J = 5.8$, benzyl-CH₂), 3.76-3.66 (m, 6H, OCH₃, cyclopropyl-CH, piperidinyl-CH₂), 2.92-2.87 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.37-2.32 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.88-1.70 (m, 4H, piperidinyl-CH₂), 1.29-1.28 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂), 1.15-1.10 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.3 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.5$, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 158.3 (1C, benzyl-C_q), 152.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 248.8$, C-6), 146.7 (1C, C-2), 144.6 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, C-7), 138.4 (1C, C-8a), 131.3 (1C, benzyl-C_q), 128.7 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 120.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, C-4a), 113.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.4$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 106.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.7$, C-8), 55.1 (1C, OCH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.7$, piperidiny-CH₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidiny-CH), 35.0 (1C, cyclopropyl-CH), 28.2 (2C, piperidiny-CH₂), 7.51 (2C, cyclopropyl-CH₂).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-N-(4-methoxyphenethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (9)

Entsprechend AV8 werden 300 mg (804 μmol) der Verbindung **6a** und 406 mg (4.02 mmol, 442 μl) NMM mit 439 mg (3.21 mmol, 417 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 323 mg (3.21 mmol, 471 μl) 4-Methoxyphenethylamin umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 10:1) und anschließende Umkristallisation aus EtOAc liefern Verbindung **9** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₈H₃₁FN₄O₄
 Molekülmasse: 506.6 g/mol
 Ausbeute: 116 mg (229 μmol / 29 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.37 ((Kieselgel, CHCl₃/MeOH 10:1).

Schmp: 240 - 241 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3412 (w), 3256 (w), 3144 (w), 3044 (w), 2963 (w), 2932 (w), 2829 (w), 1682 (m), 1652 (s), 1535 (m), 1512 (m), 1477 (s), 1335 (m), 1244 (m), 1027 (w), 934 (w), 806 (w).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 9.92 (t, 1H, $^3J = 5.7$, CONHR), 8.60 (s, 1H, H-2), 7.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.6$, H-5), 7.46 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.6$, H-8), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.17 (d, 2H, $^3J = 8.6$, phenethyl-CH_{arom.}), 6.85 (d, 2H, $^3J = 8.6$, phenethyl-CH_{arom.}), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 3.72-3.65 (m, 6H, OCH₃, cyclopropyl-CH, piperidiny-CH₂), 3.51 (td, 2H, $^3J = 7.0$, $^3J = 5.7$, phenethyl-CH₂), 2.92-2.87 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.76 (t, 2H, $^3J = 7.0$, phenethyl-CH₂), 2.37-

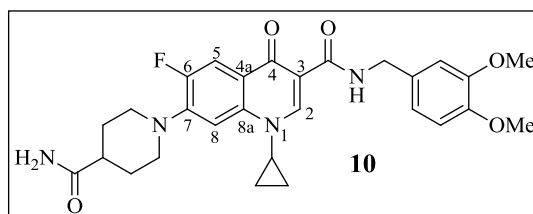
2.31 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.89-1.71 (m, 4H, piperidiny-CH₂), 1.29-1.27 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂), 1.09-1.07 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 175.9 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 1.8, C-4), 163.8 (1C, CONHR), 157.6 (1C, phenethyl-C_q), 152.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 246.6, C-6), 146.4 (1C, C-2), 144.5 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, C-7), 138.3 (1C, C-8a), 131.2 (1C, phenethyl-C_q), 129.5 (2C, phenethyl-CH_{arom.}), 120.3 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.3, C-4a), 113.7 (2C, phenethyl-CH_{arom.}), 111.0 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.4, C-5), 109.9 (1C, C-3), 105.9 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.0, C-8), 54.9 (1C, OCH₃); 49.4 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.2, piperidiny-CH₂), 41.0 (1C, piperidiny-CH), 40.3 (1C, phenethyl-CH₂), 34.8 (1C, cyclopropyl-CH), 34.4 (1C, phenethyl-CH₂), 28.1 (2C, piperidiny-CH₂), 7.42 (2C, cyclopropyl-CH₂).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-N-(3,4-dimethoxybenzyl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (10)

Analog AV8 werden 200 mg (536 μmol) der Verbindung **6a** und 271 mg (2.68 mmol, 295 μl) NMM mit 293 mg (2.14 mmol, 278 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 358 mg (2.14 mmol, 323 μl) 3,4-Dimethoxybenzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/MeOH 10:1) wird Verbindung **10** als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₂₈H₃₁FN₄O₅
 Molekülmasse: 522.6 g/mol
 Ausbeute: 102 g (195 μmol / 36 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.26 (Kieselgel, EtOAc/MeOH 10:1).

Schmp: 172 - 173 °C (EtOAc/MeOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3418 (w), 3216 (w), 3052 (w), 2943 (w), 2833 (w), 1685 (m), 1654 (s), 1540 (m), 1508 (m), 1479 (m), 1335 (m), 1234 (m), 1024 (w), 802 (w), 705 (w).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.2 (t, 1H, ³*J* = 5.6, CONHR), 8.63 (s, 1H, H-2), 7.79 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.6, H-5), 7.47 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.30, H-8), 7.33 (s, 1H, CONH₂), 6.95 (d, 1H,

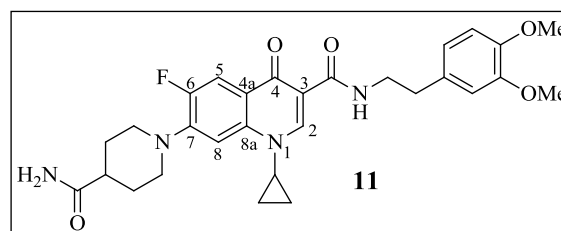
$^4J = 1.8$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.91 (d, 1H, $^3J = 8.3$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.85 (dd, 1H, $^3J = 8.3$, $^4J = 1.8$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.83 (s, 1H, CONH_2), 4.45 (d, 2H, $^3J = 5.6$, benzyl- CH_2), 3.73-3.72 (m, 7H, OCH_3 , cyclopropyl- CH), 3.69-3.66 (m, 2H, piperidiny- CH_2), 2.92-2.87 (m, 2H, piperidiny- CH_2), 2.37-2.31 (m, 1H, piperidiny- CH), 1.88-1.70 (m, 4H, piperidiny- CH_2), 1.31-1.26 (m, 2H, cyclopropyl- CH_2), 1.12-1.08 (m, 2H, cyclopropyl- CH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH_2), 174.3 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 152.7 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.4$, C-6), 148.6 (1C, benzyl- C_q), 147.8 (1C, benzyl- C_q), 146.6 (1C, C-2), 144.5 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, C-7), 138.4 (1C, C-8a), 131.8 (1C, benzyl- C_q), 120.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, C-4a), 119.5 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 111.9 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 111.7 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 111.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.0$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 106.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.0$, C-8), 55.6 (1C, OCH_3), 55.5 (1C, OCH_3), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.4$, piperidiny- CH_2), 42.0 (1C, benzyl- CH_2), 41.0 (1C, piperidiny- CH), 35.0 (1C, cyclopropyl- CH), 28.2 (2C, piperidiny- CH_2), 7.51 (2C, cyclopropyl- CH_2).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-N-(3,4-dimethoxyphenethyl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (11)

Gemäß AV8 werden 200 mg (536 μmol) der Verbindung **6a** und 271 mg (2.68 mmol, 295 μl) NMM mit 293 mg (2.14 mmol, 278 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 389 mg (2.14 mmol, 362 μl) 3,4-Dimethoxyphenethylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 15:1) und anschließendes Umkristallisieren aus EtOH wird Verbindung **11** als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{FN}_4\text{O}_5$
 Molekülmasse: 536.6 g/mol
 Ausbeute: 159 mg (2.96 μmol / 55 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.49$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 15:1).

Schmp: 215 - 216 $^{\circ}\text{C}$ (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3397 (w), 3256 (w), 3133 (w), 3052 (w), 2988 (w), 2960 (w), 2928 (w), 2829 (w), 1684 (m), 1654 (s), 1541 (s), 1509 (s), 1475 (s), 1337 (m), 1238 (m), 1143 (m), 1027 (m), 933 (w), 805 (m).

logP (HPLC): 2.33

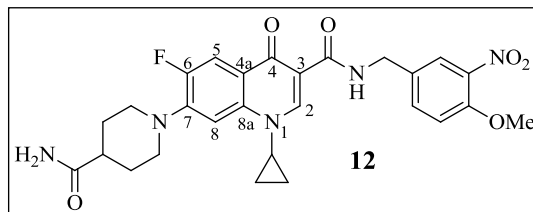
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 9.95 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.60 (s, 1H, **H-2**), 7.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.4$, **H-5**), 7.47 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.6$, **H-8**), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 6.87 (d, 1H, $^4J = 2.0$, phenethyl-CH_{arom.}), 6.86 (d, 1H, $^3J = 8.1$, phenethyl-CH_{arom.}), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 6.76 (dd, 1H, $^3J = 8.1$, $^4J = 2.0$, phenethyl-CH_{arom.}), 3.74-3.66 (m, 9H, OCH₃, cyclopropyl-CH, piperidinyl-CH₂), 3.53 (td, 2H, $^3J = 6.6$, $^3J = 6.0$, phenethyl-CH₂), 2.93-2.87 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.75 (t, 2H, $^3J = 6.6$, phenethyl-CH₂), 2.37-2.31 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.89-1.70 (m, 4H, piperidinyl-CH₂), 1.31-1.26 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂), 1.11-1.09 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 175.9 (1C, CONH₂), 174.2 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.5$, **C-4**), 163.9 (1C, CONHR), 152.7 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.6$, **C-6**), 148.6 (1C, phenethyl-C_q), 147.2 (1C, phenethyl-C_q), 146.5 (1C, **C-2**), 144.6 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, **C-7**), 138.4 (1C, **C-8a**), 131.9 (1C, phenethyl-C_q), 120.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.9$, **C-4a**), 120.3 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 112.6 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 111.9 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 111.0 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, **C-5**), 110.1 (1C, **C-3**), 106.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.0$, **C-8**), 55.5 (1C, OCH₃), 55.3 (1C, OCH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.1$, piperidinyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 40.5 (1C, phenethyl-CH₂), 35.0 (1C, cyclopropyl-CH), 34.9 (1C, phenethyl-CH₂), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 7.51 (2C, cyclopropyl-CH₂).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-N-(4-methoxy-3-nitrobenzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (12)

Analog AV8 werden 200 mg (536 μmol) der Verbindung **6a** und 271 mg (2.68 mmol, 295 μl) NMM mit 293 mg (2.14 mmol, 278 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 390 mg (2.14 mmol) der Verbindung **7a** umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (bas. ALOX, CHCl₃/EtOH 15:1) und anschließende Umkristallisation aus EtOAc erhält man Verbindung **12** in Form eines hellgelben Feststoffs.

Summenformel: $C_{27}H_{28}FN_5O_6$
 Molekülmasse: 537.5 g/mol
 Ausbeute: 102 mg (190 μ mol / 35 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.41$ (bas. ALOX, $CHCl_3/EtOH$ 15:1).

Schmp: 258 - 259 $^{\circ}C$ (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3370 (m), 3194 (m), 3076 (w), 3020 (w), 2928 (w), 2847 (w), 1656 (s),
 1624 (m), 1557 (m), 1526 (s), 1507 (m), 1480 (s), 1338 (m), 1270 (s),
 1009 (w), 814 (w), 802 (w), 775 (w).

1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.62 (s, 1H, H-2), 7.82 (d, 1H, $^4J = 2.0$, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.80 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.9$, H-5), 7.63 (dd, 1H, $^3J = 8.1$, $^4J = 2.0$, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.47 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.8$, H-8), 7.33 (br, 2H, benzyl- $CH_{arom.}$, CONH $_2$), 6.83 (s, 1H, CONH $_2$), 4.53 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl- CH_2), 3.40 (s, 3H, OCH $_3$), 3.69-3.66 (m, 3H, cyclopropyl- CH , piperidinyl- CH_2), 2.93-2.87 (m, 2H, piperidinyl- CH_2), 2.38-2.30 (m, 1H, piperidinyl- CH), 1.88-1.74 (m, 4H, piperidinyl- CH_2), 1.28-1.27 (m, 2H, cyclopropyl- CH_2), 1.11-1.07 (m, 2H, cyclopropyl- CH_2).

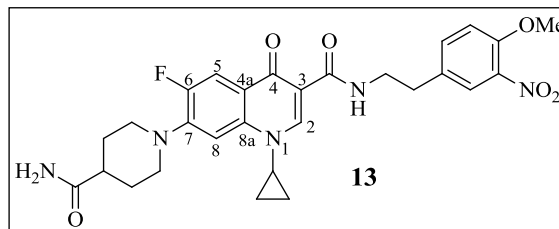
^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH $_2$), 174.2 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 1.5$, C-4), 164.2 (1C, CONHR), 152.7 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 247.4$, C-6), 151.0 (1C, benzyl- C_q), 146.8 (1C, C-2), 144.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.3$, C-7), 138.9 (1C, benzyl- C_q), 138.4 (1C, C-8a), 133.7 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 132.3 (1C, benzyl- C_q), 123.8 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 120.4 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 8.1$, C-4a), 114.4 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 111.1 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.7$, C-5), 109.8 (1C, C-3), 106.0 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 1.5$, C-8), 56.7 (1C, OCH $_3$), 49.4 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 3.9$, piperidinyl- CH_2), 41.0 (1C, piperidinyl- CH), 40.8 (1C, benzyl- CH_2), 35.0 (1C, cyclopropyl- CH), 28.2 (2C, piperidinyl- CH_2), 7.49 (2C, cyclopropyl- CH_2).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-N-(4-methoxy-3-nitrophenethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (13)

Entsprechend AV8 werden 300 mg (804 μ mol) der Verbindung **6a** und 406 mg (4.02 mmol, 442 μ l) NMM mit 439 mg (3.21 mmol, 417 μ l) Isobutylchlorformiat zur Reaktion gebracht. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 631 mg (3.21 mmol) der Verbindung **7b** umgesetzt.

Durch säulenchromatographische Aufreinigung (bas. ALOX, EtOAc/MeOH 10:1) und anschließende Umkristallisation aus EtOAc erhält man Verbindung **13** in Form eines gelben Feststoffs.

Summenformel: $C_{28}H_{30}FN_5O_6$
 Molekülmasse: 551.6 g/mol
 Ausbeute: 217 mg (393 μ mol / 49 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.33$ (bas. ALOX, EtOAc/MeOH 10:1).

Schmp: 235 - 236 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3408 (w), 3171 (w), 3048 (w), 3006 (w), 2942 (w), 2833 (w), 1682 (m), 1658 (s), 1530 (s), 1477 (s), 1335 (m), 1270 (m), 1013 (w), 808 (w).

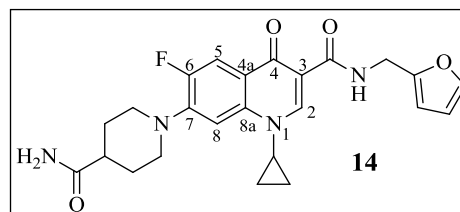
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 9.93 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.59 (s, 1H, **H-2**), 7.79 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.6$, **H-5**), 7.76 (d, 1H, $^4J = 2.0$, phenethyl-**CH**_{arom.}), 7.55 (dd, 1H, $^3J = 8.6$, $^4J = 2.0$, phenethyl-**CH**_{arom.}), 7.47 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.30$, **H-8**), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.29 (d, 1H, $^3J = 8.6$, phenethyl-**CH**_{arom.}), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.74-3.69 (m, 3H, cyclopropyl-**H**, piperidiny-**CH**₂), 3.56 (dt, 2H, $^3J = 6.0$, $^3J = 6.6$, phenethyl-**CH**₂), 2.92-2.84 (m, 4H, piperidiny-**CH**₂, phenethyl-**CH**₂), 2.38-2.30 (m, 1H, piperidiny-**CH**), 1.88-1.70 (m, 4H, piperidiny-**CH**₂), 1.31-1.26 (m, 2H, cyclopropyl-**CH**₂), 1.11-1.04 (m, 2H, cyclopropyl-**CH**₂).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.2 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.2$, **C-4**), 164.0 (1C, CONHR), 152.7 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 248.1$, **C-6**), 150.5 (1C, phenethyl-**C**_q), 146.5 (1C, **C-2**), 144.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.3$, **C-7**), 139.0 (1C, phenethyl-**C**_q), 138.4 (1C, **C-8a**), 134.6 (1C, phenethyl-**CH**_{arom.}), 132.0 (1C, phenethyl-**C**_q), 124.8 (1C, phenethyl-**CH**_{arom.}), 120.4 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.3$, **C-4a**), 114.3 (1C, phenethyl-**CH**_{arom.}), 111.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.4$, **C-5**), 110.0 (1C, **C-3**), 106.0 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 3.0$, **C-8**), 56.6 (1C, OCH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.3$, piperidiny-**CH**₂), 41.0 (1C, piperidiny-**CH**), 40.1 (1C, phenethyl-**CH**₂), 34.9 (1C, cyclopropyl-**CH**), 33.9 (1C, phenethyl-**CH**₂), 28.3 (2C, piperidiny-**CH**₂), 7.51 (2C, cyclopropyl-**CH**₂).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-N-(furan-2-ylmethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**14**)

Gemäß AV8 werden 200 mg (536 μ mol) der Verbindung **6a** und 271 mg (2.68 mmol, 295 μ l) NMM mit 293 mg (2.14 mmol, 278 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 208 mg (2.14 mmol) der Verbindung **7c** umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (bas. ALOX, CH₂Cl₂/*i*PrOH 30:1) erhält man Verbindung **14** in Form eines beigen Feststoffs.

Summenformel: C₂₄H₂₅FN₄O₄
 Molekülmasse: 452.5 g/mol
 Ausbeute: 103 mg (228 μ mol / 43 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.43 (bas. ALOX, CH₂Cl₂/*i*PrOH 30:1).

Schmp: 207 - 208 °C (CH₂Cl₂/*i*PrOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3361 (w), 3252 (w), 3179 (w), 2963 (w), 2920 (w), 1653 (s), 1558 (m), 1541 (m), 1520 (m), 1490 (m), 1269 (m), 1141 (w), 1029 (w), 888 (w), 765 (w).

CHN: *ber.* C: 63.71, H: 5.57, F: 4.20, N: 12.38, O: 14.14.
gef. C: 63.48, H: 5.91, N: 12.14.

logP (HPLC): 1.95

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.2 (t, 1H, ³*J* = 5.3, CONHR), 8.62 (s, 1H, **H-2**), 7.79 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.6, **H-5**), 7.59 (d, 1H, ³*J* = 1.0, furfuryl-**CH**_{arom.}), 7.47 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.3, **H-8**), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 6.40 (dd, 1H, ³*J* = 3.0, ³*J* = 1.0, furfuryl-**CH**_{arom.}), 6.30 (d, 1H, ³*J* = 3.0, furfuryl-**CH**_{arom.}), 4.53 (d, 2H, ³*J* = 5.3, furfuryl-**CH**₂), 3.72-3.66 (m, 3H, cyclopropyl-**CH**, piperidinyl-**CH**₂), 2.93-2.87 (m, 2H, piperidinyl-**CH**₂), 2.37-2.31 (m, 1H, piperidinyl-**CH**), 1.88-1.71 (m, 4H, piperidinyl-**CH**₂), 1.29-1.28 (m, 2H, cyclopropyl-**CH**₂), 1.10 (br, 2H, cyclopropyl-**CH**₂),

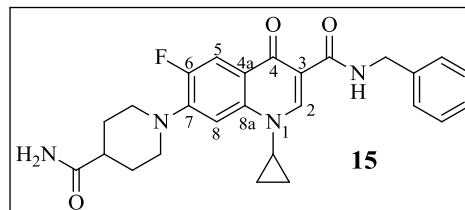
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.2 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.2, **C-4**), 163.9 (1C, CONHR), 152.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.4, **C-6**), 152.1 (1C, furfuryl-**C**_q), 147.7 (1C, **C-2**), 144.6 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, **C-7**), 142.3 (1C, furfuryl-**CH**_{arom.}), 138.4 (1C, **C-8a**), 120.4 (d, 1C,

$^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, C-4a), 111.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, C-5), 110.5 (1C, furfuryl-CH_{arom.}), 109.7 (1C, C-3), 106.9 (1C, furfuryl-CH_{arom.}), 106.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.9$, C-8), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.3$, piperidiny-CH₂), 41.1 (1C, piperidiny-CH), 35.3 (1C, furfuryl-CH₂), 35.0 (1C, cyclopropyl-CH), 28.2 (2C, piperidiny-CH₂), 7.51 (2C, cyclopropyl-CH₂).

N-Benzyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**15**)

Analog AV8 werden 300 mg (804 μmol) der Verbindung **6a** und 406 mg (4.02 mmol, 442 μl) NMM mit 439 mg (3.21 mmol, 417 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 344 mg (3.21 mmol, 350 μl) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1) erhält man Verbindung **15** in Form eines beigen Feststoffs.

Summenformel: C₂₆H₂₇FN₄O₃
 Molekülmasse: 462.5 g/mol
 Ausbeute: 163 mg (352 μmol / 44 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.66 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1).

Schmp: 156 - 157 °C (CHCl₃/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3412 (w), 3218 (w), 3050 (w), 2951 (w), 2927 (w), 1654 (s), 1625 (m), 1533 (s), 1477 (s), 1336 (m), 1253 (m), 1026 (m), 801 (w), 747 (w), 698 (m).

HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 1: > 99.9 %.

logP (HPLC): 2.50

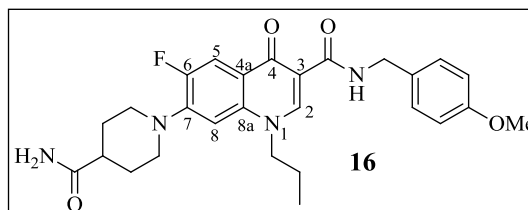
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.9$, CONHR), 8.60 (s, 1H, H-2), 7.77 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.5$, H-5), 7.44 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.5$, H-8), 7.30-7.19 (m, 6H, benzyl-CH_{arom.}, CONH₂), 6.79 (s, 1H, CONH₂), 4.50 (d, 2H, $^3J = 5.9$, benzyl-CH₂), 3.71-3.67 (m, 1H, cyclopropyl-CH), 3.65-3.62 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.89-2.84 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.34-2.27 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.85-1.67 (m, 4H, piperidiny-CH₂), 1.27-1.22 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂), 1.09-1.05 (m, 2H, cyclopropyl-CH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 175.7 (1C, CONH₂), 174.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.0, C-4), 163.7 (1C, CONHR), 152.4 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.1, C-6), 146.4 (1C, C-2), 144.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.5, C-7), 139.1 (1C, benzyl-C_q), 138.2 (1C, C-8a), 128.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.0 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 120.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.1, C-4a), 110.8 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.6, C-5), 109.6 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 2.4, C-8), 49.2 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.2, piperidiny-CH₂), 41.8 (1C, benzyl-CH₂), 40.8 (1C, piperidiny-CH), 34.7 (1C, cyclopropyl-CH), 27.9 (2C, piperidiny-CH₂), 7.20 (2C, cyclopropyl-CH₂).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxybenzyl)-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (16)

Gemäß AV8 werden 200 mg (533 μmol) der Verbindung **6b** und 270 mg (2.66 mmol, 293 μl) NMM mit 291 mg (2.13 mmol, 276 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 292 mg (2.13 mmol, 278 μl) 4-Methoxybenzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (bas. ALOX, CHCl₃/*i*PrOH 30:1) erhält man Verbindung **16** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: C₂₇H₃₁FN₄O₄
 Molekülmasse: 494.6 g/mol
 Ausbeute: 0.14 g (283 μmol / 53 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.49 (bas. ALOX, CHCl₃/*i*PrOH 30:1).

Schmp: 180 - 182 °C (CHCl₃/*i*PrOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3351 (w), 3186 (w), 3062 (w), 2966 (w), 2928 (w), 2854 (w), 1685 (m), 1653 (s), 1541 (s), 1516 (m), 1488 (s), 1383 (m), 1234 (m), 1033 (w), 801 (w).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 2.50

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³*J* = 5.6, CONHR), 8.77 (s, 1H, H-2), 7.82 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.4, H-5), 7.33 (s, 1H, CONH₂), 7.27 (d, 2H, ³*J* = 8.6, benzyl-CH_{arom.}), 7.07 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.1, H-8), 6.90 (d, 2H, ³*J* = 8.6, benzyl-CH_{arom.}), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.46 (d, 2H, ³*J* = 5.6, benzyl-CH₂), 4.43 (t, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.66-3.63 (m,

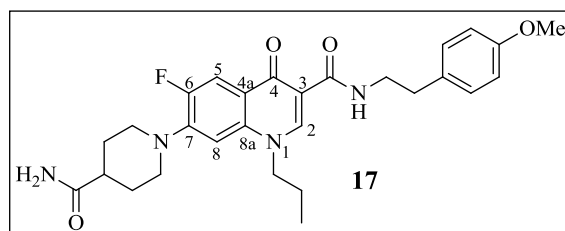
2H, piperidiny-CH₂), 2.90-2.85 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.87-1.69 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₃), 0.89 (t, 3H, ³J = 7.2, NCH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 176.1 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.2, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 158.3 (1C, benzyl-C_q), 152.6 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 247.4, C-6), 147.8 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, ²J_{C,F} = 10.3, C-7), 136.7 (1C, C-8a), 131.3 (1C, benzyl-C_q), 128.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 121.1 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.6, C-4a), 113.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.3 (d, 1C, ²J_{C,F} = 23.4, C-5), 109.9 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, ³J_{C,F} = 2.2, C-8), 55.1 (1C, OCH₃), 54.4 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 49.6 (d, 2C, ⁴J_{C,F} = 4.3, piperidiny-CH₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidiny-CH), 28.3 (2C, piperidiny-CH₂), 21.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.7 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxyphenethyl)-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (17)

Entsprechend AV8 werden 300 mg (799 μmol) der Verbindung **6b** und 404 mg (4.00 mmol, 439 μl) NMM mit 437 mg (3.20 mmol, 415 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 483 mg (3.20 mmol, 469 μl) 4-Methoxyphenethylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1) erhält man Verbindung **17** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: C₂₈H₃₃FN₄O₄
 Molekülmasse: 508.6 g/mol
 Ausbeute: 149 mg (293 μmol / 37 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.53 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1).

Schmp: 254 - 257 °C (CHCl₃/MeOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3400 (w), 3235 (w), 3158 (w), 3055 (w), 2955 (w), 2826 (w), 1686 (m), 1657 (s), 1534 (m), 1510 (m), 1487 (s), 1363 (w), 1245 (m), 1031 (w), 809 (w), 711 (w).

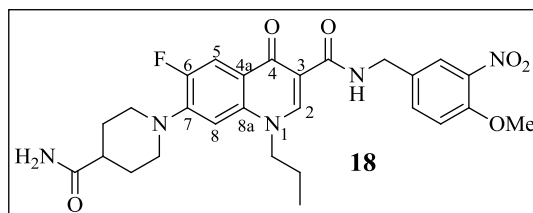
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.0 (t, 1H, ³*J* = 5.3, CONHR), 8.73 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.4, H-5), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.17 (d, 2H, ³*J* = 7.1, phenethyl-CH_{arom.}), 7.06 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.1, H-8), 6.85 (m, 3H, phenethyl-CH_{arom.}, CONH₂), 4.42 (t, 2H, ³*J* = 6.0, NCH₂CH₂CH₃), 3.72-3.63 (m, 5H, OCH₃, piperidinyl-CH₂), 3.52 (td, 2H, ³*J* = 5.8, ³*J* = 5.3, phenethyl-CH₂), 2.90-2.85 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.77 (t, 2H, ³*J* = 5.8, phenethyl-CH₂), 2.32 (br, 1H, piperidinyl-CH), 1.84-1.72 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₃), 0.88 (t, 3H, ³*J* = 6.0, NCH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.2, C-4), 164.1 (1C, CONHR), 157.7 (1C, phenethyl-C_q), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 246.6, C-6), 146.6 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 11.0, C-7), 136.7 (1C, C-8a), 131.3 (1C, phenethyl-C_q), 129.5 (2C, phenethyl-CH_{arom.}), 121.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 6.6, C-4a), 113.8 (2C, phenethyl-CH_{arom.}), 111.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.0, C-5); 110.0 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 2.2, C-8), 54.9 (1C, OCH₃), 54.4 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 49.6 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.1, piperidinyl-CH₂), 41.1 (1C, piperidinyl-CH), 40.2 (1C, phenethyl-CH₂), 34.4 (1C, phenethyl-CH₂), 28.3 (2C, piperidinyl-CH₂), 21.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.7 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxy-3-nitrobenzyl)-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxochinolin-3-carboxamid (18)

Analog AV8 werden 200 mg (533 μmol) der Verbindung **6b** und 270 mg (2.66 mmol, 293 μl) NMM mit 291 mg (2.13 mmol, 277 μl) Isobutylchlorformiat zur Reaktion gebracht. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 388 mg (2.13 mmol) der Verbindung **7a** umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1) erhält man Verbindung **18** in Form eines gelben Feststoffs.

Summenformel: C₂₇H₃₀FN₅O₆
 Molekülmasse: 539.6 g/mol
 Ausbeute: 103 mg (191 μmol / 36 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.23 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1).

Schmp: 254 - 255 °C (CHCl₃/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3365 (w), 3196 (w), 3062 (w), 2956 (w), 2928 (w), 1655 (s), 1625 (m), 1558 (s), 1508 (m), 1490 (s), 1352 (m), 1222 (m), 1018 (w), 820 (w).

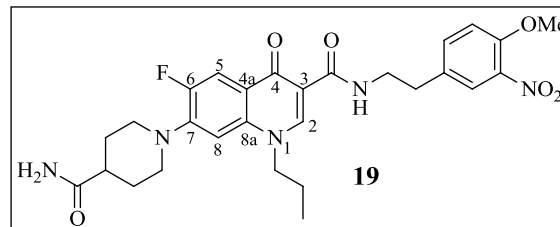
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.77 (s, 1H, **H-2**), 7.85 (d, 1H, $^4J = 2.0$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.84 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.6$, **H-5**), 7.64 (dd, 1H, $^3J = 8.6$, $^4J = 2.0$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.33 (d, 1H, $^3J = 8.6$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.32 (s, 1H, CONH $_2$), 7.07 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.3$, **H-8**), 6.83 (s, 1H, CONH $_2$), 4.54 (d, 2H $^3J = 6.0$, benzyl- CH_2), 4.43 (t, 2H, $^3J = 7.0$, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_3$), 3.90 (s, 3H, OCH $_3$), 3.66-3.63 (m, 2H, piperidinyl- CH_2), 2.91-2.85 (m, 2H, piperidinyl- CH_2), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidinyl-**CH**), 1.87-1.69 (m, 6H, piperidinyl- CH_2 , NCH $_2$ CH $_2$ CH $_3$), 0.89 (t, 3H, $^3J = 7.0$, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH $_2$), 174.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.5$, **C-4**), 164.4 (1C, CONHR), 152.6 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.4$, **C-6**), 151.0 (1C, benzyl- C_q), 147.9 (1C, **C-2**), 144.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 11.0$, **C-7**), 138.9 (1C, benzyl- C_q), 136.7 (1C, **C-8a**), 133.7 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 132.3 (1C, benzyl- C_q), 123.9 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 121.1 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.6$, **C-4a**), 114.4 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 111.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, **C-5**), 109.7 (1C, **C-3**), 105.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.0$, **C-8**), 56.7 (1C, OCH $_3$), 54.4 (1C, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_3$), 49.5 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.4$, piperidinyl- CH_2), 41.0 (1C, piperidinyl-**CH**), 40.8 (1C, benzyl- CH_2), 28.3 (2C, piperidinyl- CH_2), 21.6 (1C, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_3$), 10.7 (1C, NCH $_2$ CH $_2$ CH $_3$).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxy-3-nitrophenethyl)-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (19)

Gemäß AV8 werden 200 mg (533 μmol) der Verbindung **6b** und 270 mg (2.66 mmol, 293 μl) NMM mit 291 mg (2.13 mmol, 277 μl) Isobutylchlorformiat zur Reaktion gebracht. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 418 mg (2.13 mmol) der Verbindung **7b** umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 10:1) erhält man Verbindung **19** als gelben Feststoff, welcher anschließend aus Aceton umkristallisiert wird.

Summenformel: $C_{28}H_{32}FN_5O_6$
 Molekülmasse: 553.6 g/mol
 Ausbeute: 104 mg (188 μ mol / 34 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.37$ (Kieselgel, $CHCl_3/EtOH$ 10:1).
 Schmp: 211 - 213 °C (Aceton).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3397 (w), 3175 (w), 3050 (w), 2941 (w), 2882 (w), 2822 (w), 1683 (m),
 1651 (s), 1531 (s), 1488 (s), 1351 (m), 1258 (m), 1016 (w), 826 (w).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 10.0 (t, 1H, ³ $J = 6.0$, CONHR), 8.72 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, ³ $J_{H,F} = 13.4$, H-5), 7.77 (d, 1H, ⁴ $J = 2.0$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.56 (dd, 1H, ³ $J = 8.6$, ⁴ $J = 2.0$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.31 (s, 1H, CONH₂), 7.29 (d, 1H, ³ $J = 8.6$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.07 (d, 1H, ⁴ $J_{H,F} = 7.3$, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.42 (t, 2H, ³ $J = 7.0$, NCH₂CH₂CH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.66-3.62 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 3.57 (td, 2H, ³ $J = 6.6$, ³ $J = 6.0$, phenethyl-CH₂), 2.90-2.85 (m, 4H, piperidiny-CH₂, phenethyl-CH₂), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.87-1.69 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₃), 0.88 (t, 3H, ³ $J = 7.0$, NCH₂CH₂CH₃).

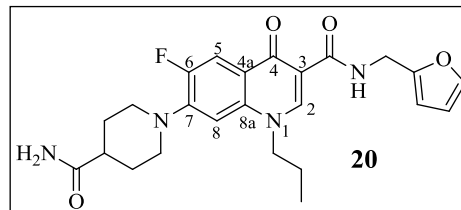
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, ⁴ $J_{C,F} = 2.2$, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 152.6 (d, 1C, ¹ $J_{C,F} = 246.6$, C-6), 150.4 (1C, phenethyl-C_q), 147.7 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, ² $J_{C,F} = 10.3$, C-7), 139.0 (1C, phenethyl-C_q), 136.7 (1C, C-8a), 134.7 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 132.0 (1C, phenethyl-C_q), 124.8 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 121.1 (d, 1C, ³ $J_{C,F} = 7.3$, C-4a), 114.2 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 111.3 (d, 1C, ² $J_{C,F} = 22.0$, C-5), 109.9 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, ³ $J_{C,F} = 3.7$, C-8), 56.7 (1C, OCH₃), 54.4 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 49.6 (d, 2C, ⁴ $J_{C,F} = 4.1$, piperidiny-CH₂), 41.1 (1C, piperidiny-CH), 40.1 (1C, phenethyl-CH₂), 33.9 (1C, phenethyl-CH₂), 28.3 (2C, piperidiny-CH₂), 21.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.7 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(furan-2-ylmethyl)-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (20)

Entsprechend AV8 werden 250 mg (666 μ mol) der Verbindung **6b** und 337 mg (3.33 mmol, 366 μ l) NMM werden mit 364 mg (2.66 mmol, 346 μ l) Isobutylchlorformiat zur Reaktion

gebracht. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 259 mg (2.66 mmol) der Verbindung **7c** umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 20:1) liefert Verbindung **20** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: C₂₄H₂₇FN₄O₄
 Molekülmasse: 454.5 g/mol
 Ausbeute: 63.0 mg (139 μmol / 21 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.40 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 20:1).

Schmp: 217 - 219 °C (CHCl₃/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3369 (w), 3196 (w), 3044 (w), 2926 (w), 1654 (s), 1625 (m), 1541 (m), 1489 (s), 1354 (w), 1232 (m), 1013 (w), 901 (w), 844 (w).

CHN: *ber.* C: 63.42, H: 5.99, F: 4.18, N: 12.33, O: 14.08.
gef. C: 63.57, H: 6.10, N: 12.19.

logP (HPLC): 2.10

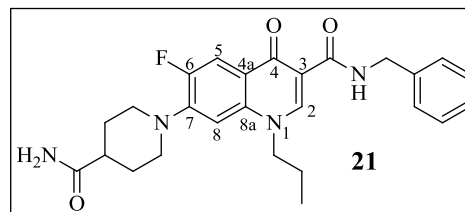
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³*J* = 5.7, CONHR), 8.76 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.6, H-5), 7.60 (d, 1H, ³*J* = 1.0, furfuryl-CH_{arom.}), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.07 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.3, H-8), 6.83 (s, 1H, CONH₂), 6.41 (dd, 1H, ³*J* = 3.0, ³*J* = 1.0, furfuryl-CH_{arom.}), 6.31 (d, 1H, ³*J* = 3.0, furfuryl-CH_{arom.}), 4.54 (d, 2H, ³*J* = 5.7, furfuryl-CH₂), 4.43 (t, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃), 3.66-3.63 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.91-2.85 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.36-2.28 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.87-1.67 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₃), 0.89 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.2, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 152.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.4, C-6), 152.2 (1C, furfuryl-C_q), 147.8 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, C-7), 142.3 (1C, furfuryl-CH_{arom.}), 136.7 (1C, C-8a), 121.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.3, C-4a), 111.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.7, C-5), 110.5 (1C, furfuryl-CH_{arom.}), 109.7 (1C, C-3), 106.9 (1C, furfuryl-CH_{arom.}), 105.7 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.0, C-8), 54.5 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.3, piperidiny-CH₂), 41.1 (1C, piperidiny-CH), 35.3 (1C, furfuryl-CH₂), 28.3 (2C, piperidiny-CH₂), 21.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.7 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-1-propyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**21**)

Gemäß AV8 werden 300 mg (799 μ mol) der Verbindung **6b** und 404 mg (4.00 mmol, 439 μ l) NMM mit 437 mg (3.20 mmol, 415 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 343 mg (3.20 mmol, 349 μ l) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1) erhält man Verbindung **21** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: C₂₆H₂₉FN₄O₃
 Molekülmasse: 464.5 g/mol
 Ausbeute: 106 mg (228 μ mol / 29 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.20 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1).

Schmp: 289 - 293 °C (CHCl₃/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3362 (w), 3221 (w), 3047 (w), 2953 (w), 2803 (w), 1652 (s), 1627 (m), 1557 (s), 1532 (s), 1489 (s), 1360 (m), 1230 (m), 1127 (w), 804 (w), 742 (m), 731 (m).

CHN: *ber.* C: 67.22, H: 6.29, F: 4.09, N: 12.06, O: 10.33.
gef. C: 67.34, H: 6.53, N: 12.09.

logP (HPLC): 2.64

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.4 (t, 1H, ³*J* = 5.9, CONHR), 8.78 (s, 1H, **H**-2), 7.84 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.5, **H**-5), 7.35-7.21 (m, 6H, benzyl-CH_{arom.}, CONH₂), 7.08 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.3, **H**-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.55 (d, 2H, ³*J* = 5.9, benzyl-CH₂), 4.44 (t, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃), 3.64-3.61 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.89-2.83 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.34-2.26 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.86-1.66 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₃), 0.90 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₃).

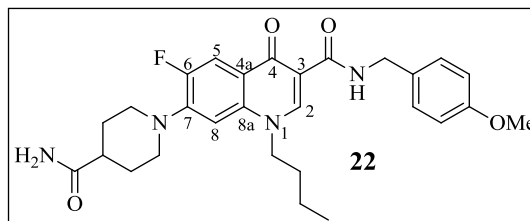
¹³C-NMR (DMSO, δ [ppm], *J* [Hz]): 175.9 (1C, CONH₂), 174.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.0, **C**-4), 164.1 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.1, **C**-6), 147.7 (1C, **C**-2), 144.8 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.5, **C**-7), 139.3 (1C, benzyl-C_q), 136.6 (1C, **C**-8a), 128.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 121.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.3, **C**-4a), 111.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.8,

C-5), 109.78 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 3.0$, C-8), 54.4 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.2$, piperidinyl-CH₂), 42.0 (1C, benzyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 21.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃), 10.6 (1C, NCH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxybenzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**22**)

Entsprechend AV8 werden 200 mg (514 μ mol) der Verbindung **6c** und 260 mg (2.57 mmol, 282 μ l) NMM mit 281 mg (2.05 mmol, 267 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 282 mg (2.05 mmol, 273 μ l) 4-Methoxybenzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 20:1) und anschließende Umkristallisation aus EtOAc erhält man Verbindung **22** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: C₂₈H₃₃FN₄O₄
 Molekülmasse: 508.6 g/mol
 Ausbeute: 123 mg (242 μ mol / 47 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.26 (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 20:1).

Schmp: 195 - 196 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3193 (w), 3052 (w), 2931 (w), 2868 (w), 2833 (w), 1653 (s), 1541 (m), 1508 (m), 1488 (s), 1386 (w), 1233 (m), 1031 (w), 803 (w), 703 (w).

HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 1: 98.3 %.

logP (HPLC): 2.92

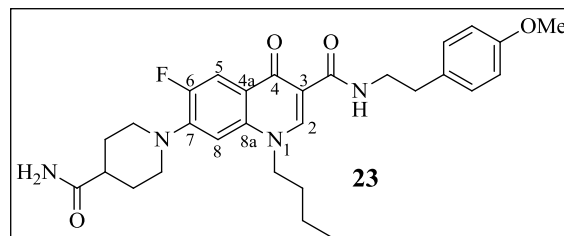
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.7$, CONHR), 8.76 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.4$, H-5), 7.31 (s, 1H, CONH₂), 7.27 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl-CH_{arom.}), 7.07 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.1$, H-8), 6.90 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl-CH_{arom.}), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.47-4.46 (m, 4H, benzyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.67-3.64 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.91-2.85 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.87-1.69 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃); 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 158.3 (1C, benzyl-C_q), 152.6 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 248.1$, C-6), 147.7 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 11.0$, C-7), 136.7 (1C, C-8a), 131.5 (1C, benzyl-C_q), 128.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 121.2 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.6$, C-4a), 113.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-8), 55.1 (1C, OCH₃), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.2$, piperidiny-CH₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidiny-CH), 30.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.3 (2C, piperidiny-CH₂); 19.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxyphenethyl)-1,4-dihydro-4-oxoquinolin-3-carboxamid (23)

Gemäß AV8 werden 200 mg (514 μmol) der Verbindung **6c** und 260 mg (2.57 mmol, 282 μl) NMM mit 281 mg (2.05 mmol, 267 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 311 mg (2.05 mmol, 301 μl) 4-Methoxyphenethylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (bas. ALOX, EtOAc/*i*PrOH 40:1) und anschließende Umkristallisation aus EtOH erhält man Verbindung **23** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: C₂₉H₃₅FN₄O₄
 Molekülmasse: 522.6 g/mol
 Ausbeute: 187 mg (358 μmol / 70 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.61 (bas. ALOX, EtOAc/*i*PrOH 40:1).

Schmp: 250 - 251 °C (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3399 (w), 3164 (w), 3037 (w), 2932 (w), 2857 (w), 2826 (w), 1686 (m), 1654 (s), 1547 (m), 1530 (m), 1510 (m), 1485 (s), 1363 (m), 1243 (m), 1028 (m), 808 (w), 712 (w).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.0 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.72 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.4$, H-5), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.17 (d, 2H, $^3J = 8.5$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.06 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.3$, H-8), 6.85 (d, 2H, $^3J = 8.5$, phenethyl-CH_{arom.}), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.44 (t,

CHN: *ber.* C: 60.75, H: 5.83, F: 3.43, N: 12.65, O: 17.34.

gef. C: 60.79, H: 5.86, N: 12.47.

logP (HPLC): 2.31

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.4 (t, 1H, ³*J* = 5.3, CONHR), 8.77 (s, 1H, H-2), 7.87-7.84 (m, 2H, H-5, benzyl-CH_{arom.}), 7.64 (d, 1H, ³*J* = 8.5, benzyl-CH_{arom.}), 7.33 (d, 1H, ³*J* = 8.5, benzyl-CH_{arom.}), 7.31 (s, 1H, CONH₂), 7.07 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.8, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 5.05 (d, 2H ³*J* = 5.3, benzyl-CH₂), 4.47 (t, 2H, ³*J* = 6.7, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 3.67-3.64 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.92-2.86 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.32 (br, 1H, piperidiny-CH), 1.87-1.72 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, ³*J* = 6.7, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 6.7, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

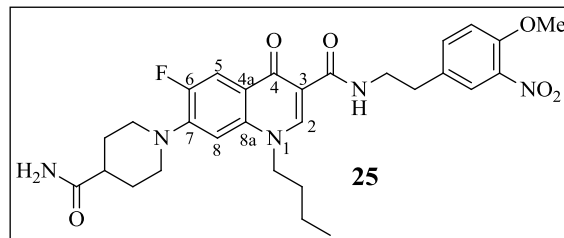
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 1.5, C-4), 164.4 (1C, CONHR), 153.8 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.3, C-6), 151.0 (1C, benzyl-C_q), 147.8 (1C, C-2), 144.8 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 11.0, C-7), 138.9 (1C, benzyl-C_q), 136.7 (1C, C-8a), 133.7 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 123.9 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 121.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 6.6, C-4a), 114.4 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 111.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.7, C-5), 109.8 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 2.2, C-8), 56.7 (1C, OCH₃), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.3, piperidiny-CH₂), 41.1 (1C, piperidiny-CH), 40.8 (1C, benzyl-CH₂), 30.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.3 (2C, piperidiny-CH₂), 19.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-methoxy-3-nitrophenethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (25)

Entsprechend AV8 werden 120 mg (308 μmol) der Verbindung **6c** und 156 mg (1.54 mmol, 169 μl) NMM mit 168 mg (1.23 mmol, 160 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 242 mg (1.23 mmol) **7b** umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 15:1) und anschließendes Umkristallisieren aus EtOAc liefern Verbindung **25** als gelben Feststoff.

Experimentaltteil

Summenformel: $C_{29}H_{34}FN_5O_6$
 Molekülmasse: 567.61 g/mol
 Ausbeute: 151 g (266 μ mol / 86 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.37$ (Kieselgel, $CHCl_3/EtOH$ 15:1).

Schmp: 238 - 239 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3397 (w), 3171 (w), 3048 (w), 2938 (w), 1681 (m), 1651 (s), 1532 (s), 1487 (s), 1348 (m), 1257 (m), 1013 (m), 932 (w), 808 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 97.6 %.

logP (HPLC): 2.47

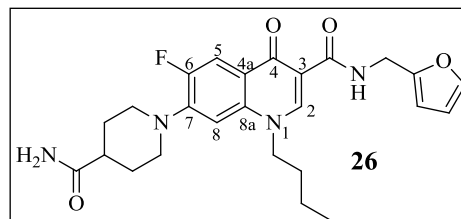
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.0 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.71 (s, 1H, H-2), 7.82 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.6$, H-5), 7.76 (d, 1H, $^4J = 2.0$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.55 (dd, 1H, $^3J = 8.5$, $^4J = 2.0$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.28 (d, 1H, $^3J = 8.5$, phenethyl-CH_{arom.}), 7.05 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.1$, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.44 (t, 2H, $^3J = 7.2$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.66-3.63 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 3.57 (td, 2H, $^3J = 6.5$, $^3J = 6.0$, phenethyl-CH₂), 2.91-2.84 (m, 4H, piperidiny-CH₂, phenethyl-CH₂), 2.35-2.30 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.87-1.70 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.31 (sext, 2H, $^3J = 7.2$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.91 (t, 3H, $^3J = 7.2$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.1 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.2$, C-4), 164.2 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 247.4$, C-6), 150.4 (1C, phenethyl-C_q), 147.5 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.3$, C-7), 139.0 (1C, phenethyl-C_q), 136.6 (1C, C-8a), 134.7 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 132.0 (1C, phenethyl-C_q), 124.8 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 121.3 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.3$, C-4a), 114.2 (1C, phenethyl-CH_{arom.}), 111.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.7$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.2$, C-8), 56.6 (1C, OCH₃), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.1$, piperidiny-CH₂), 41.0 (1C, piperidiny-CH), 40.2 (1C, phenethyl-CH₂), 33.9 (1C, phenethyl-CH₂), 30.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.3 (2C, piperidiny-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(furan-2-ylmethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (26)

Gemäß AV8 werden 200 mg (514 μmol) der Verbindung **6c** und 260 mg (2.57 mmol, 282 μl) NMM mit 281 mg (2.05 mmol, 267 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 199 mg (2.05 mmol) **7c** umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 15:1) liefert Verbindung **26** als hellgelben Feststoff.

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{FN}_4\text{O}_4$
 Molekülmasse: 468.5 g/mol
 Ausbeute: 71.0 mg (152 μmol / 30 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.32$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 15:1).

Schmp: 170 - 171 $^\circ\text{C}$ ($\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3334 (w), 3189 (m), 3050 (w), 2944 (w), 2872 (w), 1652 (s), 1626 (s), 1549 (s), 1491 (s), 1360 (m), 1225 (m), 1013 (w), 932 (w), 809 (w), 755 (m).

CHN: ber. C: 64.09, H: 6.24, F: 4.05, N: 11.96, O: 13.66.

gef. C: 63.66, H: 6.42, N: 11.65.

logP (HPLC): 2.43

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.6$, CONHR), 8.72 (s, 1H, H-2), 7.80 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.5$, H-5), 7.56 (d, 1H, $^3J = 1.0$, furfuryl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.27 (s, 1H, CONH₂), 7.03 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.3$, H-8), 6.78 (s, 1H, CONH₂), 6.37 (dd, 1H, $^3J = 3.0$, $^3J = 1.0$, furfuryl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.26 (d, 1H, $^3J = 3.0$, furfuryl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 4.49 (d, 2H, $^3J = 5.6$, furfuryl- CH_2), 4.43 (t, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.63-3.60 (m, 2H, piperidiny- CH_2), 2.87-2.82 (m, 2H, piperidiny- CH_2), 2.31-2.23 (m, 1H, piperidiny- CH), 1.83-1.64 (m, 6H, piperidiny- CH_2 , NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.28 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.88 (t, 3H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

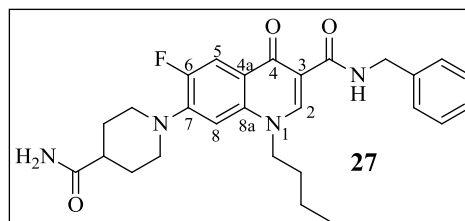
$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 175.9 (1C, CONH₂), 174.0 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.7$, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.5$, C-6), 152.1 (1C, furfuryl- C_q), 147.6 (1C, C-2), 144.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.0$, C-7), 142.2 (1C, furfuryl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 136.6 (1C, C-8a), 121.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.5$, C-4a), 111.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.0$, C-5), 110.4 (1C, furfuryl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 109.7 (1C, C-3),

106.8 (1C, furfuryl-CH_{arom.}), 105.6 (d, 1C, ³J_{C,F} = 2.5, C-8), 52.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.4 (d, 2C, ⁴J_{C,F} = 4.2, piperidinyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 35.2 (1C, furfuryl-CH₂), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**27**)

Analog AV8 werden 200 mg (514 μmol) der Verbindung **6c** und 260 mg (2.57 mmol, 282 μl) NMM mit 281 mg (2.05 mmol, 267 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 220 mg (2.05 mmol, 224 μl) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 10:1) wird Verbindung **27** als beiger Feststoff erhalten.

Summenformel: C₂₇H₃₁FN₄O₃
 Molekülmasse: 478.6 g/mol
 Ausbeute: 82.0 mg (171 μmol / 33 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.33 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 10:1).

Schmp: 203 - 204 °C (CHCl₃/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3403 (w), 3213 (w), 3044 (w), 2957 (w), 2927 (w), 1653 (s), 1625 (m), 1548 (m), 1488 (m), 1360 (m), 1227 (m), 931 (w), 804 (w), 731 (w), 697 (m).

CHN: ber. C: 67.76, H: 6.53, F: 3.97, N: 11.71, O: 10.03.

gef. C: 67.43, H: 6.86, N: 11.34.

logP (HPLC): 3.15

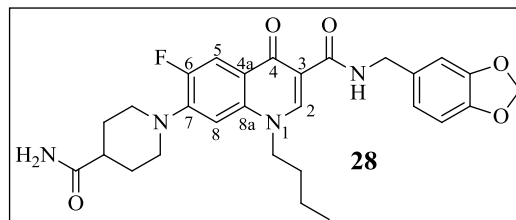
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.4 (t, 1H, ³*J* = 5.8, CONHR), 8.77 (s, 1H, H-2), 7.84 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.5, H-5), 7.34-7.24 (m, 6H, benzyl-CH_{arom.}, CONH₂), 7.07 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.3, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.54 (d, 2H, ³*J* = 5.8, benzyl-CH₂), 4.46 (t, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.67-3.64 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.91-2.85 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.35-2.28 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.87-1.69 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 175.7 (1C, CONH₂), 173.8 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.70$, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 152.3 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 248.0$, C-6), 147.4 (1C, C-2), 144.6 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.5$, C-7), 139.1 (1C, benzyl-C_q), 136.4 (1C, C-8a), 128.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 120.8 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, C-4a), 111.0 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.1$, C-5), 109.7 (1C, C-3), 105.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.5$, C-8), 52.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.2 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.2$, piperidiny-CH₂), 41.8 (1C, benzyl-CH₂), 40.7 (1C, piperidiny-CH), 30.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.0 (2C, piperidiny-CH₂), 18.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(3,4-methylenedioxy)benzyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (28)

Gemäß AV8 werden 470 mg (1.21 μmol) der Verbindung **6c** und 610 mg (6.04 mmol, 664 μl) NMM mit 659 mg (4.83 mmol, 626 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 730 mg (4.83 mmol, 601 μl) 3,4-(Methylenedioxy)benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 10:1) wird Verbindung **28** als beiger Feststoff erhalten.

Summenformel: C₂₈H₃₁FN₄O₅
 Molekülmasse: 522.6 g/mol
 Ausbeute: 206 mg (394 μmol / 33 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.29 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 10:1).
 Schmp: 166 - 169 °C (CHCl₃/EtOH).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3178 (w), 3034 (w), 2959 (w), 2928 (w), 1653 (s), 1541 (m), 1487 (s), 1376 (w), 1228 (m), 1040 (m), 931 (w), 805 (m).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.76 (s, 1H, H-2), 7.84 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.5$, H-5), 7.31 (s, 1H, CONH₂), 7.07 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.5$, H-8), 6.91-6.82 (m, 3H, benzyl-CH_{arom.}), 6.81 (s, 1H, CONH₂), 5.98 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.48-4.43 (m, 4H, benzyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.67-3.64 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.91-2.86 (m, 2H, piperidiny-CH₂), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidiny-CH), 1.87-1.70 (m, 6H, piperidiny-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.4$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

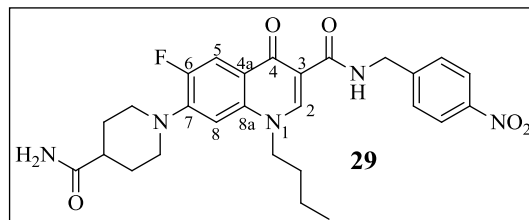
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 175.9 (1C, CONH₂), 174.0 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.6$, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.7$, C-6), 147.6 (1C, C-2), 147.2 (1C, benzyl-C_q), 146.1 (1C, benzyl-C_q), 144.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.5$, C-7), 136.6 (1C, C-8a), 133.2 (1C, benzyl-C_q), 121.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.6$, C-4a), 120.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 111.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.6$, C-5), 109.9 (1C, C-3), 108.0 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 105.6 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.9$, C-8), 100.7 (1C, benzyl-CH₂), 52.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.2$, piperidiny-CH₂), 41.9 (1C, piperidiny-CH), 41.0 (1C, benzyl-CH₂), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidiny-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-nitrobenzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (29)

4-Nitrobenzylamin-Hydrochlorid wird vorab in wässriger NaOH-Lösung (2 N) gelöst und mit CHCl₃ extrahiert, um die freie Base zu erhalten.

Entsprechend AV8 werden 250 mg (642 μmol) der Verbindung **6c** und 325 mg (3.21 mmol, 353 μl) NMM mit 351 mg (2.57 mmol, 333 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 391 mg (2.57 mmol) 4-Nitrobenzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1) und anschließendes Umkristallisieren aus EtOH wird Verbindung **29** als beiger Feststoff erhalten.

Summenformel: C₂₇H₃₀FN₅O₅
 Molekülmasse: 523.6 g/mol
 Ausbeute: 123 mg (235 μmol / 37 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.32$ (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1).

Schmp: 262 - 263 °C (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3376 (w), 3198 (w), 2955 (w), 2928 (w), 2909 (w), 2869 (w), 1660 (s), 1627 (m), 1543 (m), 1507 (m), 1490 (s), 1381 (m), 1341 (s), 1235 (m), 820 (w), 745 (w), 659 (w).

CHN: *ber.* C: 61.94, H: 5.78, F: 3.63, N: 13.38, O: 15.28.

gef. C: 61.55, H: 6.14, N: 13.01.

logP (HPLC): 2.78

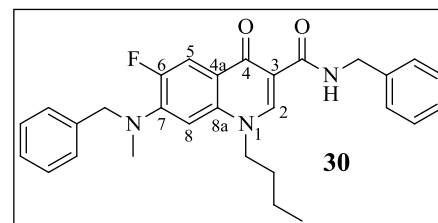
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.5 (t, 1H, ³*J* = 5.8, CONHR), 8.77 (s, 1H, H-2), 8.20 (d, 2H, ³*J* = 8.5, benzyl-CH_{arom.}), 7.86 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.5, H-5), 7.59 (d, 2H, ³*J* = 8.5, benzyl-CH_{arom.}), 7.32 (s, 1H, CONH₂), 7.08 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.0, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.68 (d, 2H, ³*J* = 5.8, benzyl-CH₂), 4.47 (t, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.68-3.65 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.92-2.86 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.36-2.30 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.87-1.73 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (sext, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.2, C-4), 164.5 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.2, C-6), 147.8 (1C, benzyl-C_q), 147.7 (1C, C-2), 146.3 (1C, benzyl-C_q), 144.8 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.0, C-7), 136.6 (1C, C-8a), 128.2 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 123.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 121.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.0, C-4a), 111.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.2, C-5), 109.7 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 2.6, C-8), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.4 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.4, piperidinyl-CH₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-7-(benzyl(methyl)amino)-1-butyl-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid
(30)

Gemäß AV8 werden 200 mg (523 μmol) der Verbindung **6i** und 265 mg (2.62 mmol, 288 μl) NMM mit 286 mg (2.09 mmol, 271 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 224 mg (2.09 mmol, 228 μl) Benzylamin umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) und anschließende Umkristallisation aus Toluol liefern Verbindung **30** in Form eines weißen kristallinen Feststoffs.

Summenformel: C₂₉H₃₀FN₃O₂
 Molekülmasse: 471.6 g/mol
 Ausbeute: 61.0 mg (129 μmol / 25 %).
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.41 (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1).
 Schmp: 124 - 126 °C (Toluol).



IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3157 (w), 3061 (w), 3038 (w), 2957 (w), 2928 (w), 2872 (w), 1648 (s), 1541 (m), 1520 (m), 1492 (s), 1360 (m), 1262 (m), 818 (w), 730 (m), 697 (m).

CHN: *ber.* C: 73.86, H: 6.41, F: 4.03, N: 8.91, O: 6.79.
gef. C: 73.61, H: 6.42, N: 8.82.

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 95.7 %.

logP (HPLC): 4.32

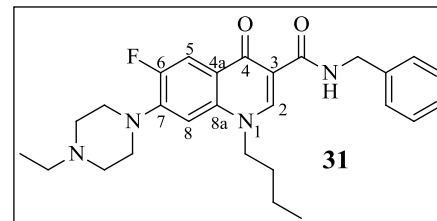
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 5.9$, CONHR), 8.67 (s, 1H, H-2), 7.79 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 14.4$, H-5), 7.32-7.20 (m, 10H, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.79 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.60$, H-8), 4.57 (s, 2H, benzyl- CH_2), 4.50 (d, 2H, $^3J = 5.9$, benzyl- CH_2), 4.30 (t, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.03 (d, 3H, $^5J_{\text{H,F}} = 1.7$, NCH_3), 1.51 (quint, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.17 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.79 (t, 3H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.0 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-4), 164.2 (1C, CONHR), 151.2 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.0$, C-6), 147.5 (1C, C-2), 143.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, C-7), 139.4 (1C, benzyl- C_q), 137.5 (1C, benzyl- C_q), 136.7 (1C, C-8a), 128.4 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 128.3 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 128.1 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.3 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.1 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 126.9 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.6$, C-4a), 126.8 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 111.5 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.3$, C-5), 109.7 (1C, C-3), 103.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 4.0$, C-8), 57.4 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 6.0$, benzyl- CH_2), 52.7 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 42.0 (1C, benzyl- CH_2), 40.0 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.0$, NCH_3), 30.1 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19.0 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 13.3 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

N-Benzyl-1-butyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid
(**31**)

Gemäß AV 8 werden 250 mg (666 μmol) der Verbindung **6h** und 337 mg (3.33 mmol, 366 μl) NMM mit 364 mg (2.66 mmol, 346 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 285 mg (2.66 mmol, 290 μl) Benzylamin umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{EtOH}$ 20:1) liefert Verbindung **31** in Form eines beigen Feststoffs.

Summenformel: $C_{27}H_{33}FN_4O_2$
 Molekülmasse: 464.6 g/mol
 Ausbeute: 122 mg (263 μ mol / 39 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.33$ (Kieselgel, $CHCl_3/EtOH$ 20:1).
 Schmp: 137 - 139 °C ($CHCl_3/EtOH$).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3232 (w), 3054 (w), 2955 (w), 2931 (w), 2838 (w), 2466 (w), 1655 (s),
 1538 (m), 1488 (s), 1378 (m), 1251 (m), 1003 (w), 743 (m), 698 (w).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: > 99.9 %.
 logP (HPLC): 4.61

1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 5.7$, CONHR), 8.70 (s, 1H, **H-2**), 8.03 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.2$, **H-5**), 7.38-7.29 (m, 4H, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.24-7.21 (m, 1H, benzyl- $CH_{arom.}$), 6.80 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.9$, **H-8**), 4.66 (d, 2H, $^3J = 5.7$, benzyl- CH_2), 4.18 (t, 2H, $^3J = 7.5$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 3.40-3.38 (m, 4H, piperazinyl- CH_2), 2.82 (br, 4H, piperazinyl- CH_2), 2.66 (q, 2H, $^3J = 7.1$, NCH_2CH_3), 1.85 (quint, 2H, $^3J = 7.5$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.42 (sext, 2H, $^3J = 7.5$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.22 (t, 3H, $^3J = 7.1$, NCH_2CH_3), 0.98 (t, 3H, $^3J = 7.5$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

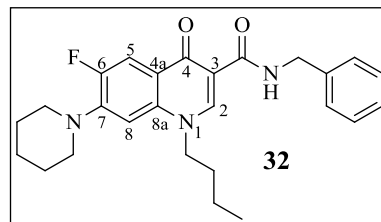
^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 175.3 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.5$, **C-4**), 165.0 (1C, CONHR), 153.2 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 249.2$, **C-6**), 147.2 (1C, **C-2**), 144.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 11.0$, **C-7**), 138.8 (1C, benzyl- C_q), 136.6 (1C, **C-8a**), 128.5 (2C, benzyl- $CH_{arom.}$), 127.6 (2C, benzyl- $CH_{arom.}$), 127.0 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 122.8 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.3$, **C-4a**), 112.9 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.9$, **C-5**), 111.2 (1C, **C-3**), 104.1 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.8$, **C-8**), 54.1 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 52.3 (1C, NCH_2CH_3), 52.2 (2C, piperazinyl- CH_2), 49.3 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 3.5$, piperazinyl- CH_2), 43.2 (1C, benzyl- CH_2), 30.8 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 19.9 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 13.6 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 11.3 (1C, NCH_2CH_3).

N-Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-(piperidin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**32**)

Entsprechend AV8 werden 250 mg (724 μ mol) der Verbindung **6d** und 366 mg (3.62 mmol, 398 μ l) NMM mit 395 mg (2.90 mmol, 376 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ*

erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 310 mg (2.90 mmol, 316 μ l) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) und anschließende Umkristallisation aus Toluol erhält man Verbindung **32** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: $C_{26}H_{30}FN_3O_2$
 Molekülmasse: 435.5 g/mol
 Ausbeute: 80.0 mg (184 μ mol / 25 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.27$ (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1).
 Schmp: 144 - 146 °C (Toluol).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3177 (w), 3031 (w), 2927 (m), 2859 (w), 1653 (m), 1626 (m), 1541 (m), 1506 (m), 1486 (s), 1360 (m), 1255 (s), 1028 (w), 804 (w), 743 (m), 695 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: > 99.9 %.
 logP (HPLC): 1.71



1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 5.8$, CONHR), 8.77 (s, 1H, **H-2**), 7.83 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.5$, **H-5**), 7.34-7.24 (m, 5H, benzyl-**CH**_{arom.}), 7.04 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.3$, **H-8**), 4.55 (d, 2H, $^3J = 5.8$, benzyl-**CH**₂), 4.45 (t, 2H, $^3J = 7.2$, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃), 3.21 (br. s, 4H, piperidinyl-**CH**₂), 1.78-1.59 (m, 8H, piperidinyl-**CH**₂, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.2$, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.2$, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃).

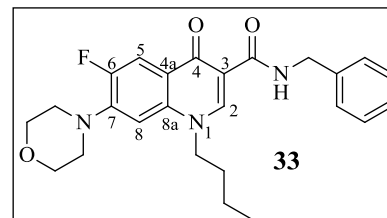
^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.0 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.0$, **C-4**), 164.1 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 247.2$, **C-6**), 147.6 (1C, **C-2**), 145.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.4$, **C-7**), 139.3 (1C, benzyl-**C**_q), 136.6 (1C, **C-8a**), 128.3 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 127.3 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-**CH**_{arom.}), 120.9 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.0$, **C-4a**), 111.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.0$, **C-5**), 109.9 (1C, **C-3**), 105.4 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.6$, **C-8**), 52.7 (1C, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃), 50.7 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.6$, piperidinyl-**CH**₂), 42.0 (1C, benzyl-**CH**₂), 30.2 (1C, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃), 25.3 (2C, piperidinyl-**CH**₂), 23.3 (1C, piperidinyl-**CH**₂), 19.1 (1C, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, N**CH**₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**33**)

Gemäß AV8 werden 150 mg (431 μ mol) der Verbindung **6g** und 218 mg (2.15 mmol, 237 μ l) NMM mit 235 mg (1.72 mmol, 223 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte

gemischte Anhydrid wird mit 185 mg (2.90 mmol, 188 μ l) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 100:1) und anschließende Umkristallisation aus Toluol oder EtOAc erhält man Verbindung **33** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{FN}_3\text{O}_3$
 Molekülmasse: 437.5 g/mol
 Ausbeute: 157 mg (359 μ mol / 83 %, Toluol).
 135 mg (309 μ mol / 72 %, EtOAc).
 Reaktionkontrolle: $R_f = 0.79$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 100:1)



Schmp: 164 - 165 $^{\circ}\text{C}$ (Toluol)
 157 - 159 $^{\circ}\text{C}$ (EtOAc)

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3169 (w), 3039 (w), 2957 (w), 2929 (w), 2871 (w), 2855 (w), 1650 (s), 1600 (m), 1540 (m), 1507 (m), 1488 (s), 1363 (m), 1258 (m), 1117 (m), 929 (w), 829 (w), 732 (m).

CHN: *ber.* C: 68.63, H: 6.45, F: 4.34, N: 9.60, O: 10.97.
gef. C: 68.69, H: 6.85, N: 9.36.

logP (HPLC): 3.76

UV-Vis (ACN): $\lambda_{\text{max}} = 280, 320, 333$ nm.

Fluoreszenz (ACN): $\lambda_{\text{max}} = 424$ nm (Anregung: 280 nm).

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 5.9$, CONHR), 8.79 (s, 1H, H-2), 7.86 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.6$, H-5), 7.35-7.24 (m, 5H, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.08 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.3$, H-8), 4.55 (d, 2H, $^3J = 5.9$, benzyl- CH_2), 4.47 (t, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.80-3.78 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 3.26-2.23 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 1.76 (quint, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.33 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

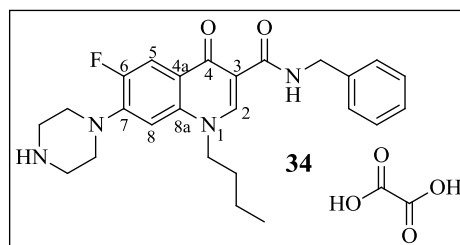
$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 174.0 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-4), 164.1 (1C, CONHR), 152.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.1$, C-6), 147.7 (1C, C-2), 144.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.6$, C-7), 139.3 (1C, benzyl- C_q), 136.5 (1C, C-8a), 128.3 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.3 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 126.8 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 121.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.8$, C-4a), 111.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, C-5), 110.0 (1C,

C-3), 105.5 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.8$, C-8), 65.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.8 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.3$, morpholino-CH₂-N-CH₂), 42.0 (1C, benzyl-CH₂), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-Oxalat (**34**)

Analog AV8 werden 110 mg (246 μ mol) der Verbindung **6f** und 124 mg (1.23 mmol, 135 μ l) NMM mit 134 mg (983 μ mol, 128 μ l) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 103 mg (983 μ mol, 107 μ l) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 100:1) erhält man das gewünschte Boc-geschützte Benzylamid als hellgelben Feststoff. Dieser wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 4 ml TFA versetzt. Die Lösung wird 16 h bei RT gerührt, anschließend vorsichtig mit 20 ml ges. Na₂CO₃-Lösung versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Lösung mit CH₂Cl₂ (3 \times 30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingeengt. Der ölige Rückstand wird in 2 ml ACN aufgenommen und zu einer Lösung aus 443 mg (4.92 mmol) Oxalsäure in 6 ml ACN gegeben. Der dabei ausgefallene Feststoff wird aus ACN umkristallisiert und man erhält Verbindung **34** als hellgelben Feststoff.

Summenformel: C₂₇H₃₁FN₄O₆
 Molekülmasse: 526.6 g/mol
 Ausbeute: 72.0 mg (137 μ mol / 56 %).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Amidierung: R_f = 0.45 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 100:1).
 2. Schritt: Entfernen der Schutzgruppe: R_f = 0.37 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1).
 Schmp: 185 - 186 °C (ACN).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3249 (w), 3058 (w), 2962 (w), 2938 (w), 2843 (w), 2555 (w), 1727 (m), 1665 (m), 1627 (m), 1546 (m), 1487 (s), 1448 (m), 1266 (m), 1180 (s), 902 (m), 707 (m).
 HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 5: 97.4%.

logP (HPLC): 3.42

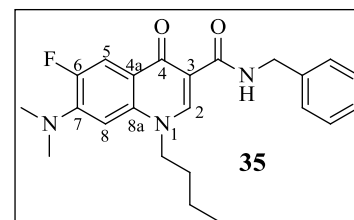
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³*J* = 5.9, CONHR), 8.81 (s, 1H, H-2), 7.92 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.2, H-5), 7.37-7.44 (m, 4H, benzyl-CH_{arom.}), 7.29-7.25 (m, 1H, benzyl-CH_{arom.}), 7.17 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, H-8), 4.55 (d, 2H, ³*J* = 5.9, benzyl-CH₂), 4.50 (t, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.48 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 3.31 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 1.76 (quint, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.3 (sext, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.93 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.3, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 162.3 (Oxalat), 152.3 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 245.8, C-6), 147.9 (1C, C-2), 143.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.7, C-7), 139.3 (1C, benzyl-C_q), 136.5 (1C, C-8a), 128.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 122.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.0, C-4a), 111.6 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.9, C-5), 110.1 (1C, C-3), 106.2 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 1.9, C-8), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 46.6 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.2, piperazinyl-CH₂), 42.6 (2C, piperazinyl-CH₂), 42.1 (1C, benzyl-CH₂), 30.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-7-(dimethylamino)-6-fluor-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxamid (**35**)

Entsprechend AV8 werden 250 mg (816 μmol) der Verbindung **6j** und 413 mg (4.08 mmol, 449 μl) NMM mit 446 mg (3.26 mmol, 423 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 350 mg (3.26 mmol, 356 μl) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/PE 2:1) und anschließende Umkristallisation aus Toluol erhält man Verbindung **35** als hellgelben kristallinen Feststoff.

Summenformel: C₂₃H₂₆FN₃O₂
 Molekülmasse: 395.5 g/mol
 Ausbeute: 126 mg (319 mol / 39 %).
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.52 (Kieselgel, EtOAc/PE 2:1).
 Schmp: 153 - 154 °C (Toluol).



IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3177 (w), 3064 (w), 3031 (w), 2961 (w), 2874 (w), 1650 (s), 1599 (m), 1541 (s), 1518 (m), 1490 (s), 1456 (m), 1362 (m), 1214 (m), 900 (w), 812 (m), 699 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 4.07

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.42 (t, 1H, ³*J* = 5.8, CONHR), 8.73 (s, 1H, H-2), 7.79 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 14.5, H-5), 7.34-7.24 (m, 5H, benzyl-CH_{arom.}), 6.84 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.6, H-8), 4.54 (d, 2H, ³*J* = 5.8, benzyl-CH₂), 4.43 (t, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.03 (d, 6H, ⁵*J*_{H,F} = 1.0, N(CH₃)₂), 1.77 (quint, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (sext, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.4, C-4), 164.2 (1C, CONHR), 151.3 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 246.2, C-6), 147.4 (1C, C-2), 144.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.4, C-7), 139.4 (1C, benzyl-C_q), 136.7 (1C, C-8a), 128.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.2 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 119.3 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 6.7, C-4a), 111.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.0, C-5), 109.7 (1C, C-3), 102.8 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.8, C-8), 52.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 42.0 (1C, benzyl-CH₂), 41.9 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 5.7, N(CH₃)₂), 30.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-6-phenethyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**36**)

Gemäß AV8 werden 190 mg (544 μmol) der Verbindung **61** und 275 mg (2.72 mmol, 299 μl) NMM mit 297 mg (2.18 mmol, 282 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 233 mg (2.18 mmol, 237 μl) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc) erhält man Verbindung **36** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₉H₃₀N₂O₂

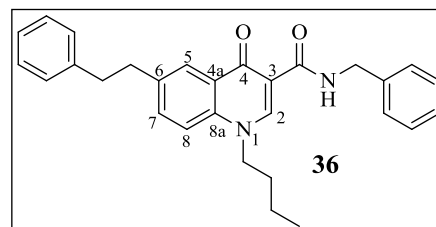
Molekülmasse: 438.6 g/mol

Ausbeute: 124 mg (283 mol / 52 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.73 (EtOAc).

Schmp: 122 - 123 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3178 (w), 3086 (w), 3061 (w), 3033 (w), 2959 (w), 2918 (w), 2859 (w), 1653 (s), 1598 (m), 1540 (s), 1488 (s), 1359 (m), 1225 (m), 1029 (w), 809 (w), 720 (m), 695 (m).



HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 5.15

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.42 (t, 1H, ³*J* = 5.8, CONHR), 8.85 (s, 1H, **H-2**), 8.17 (d, 1H, ⁴*J* = 1.8, **H-5**), 7.82 (d, 1H, ³*J* = 8.8, **H-8**), 7.71 (dd, 1H, ³*J* = 8.8, ⁴*J* = 1.8, **H-7**), 7.35-7.32 (m, 4H, benzyl-**CH**_{arom.}), 7.26-7.23 (m, 5H, benzyl-**CH**_{arom.}, phenethyl-**CH**_{arom.}), 7.19-7.15 (m, 1H, phenethyl-**CH**_{arom.}), 4.57 (d, 1H, ³*J* = 5.8, benzyl-**CH**₂), 4.45 (t, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.05 (m, 2H, phenethyl-**CH**₂), 2.94 (m, 2H, phenethyl-**CH**₂), 1.75 (quint, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (sext, 2H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.90 (t, 3H, ³*J* = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 175.2 (d, 1C, **C-4**), 164.2 (1C, CONHR), 147.7 (1C, **C-2**), 141.0 (1C, phenethyl-**C**_q), 139.3 (1C, benzyl-**C**_q), 138.5 (1C, **C-8a**), 137.1 (1C, **C-6**), 133.6 (1C, **C-7**), 128.3 (2C, phenethyl-**CH**_{arom.}), 128.2 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 128.1 (2C, phenethyl-**CH**_{arom.}), 127.2 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 127.1 (1C, **C-4a**), 126.8 (1C, benzyl-**CH**_{arom.}), 125.8 (1C, phenethyl-**CH**_{arom.}), 125.1 (1C, **C-5**), 117.3 (1C, **C-8**), 110.3 (1C, **C-3**), 52.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 42.0 (1C, benzyl-**CH**₂), 36.6 (1C, phenethyl-**CH**₂), 36.2 (1C, phenethyl-**CH**₂), 30.6 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-phenyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**37**)

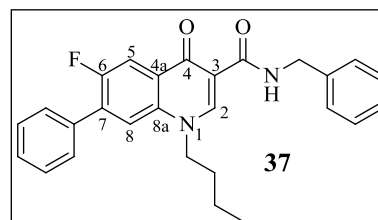
Entsprechend AV8 werden 180 mg (530 μmol) der Verbindung **6l** und 268 mg (2.65 mmol, 292 μl) NMM mit 290 mg (2.12 mmol, 275 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 227 mg (2.12 mmol, 231 μl) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOH 30:1) und anschließende Umkristallisation aus Toluol erhält man Verbindung **37** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₇H₂₅FN₂O₂

Molekülmasse: 428.5 g / mol

Ausbeute: 53.0 mg (124 μmol / 23 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.89 (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOH 30:1).



Schmp: 215 - 216 °C (CH₂Cl₂/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3168 (w), 3086 (w), 3063 (w), 3031 (m), 2958 (w), 2929 (w), 2870 (m), 1649 (s), 1599 (m), 1539 (s), 1475 (s), 1384 (m), 1214 (m), 806 (w), 734 (w), 697 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 97.3 %.

logP (HPLC): 5.08

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, ³ J = 5.4, CONHR), 8.81 (s, 1H, H-2), 8.24 (d, 1H, ³ J = 10.5, H-5), 7.61-7.59 (m, 2H, Ph-CH), 7.55-7.49 (m, 4H, Ph-CH, H-8), 7.42-7.39 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 7.36-7.32 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 7.27-7.25 (m, 1H, benzyl-CH_{arom.}), 4.69 (d, 2H, ³ J = 5.4, benzyl-CH₂), 4.28 (t, 2H, ³ J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.91 (quint, 2H, ³ J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.44 (sext, 2H, ³ J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.99 (t, 3H, ³ J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

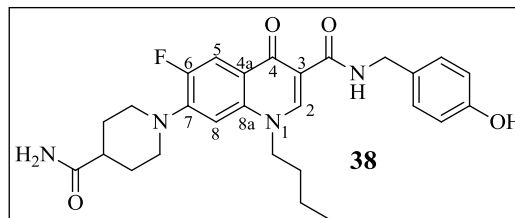
¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 175.4 (d, 1C, ⁴ $J_{C,F}$ = 2.6, C-4), 164.7 (1C, CONHR), 157.0 (d, 1C, ¹ $J_{C,F}$ = 249.8, C-6), 147.7 (1C, C-2), 138.6 (1C, benzyl-C_q), 135.6 (d, 1C, ³ $J_{C,F}$ = 1.8, Ph-C_q), 135.1 (d, 1C, ² $J_{C,F}$ = 17.2, C-7), 134.3 (1C, C-8a), 129.0 (d, 2C, ⁴ $J_{C,F}$ = 2.8, Ph-CH), 128.8 (1C, Ph-CH), 128.7 (2C, Ph-CH), 128.5 (d, 1C, ³ $J_{C,F}$ = 7.5, C-4a), 128.4 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.5 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.9 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 118.1 (d, 1C, ³ $J_{C,F}$ = 3.4, C-8), 113.0 (d, 1C, ² $J_{C,F}$ = 24.7, C-5), 111.3 (1C, C-3), 54.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 43.1 (1C, benzyl-CH₂), 30.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.2.8.2 Synthese von 1-Butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-N-(4-hydroxy-benzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (38)

50.0 mg (98.3 μ mol) des Methylethers **22** werden unter Argonatmosphäre in 15 ml abs. CH₂Cl₂ gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Nach vollständiger Zugabe von 197 mg (787 μ mol, 74.6 μ l) Bortribromid wird die Lösung auf RT erwärmt und für 24 h gerührt. Durch vorsichtige Zugabe von EtOH wird die Reaktion gestoppt. Die Lösung wird mit 40 ml dem. Wasser versetzt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Phase wird mit CH₂Cl₂ extrahiert (3 \times 30 ml), die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Das erhaltene hellgelbe Rohprodukt wird aus *i*PrOH umkristallisiert und man erhält das gewünschte demethylierte Produkt **38** in Form eines weißen kristallinen Feststoffs.

Summenformel: $C_{27}H_{31}FN_4O_4$
 Molekülmasse: 494.6 g/mol
 Ausbeute: 25.0 mg (50.5 μ mol / 51 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.46$ (Kieselgel, $CHCl_3/EtOH$ 10:1).

Schmp: 234 - 235 °C (*i*PrOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3393 (w), 3202 (br), 3055 (m), 3012 (w), 2952 (w), 2929 (m), 2870 (w), 1655 (s), 1600 (m), 1541 (m), 1518 (m), 1489 (s), 1362 (m), 1261 (m), 823 (m), 722 (m), 701 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 95.9 %.

logP (HPLC): 1.89

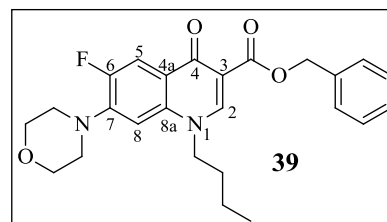
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.5$, CONHR), 9.30 (s, 1H, OH), 8.76 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.5$, H-5), 7.31 (s, 1H, CONH₂), 7.14 (d, 2H, $^3J = 8.4$, benzyl-CH_{arom.}), 7.07 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.2$, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 6.72 (d, 2H, $^3J = 8.4$, benzyl-CH_{arom.}), 4.46 (t, 2H, $^3J = 7.2$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.41 (d, 2H, $^3J = 5.5$, benzyl-CH₂), 3.67-3.64 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.91-2.85 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.87-1.72 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.2$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.2$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 174.0 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.0$, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 156.3 (1C, benzyl-C_q), 152.5 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 246.5$, C-6), 147.6 (1C, C-2), 144.8 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.0$, C-7), 136.6 (1C, C-8a), 129.4 (1C, benzyl-C_q), 128.7 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 121.0 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.0$, C-4a), 115.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 21.2$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.0$, C-8), 52.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.4 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.2$, piperidinyl-CH₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.2.8.3 Synthese von Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxylat (39)

150 mg (431 μmol) **6g** und 281 mg (861 μmol) Cs_2CO_3 werden unter Argonatmosphäre in 15 ml abs. DMF gelöst. Nach Zugabe von 109 mg (861 μmol , 99 μl) Benzylchlorid wird die Lösung für 2 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der ölige Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wird mit CHCl_3 (3 \times 50 ml) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Anschließendes Einengen des Lösungsmittels i. Vak. und Umkristallisieren des Rohprodukts aus EtOAc liefert Verbindung **39** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{FN}_2\text{O}_4$
 Molekülmasse: 438.5 g/mol
 Ausbeute: 178 mg (406 μmol / 94 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.42$ (Kieselgel, EtOAc).
 Schmp: 190 - 191 °C (EtOAc).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2968 (w), 2932 (w), 2877 (w), 2860 (w), 2834 (w), 1686 (s), 1614 (s), 1593 (m), 1544 (w), 1497 (m), 1486 (s), 1382 (m), 1258 (s), 1172 (m), 1112 (s), 896 (s), 802 (s), 730 (s).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: 98.8 %.
 logP (HPLC): 2.30



$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 8.65 (s, 1H, **H-2**), 7.81 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.6$, **H-5**), 7.50 (d, 2H, $^3J = 7.2$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.40 (t, 2H, $^3J = 7.2$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.33 (t, 1H, $^3J = 7.2$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.03 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.2$, **H-8**), 5.82 (s, 2H, benzyl- CH_2), 4.39 (t, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.79-3.77 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 3.24-3.21 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 1.75 (quint, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.3$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$),

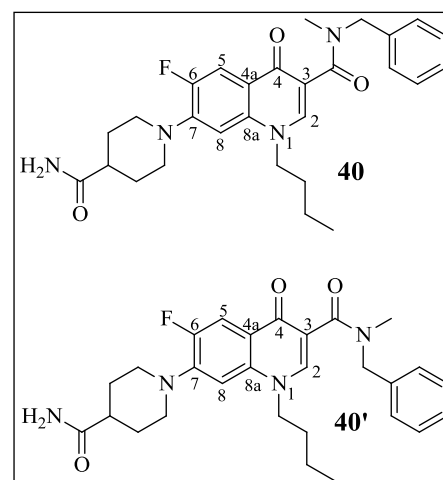
$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 171.4 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.0$, **C-4**), 164.7 (1C, CONHR), 152.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.7$, **C-6**), 149.3 (1C, **C-2**), 143.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, **C-7**), 136.6 (1C, benzyl- C_q), 136.2 (1C, **C-8a**), 128.2 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.6 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.4 (2C,

benzyl-CH_{arom.}), 122.7 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.5, C-4a), 111.8 (d, 1C, ²J_{C,F} = 22.8, C-5), 108.7 (1C, C-3), 105.7 (d, 1C, ³J_{C,F} = 2.7, C-8), 65.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 65.0 (1C, benzyl-CH₂), 52.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.8 (2C, ⁴J_{C,F} = 4.3, morpholino-CH₂-N-CH₂), 30.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.2.8.4 Synthese von *N*-Benzyl-1-butyl-7-(4-carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-*N*-methyl-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**40**)

Analog AV8 (Kap. 6.2.8.1) werden 200 mg (514 μmol) der Verbindung **6c** und 260 mg (2.57 mmol, 282 μl) NMM mit 281 mg (2.05 mmol, 267 μl) Isobutylchlorformiat versetzt. Das *in situ* erzeugte gemischte Anhydrid wird mit 248 mg (2.05 mmol, 265 μl) *N*-Benzylmethylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 10:1) wird Verbindung **40** in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

Summenformel: C₂₈H₃₃FN₄O₃
 Molekülmasse: 492.6 g/mol
 Ausbeute: 121 mg (246 μmol / 48 %).
 Isomerenverhältnis: **40/40'** 1.7 : 1.



Reaktionskontrolle: R_f = 0.59 (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 10:1).

Schmp: 113 - 115 °C (CH₂Cl₂/MeOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3348 (w), 3183 (w), 3030 (w), 2952 (w), 2928 (w), 2872 (w), 1670 (m), 1623 (s), 1579 (m), 1488 (s), 1384 (m), 1231 (m), 1076 (m), 897 (w), 824 (w), 698 (w).

¹H-NMR_{Hauptisomer 40} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 8.21 (s, 1H, **H**-2), 7.80 (d, 1H, ³J_{H,F} = 13.3, **H**-5), 7.42-7.18 (m, 6H, benzyl-CH_{arom.}, CONH₂), 7.01 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 7.2, **H**-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.68 (s, 2H, benzyl-CH₂), 4.33 (t, 2H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.64-3.61 (m, 2H,

piperidinyl-CH₂), 2.88-2.83 (m, 5H, piperidinyl-CH₂, NCH₃), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.87-1.69 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.34 (sext, 2H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR_{Hauptisomer 40} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 171.1 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.20, C-4), 167.0 (1C, CONHR), 152.2 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 246.6, C-6), 144.5 (d, 1C, ²J_{C,F} = 10.5, C-7), 144.2 (1C, C-2), 137.3 (1C, benzyl-C_q), 136.7 (1C, C-8a), 128.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.2 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.0 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 120.8 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.1, C-4a), 117.3 (1C, C-3), 111.1 (d, 1C, ²J_{C,F} = 22.2, C-5), 105.4 (d, 1C, ³J_{C,F} = 3.2, C-8), 51.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.6 (d, 2C, ⁴J_{C,F} = 4.3, piperidinyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 40.1 (1C, benzyl-CH₂), 35.5 (1C, NCH₃), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹H-NMR_{Nebenisomer 40'} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 8.20 (s, 1H, H-2), 7.77 (d, 1H, ³J_{H,F} = 13.3, H-5), 7.42-7.18 (m, 6H, benzyl-CH_{arom.}, CONH₂), 6.97 (d, 1H, ³J_{H,F} = 7.2, H-8), 6.82 (s, 1H, CONH₂), 4.43 (s, 2H, benzyl-CH₂), 4.28 (t, 2H, ³J = 7.1, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.61-3.58 (m, 2H, piperidinyl-CH₂), 2.85-2.80 (m, 5H, piperidinyl-CH₂, NCH₃), 2.35-2.29 (m, 1H, piperidinyl-CH), 1.79-1.63 (m, 6H, piperidinyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.19 (sext, 2H, ³J = 7.1, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.83 (t, 3H, ³J = 7.1, NCH₂CH₂CH₂CH₃),

¹³C-NMR_{Nebenisomer 40'} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.0 (1C, CONH₂), 173.8 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.2, C-4), 167.1 (1C, CONHR), 152.2 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 247.5, C-6), 144.5 (d, 1C, ²J_{C,F} = 10.5, C-7), 144.2 (1C, C-2), 137.4 (1C, benzyl-C_q), 136.6 (1C, C-8a), 128.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 120.7 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.1, C-4a), 117.4 (1C, C-3), 111.1 (d, 1C, ²J_{C,F} = 23.9, C-5), 105.4 (d, 1C, ³J_{C,F} = 3.2, C-8), 51.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.7 (d, 2C, ⁴J_{C,F} = 4.3, piperidinyl-CH₂), 41.0 (1C, piperidinyl-CH), 40.1 (1C, benzyl-CH₂), 32.5 (1C, NCH₃), 30.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 28.2 (2C, piperidinyl-CH₂), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

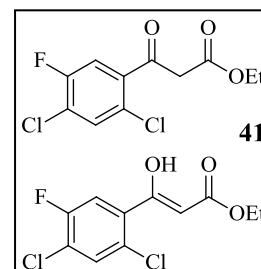
6.3 Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten mittels Grohe-Heitzer-Methode

6.3.1 Synthese von 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoylessigsäureethylester (41)

2.76 g (13.2 mmol) 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoesäure werden in 20 ml Thionylchlorid gelöst, 2 h zum Sieden erhitzt und im Anschluß die flüchtigen Bestandteile i. Vak. entfernt. Zweimaliges Versetzen des Rückstandes mit je 20 ml Toluol und erneutes Abdestillieren unter vermindertem Druck liefert 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoylchlorid in quantitativer Ausbeute.

Analog zu Grohe *et al.*⁹⁹ werden 481 mg (19.8 mmol) Magnesium unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. EtOH suspendiert und wenige Tropfen CCl₄ zugegeben bis die Mischung leicht zu sieden beginnt. 3.17 g (19.8 mmol, 3.02 ml) Malonsäurediethylester, gelöst in einer Mischung aus 4 ml abs. EtOH und 15 ml abs. Toluol, werden über einen Zeitraum von 15 min zugetropft, wobei die Temperatur 60 °C nicht übersteigen darf. Nach 30 min Rühren bei RT wird die Lösung auf 0 °C gekühlt und das zuvor hergestellte Benzoylchlorid **G**, gelöst in 20 ml abs. Toluol, über einen Zeitraum von 15 min zugetropft. Nach 24 h Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand in 10 ml einer Mischung aus dem. Wasser und konz. H₂SO₄ (9:1) aufgenommen. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat mit Toluol (3 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit wässriger Na₂CO₃-Lösung (2 %) gewaschen und anschließend unter vermindertem Druck zur Trockene eingengt. Das resultierende Öl wird in 10 ml dem. Wasser suspendiert, 227 mg (1.32 mmol) *para*-Toluolsulfonsäure zugegeben und für 3 h zum Sieden erhitzt. Die auf RT abgekühlte Lösung wird mit Et₂O extrahiert (3 × 50 ml), über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingengt. Mittels säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, PE/EtOAc 20:1) wird Verbindung **41** als klares Öl erhalten.

Summenformel: C₁₁H₉Cl₂FO₃
 Molekülmasse: 279.1 g/mol
 Ausbeute: 2.98 g (10.7 mmol / 81 %); Lit⁹⁹: 82 %.
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.57 (Kieselgel, PE/EtOAc 20:1).



IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3132 (w), 3093 (w), 3049 (w), 2982 (w), 2940 (w), 1632 (s), 1567 (s), 1475 (m), 1387 (s), 1219 (m), 1081 (s), 903 (w), 804 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁰³

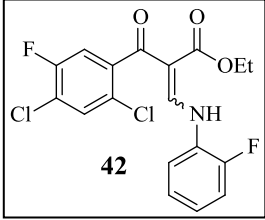
6.3.2 Synthese von **Z/E-2-(2,4-Dichlor-5-fluorbenzoyl)-3-((2-fluorphenyl)-amino)-acrylsäureethylester (42)**

Klassische Synthese:

Analog zu J. Jürgens¹⁰¹ werden 1.50 g (5.37 mmol) **41**, 1.37 g (13.4 mmol, 1.27 ml) Essigsäureanhydrid und 1.19 g (8.06 mmol, 1.33 ml) *ortho*-Ameisensäureethylester bei 120 °C für 3 h gerührt. Nach Entfernen der flüchtigen Bestandteile i. Vak. wird das Ethoxyacrylsäureester-Zwischenprodukt in quantitativer Ausbeute erhalten und ohne weitere Aufreinigung mit 656 mg (5.91 mmol, 570 μl) 2-Fluoranilin in 20 ml EtOH bei 80 °C (2 h) umgesetzt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand in 50 ml PE aufgenommen. Verbindung **42** kristallisiert über Nacht bei -20 °C als weißer Feststoff aus.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

3.70 g (13.3 mmol) **41** und 9.86 g (66.5 mmol, 11.0 ml) *ortho*-Ameisensäureethylester werden in 27.2 g (0.27 mol, 25.1 ml) Essigsäureanhydrid gelöst und für 30 min bei 115 °C unter Mikrowellenstrahlung gerührt (Aufheizrate: in 3 min auf 115 °C, 600 W). Die flüchtigen Bestandteile werden i. Vak. entfernt und die vinyloge Ester-Zwischenstufe in quantitativer Ausbeute erhalten. Diese wird mit 3.70 g (33.3 mmol, 3.22 ml) 2-Fluoranilin in 50 ml EtOH gelöst und unter Mikrowellenstrahlung für 15 min zum Sieden erhitzt (Aufheizrate: in 2 min auf 80 °C, 500 W). Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PE}$ 4:1) isoliert. Das resultierende farblose Öl wird in 70 ml PE gelöst und über Nacht bei -20 °C gelagert, wodurch Verbindung **42** als weißer Feststoff auskristallisiert.

Summenformel:	$C_{18}H_{13}Cl_2F_2NO_3$	
Molekülmasse:	400.2 g/mol	
Ausbeute:	860 mg (2.15 mmol / 40 %; klassisch); Lit. ¹⁰¹ 66 %. 3.60 g (9.00 mmol / 68 %; MW).	
Reaktionskontrolle:	$R_f = 0.55$ (Kieselgel, CH_2Cl_2/PE 4:1).	
Schmp:	94 - 96 °C (PE); Lit. ¹⁰¹ : 112 - 114 °C (EtOH).	
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]:	3095 (w), 3032 (w), 2981 (w), 1698 (m), 1625 (s), 1568 (s), 1464 (m), 1412 (s), 1240 (s), 1093 (s), 1005 (m), 745 (m), 726 (m).	

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁰¹

6.3.3 Synthese von 7-Chlor-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (43)

Klassische Synthese:

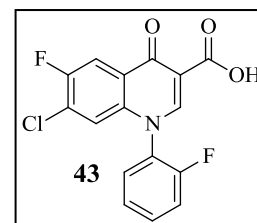
Analog der Vorschrift von J. Jürgens¹⁰¹ werden 800 mg (2.00 mmol) **42** und 304 mg (2.20 mmol) K_2CO_3 unter Argonatmosphäre in 15 ml abs. DMF gelöst und für 90 min bei 100 °C gerührt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen und mit EtOAc (4 × 50 ml) extrahiert. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 und Abdestillieren des Lösungsmittels unter vermindertem Druck, wird das Rohprodukt gründlich mit Et_2O gewaschen, wodurch der cyclisierte 1-Aryl-4-chinolon-3-carbonsäureethylester in einer Ausbeute von 648 mg (1.78 mmol / 89 %) als weißer Feststoff erhalten wird. Ohne weitere Charakterisierung wird die Esterhydrolyse in einer Mischung aus 10 ml MeOH und 50 ml wässriger HCl-Lösung (2 N) durchgeführt. Nach 7 h bei 100 °C präzipitierte Verbindung **43** als weißer Feststoff. Dieser wird abfiltriert, mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

Mikrowellen-unterstützte Synthese:

2.10 g (5.25 mmol) **42** und 797 mg (5.77 mmol) K_2CO_3 werden in 20 ml abs. DMF gelöst und mittels Mikrowellenstrahlung für 60 min auf 100 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 600 W). Die Isolierung und Aufreinigung der cyclisierten Zwischenstufe erfolgt analog dem klassischen Ansatz, wodurch der 1-Aryl-4-chinolon-3-carbonsäureethylester in einer Ausbeute

von 1.70 g (4.67 mmol / 89 %) erhalten wird. Zur Hydrolyse wird die Zwischenstufe in 10 ml MeOH und 50 ml wässrige HCl-Lösung (2 N) suspendiert und in der Synthesemikrowelle zum Sieden erhitzt (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 600 W). Nach 7 h wird das Präzipitat abfiltriert, mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet, wodurch Verbindung **43** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: $C_{16}H_8ClF_2NO_3$
 Molekülmasse: 335.7 g / mol
 Ausbeute: 558 mg (1.66 mmol / 93 %; klassisch); Lit¹⁰¹: 61 %
 1.51 g (4.50 mmol / 96 %; MW).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Cyclisierung: $R_f = 0.72$ (Kieselgel, EtOAc).
 2. Schritt: Esterhydrolyse: $R_f = 0.64$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 100:10:1)

Schmp: 255 - 257 °C (H_2O); Lit¹⁰¹: 244 - 245 °C (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3053 (w), 2700 (w), 1721 (s), 1613 (s), 1546 (w), 1456 (s), 1265 (m), 1251 (m), 1029 (m), 931 (w), 806 (m), 765 (w).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁰¹

6.3.4 Synthese von 7-Amino-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Derivaten

6.3.4.1 4-Chinolon-Derivate mit cyclischen Amin-Substituenten in Pos. 7 (44a - d)

Allgemeine Vorschrift (AV9): Synthese der Derivate 44a - d

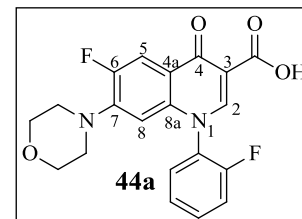
In Anlehnung an E. Kugelman⁶² wird ein Äquivalent **43** und 8 Äquivalent des entsprechenden Amins in 20 ml DMF gelöst und in der Mikrowelle für 2 - 3 h bei 90 - 110 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 90 °C/110 °C, 600 W). Im Fall von Morpholin wird auf DMF verzichtet und Verbindung **43** in 10 ml des Amins gelöst. Nach erfolgter Umsetzung wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen. Die Lösung wird mit wässriger HCl-Lösung (2 N) auf pH = 4 eingestellt (Im Fall der Piperazin-

Derivate mittels Ameisensäure auf pH = 6) und das Präzipitat abfiltriert. Das Rohprodukt wird zur Aufreinigung gründlich gewaschen oder umkristallisiert.

6-Fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (44a)

Gemäß AV9 werden 700 mg (2.09 mmol) **43** mit 10 ml Morpholin für 3 h bei 110 °C umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus MeOH umkristallisiert und man erhält Verbindung **44a** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: $C_{20}H_{16}F_2N_2O_4$
 Molekülmasse: 386.4 g/mol
 Ausbeute: 703 mg (1.82 mmol / 87 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.54$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 100:10:1).

Schmp: 233 - 234 °C (MeOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3072 (w), 2862 (w), 2709 (w), 1725 (s), 1627 (s), 1494 (s), 1460 (s), 1263 (s), 1117 (m), 928 (m), 804 (m).

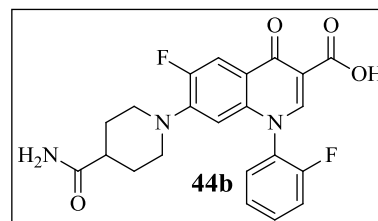
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 14.9 (s, 1H, COOH), 8.80 (s, 1H, **H-2**), 8.00-7.54 (m, 5H, **H-5**, Ph-CH), 6.33 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 4.7$, **H-8**), 3.69 (br, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.04 (br, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 176.6 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.2$, **C-4**), 165.3 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 250.9$, Ph-C_q), 152.8 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 250.2$, **C-6**), 151.6 (1C, **C-2**), 145.4 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.2$, **C-7**), 138.6 (1C, **C-8a**), 133.0 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.9$, Ph-CH), 129.6 (1C, Ph-CH), 126.7 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 13.2$, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.1$, Ph-CH), 118.4 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 8.2$, **C-4a**), 117.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 19.1$, Ph-CH), 111.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.7$, **C-5**), 107.9 (1C, **C-3**), 105.1 (1C, $^3J_{C,F} = 3.4$, **C-8**), 65.5 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 49.2 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.8$, morpholino-CH₂-N-CH₂).

7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44b**)⁶²

Gemäß AV9 werden 400 mg (1.19 mmol) **43** mit 1.22 g (9.53 mmol) 4-Piperidincarboxamid in DMF gelöst und für 3 h auf 110 °C erwärmt. Das Rohprodukt wird aus EtOH umkristallisiert und man erhält Verbindung **44b** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: C₂₂H₁₉F₂N₃O₄
 Molekülmasse: 427.4 g/mol
 Ausbeute: 388 mg (908 µmol / 76 %); Lit⁶²: 31 %.



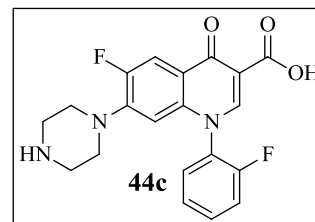
Reaktionskontrolle: R_f = 0.44 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 100:10:1).
 Schmp: 249 - 250 °C (EtOH); Lit⁶²: 250 - 251 °C (H₂O).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3369 (m), 3195 (m), 3076 (w), 2946 (w), 2850 (w), 1721 (m), 1655 (s), 1615 (s), 1498 (s), 1464 (s), 1330 (m), 1267 (m), 1150 (m), 1035 (w), 805 (m), 770 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

6-Fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44c**)¹⁰¹

Analog AV9 werden 900 mg (2.68 mmol) **43** mit 1.85 g (21.4 mmol) Piperazin in DMF gelöst und für 2 h auf 110 °C erwärmt. Das abfiltrierte Rohprodukt wird mit MeOH gründlich gewaschen und man erhält Verbindung **44c** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₀H₁₇F₂N₃O₃
 Molekülmasse: 385.4 g/mol
 Ausbeute: 730 mg (1.89 mmol / 71 %); Lit¹⁰¹: 61 %.



Reaktionskontrolle: R_f = 0.19 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 100:10:1).
 Schmp: 208 - 209 °C (MeOH); Lit¹⁰¹: > 200 °C (EtOH).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3358 (w), 3060 (w), 2846 (w), 1724 (m), 1626 (s), 1494 (s), 1380 (m), 1265 (m), 1033 (w), 813 (w), 787 (w), 731 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁰¹

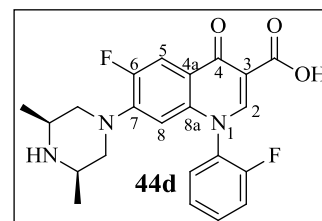
7-((3*S*,5*R*)-3,5-Dimethylpiperazin-1-yl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44d**)¹⁰⁴

Entsprechend AV9 werden 500 mg (1.49 mmol) **43** mit 1.36 g (11.9 mmol) (2*R*,6*S*)-Dimethylpiperazin in DMF gelöst und für 2 h auf 90 °C erwärmt. Das ausgefallene Rohprodukt wird mit Aceton gründlich gewaschen und man erhält Verbindung **44c** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₂H₂₁F₂N₃O₃

Molekülmasse: 413.4 g/mol

Ausbeute: 372 mg (900 μmol / 60 %); Lit¹⁰⁴: 69 %.



Reaktionskontrolle: R_f = 0.25 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 100:10:1).

Schmp: 214 - 215 °C (Aceton); Lit¹⁰⁴: 214 - 215 °C.

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3043 (w), 2977 (w), 2941 (w), 2886 (w), 2797 (w), 1718 (m), 1620 (s), 1489 (s), 1474 (s), 1295 (m), 1262 (s), 813 (m), 757 (w), 702 (m).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 8.80 (s, 1H, **H**-2), 7.95 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.4, **H**-5), 7.85 (dd, 1H, ³*J* = 7.2, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, Ph-CH), 7.81-7.75 (m, 1H, Ph-CH), 7.64 (dd, 1H, ³*J*_{H,F} = 9.1, ³*J* = 9.1 Ph-CH), 7.56 (t, 1H, ³*J* = 7.2, Ph-CH), 6.25 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.8, **H**-8), 3.29-3.26 (m, 2H, piperazinyl-CH₂), 2.79 (br, 2H, piperazinyl-CH), 2.28-2.22 (m, 2H, piperazinyl-CH₂), 0.90 (d, 6H, ³*J* = 5.9, CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.6 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.4, **C**-4), 165.4 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 251.1, Ph-C_q), 152.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.2, **C**-6), 148.8 (1C, **C**-2), 145.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.1, **C**-7), 138.7 (1C, **C**-8a), 133.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.6, Ph-CH), 129.7 (1C, Ph-CH), 126.8 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.7, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.7, Ph-CH), 117.8 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.9, **C**-4a), 117.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 18.9, Ph-CH), 111.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.6, **C**-5), 107.9 (1C, **C**-3), 105.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.6, **C**-8), 55.6 (2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.9, piperazinyl-CH₂), 49.6 (2C, piperazinyl-CH), 18.8 (2C, CH₃).

Renau *et al.*¹⁰⁴ veröffentlichte keine NMR-Daten.

6.3.4.2 Acetylierung und Boc-Schützung der Piperazinyl-Derivate **44c** - **d**

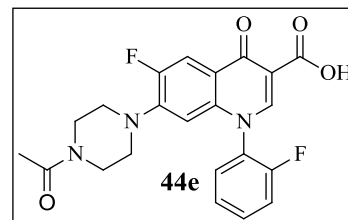
7-(4-Acetylpiperazin-1-yl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44e**)⁶²

Analog der Synthesevorschrift von E. Kugelman⁶² werden 200 mg (5.19 mmol) **44c** in 5 ml Essigsäureanhydrid gelöst und für 10 h bei RT gerührt. Die flüchtigen Bestandteile werden i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen und 1 h zum Sieden erhitzt. Die Lösung wird auf RT abgekühlt und das Präzipitat abfiltriert. Durch gründliches Waschen mit dem. Wasser und Trocknen i. Vak. wird Verbindung **44e** als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₂₂H₁₉F₂N₃O₄

Molekülmasse: 427.4 g/mol

Ausbeute: 220 mg (514 μmol / 99 %); Lit⁶²: 69 %.



Reaktionskontrolle: R_f = 0.62 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 100:10:1).

Schmp: 236 - 237 °C (H₂O); Lit⁶²: 238-240 °C (H₂O).

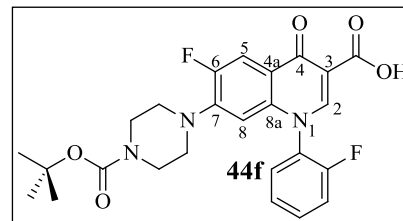
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3097 (w), 3055 (w), 2999 (w), 2834 (w), 1735 (m), 1654 (s), 1625 (s), 1489 (s), 1468 (s), 1336 (m), 1243 (s), 1216 (m), 997 (m), 805 (m), 781 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

7-(4-(*tert*-Butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44f**)

300 mg (779 μmol) **44c** und 340 mg (1.56 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat werden in 20 ml THF gelöst und in Gegenwart von 237 mg (2.34 mmol, 324 μl) TEA bei RT umgesetzt. Nach 2 h wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 40 ml dem. Wasser aufgenommen und mit CH₂Cl₂ extrahiert (4 × 30 ml). Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ und Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt aus Aceton umkristallisiert. Verbindung **44f** wird als weißer kristalliner Feststoff erhalten.

Summenformel: $C_{25}H_{25}F_2N_3O_5$
 Molekülmasse: 485.5 g/mol
 Ausbeute: 336 mg (692 μ mol / 89 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.54$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 100:10:1).

Schmp: 234 - 235 °C (Aceton).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3048 (w), 2980 (w), 2868 (w), 2828 (w), 1718 (s), 1684 (s), 1619 (s), 1488 (s), 1417 (s), 1323 (m), 1240 (s), 1125 (m), 1082 (m), 915 (m), 809 (m), 773 (m).

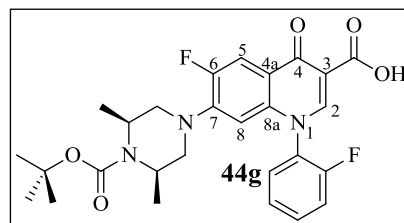
1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 14.7 (s, 1H, COOH), 8.52 (s, 1H, **H-2**), 7.97 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 12.8$, **H-5**), 7.61-7.56 (m, 1H, Ph-CH), 7.39-7.30 (m, 3H, Ph-CH), 6.16 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.4$, **H-8**), 3.45-3.43 (m, 4H, piperazinyl- CH_2), 2.93 (br, 4H, piperazinyl- CH_2), 1.34 (s, 9H, $C(CH_3)_3$).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 177.5 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.4$, **C-4**), 166.5 (1C, COOH), 157.2 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 255.0$, Ph- C_q), 154.4 (1C, COONR), 153.6 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 251.6$, **C-6**), 148.0 (1C, **C-2**), 146.0 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.7$, **C-7**), 138.7 (1C, **C-8a**), 133.0 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.9$, Ph-CH), 129.0 (1C, Ph-CH), 127.5 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 12.9$, Ph- C_q), 126.1 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 4.2$, Ph-CH), 119.9 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.8$, **C-4a**), 117.8 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 18.9$, Ph-CH), 112.5 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.7$, **C-5**), 109.1 (1C, **C-3**), 105.2 (1C, $^3J_{C,F} = 3.3$, **C-8**), 80.3 (1C, $C(CH_3)_3$), 49.5 (2C, piperazinyl- CH_2), 49.4 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.1$, piperazinyl- CH_2), 28.3 (3C, $C(CH_3)_3$).

7-((3S,5R)-4-(tert-Butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-6-fluor-1-(2-fluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (44g)

330 mg (798 μ mol) **44d** und 242 mg (2.39 mmol, 332 μ l) TEA werden in 20 ml DMF gelöst und mit 348 mg (1.60 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat bei 100 °C umgesetzt. Nach 5 h wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 40 ml dem. Wasser aufgenommen und mit CH_2Cl_2 extrahiert (4 \times 40 ml). Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 und Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt gründlich mit EtOAc gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet. Verbindung **44g** wird als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: $C_{27}H_{29}F_2N_3O_5$
 Molekülmasse: 513.5 g/mol
 Ausbeute: 204 mg (397 μ mol / 50 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.80$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/FA$ 100:10:1).
 Schmp: 255 - 256 °C (EtOAc).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3045 (w), 2999 (w), 2966 (w), 2928 (w), 1731 (s), 1687 (s), 1626 (m), 1492 (s), 1336 (m), 1266 (m), 1082 (s), 805 (w), 780 (m).

1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 14.8 (s, 1H, COOH), 8.63 (s, 1H, **H-2**), 8.10 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 12.7$, **H-5**), 7.72-7.66 (m, 1H, Ph-CH), 7.51-7.41 (m, 3H, Ph-CH), 6.29 (dd, 1H, $^4J_{H,F} = 7.0$, $^5J = 1.1$, **H-8**), 4.23-4.20 (m, 2H, piperazinyl-CH), 3.28-3.25 (m, 2H, piperazinyl-CH₂), 2.86-2.81 (m, 2H, piperazinyl-CH₂), 1.46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.33 (dd, 6H, $^3J = 6.8$, $^4J = 4.0$, CH₃).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 177.3 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.7$, C-4), 166.4 (1C, COOH), 157.1 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 255.1$, Ph-C_q), 154.4 (1C, COONR), 154.2 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 251.5$, C-6), 147.9 (1C, C-2), 147.0 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.4$, C-7), 138.6 (1C, C-8a), 132.8 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.8$, Ph-CH), 128.8 (1C, Ph-CH), 127.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 13.0$, Ph-C_q), 125.9 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 4.1$, Ph-CH), 119.7 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 8.0$, C-4a), 117.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 19.0$, Ph-CH), 112.4 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.4$, C-5), 108.9 (1C, C-3), 105.1 (1C, $^3J_{C,F} = 3.2$, C-8), 79.7 (1C, C(CH₃)₃), 54.1 (d, 2C, $^4J_{C,F} = 4.1$, piperazinyl-CH₂), 46.4 (2C, piperazinyl-CH), 28.2 (3C, C(CH₃)₃), 20.2 (2C, CH₃).

6.3.4.3 4-Chinolon-Derivate mit acyclischen Amin-Substituenten in Pos. 6 und 7 (44h/h' - k/k')

Allgemeine Vorschrift (AV10): Synthese der Derivate 44h/h' - k/k'

Ein Äquivalent **43** und 4 - 10 Äquivalente des entsprechenden *prim.*amins werden in abs. DMSO gelöst und für 1 - 4 d bei 80 - 120 °C gerührt. Die Lösung wird mit 100 ml dem. Wasser verdünnt und der pH-Wert mit Ameisensäure auf 6 eingestellt. Durch Extraktion mit $CHCl_3$, Trocknen über Na_2SO_4 und Einengen der Lösung i. Vak. erhält man beide Regioisomere im Gemisch. Diese werden im Anschluss säulenchromatographisch getrennt.

6-Fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-((2-methoxyethyl)amino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44h**)⁶² und 7-Chlor-1-(2-fluorphenyl)-6-((2-methoxyethyl)amino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44h'**)

Gemäß AV10 werden 200 mg (596 μ mol) **43** und 448 mg (5.96 mmol, 518 μ l) 2-Methoxyethylamin in 5 ml abs. DMSO gelöst und für 24 h auf 120 °C erwärmt. Das Isomerengemisch wird anschließend säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/EtOAc/MeOH/FA 100:100:1:1) getrennt.

Summenformel_{44h}: C₁₉H₁₆F₂N₂O₄

Summenformel_{44h'}: C₁₉H₁₆ClFN₂O₄

Molekülmasse_{44h}: 374.3 g/mol

Molekülmasse_{44h'}: 390.8 g/mol

Ausbeute_{44h}: 131 mg (350 μ mol / 59 %); Lit⁶²: 29 %.

Ausbeute_{44h'}: 11 mg (31 μ mol / 5 %).

Isomerenverhältnis: **44h/44h'** 92 % : 8 %.

Reaktionskontrolle: R_{f44h} = 0.57, R_{f44h'} = 0.70 (Kieselgel, CHCl₃/EtOAc/MeOH/FA 100:100:1:1).

Schmp_{44h}: 230 - 232 °C (CHCl₃/EtOAc/MeOH/FA); Lit⁶²: 231 - 324 °C (DMF).

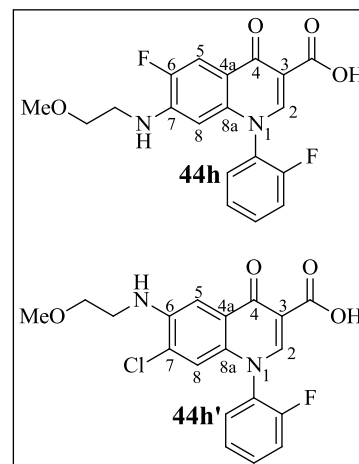
Schmp_{44h'}: 166 - 168 °C (CHCl₃/EtOAc/MeOH/FA).

IR (ATR)_{44h}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3275 (m), 3073 (w), 29.27 (w), 2929 (w), 2882 (w), 2830 (w), 1705 (m), 1630 (s), 1530 (s), 1455 (s), 1302 (m), 1212 (m), 1099 (m), 795 (w), 773 (m).

IR (ATR)_{44h'}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3401 (w), 3059 (w), 2923 (m), 2852 (w), 1727 (s), 1603 (s), 1491 (s), 1468 (s), 1455 (s), 1331 (m), 1267 (m), 1214 (m), 1102 (w), 1031 (w), 808 (m), 770 (m).

MS_{44h} (ESI, 70eV): m/z = 374.3 [M+H]⁺.

MS_{44h'} (ESI, 70eV): m/z = 390.9 [M+H]⁺.



Die erhaltenen spektroskopischen Daten für Verbindung **44h** stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

¹H-NMR_{44h} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.3 (br, 1H, COOH), 8.71 (s, 1H, **H**-2), 7.83 (ddd, 1H, ³*J* = 7.8, ⁴*J*_{H,F} = 7.8, ⁴*J* = 1.6, Ph-CH), 7.79-7.73 (m, 1H, Ph-CH), 7.63 (ddd, 1H, ³*J*_{H,F} = 9.9, ³*J* = 8.5, ⁴*J* = 1.2, Ph-CH), 7.53 (td, 1H, ³*J* = 7.8, ⁴*J* = 1.2, Ph-CH), 7.49 (s, 1H, **H**-5), 7.02 (s, 1H, **H**-8), 6.01 (t, 1H, ³*J* = 5.6, NH), 3.58 (t, 2H, ³*J* = 5.5, OCH₂CH₂NH), 3.48-3.43 (m, 2H, OCH₂CH₂NH), 3.30 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-NMR_{44h} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 177.0 (1C, C-4), 165.6 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.9, Ph-C_q), 147.2 (1C, C-2), 143.1 (1C, C-6), 133.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.0, Ph-CH), 131.5 (1C, C-8a), 129.6 (1C, Ph-CH), 126.7 (1C, C-7), 126.6 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.7, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.7, Ph-CH), 125.3 (1C, C-4a), 118.4 (1C, C-8), 117.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 18.8, Ph-CH), 107.3 (1C, C-3), 102.8 (1C, C-5), 69.8 (1C, OCH₂CH₂NH), 50.1 (1C, OCH₃), 42.4 (1C, OCH₂CH₂NH).

7-((2-Acetamidoethyl)amino)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (44i) und 6-((2-Acetamidoethyl)amino)-7-chlor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (44i')

Entsprechend AV10 werden 300 mg (894 μmol) **43** und 365 mg (3.58 mmol, 343 μl) *N*-Acetylethylendiamin in 3 ml abs. DMSO gelöst und für 3 d auf 80 °C erwärmt. Das Isomerengemisch wird anschließend säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 150:10:2) getrennt.

Summenformel_{44i}: C₂₀H₁₇F₂N₃O₄

Summenformel_{44i'}: C₂₀H₁₇ClFN₃O₄

Molekülmasse_{44i}: 401.4 g/mol

Molekülmasse_{44i'}: 417.8 g/mol

Ausbeute_{44i}: 182 mg (453 μmol / 51 %).

Ausbeute_{44i'}: 62 mg (148 μmol / 17 %).

Isomerenverhältnis: **44i/44i'** 75 % : 25 %.

Reaktionskontrolle: R_{f44i} = 0.29, R_{f44i'} = 0.44 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 150:10:2).

Schmp_{44i}: 218 - 219 °C (CHCl₃/MeOH/FA).

Schmp_{44i'}: 166 - 168 °C (CHCl₃/ MeOH/FA).

IR (ATR)_{44i}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3305 (m), 3075 (w), 2931 (w), 1712 (m), 1633 (s), 1558 (m), 1527 (s), 1376 (m), 1207 (w), 1102 (m), 892 (w), 813 (w), 801 (m), 774 (m).

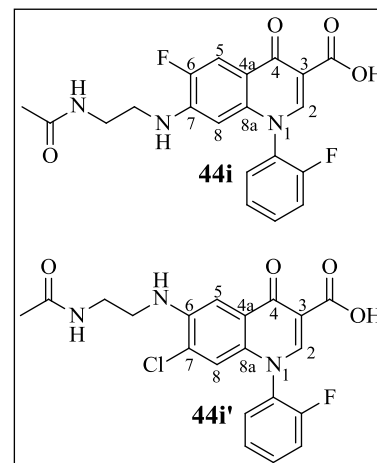
IR (ATR)_{44i'}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3355 (s), 3085 (w), 2949 (w), 1713 (s), 1661 (s), 1595 (s), 1545 (m), 1487 (s), 1463 (s), 1437 (s), 1355 (m), 1280 (m), 1213 (m), 1015 (m), 868 (m), 802 (m), 779 (m).

MS_{44i} (ESI, 70eV): m/z = 401.4 [M+H]⁺.

MS_{44i'} (ESI, 70eV): m/z = 418.9 [M+H]⁺.

¹H-NMR_{44i} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.1 (br, 1H, COOH), 8.64 (s, 1H, **H**-2), 8.00 (br, 1H, CONHR), 7.86 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 11.6, **H**-5), 7.80-7.74 (m, 2H, Ph-CH), 7.64-7.57 (dd, 1H, ³*J*_{H,F} = 9.2, ³*J* = 9.2, Ph-CH), 7.52 (t, 1H, ³*J* = 6.8, Ph-CH), 7.11 (br, 1H, NH), 5.94 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.2, **H**-8), 3.13 (br, 2H, CONHCH₂CH₂NH), 2.96 (br, 2H, CONHCH₂CH₂NH), 1.74 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR_{44i} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.2 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 1.7, **C**-4), 169.7 (1C, CONHR), 165.7 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.4, Ph-C_q), 149.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.1, **C**-6), 147.9 (1C, **C**-2), 142.9 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 13.6, **C**-7), 140.0 (1C, **C**-8a), 132.8 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.9, Ph-CH), 129.5 (1C, Ph-CH), 127.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.7, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.5, Ph-CH), 117.3



(d, 1C, $^2J_{C,F} = 18.8$, Ph-CH), 113.6 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 6.2$, C-4a), 108.9 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 20.2$, C-5), 107.7 (1C, C-3), 95.5 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.0$, C-8), 42.2 (1C, CONHCH₂CH₂NH), 37.1 (1C, CONHCH₂CH₂NH), 22.4 (1C, CH₃).

$^1\text{H-NMR}_{44j}$ (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 15.2 (br, 1H, COOH), 8.72 (s, 1H, H-2), 8.13 (br, 1H, CONHR), 7.83 (dd, 1H, $^3J = 7.6$, $^4J_{H,F} = 7.6$, Ph-CH), 7.79-7.74 (m, 1H, Ph-CH), 7.63 (dd, 1H, $^3J_{H,F} = 9.2$, $^3J = 9.2$, Ph-CH), 7.53 (t, 1H, $^3J = 7.6$, Ph-CH), 7.46 (s, 1H, H-5), 7.01 (s, 1H, H-8), 6.32 (br, 1H, NH), 3.51-3.45 (br, 4H, CONHCH₂CH₂NH), 1.83 (s, 3H, CH₃),

$^{13}\text{C-NMR}_{44j}$ (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 177.0 (1C, C-4), 170.0 (1C, CONHR), 165.6 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 251.4$, Ph-C_q), 147.2 (1C, C-2), 143.2 (1C, C-6), 132.9 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 8.0$, Ph-CH), 131.5 (1C, C-8a), 129.6 (1C, Ph-CH), 126.7 (1C, C-7), 126.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 12.7$, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.8$, Ph-CH), 125.3 (1C, C-4a), 118.4 (1C, C-8), 117.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 18.5$, Ph-CH), 107.2 (1C, C-3), 102.4 (1C, C-5), 43.2 (1C, CONHCH₂CH₂NH), 37.3 (1C, CONHCH₂CH₂NH), 22.4 (1C, CH₃).

6-Fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(methylamino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44j**)⁶² und 7-Chlor-1-(2-fluorphenyl)-6-(methylamino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44j'**)
 Gemäß AV10 werden 600 mg (1.79 mmol) **43** und 7.15 ml (14.3 mmol, 2 M Lösung in THF) Methylamin in 5 ml abs. DMSO gelöst und für 2 d auf 80 °C erwärmt. Das Isomerengemisch wird anschließend säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 150:5:1) getrennt.

Summenformel_{44j}: C₁₇H₁₂F₂N₂O₃

Summenformel_{44j'}: C₁₇H₁₂ClFN₂O₃

Molekülmasse_{44j}: 330.3 g/mol

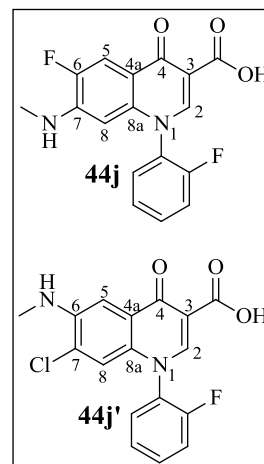
Molekülmasse_{44j'}: 346.7 g/mol

Ausbeute_{44j}: 354 mg (1.07 mmol / 60 %); Lit⁶²: 61 %.

Ausbeute_{44j'}: 129 mg (372 μ mol / 21 %).

Isomerenverhältnis: **44j/44j'** 74 % : 26 %.

Reaktionskontrolle: R_{f44j} = 0.49, R_{f44j'} = 0.59 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/FA 150:5:1).



Schmp_{44j}: 235 - 237 °C (CHCl₃/MeOH/FA); Lit⁶²: 233-234 °C

Schmp_{44j}: 269 - 271 °C (CHCl₃/MeOH/FA).

IR (ATR)_{44j}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3277 (m), 3087 (w), 2925 (w), 2878 (w), 2840 (w), 2808 (w), 1714 (m), 1631 (s), 1534 (s), 1491 (s), 1455 (s), 1384 (m), 1212 (m), 813 (m), 797 (m), 779 (m).

IR (ATR)_{44j}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3347 (m), 3086 (w), 3051 (w), 2984 (w), 2931 (w), 2903 (w), 2869 (w), 1717 (m), 1599 (s), 1547 (m), 1493 (s), 1455 (m), 1380 (m), 1215 (m), 1215 (m), 1085 (m), 944 (m), 861 (m), 797 (m), 783 (m).

MS_{44j} (ESI, 70eV): m/z = 330.7 [M+H]⁺.

MS_{44j} (ESI, 70eV): m/z = 347.9 [M+H]⁺.

Die erhaltenen spektroskopischen Daten für Verbindung **44h** stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

¹H-NMR_{44j} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.1 (br, 1H, COOH), 8.72 (s, 1H, **H**-2), 7.84 (ddd, 1H, ³*J* = 7.8, ⁴*J*_{H,F} = 7.8, ⁴*J* = 1.7, Ph-CH), 7.80-7.74 (m, 1H, Ph-CH), 7.63 (ddd, 1H, ³*J*_{H,F} = 9.9, ³*J* = 8.5, ⁴*J* = 1.2, Ph-CH), 7.53 (td, 1H, ³*J* = 7.8, ⁴*J* = 1.2, Ph-CH), 7.35 (s, 1H, **H**-5), 7.02 (d, 1H, ⁵*J* = 1.4, **H**-8), 6.36 (q, 1H, ³*J* = 4.7, NH), 2.89 (d, 3H, ³*J* = 4.7, NHCH₃).

¹³C-NMR_{44j} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 177.0 (1C, **C**-4), 165.7 (1C, COOH), 156.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.9, Ph-C_q), 147.0 (1C, **C**-2), 144.2 (1C, **C**-6), 132.9 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.3, Ph-CH), 131.4 (1C, **C**-8a), 129.6 (1C, Ph-CH), 126.7 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.6, Ph-C_q), 126.6 (1C, **C**-7), 126.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.9, Ph-CH), 125.3 (1C, **C**-4a), 118.2 (1C, **C**-8), 117.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 18.9, Ph-CH), 107.3 (1C, **C**-3), 102.0 (1C, **C**-5), 29.9 (1C, NHCH₃).

7-((2-Ethoxy-2-oxoethyl)amino)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44k**) und 7-Chlor-6-((2-ethoxy-2-oxoethyl)amino)-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**44k'**)

Analog AV10 werden 500 mg (1.49 mmol) **43** und 922 mg (8.94 mmol) Glycinethylester in 7 ml abs. DMSO gelöst und für 4 d auf 80 °C erwärmt. Das Isomerengemisch wird anschließend säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/EtOAc/*i*PrOH/FA 150:50:1:1) getrennt.

Summenformel_{44k}: C₂₀H₁₆F₂N₂O₅

Summenformel_{44k'}: C₂₀H₁₆ClFN₂O₅

Molekülmasse_{44k}: 402.4 g/mol

Molekülmasse_{44k'}: 418.8 g/mol

Ausbeute_{44k}: 124 mg (308 μmol / 21 %).

Ausbeute_{44k'}: 39 mg (93 μmol / 6 %).

Isomerenverhältnis: **44k/44k'** 77 % : 23 %

Reaktionskontrolle: R_{f44k} = 0.34, R_{f44k'} = 0.54 (Kieselgel, CHCl₃/EtOAc/*i*PrOH/FA 150:50:1:1).

Schmp_{44k}: 210 - 212 °C (CHCl₃/EtOAc/*i*PrOH/FA).

Schmp_{44k'}: 269 - 271 °C (CHCl₃/EtOAc/ *i*PrOH/FA).

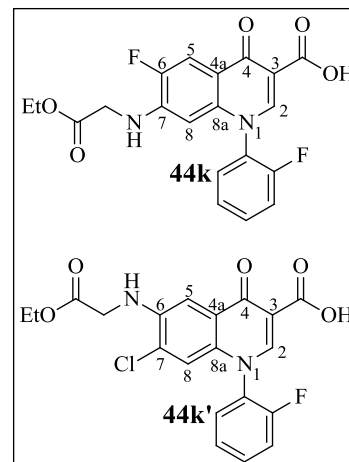
IR (ATR)_{44k}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3359 (m), 3073 (w), 3000 (w), 2969 (w), 1727 (s), 1710 (m), 1633 (s), 1571 (s), 1457 (s), 1326 (m), 1300 (m), 1198 (s), 977 (m), 814 (m), 801 (m), 775 (m).

IR (ATR)_{44k'}, $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3400 (m), 3072 (w), 2981 (w), 1720 (s), 1599 (s), 1547 (m), 1491 (s), 1467 (s), 1331 (m), 1263 (m), 1214 (m), 1036 (w), 805 (m), 772 (m).

MS_{44k} (ESI, 70eV): m/z = 402.5 [M+H]⁺.

MS_{44k'} (ESI, 70eV): m/z = 419.9 [M+H]⁺.

¹H-NMR_{44k} (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.3 (s, 1H, COOH), 8.68 (s, 1H, **H**-2), 7.92 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 11.6, **H**-5), 7.80-7.73 (m, 2H, Ph-CH), 7.60 (dd, 1H, ³*J*_{H,F} = 9.2, ³*J* = 9.2, Ph-CH), 7.53-



7.49 (m, 2H, Ph-CH, NH), 5.74 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 6.8$, H-8), 3.98 (q, 2H, $^3J = 7.0$, OCH₂CH₃), 3.83 (d, 2H, $^3J = 5.1$, NHCH₂CO₂Et), 1.09 (t, 3H, $^3J = 7.0$, OCH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}_{44\text{k}}$ (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 176.2 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.7$, C-4), 168.9 (1C, COOEt), 165.4 (1C, COOH), 156.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 251.3$, Ph-C_q), 149.5 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.4$, C-6), 147.9 (1C, C-2), 142.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 14.6$, C-7), 139.5 (1C, C-8a), 132.6 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 8.3$, Ph-CH), 129.4 (1C, Ph-CH), 126.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 13.1$, Ph-C_q), 125.8 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.0$, Ph-CH), 116.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 18.9$, Ph-CH), 114.1 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.9$, C-4a), 109.0 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 20.4$, C-5), 107.3 (1C, C-3), 96.6 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.9$, C-8), 60.5 (1C, NHCH₂CO₂Et), 43.6 (1C, OCH₂CH₃), 13.7 (1C, OCH₂CH₃).

$^1\text{H-NMR}_{44\text{k}'}$ (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 15.0 (s, 1H, COOH), 8.73 (s, 1H, H-2), 7.85 (t, 1H, $^3J = 7.6$, $^4J_{\text{H,F}} = 7.6$, Ph-CH), 7.78-7.76 (m, 1H, Ph-CH), 7.65 (dd, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 9.2$, $^3J = 9.2$, Ph-CH), 7.54 (t, 1H, $^3J = 7.6$, Ph-CH), 7.32 (s, 1H, H-5), 7.05 (s, 1H, H-8), 6.57 (t, 1H, $^3J = 6.0$, NHCH₂CO₂Et), 4.20-4.15 (m, 2H, OCH₂CH₃), 1.23 (t, 3H, $^3J = 7.1$, OCH₂CH₃),

$^{13}\text{C-NMR}_{44\text{k}'}$ (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 176.5 (1C, C-4), 169.6 (1C, COOEt), 165.1 (1C, COOH), 156.2 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.1$, Ph-C_q), 147.1 (1C, C-2), 142.4 (1C, C-6), 132.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 8.4$, Ph-CH), 131.5 (1C, C-8a), 129.2 (1C, Ph-CH), 126.3 (1C, C-7), 126.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 12.5$, Ph-C_q), 125.8 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.9$, Ph-CH), 124.7 (1C, C-4a), 118.0 (1C, C-8), 116.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 18.9$, Ph-CH), 107.0 (1C, C-3), 102.9 (1C, C-5), 60.1 (1C, OCH₂CH₃), 44.0 (1C, NHCH₂CO₂Et), 13.6 (1C, OCH₂CH₃).

6.3.5 Synthese von 1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamid-Derivaten (45 - 61)

6.3.5.1 Amidierung mittels gemischtem Anhydrid

Allgemeine Vorschrift (AV11): Synthese der Derivate 45 - 56

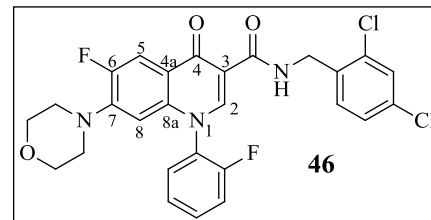
Analog der in Kapitel 6.2.8.1 beschriebenen Aktivierungsmethode wird zunächst 1 Äquivalent des entsprechenden 4-Chinolon-3-carbonsäure-Derivats (**44a - b**, **44e - k** **44h' - k'**) in 10 ml abs. DMF unter Argonatmosphäre gelöst und bei 0 °C mit 3 - 4 Äquivalenten NMM sowie 2 - 3 Äquivalenten Isobutylchlorformiat versetzt. Nach 1 h wird das *in situ* hergestellte Anhydrid bei

129.3 (1C, Ph-CH), 128.5 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 128.0 (d, 1C, ²J_{C,F} = 12.9, Ph-C_q), 127.6 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.0 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 125.9 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 4.1, Ph-CH), 121.5 (d, 1C, ³J_{C,F} = 7.4, C-4a), 117.5 (d, 1C, ²J_{C,F} = 19.1, Ph-CH), 112.6 (d, 1C, ²J_{C,F} = 23.4, C-5), 112.1 (1C, C-3), 104.6 (1C, ³J_{C,F} = 3.0, C-8), 66.4 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 49.9 (2C, ⁴J_{C,F} = 4.7, morpholino-CH₂-N-CH₂), 43.3 (1C, benzyl-CH₂).

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-quinolin-3-carboxamid (**46**)

Gemäß AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 100 mg (259 µmol) **44a**, 105 mg (1.04 mmol, 114 µl) NMM sowie 106 mg (777 µmol, 101 µl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 137 mg (777 µmol, 105 µl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, EtOAc) und durch anschließende Umkristallisation aus Toluol, wobei Verbindung **46** als weißer kristalliner Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₂₇H₂₁Cl₂F₂N₃O₃
 Molekülmasse: 544.4 g/mol
 Ausbeute: 89 mg (164 µmol / 63 %).
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.84 (Kieselgel, EtOAc).
 Schmp: 186 - 187 °C (Toluol).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3211 (w), 3053 (w), 2953 (w), 2861 (w), 1667 (s), 1533 (m), 1498 (s), 1474 (s), 1257 (s), 1117 (m), 1101 (m), 926 (m), 801 (m), 767 (m).
 HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 5: 99.5 %.
 logP (HPLC): 4.87



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³*J* = 6.0, CONHR), 8.57 (s, 1H, H-2), 7.95 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.4, H-5), 7.83 (dd, 1H, ³*J* = 7.7, ⁴*J*_{H,F} = 7.7, Ph-CH), 7.78-7.73 (m, 1H, Ph-CH), 7.64-7.60 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.52 (t, 1H, ³*J* = 7.6, Ph-CH), 7.42 (br, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.29 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.0, H-8), 4.60 (d, 2H, ³*J* = 6.0, benzyl-CH₂), 3.68 (br, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.00 (br, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.5 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.2, C-4), 163.7 (1C, CONHR), 156.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 251.0, Ph-C_q), 152.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 248.4, C-6), 147.5 (1C, C-2), 144.5 (d,

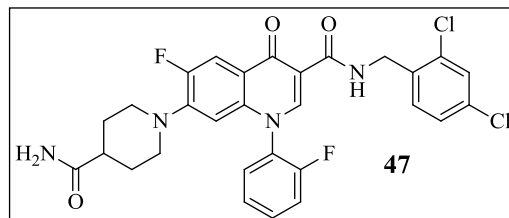
1C, $^2J_{C,F} = 10.4$, C-7), 137.8 (1C, C-8a), 135.5 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.7 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 8.2$, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 12.7$, Ph-C_q), 126.2 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.6$, Ph-CH), 120.3 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.2$, C-4a), 117.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 18.8$, Ph-CH), 111.5 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.9$, C-5), 110.9 (1C, C-3), 104.9 (1C, d, $^3J_{C,F} = 2.6$, C-8), 65.6 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 49.3 (2C, $^4J = 4.2$, morpholino-CH₂-N-CH₂), 40.2 (1C, benzyl-CH₂).

*7-(4-Carbamoylpiperidin-1-yl)-N-(2,4-dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (47)*⁶²

Analog AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 200 mg (468 µmol) **44b**, 189 mg (1.87 mmol, 206 µl) NMM sowie 191 mg (1.40 mmol, 182 µl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 247 mg (1.40 mmol, 189 µl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Das Rohprodukt wird anschließend säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1) und durch Umkristallisation aus MeOH aufgereinigt, wobei Verbindung **47** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₂₉H₂₄Cl₂F₂N₄O₃

Molekülmasse: 585.4 g/mol



Ausbeute: 204 mg (349 µmol / 75 %); Lit⁶²: 50 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.63 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1).

Schmp: 205 - 207 °C (MeOH); Lit⁶²: 229 - 230 °C /EtOAc/EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3431 (w), 3347 (w), 3313 (w), 3199 (w), 3044 (w), 2953 (w), 1669 (m), 1651 (s), 1550 (m), 1493 (m), 1471 (s), 1331 (m), 1274 (m), 1255 (m), 1100 (m), 922 (m), 807 (w), 784 (m), 725 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

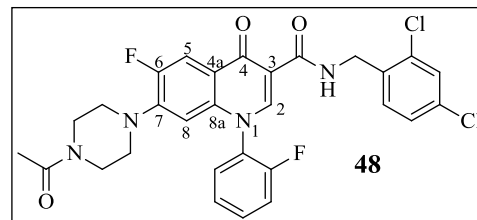
*7-(4-Acetylpiperazin-1-yl)-N-(2,4-dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (48)*⁶²

Gemäß AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 160 mg (374 µmol) **44e**, 151 mg (1.50 mmol, 165 µl) NMM sowie 153 mg (1.12 mmol, 145 µl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 197 mg

(1.12 mmol, 151 μ l) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 50:1) des Rohprodukts lieferte Verbindung **48** in Form eines weißen Feststoffs.

Summenformel: $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_3$

Molekülmasse: 585.4 g/mol



Ausbeute: 103 mg (176 μ mol / 47 %); Lit⁶²: 39 %.

Reaktionskontrolle: $R_f = 0.54$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 50:1).

Schmp: 157 - 158 $^{\circ}\text{C}$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$).

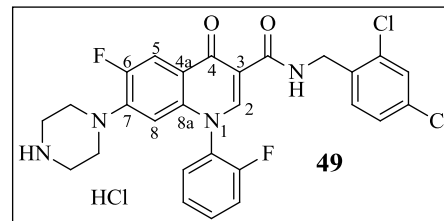
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3221 (w), 2910 (w), 2820 (w), 1664 (s), 1623 (s), 1532 (s), 1498 (s), 1471 (s), 1332 (m), 1239 (s), 998 (m), 802 (m), 735 (m), 695 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-Hydrochlorid (**49**)

Gemäß AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 235 mg (484 μ mol) **44f**, 196 mg (1.94 mmol, 213 μ l) NMM sowie 198 mg (1.45 mmol, 188 μ l) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 256 mg (1.45 mmol, 195 μ l) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 200:1), wobei ein weißer Feststoff erhalten wird. Dieser wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 3 ml TFA versetzt. Nach zwei-stündigem Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 15 ml ges. Na_2CO_3 -Lösung aufgenommen und mit CH_2Cl_2 extrahiert (3 \times 20 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingengt. Das resultierende gelbliche Öl wird in 10 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 1.5 ml isopropanolische HCl-Lösung (6 N) versetzt, wobei Verbindung **49** als Hydrochlorid ausgefällt. Anschließendes Umkristallisieren aus *i*PrOH liefert das gewünschte Produkt in Form eines beigen Feststoffs.

Summenformel: $C_{27}H_{23}Cl_3F_2N_4O_2$
 Molekülmasse: 579.8 g/mol
 Ausbeute: 148 mg (255 μ mol / 53 %).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Amidierung: $R_f = 0.50$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 200:1).
 2. Schritt: Abspaltung der Schutzgruppe: $R_f = 0.44$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/konz. NH_3$ 150:5:1).

Schmp: 248 - 250 °C (*i*PrOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3361 (w), 3048 (w), 2959 (w), 2459 (w), 1646 (m), 1542 (m), 1496 (m), 1475 (s), 1267 (s), 1102 (m), 923 (m), 803 (m), 783 (w), 769 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 94.6 %.

logP (HPLC): 5.07

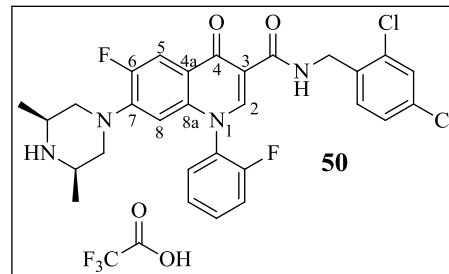
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 9.48 (br, 2H, piperazinyl- NH_2^+), 8.59 (s, 1H, **H-2**), 7.99 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.0$, **H-5**), 7.84 (ddd, 1H, $^3J = 7.8$, $^4J_{H,F} = 7.8$, $^4J = 1.4$, Ph-CH), 7.79-7.74 (m, 1H, Ph-CH), 7.66-7.61 (m, 2H, Ph-CH, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.54 (t, 1H, $^3J = 7.8$, Ph-CH), 7.42 (br, 2H, benzyl- $CH_{arom.}$), 6.32 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.8$, **H-8**), 4.60 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl- CH_2), 3.25-3.23 (m, 4H, piperazinyl- CH_2), 3.19 (br, 4H, piperazinyl- CH_2).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.5 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.3$, **C-4**), 163.6 (1C, CONHR), 156.7 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 250.7$, Ph- C_q), 152.5 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 248.0$, **C-6**), 147.7 (1C, **C-2**), 143.7 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.5$, **C-7**), 137.7 (1C, **C-8a**), 135.5 (1C, benzyl- C_q), 133.1 (1C, benzyl- C_q), 132.8 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.9$, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl- C_q), 130.5 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 129.8 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 127.3 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 127.1 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 12.7$, Ph- C_q), 126.2 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.9$, Ph-CH), 120.9 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.0$, **C-4a**), 117.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 18.2$, Ph-CH), 111.7 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.1$, **C-5**), 111.0 (1C, **C-3**), 105.7 (1C, **C-8**), 45.9 (2C, $^4J_{C,F} = 4.0$, piperazinyl- CH_2), 42.3 (2C, piperazinyl- CH_2), 40.2 (1C, benzyl- CH_2).

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-7-((3*S*,5*R*)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-2,2,2-trifluoressigsäure (**50**)

Entsprechend AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 180 mg (350 μ mol) **44g**, 142 mg (1.40 mmol, 154 μ l) NMM sowie 144 mg (1.05 mmol, 136 μ l) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 185 mg (1.05 μ mol, 141 μ l) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/i\text{PrOH}$ 200:1), wobei ein weißer Feststoff erhalten wird. Dieser wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 3 ml TFA versetzt. Nach zwei-stündigem Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das resultierende Rohprodukt aus *i*PrOH umkristallisiert, wodurch Verbindung **50** in Form eines weißen Feststoffs erhalten wird.

Summenformel: $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{Cl}_2\text{F}_5\text{N}_4\text{O}_4$
 Molekülmasse: 685.5 g/mol
 Ausbeute: 62 mg (91 μ mol / 26 %).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Amidierung: $R_f = 0.58$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/i\text{PrOH}$ 200:1).
 2. Schritt: Abspaltung der Schutzgruppe: $R_f = 0.60$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 150:5:2).

Schmp: 251 - 252 $^\circ\text{C}$ (*i*PrOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3238 (w), 2989 (w), 2947 (w), 2854 (w), 1671 (s), 1532 (m), 1495 (s), 1472 (s), 1267 (m), 1202 (m), 1183 (m), 1130 (m), 799 (m), 777 (m), 721 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 3*: 96.1 %.

logP (HPLC): 5.29

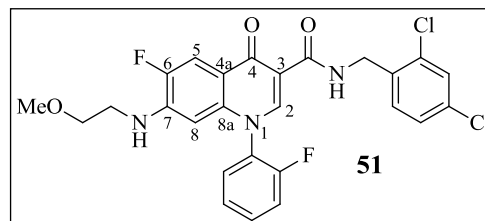
$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.5$, CONHR), 9.29 (br, 1H, piperazinyl- NH_2^+), 8.61 (s, 1H, **H-2**), 8.57 (br, 1H, piperazinyl- NH_2^+), 8.01 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 12.9$, **H-5**), 7.85 (dd, 1H, $^3J = 7.5$, $^4J_{\text{H,F}} = 7.5$, Ph-**CH**), 7.80-7.76 (m, 1H, Ph-**CH**), 7.67-7.62 (m, 2H, Ph-**CH**, benzyl-**CH**_{arom.}), 7.54 (t, 1H, $^3J = 7.5$, Ph-**CH**), 7.43 (br, 2H, benzyl-**CH**_{arom.}), 6.35 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 6.6$, **H-8**), 4.61 (d, 2H, $^3J = 5.5$, benzyl-**CH**₂), 3.56-3.53 (m, 2H, piperazinyl-**CH**₂), 3.43 (br, 2H, piperazinyl-**CH**), 2.72-2.66 (m, 2H, piperazinyl-**CH**₂), 1.20 (d, 6H, $^3J = 5.8$, **CH**₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.5 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 1.8, C-4), 163.6 (1C, CONHR), 158.0 (q, 1C, ²*J*_{C,F} = 31.1, CF₃COOH), 156.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 251.2, Ph-C_q), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 248.0, C-6), 147.8 (1C, C-2), 143.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.8, C-7), 137.7 (1C, C-8a), 135.5 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.8 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.4, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.4, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.1, Ph-CH), 121.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.3, C-4a), 117.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 18.8, Ph-CH), 114.2 (q, 1C, ¹*J*_{C,F} = 298.5, CF₃COOH), 111.7 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.6, C-5), 111.0 (1C, C-3), 106.1 (1C, C-8), 51.8 (2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.6, piperazinyl-CH₂), 50.5 (2C, piperazinyl-CH), 40.1 (1C, benzyl-CH₂), 15.4 (s, 2C, CH₃).

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-((2-methoxyethyl)amino)-1,4-dihydro-4-oxo-*chinolin*-3-carboxamid (**51**)

Analog AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 115 mg (307 μmol) **44h**, 93 mg (921 μmol, 101 μl) NMM sowie 84 mg (614 μmol, 80 μl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 135 mg (768 μmol, 103 μl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) und durch Umkristallisieren aus Toluol, wobei Verbindung **51** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₂₆H₂₁Cl₂F₂N₃O₃
 Molekülmasse: 532.4 g/mol
 Ausbeute: 104 mg (195 μmol / 64 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.52 (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1).
 Schmp: 201 - 202 °C (Toluol).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3439 (m), 3175 (w), 3074 (w), 2980 (w), 2897 (w), 2815 (w), 1671 (s), 1637 (m), 1520 (s), 1484 (s), 1325 (m), 1291 (m), 1124 (m), 1096 (m), 839 (m), 773 (m), 720 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 99.6 %.
 logP (HPLC): 4.32

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.5 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.45 (s, 1H, **H-2**), 7.84-7.80 (m, 2H, **H-5**, Ph-CH), 7.76-7.71 (m, 1H, Ph-CH), 7.63-7.59 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.51 (t, 1H, $^3J = 7.6$, Ph-CH), 7.44-7.40 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.82 (br, 1H, NH), 6.03 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.0$, **H-8**), 4.59 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl-CH₂), 3.34 (t, 2H, $^3J = 5.5$, OCH₂CH₂NH), 3.11 (s, 3H, OCH₃), 3.07 (q, 2H, $^3J = 5.5$, OCH₂CH₂NH).

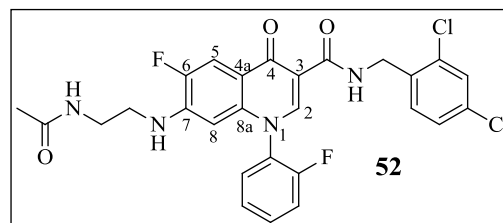
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.6 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.7$, C-4), 164.2 (1C, CONHR), 157.1 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 249.3$, Ph-C_q), 152.2 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 251.6$, C-6), 146.7 (1C, C-2), 142.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 14.4$, C-7), 139.3 (1C, C-8a), 135.8 (1C, benzyl-C_q), 133.3 (1C, benzyl-C_q), 132.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, Ph-CH), 132.5 (1C, benzyl-C_q), 130.7 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 130.0 (1C, Ph-CH), 128.8 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.8 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 12.8$, Ph-C_q), 127.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 126.3 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.5$, Ph-CH), 120.1 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.8$, C-4a), 117.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 18.8$, Ph-CH), 110.6 (1C, C-3), 109.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 18.9$, C-5), 96.3 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.8$, C-8), 70.6 (1C, OCH₂CH₂NH), 58.1 (1C, OCH₃), 42.2 (1C, OCH₂CH₂NH), 40.3 (1C, benzyl-CH₂).

7-((2-Acetamidoethyl)amino)-N-(2,4-dichlorobenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxoquinolin-3-carboxamid (**52**)⁶²

Gemäß AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 100 mg (249 μmol) **44i**, 76 mg (747 μmol , 82 μl) NMM sowie 68 mg (498 μmol , 65 μl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 110 mg (623 μmol , 84 μl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 20:1) und Umkristallisation des Rohprodukts aus Toluol liefern Verbindung **52** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₇H₂₂Cl₂F₂N₄O₃

Molekülmasse: 559.4 g/mol



Ausbeute: 82 mg (147 μmol / 59 %); Lit⁶²: 33 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.52 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 20:1).

Schmp: 208 - 209 °C (Toluol); Lit⁶²: 169 °C (EtOAc/EtOH).

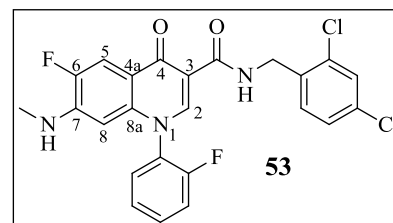
IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3275 (m), 3074 (w), 2942 (w), 2865 (w), 1667 (s), 1635 (s), 1525 (s), 1487 (s), 1327 (m), 1101 (w), 800 (w), 768 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmten mit den Angaben in der Literatur überein.⁶²

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(methylamino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**53**)

Analog AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 260 mg (787 μmol) **44j**, 239 mg (2.36 mmol, 260 μl) NMM sowie 215 mg (1.57 mmol, 204 μl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 346 mg (1.97 mmol, 265 μl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) und durch Umkristallisieren aus Toluol, wobei Verbindung **53** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_2$
 Molekülmasse: 488.3 g/mol
 Ausbeute: 191 mg (391 μmol / 50 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.32$ (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1).
 Schmp: 198 - 199 °C (Toluol).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3329 (s), 3090 (w), 2915 (w), 1661 (s), 1633 (m), 1526 (s), 1483 (s), 1300 (m), 1211 (m), 1104 (w), 814 (m), 802 (m), 775 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 99.1 %.
 logP (HPLC): 4.19



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.5 (t, 1H, ³*J* = 6.0, CONHR), 8.46 (s, 1H, H-2), 7.82 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 12.0, H-5), 7.81-7.79 (m, 1H, Ph-CH), 7.77-7.71 (m, 1H, Ph-CH), 7.64-7.59 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.52 (t, 1H, ³*J* = 7.7, Ph-CH), 7.44-7.39 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.91 (br, 1H, NH), 5.76 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 6.9, H-8), 4.59 (d, 2H, ³*J* = 6.0, benzyl-CH₂), 2.53 (d, 3H, ³*J* = 4.7, NHCH₃).

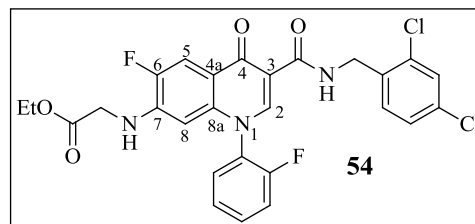
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.4 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.6, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 156.8 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.6, Ph-C_q), 149.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 244.5, C-6), 146.5 (1C, C-2), 142.8 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 15.1, C-7), 139.3 (1C, C-8a), 135.6 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.5 (d,

1C, $^3J_{C,F} = 8.1$, Ph-CH), 132.2 (1C, benzyl- C_q), 130.4 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 127.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 12.8$, Ph- C_q), 127.3 (1C, benzyl- $CH_{arom.}$), 126.1 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 4.0$, Ph-CH), 117.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 19.1$, Ph-CH), 115.2 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 6.1$, C-4a), 110.5 (1C, C-3), 109.0 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 19.3$, C-5), 94.8 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.8$, C-8), 40.1 (1C, benzyl- CH_2), 28.7 (1C, $NHCH_3$).

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-7-((2-Ethoxy-2-oxoethyl)amino)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**54**)

Entsprechend AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 80 mg (199 μ mol) **44k**, 60 mg (597 μ mol, 66 μ l) NMM sowie 54 mg (398 μ mol, 52 μ l) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 88 mg (497 μ mol, 67 μ l) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 200:1) und durch Umkristallisieren aus Toluol, wobei Verbindung **54** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: $C_{27}H_{21}Cl_2F_2N_3O_4$
 Molekülmasse: 560.4 g/mol
 Ausbeute: 81 mg (145 μ mol / 73 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.14$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 200:1).
 Schmp: 106 - 197 °C (Toluol).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3368 (m), 3050 (w), 2981 (w), 1735 (m), 1661 (s), 1636 (m), 1524 (s), 1482 (s), 1299 (m), 1197 (m), 1102 (m), 813 (m), 766 (m), 733 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 5*: 98.9 %.
 logP (HPLC): 4.10

1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.47 (s, 1H, H-2), 7.88 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 11.9$, H-5), 7.78-7.72 (m, 2H, Ph-CH), 7.64-7.58 (m, 2H, Ph-CH, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.50 (t, 1H, $^3J = 7.7$, Ph-CH), 7.43-7.42 (m, 2H, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.25 (br, 1H, NH), 5.69 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.9$, H-8), 4.60 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl- CH_2), 3.98 (q, 2H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3), 3.80 (d, 2H, $^3J = 5.7$, $NHCH_2CO_2Et$), 1.09 (t, 3H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.5 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.9$, C-4), 169.3 (1C, COOEt), 163.9 (1C, CONHR), 154.3 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 242.7$, Ph-C_q), 149.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 244.5$, C-6), 146.7 (1C, C-2), 141.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 14.2$, C-7), 138.8 (1C, C-8a), 135.6 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.5 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 8.3$, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 11.4$, Ph-C_q), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 126.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.9$, Ph-CH), 125.2 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.9$, C-4a), 117.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 18.7$, Ph-CH), 110.5 (1C, C-3), 109.5 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 19.2$, C-5), 96.5 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.5$, C-8), 60.6 (1C, OCH₂CH₃), 43.9 (1C, NHCH₂CO₂Et), 40.2 (1C, benzyl-CH₂), 13.9 (1C, OCH₂CH₃).

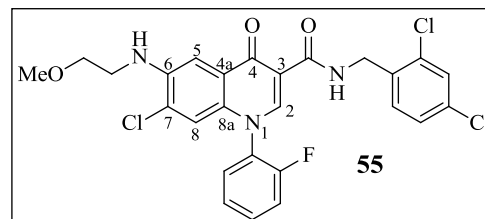
7-Chlor-N-(2,4-dichlorbenzyl)-1-(2-fluorphenyl)-6-((2-methoxyethyl)amino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (55)

Analog AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 115 mg (307 μmol) **44h**⁶, 93 mg (921 μmol , 101 μl) NMM sowie 84 mg (614 μmol , 80 μl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 135 mg (768 μmol , 103 μl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) und durch Umkristallisieren aus Toluol, wobei Verbindung **55** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₂₆H₂₁C₁₃FN₃O₃

Molekülmasse: 548.8 g/mol

Ausbeute: 79 mg (144 μmol / 47 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.74$ (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1).

Schmp: 210 - 211 °C (Toluol).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3387 (w), 3214 (w), 3073 (w), 2945 (w), 2918 (w), 2888 (w), 1667 (s), 1537 (m), 1498 (s), 1255 (m), 1124 (m), 1097 (m), 857 (m), 799 (m), 769 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 95.3 %.

logP (HPLC): 5.07

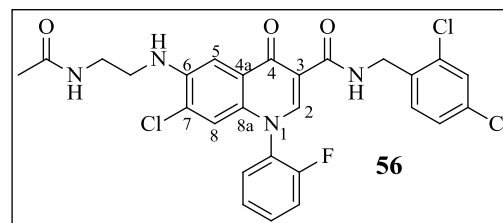
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.4 (t, 1H, ³*J* = 6.0, CONHR), 8.51 (s, 1H, H-2), 7.81 (dd, 1H, ³*J* = 7.8, ⁴*J*_{H,F} = 7.8, Ph-CH), 7.77-7.72 (m, 1H, Ph-CH), 7.64-7.59 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.54-7.50 (m, 2H, Ph-CH, H-5), 7.43 (br, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.93 (d, 1H, ⁵*J* = 1.2, H-8), 5.81 (t, 1H, ³*J* = 5.6, NH), 4.61 (d, 2H, ³*J* = 6.0, benzyl-CH₂), 3.88 (t, 2H, ³*J* = 5.6, OCH₂CH₂NH), 3.43 (q, 2H, ³*J* = 5.6, OCH₂CH₂NH), 3.30 (s, 3H, OCH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.7 (1C, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 156.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.2, Ph-C_q), 146.2 (1C, C-2), 142.3 (1C, C-6), 135.5 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.7 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 4.9, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 131.2 (1C, C-8a), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.6, Ph-C_q), 126.7 (1C, C-7), 126.2 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.5, Ph-CH), 125.4 (1C, C-4a), 117.8 (1C, C-8), 117.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 19.0, Ph-CH), 110.2 (1C, C-3), 103.7 (1C, C-5), 69.7 (1C, OCH₂CH₂NH), 58.0 (1C, OCH₃), 42.4 (1C, OCH₂CH₂NH), 40.1 (1C, benzyl-CH₂).

6-((2-Acetamidoethyl)amino)-7-chlor-N-(2,4-dichlorobenzyl)-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (56)

Entsprechend AV11 wird das gemischte Anhydrid aus 90 mg (215 μmol) **44i'**, 65 mg (645 μmol, 71 μl) NMM sowie 59 mg (430 μmol, 56 μl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 95 mg (539 μmol, 73 μl) 2,4-Dichlorbenzylamin umgesetzt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 10:1) und durch Umkristallisieren aus ACN, wobei Verbindung **56** als hellgelber Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₂₇H₂₂Cl₃FN₄O₃
 Molekülmasse: 575.9 g/mol
 Ausbeute: 65 mg (113 μmol / 53 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.53 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 10:1).
 Schmp: 269 - 271 °C (ACN).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3375 (w), 3283 (m), 3207 (w), 3069 (w), 3033 (w), 2978 (w), 2940 (w), 2882 (w), 1660 (m), 1538 (m), 1500 (s), 1471 (m), 1255 (m), 1096 (w), 799 (m), 702 (m), 682 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 99.4 %.

logP (HPLC): 4.00

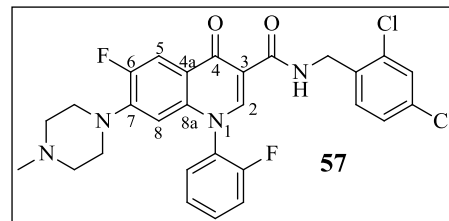
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.51 (s, 1H, **H-2**), 8.10 (t, 1H, $^3J = 5.1$, CONHR), 7.82 (ddd, 1H, $^3J = 7.8$, $^4J_{\text{H,F}} = 7.8$, $^4J = 1.4$, Ph-CH), 7.77-7.72 (m, 1H, Ph-CH), 7.64-7.60 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.53 (t, 1H, $^3J = 7.8$, Ph-CH), 7.47 (s, 1H, **H-5**), 7.44-7.43 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.92 (d, 1H, $^5J = 1.1$, **H-8**), 6.11 (t, 1H, $^3J = 4.7$, NH), 4.61 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl-CH₂), 3.36-3.31 (m, 4H, CONHCH₂CH₂NH), 1.83 (s, 3H, CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.7 (1C, C-4), 169.9 (1C, CONHR), 164.0 (1C, CONHR), 156.7 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 250.7$, Ph-C_q), 146.1 (1C, C-2), 142.4 (1C, C-6), 135.5 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.9$, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 131.1 (1C, C-8a), 130.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.1 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 12.5$, Ph-C_q), 126.8 (1C, C-7), 126.2 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.9$, Ph-CH), 125.4 (1C, C-4a), 117.8 (1C, C-8), 117.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 19.0$, Ph-CH), 110.2 (1C, C-3), 103.3 (1C, C-5), 43.2 (1C, CONHCH₂CH₂NH), 39.5 (1C, benzyl-CH₂), 37.4 (1C, CONHCH₂CH₂NH), 22.4 (1C, CH₃).

6.3.5.2 Synthese von *N*-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**57**)

150 mg (259 μmol) **49**, 100 mg (777 μmol , 135 ml) DIPEA und 55 mg (388 μmol , 24 μl) Methyljodid werden in 10 ml ACN gelöst und 24 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 50 ml ges. NaHCO₃-Lösung aufgenommen und mit CH₂Cl₂ extrahiert (4 \times 40 ml). Nach dem Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄ und Einengen der Lösung i. Vak. wird das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 15:1). Anschließendes Umkristallisieren aus ACN liefert Verbindung **57** als weißen Feststoff.

Summenformel: $C_{28}H_{24}Cl_2F_2N_4O_2$
 Molekülmasse: 557.4 g/mol
 Ausbeute: 45 mg (81 μ mol / 31 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.32$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 15:1).
 Schmp: 209 - 210 °C (ACN).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3205 (w), 3074 (w), 2938 (w), 2848 (w), 2796 (w), 1671 (s), 1629 (m), 1539 (m), 1498 (s), 1475 (s), 1259 (m), 1138 (m), 1006 (m), 791 (w), 767 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 99.3 %.
 logP (HPLC): 5.35

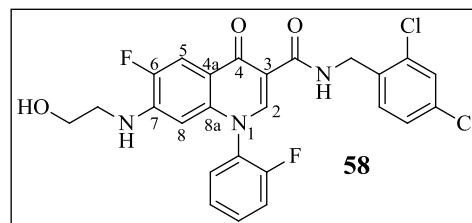
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.6$, CONHR), 8.56 (s, 1H, **H-2**), 7.94 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.4$, **H-5**), 7.83 (dd, 1H, $^3J = 7.5$, $^4J_{H,F} = 7.5$, Ph-CH), 7.78-7.73 (m, 1H, Ph-CH), 7.65-7.60 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.53 (t, 1H, $^3J = 7.5$, Ph-CH), 7.42 (br, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.28 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 6.7$, **H-8**), 4.60 (d, 2H, $^3J = 5.6$, benzyl-CH₂), 3.00 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 2.40 (br, 4H, piperazinyl-CH₂), 2.17 (s, 3H, NCH₃).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.3 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.1$, C-4), 163.5 (1C, CONHR), 156.5 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 251.1$, Ph-C_q), 152.4 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 248.0$, C-6), 147.3 (1C, C-2), 144.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.4$, C-7), 137.7 (1C, C-8a), 135.3 (1C, benzyl-C_q), 132.9 (1C, benzyl-C_q), 132.5 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 8.0$, Ph-CH), 132.1 (1C, benzyl-C_q), 130.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.5 (1C, Ph-CH), 128.4 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.1 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.0 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 12.5$, Ph-C_q), 126.0 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.9$, Ph-CH), 119.8 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.0$, C-4a), 117.0 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 19.3$, Ph-CH), 111.2 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.5$, C-5), 111.7 (1C, C-3), 104.8 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 3.4$, C-8), 53.8 (2C, piperazinyl-CH₂), 48.7 (2C, $^4J_{C,F} = 4.5$, piperazinyl-CH₂), 45.3 (1C, NCH₃), 39.6 (1C, benzyl-CH₂).

6.3.5.3 Synthese von *N*-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-((2-hydroxyethyl)amino)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**58**)

Unter Argonatmosphäre werden 60 mg (113 μmol) **51** in 10 ml abs. CH_2Cl_2 gelöst und auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 226 mg (902 μmol , 86 μl) Bortribromid wird die Lösung für 5 h bei RT gerührt und man stoppt die Reaktion im Anschluß durch die vorsichtige Zugabe von 5 ml EtOH. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl_3). Anschließendes Umkristallisieren aus Toluol liefert Verbindung **58** in Form eines weißen kristallinen Feststoffs.

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$
 Molekülmasse: 518.3 g/mol
 Ausbeute: 45 mg (87 μmol / 77 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.29$ (Kieselgel, CHCl_3).
 Schmp: 169 - 170 °C (Toluol).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3350 (m), 3085 (w), 3049 (w), 2975 (w), 2856 (w), 1660 (m), 1633 (m), 1523 (s), 1476 (s), 1297 (m), 1206 (m), 1101 (m), 818 (m), 799 (m), 765 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 96.0 %.
 logP (HPLC): 4.78



$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 10.5 (t, 1H, $^3J = 6.0$, CONHR), 8.47 (s, 1H, **H-2**), 7.87 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 12.0$, **H-5**), 7.82 (ddd, 1H, $^3J = 7.9$, $^4J_{\text{H,F}} = 7.9$, $^4J = 1.6$, Ph-CH), 7.77-7.71 (m, 1H, Ph-CH), 7.63-7.59 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.52 (td, 1H, $^3J = 7.8$, $^4J = 1.0$, Ph-CH), 7.44-7.40 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 7.05 (t, 1H, $^3J = 5.6$, NH), 5.97 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 6.7$, **H-8**), 4.60 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl-CH₂), 3.50-3.46 (m, 2H, HOCH₂CH₂NH), 3.36 (q, 2H, $^3J = 5.5$, HOCH₂CH₂NH), 2.52-2.51 (m, 1H, OH).

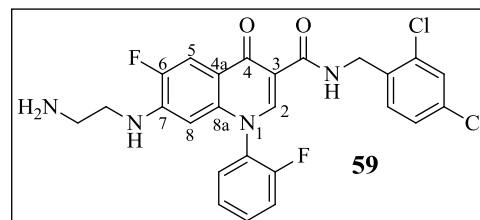
$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 174.4 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.4$, C-4), 163.9 (1C, CONHR), 156.8 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 250.7$, Ph-C_q), 149.3 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 244.3$, C-6), 146.7 (1C, C-2), 141.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 14.4$, C-7), 139.0 (1C, C-8a), 135.6 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.5 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 8.1$, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH),

128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.5 (d, 1C, ²J_{C,F} = 12.7, Ph-C_q), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 126.1 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 3.8, Ph-CH), 117.2 (d, 1C, ²J_{C,F} = 18.9, Ph-CH), 115.9 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.1, C-4a), 110.5 (1C, C-3), 109.6 (d, 1C, ²J_{C,F} = 20.1, C-5), 96.0 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 3.5, C-8), 44.0 (1C, HOCH₂CH₂NH), 40.2 (1C, benzyl-CH₂), 30.7 (1C, HOCH₂CH₂NH).

6.3.5.4 Synthese von 7-((2-Aminoethyl)amino)-N-(2,4-dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (59)

75 mg (134 μmol) **52** werden in 5 ml konz. HCl suspendiert und 24 h zum Sieden erhitzt. Die auf RT abgekühlte Lösung wird mit wässriger NaOH-Lösung (2 N) auf pH = 9 eingestellt, mit CH₂Cl₂ (3 × 40 ml) extrahiert und die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Das durch Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1) und anschließend aus ACN umkristallisiert, wodurch Verbindung **59** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₂₅H₂₀Cl₂F₂N₄O₂
 Molekülmasse: 517.4 g/mol
 Ausbeute: 34 mg (66 μmol / 49 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.29 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1).
 Schmp: 193 - 194 °C (ACN).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3378 (w), 3183 (w), 3062 (w), 2945 (w), 2870 (w), 1664 (s), 1635 (m), 1524 (s), 1483 (s), 1325 (m), 1286 (m), 1101 (m), 814 (m), 771 (m).
 HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 5: 94.6 %.
 logP (HPLC): 4.15

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 10.5 (t, 1H, ³J = 6.0, CONHR), 8.45 (s, 1H, H-2), 7.83 (d, 1H, ³J_{H,F} = 12.1, H-5), 7.82-7.72 (m, 2H, Ph-CH), 7.63-7.59 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.52 (t, 1H, ³J = 7.6, Ph-CH), 7.42-7.40 (m, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 6.71 (br, 1H, NH), 5.86 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 6.9, H-8), 4.59 (d, 2H, ³J = 6.0, benzyl-CH₂), 2.86-2.82 (m, 2H, H₂NCH₂CH₂NH), 2.64 (m, 2H, H₂NCH₂CH₂NH), 1.83 (br, 2H, NH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.4 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.8, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 156.8 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.3, Ph-C_q), 149.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 245.0, C-6), 146.5 (1C, C-2), 142.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 14.5, C-7), 139.2 (1C, C-8a), 135.6 (1C, benzyl-C_q), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.6 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.0, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.7 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.6 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 12.7, Ph-C_q), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 126.2 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.7, Ph-CH), 117.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 19.1, Ph-CH), 115.3 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 5.9, C-4a), 110.4 (1C, C-3), 109.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 19.5, C-5), 95.5 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 3.1, C-8), 45.5 (1C, H₂NCH₂CH₂NH), 40.2 (1C, benzyl-CH₂), 39.5 (1C, H₂NCH₂CH₂NH).

6.3.5.5 Formylierung und Acetylierung von Verbindung 53

N-(2,4-Dichlorobenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(*N*-methylformamido)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**60**)

In einem Bombenrohr werden unter Argonatmosphäre 3 ml Ameisensäure und 1.5 ml Essigsäureanhydrid vorgelegt und 15 min bei RT gerührt. Man gibt 120 mg (246 μmol) der Verbindung **53** zu und erwärmt die Reaktionslösung für 16 h auf 80 °C. Im Anschluß werden die flüchtigen Bestandteile i. Vak. entfernt und der Rückstand aus Toluol umkristallisiert. Das gewünschte formylierte Produkt **60** wird als weißer kristalliner Feststoff erhalten.

Summenformel: C₂₅H₁₇Cl₂F₂N₃O₃

Molekülmasse: 516.3 g/mol

Ausbeute: 82 mg (159 μmol / 65 %).

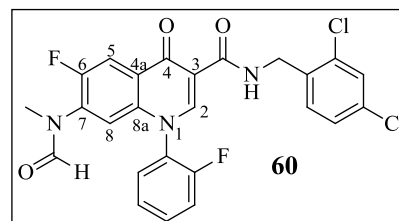
Reaktionskontrolle: R_f = 0.51 (Kieselgel, EtOAc).

Schmp: 178 - 180 °C (Toluol).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3231 (w), 3068 (w), 3031 (w), 2942 (w), 1681 (m), 1662 (s), 1585 (m), 1536 (m), 1496 (s), 1472 (m), 1311 (m), 1079 (m), 805 (s), 773 (s), 713 (m), 700 (m).

HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 1: 99.5 %.

logP (HPLC): 4.08



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.2 (t, 1H, ³*J* = 6.0, CONHR), 8.89 (s, 1H, H-2), 8.27 (s, 1H, CHO), 8.18 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 10.9, H-5), 7.82 (dd, 1H, ³*J* = 7.2, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, Ph-CH), 7.77-

7.72 (m, 1H, Ph-CH), 7.63-7.59 (m, 2H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}), 7.51 (t, 1H, ³J = 7.2, Ph-CH), 7.43 (s, 2H, benzyl-CH_{arom.}), 7.12 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 6.1, H-8), 4.61 (d, 2H, ³J = 6.0, benzyl-CH₂), 3.12 (s, 3H, NCH₃),

¹³C-NMR (DMSO-d₆, δ [ppm], J [Hz]): 174.5 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 1.6, C-4), 163.3 (1C, CONHR), 162.6 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.9, CHO), 156.7 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 250.7, Ph-C_q), 154.0 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 249.6, C-6), 148.7 (1C, C-2), 137.1 (1C, C-8a), 135.4 (1C, benzyl-C_q), 135.1 (d, 1C, ²J_{C,F} = 13.9, C-7), 133.1 (1C, benzyl-C_q), 132.7 (d, 1C, ³J_{C,F} = 8.0, Ph-CH), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.6 (1C, Ph-CH), 128.6 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.0 (d, 1C, ²J_{C,F} = 12.8, Ph-C_q), 126.1 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 3.4, Ph-CH), 125.5 (d, 1C, ³J_{C,F} = 6.7, C-4a), 117.4 (d, 1C, ²J_{C,F} = 19.2, Ph-CH), 116.0 (1C, C-8), 112.3 (d, 1C, ²J_{C,F} = 23.0, C-5), 111.3 (1C, C-3), 40.1 (1C, benzyl-CH₂), 32.2 (1C, NCH₃).

N-(2,4-Dichlorbenzyl)-6-fluor-1-(2-fluorphenyl)-7-(*N*-methylacetamido)-1,4-dihydro-4-oxo-*chinolin*-3-carboxamid (**61**)

100 mg (205 μmol) **53** werden in 10 ml Essigsäureanhydrid suspendiert und für 6 h auf 80 °C erwärmt. Anschließend werden die flüchtigen Bestandteile i. Vak. entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, EtOAc). Umkristallisation des erhaltenen Rohprodukts aus Toluol liefert Verbindung **61** als weißen Feststoff.

Summenformel: C₂₆H₁₉Cl₂F₂N₃O₃

Molekülmasse: 530.4 g/mol

Ausbeute: 69 mg (130 μmol / 64 %).

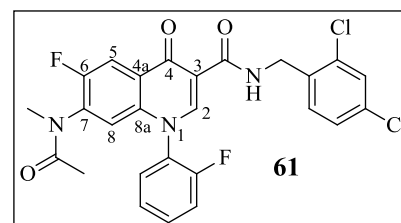
Reaktionskontrolle: R_f = 0.39 (Kieselgel, EtOAc).

Schmp: 124 - 125 °C (Toluol).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3247 (w), 3122 (w), 3050 (w), 2910 (w), 1667 (s), 1531 (m), 1491 (m), 1470 (s), 1336 (m), 1252 (m), 1103 (w), 800 (m), 762 (w), 723 (w).

HPLC-Reinheit: HPLC-Methode 1: 99.8 %.

logP (HPLC): 4.14



¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³J = 6.0, CONHR), 8.77 (s, 1H, H-2), 8.30 (d, 1H, ³J_{H,F} = 9.8, H-5), 7.68-7.65 (m, 1H, Ph-CH), 7.48-7.39 (m, 5H, Ph-CH, benzyl-CH_{arom.}),

7.21 (dd, 1H, $^3J = 8.3$, $^4J = 2.0$, benzyl-CH_{arom.}), 6.87 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 5.3$, H-8), 4.72 (d, 2H, $^3J = 6.0$, benzyl-CH₂), 3.20 (s, 3H, NCH₃), 1.86 (s, 3H, NCOCH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm], *J* [Hz]): 175.6 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.0$, C-4), 170.1 (1C, NCOCH₃), 164.3 (1C, CONHR), 157.1 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 254.5$, Ph-C_q), 155.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 252.3$, C-6), 148.5 (1C, C-2), 137.2 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 11.9$, C-7), 137.1 (1C, C-8a), 134.7 (1C, benzyl-C_q), 134.3 (1C, benzyl-C_q), 133.7 (1C, benzyl-C_q), 132.9 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.3$, Ph-CH), 130.5 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 129.4 (1C, Ph-CH), 128.9 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 127.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.7$, C-4a), 127.5 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 12.8$, Ph-C_q), 127.2 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 126.3 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.5$, Ph-CH), 118.4 (1C, C-8), 117.7 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 18.9$, Ph-CH), 114.0 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.8$, C-5), 112.5 (1C, C-3), 40.8 (1C, benzyl-CH₂), 36.5 (1C, NCH₃), 21.9 (1C, NCOCH₃).

6.4 Synthese eines fluoreszenzfarbstoffmarkierten 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivates

6.4.1 Synthese von 2,6-Dimethyl-4-[(*E*)-2-(2,3,6,7-tetrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]-chinolin-9-yl)vinyl]pyranylium-Tetrafluorborat (Py1, 62)

Die Synthese des Pyrylium-Farbstoffs Py1 erfolgt gemäß der Vorschrift von Heller *et al.*¹³² 1.00 g (4.97 mmol) Julolidin-9-carbaldehyd und 1.15 g (5.47 mmol) 2,4,6-Trimethylpyrylium Tetraborat werden mit 10 Tropfen HBF₄ in 30 ml ACN in einem QS-Quarz-Batch-Reaktor (MLS) gelöst und unter Mikrowellenstrahlung in 3 min auf 100 °C erwärmt. Nach 5 min bei konstanter Temperatur ist die Reaktion beendet (ersichtlich am Farbumschlag von farblos zu blau) und das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/MeOH Gradient: 25:1 (1000 ml) → 15:1 (500 ml) → 9:1 (1000 ml)) und anschließend gründlich mit PE gewaschen, wodurch man Verbindung 62 (PY1) als blauen Feststoff erhält.

Summenformel: $C_{21}H_{24}BF_4NO$

Molekülmasse: 393.2 g/mol

Ausbeute: 930 mg (2.37 mmol / 43 %); Lit¹³²: 85 %.

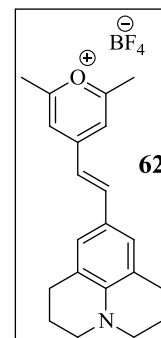
Reaktionskontrolle: $R_f = 0.09$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 25:1).

$R_f = 0.30$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 15:1).

$R_f = 0.46$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH$ 9:1).

Schmp: 207 - 208 °C ($CHCl_3/MeOH$); Lit¹³¹: 205 °C ($CHCl_3/MeOH$).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2935 (w), 2850 (w), 1661 (m), 1552 (m), 1518 (m), 1440 (m), 1279 (m), 1244 (m), 1053 (s), 1035 (s), 896 (s).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹³¹

6.4.2 Synthese eines Benzylamin-Linkers

6.4.2.1 Synthese von 4-(Aminomethyl)phenol-Hydrobromid (63)

Analog der Synthesevorschrift von Chichak *et al.*¹³³ werden 2.00 g (14.6 mmol) 4-Methoxybenzylamin in 15 ml konz. HBr gelöst und 6 h zum Sieden erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt aus ACN umkristallisiert und man erhält Verbindung **63** als hellroten, kristallinen Feststoff.

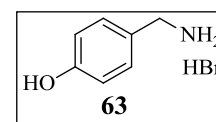
Summenformel: $C_7H_{10}BrNO$

Molekülmasse: 204.1 g/mol

Ausbeute: 2.54 g (12.5 mmol / 85 %); Lit:¹³³ 92 %.

Schmp: 211 - 212 °C (ACN).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3172 (br), 3009 (s), 2902 (m), 1614 (m), 1588 (m), 1517 (s), 1465 (s), 1442 (m), 1385 (m), 1258 (m), 1202 (s), 830 (s), 821.5 (s), 748 (m).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹³³

6.4.2.2 Synthese von *tert*-Butyl-4-hydroxybenzylcarbammat (**64**)

Die Synthese der Verbindung **64** erfolgt entsprechend der Vorschrift von Chichak *et al.*¹³³ 1.50 g (7.35 mmol) **63** werden zusammen mit 2.41 g (11.0 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat und 1.24 g (14.7 mmol) NaHCO₃ in 20 ml MeOH suspendiert und für 16 h bei RT gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird der Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen und mit CH₂Cl₂ (4 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene braune Öl wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, PE/EtOAc 2:1), wodurch man Verbindung **64** als klares Öl erhält.

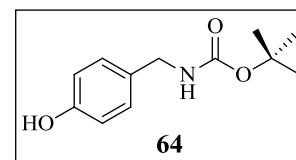
Summenformel: C₁₂H₁₇NO₃

Molekülmasse: 223.3 g/mol

Ausbeute: 1.20 g (5.37 mmol / 73 %); Lit¹³³: 93 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.69 (Kieselgel, PE/EtOAc 2:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3333 (br), 2978 (m), 2932 (w), 1676 (s), 1514 (s), 1454 (m), 1366 (m), 1245 (s), 1158 (s), 823 (m).



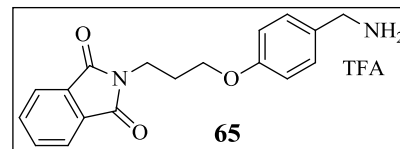
Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹³³

6.4.2.3 Synthese von 4-(3-(1,3-Dioxoisindolin-2-yl)propoxy)benzylammonium-2,2,2-Trifluoracetat (**65**)

1.10 g (4.93 mmol) **64** werden unter Argonatmosphäre in abs. DMF gelöst und nach Zugabe von 1.98 g (7.39 mmol) *N*-(3-Brompropyl)phthalimid sowie 1.02 g (7.39 mmol) K₂CO₃ für 15 h bei 80 °C gerührt. Der nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erhaltenen Rückstand wird in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und mit CH₂Cl₂ (3 × 70 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/EtOAc 20:1). Der erhaltene Feststoff wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst und die Boc-Schutzgruppe durch Zugabe von 4 ml TFA abgespalten. Nach

2-stündigem Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und man erhält das gewünschte Benzylamin **65** als weißen Feststoff.

Summenformel: $C_{20}H_{19}F_3N_2O_5$
 Molekülmasse: 424.4 g/mol
 Ausbeute: 1.38 g (3.25 mmol / 66 %).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Alkylierung: $R_f = 0.74$ (Kieselgel, $CHCl_3/EtOAc$ 20:1).
 2. Schritt: Abspaltung der Boc-Schutzgruppe: $R_f = 0.1$ (Kieselgel, $CHCl_3/EtOAc$ 20:1).

Schmp: 201 - 202 °C (CH_2Cl_2)

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3063 (w), 2975 (w), 2938 (w), 2895 (w), 2612 (w), 1703 (s), 1517 (m), 1394 (m), 1374 (m), 1246 (m), 1186 (s), 1112 (s), 826 (m), 719 (m).

1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 8.13 (br, 3H, NH_3^+), 7.87-7.82 (m, 4H, phthalimid-CH), 7.32 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl- $CH_{arom.}$), 6.83 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl- $CH_{arom.}$), 4.02 (t, 2H, $^3J = 6.3$, $OCH_2CH_2CH_2N$), 3.94 (q, 2H, $^3J = 5.6$, benzyl- CH_2), 3.76 (t, 2H, $^3J = 6.3$, $OCH_2CH_2CH_2N$), 2.06 (quint, 2H, $^3J = 6.3$, $OCH_2CH_2CH_2N$).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 167.9 (2C, $RN(CO)_2$), 158.5 (1C, benzyl- C_q), 158.3 (q, 1C, $^2J_{C,F} = 34.6$, CF_3COOH), 134.2 (2C, phthalimid-CH), 131.7 (2C, phthalimid- C_q), 130.3 (2C, benzyl- $CH_{arom.}$), 125.8 (1C, benzyl- C_q), 122.9 (2C, phthalimid-CH), 116.0 (q, 1C, $^2J_{C,F} = 293.3$, CF_3COOH), 114.4 (2C, benzyl- $CH_{arom.}$), 65.5 (1C, $OCH_2CH_2CH_2N$), 41.7 (1C, benzyl- CH_2), 35.0 (1C, $OCH_2CH_2CH_2N$), 27.4 (1C, $OCH_2CH_2CH_2N$).

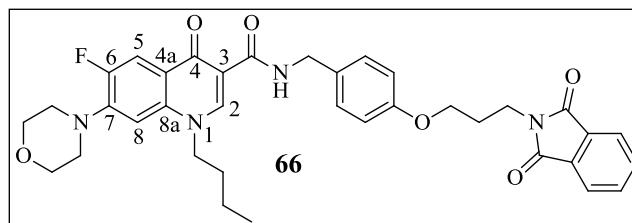
6.4.3 Synthese von 1-Butyl-N-(4-(3-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)propoxy)benzyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**66**)

100 mg (287 μ mol) des 4-Chinolons **6g** (Kapitel 6.2.5.3) werden unter Argonatmosphäre mit 145 mg (1.44 mmol, 158 μ l) NMM in 10 ml abs. DMF gelöst. Die Lösung wird auf 0 °C abgekühlt, 118 mg (861 μ mol, 112 μ l) Isobutylchlorformiat zugegeben und anschließend 1 h bei 0 °C gerührt. In einem zweiten Ansatz werden unter Argonatmosphäre 365 mg (861 μ mol) des Benzylamin-Linkers **65** mit 145 mg (1.44 mmol, 158 μ l) NMM in 5 ml abs. DMF gelöst. Nach

1-stündigem Rühren bei RT wird dieser Ansatz langsam (15 min) zum *in situ* hergestellten gemischten Anhydrid zugetropft. Die kombinierte Lösung wird für weitere 45 min bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das resultierende Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, EtOAc), wodurch man Verbindung **66** in Form eines weißen Feststoffs erhält.

Summenformel: $C_{36}H_{37}FN_4O_6$

Molekülmasse: 640.7 g/mol



Ausbeute: 165 mg (258 μ mol / 90 %).

Reaktionskontrolle: $R_f = 0.32$ (Kieselgel, EtOAc).

Schmp: 145 - 146 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3230 (w), 3048 (w), 2974 (w), 2957 (w), 2932 (w), 2861 (w), 1709 (s), 1659 (s), 1542 (m), 1489 (s), 1401 (m), 1243 (s), 1115 (m), 1039 (m), 806 (m), 720 (m), 713 (m).

1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.8$, CONHR), 8.77 (s, 1H, H-2), 7.87-7.81 (m, 5H, H-5, phthalimid-CH), 7.21 (d, 2H, $^3J = 8.7$, benzyl-CH_{arom.}), 7.08 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.3$, H-8), 6.76 (d, 2H, $^3J = 8.7$, benzyl-CH_{arom.}), 4.49-4.44 (m, 4H, benzyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.99 (t, 2H, $^3J = 6.1$, OCH₂CH₂CH₂N), 3.80-3.74 (m, 6H, morpholino-CH₂-O-CH₂, OCH₂CH₂CH₂N), 3.26-2.24 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 2.05 (quint, 2H, $^3J = 6.1$, OCH₂CH₂CH₂N), 1.77 (quint, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), (sext, 2H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

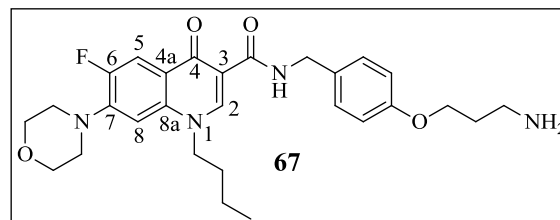
^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.0 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.3$, C-4), 167.9 (2C, RN(CO)₂), 163.9 (1C, CONHR), 157.4 (1C, benzyl-C_q), 152.4 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 247.7$, C-6), 147.7 (1C, C-2), 144.3 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 10.4$, C-7), 136.5 (1C, C-8a), 134.2 (2C, phthalimid-CH), 131.6 (2C, phthalimid-C_q), 131.3 (1C, benzyl-C_q), 128.6 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 122.9 (2C, phthalimid-CH), 121.4 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.0$, C-4a), 114.2 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.4 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.2$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.5 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.7$, C-8), 66.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 65.4 (1C,

OCH₂CH₂CH₂N), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.8 (2C, ⁴J_{C,F} = 4.3, morpholino-CH₂-N-CH₂), 41.5 (1C, benzyl-CH₂), 35.0 (1C, OCH₂CH₂CH₂N), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 27.5 (1C, OCH₂CH₂CH₂N), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.4.4 Synthese von *N*-(4-(3-Aminopropoxy)benzyl)-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (**67**)

150 mg (234 μmol) der Verbindung **66** werden in 10 ml EtOH gelöst und nach Zugabe von 38 mg (702 μmol, 37 μl) Hydrazin-Hydrat (60 %) für 3 h zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1). Verbindung **67** wird in Form eines hellgelben viskosen Öls erhalten.

Summenformel: C₂₈H₃₅FN₄O₄
 Molekülmasse: 510.6 g/mol
 Ausbeute: 118 mg (231 μmol / 99 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.49 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3197 (w), 2958 (w), 2931 (w), 2861 (w), 1654 (s), 1538 (m), 1509 (m), 1487 (s), 1302 (m), 1254 (s), 1117 (m), 931 (m), 747 (s).

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³J = 5.6, CONHR), 8.69 (s, 1H, H-2), 8.05 (d, 1H, ³J_{H,F} = 13.4, H-5), 7.29 (d, 2H, ³J = 8.7, benzyl-CH_{arom.}), 6.85 (d, 2H, ³J = 8.7, benzyl-CH_{arom.}), 6.77 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 6.9, H-8), 4.58 (d, 2H, ³J = 5.6, benzyl-CH₂), 4.19 (t, 2H, ³J = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.02 (t, 2H, ³J = 6.1, OCH₂CH₂CH₂N), 3.92-3.90 (m, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.26-2.23 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 2.89 (t, 2H, ³J = 6.8, OCH₂CH₂CH₂N), 1.94-1.82 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂CH₃, OCH₂CH₂CH₂N), 1.48-1.39 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₂CH₃, NH₂), 1.00 (t, 3H, ³J = 7.4, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 175.3 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.4, C-4), 164.9 (1C, CONHR), 158.1 (1C, benzyl-C_q), 153.2 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 249.4, C-6), 147.2 (1C, C-2), 144.9 (d, 1C, ²J_{C,F} = 10.6, C-7), 136.6 (1C, C-8a), 131.0 (1C, benzyl-C_q), 128.9 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 122.8 (d, 1C,

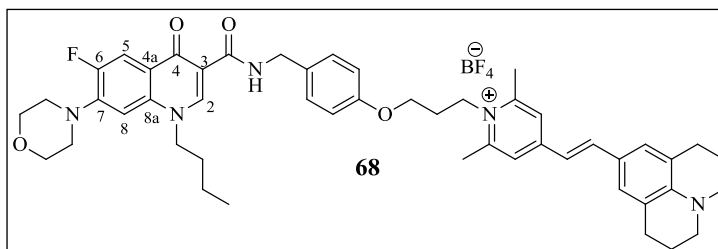
$^3J_{C,F} = 7.2$, C-4a), 114.6 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 113.1 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 23.0$, C-5), 111.3 (1C, C-3), 103.6 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 3.0$, C-8), 66.6 (2C, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 65.9 (1C, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 54.0 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 50.3 (2C, $^4J_{C,F} = 4.6$, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 42.7 (1C, benzyl- CH_2), 39.3 (1C, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 33.0 (1C, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 30.8 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19.9 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 13.6 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

6.4.5 Synthese von (E)-1-(1-Butyl-6-fluor-7-morpholino-N-(4-propoxybenzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid)-2,6-dimethyl-4-[2-(2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-benzo[ij]chinolizidin-9-yl)ethenyl]pyridinium-Tetrafluorborat (68)

240 mg (470 μmol) **67** und 185 mg (470 μmol) des Farbstoffs **62** (Py1) werden in 20 ml ACN in einem PTFE-Bombenrohr (*MLS*) gelöst und in der Synthesemikrowelle für 30 min bei 100 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 800 W). Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt und das lilafarbene Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (neutrales ALOX, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$ Gradient: 10:20:1 (700 ml) \rightarrow 10:10:1 (500 ml) \rightarrow 10:5:1 (1000 ml)). Das isolierte Produkt wird gründlich mit EtOAc gewaschen, wodurch man die farbstoffmarkierte Verbindung **68** als roten Feststoff erhält.

Summenformel: $\text{C}_{49}\text{H}_{57}\text{BF}_5\text{N}_5\text{O}_4$

Molekülmasse: 885.81 g/mol



Ausbeute: 142 mg (160 μmol / 34 %).

Reaktionskontrolle: $R_f = 0.09$ (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$ 10:20:1).

$R_f = 0.34$ (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$ 10:10:1).

$R_f = 0.49$ (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$ 10:5:1).

Schmp: 215 - 216 °C ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{MeOH}$).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3047 (w), 2939 (w), 2850 (w), 1665 (m), 1618 (m), 1576 (s), 1524 (s), 1449 (m), 1309 (s), 1291 (m), 1256 (m), 1140 (s), 1054 (s), 933 (w), 893 (w), 809 (w).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 3*: 94.7 %.

UV-Vis (ACN): $\lambda_{\max} = 282, 505 \text{ nm}$.

Fluoreszenz (ACN): $\lambda_{\max} = 429 \text{ nm}$ (Anregung: 282 nm), 647 nm (Anregung: 505 nm).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 5.7$, CONHR), 8.68 (s, 1H, **H-2**), 8.02 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.4$, **H-5**), 7.40-7.37 (m, 3H, Py1-**CH**_{arom.}, Py1-**CH**_{Doppelbdg.}), 7.28 (d, 2H, $^3J = 8.8$, benzyl-**CH**_{arom.}), 7.05 (s, 2H, Py1-**CH**_{arom.}), 6.80 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.0$, **H-8**), 6.77 (d, 2H, $^3J = 8.8$, benzyl-**CH**_{arom.}), 6.57 (d, 1H, $^3J = 13.4$, Py1-**CH**_{Doppelbdg.}), 4.58 (d, 2H, $^3J = 5.7$, benzyl-**CH**₂), 4.40-4.37 (m, 2H, **OCH**₂**CH**₂**CH**₂**N**), 4.20 (t, 2H, $^3J = 7.4$, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃), 4.04 (t, 2H, $^3J = 5.2$, **OCH**₂**CH**₂**CH**₂**N**), 3.92-3.89 (m, 4H, morpholino-**CH**₂-**O-CH**₂), 3.26-3.20 (m, 8H, morpholino-**CH**₂-**N-CH**₂, Py1-**CH**₂), 2.70 (br, 10H, Py1-**CH**₂, Py1-**CH**₃), 2.19-2.12 (quint, 2H, $^3J = 5.2$, **OCH**₂**CH**₂**CH**₂**N**), 1.92-1.83 (m, 6H, Py1-**CH**₂, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃), 1.43 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃), 0.99 (t, 3H, $^3J = 7.4$, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 175.3 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.6$, **C-4**), 164.9 (1C, CONHR), 157.2 (1C, benzyl-**C**_q), 153.3 (1C, Py1-**C**_q), 153.2 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 249.4$, **C-6**), 153.0 (2C, Py1-**C**_q), 147.2 (1C, **C-2**), 145.5 (1C, Py1-**C**_q), 144.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, **C-7**), 142.5 (1C, Py1-**CH**_{Doppelbdg.}), 136.7 (1C, **C-8a**), 131.9 (1C, benzyl-**C**_q), 129.1 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 128.1 (2C, Py1-**CH**_{arom.}), 122.7 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 4.2$, **C-4a**), 122.5 (2C, Py1-**CH**_{arom.}), 121.6 (1C, Py1-**CH**_{Doppelbdg.}), 121.2 (2C, Py1-**C**_q), 115.1 (1C, Py1-**C**_q), 114.4 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 112.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 23.2$, **C-5**), 111.2 (1C, **C-3**), 103.8 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.8$, **C-8**), 66.6 (2C, morpholino-**CH**₂-**O-CH**₂), 64.3 (1C, **OCH**₂**CH**₂**CH**₂**N**), 54.1 (1C, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃), 50.3 (2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.6$, morpholino-**CH**₂-**N-CH**₂), 50.0 (2C, Py1-**CH**₂), 48.8 (1C, **OCH**₂**CH**₂**CH**₂**N**), 42.6 (1C, benzyl-**CH**₂), 30.8 (1C, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃), 28.8 (1C, **OCH**₂**CH**₂**CH**₂**N**), 27.6 (2C, Py1-**CH**₂), 21.4 (2C, Py1-**CH**₂), 20.9 (2C, Py1-**CH**₃), 19.9 (1C, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃), 13.6 (1C, **NCH**₂**CH**₂**CH**₂**CH**₃).

6.5 Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden mit verbesserter Wasserlöslichkeit

6.5.1 Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamiden mit verringerter Lipophilie

6.5.1.1 Synthese Sulfonamid-substituierter Benzylamine (70 - 71)

tert-Butyl-4-aminobenzylcarbamate (**69**)¹⁴⁸

Analog der Synthesevorschrift von Lee *et al.*¹⁴⁸ werden 4.00 g (32.7 mmol, 3.71 ml) 4-Aminobenzylamin und 8.55 g (39.3 mmol) Di-*tert*-butyl-dicarbonat in 20 ml THF gelöst und 16 h bei RT gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1) und das gewünschte einfach geschützte Produkt als weißer Feststoff erhalten.

Summenformel: C₁₂H₁₈N₂O₂

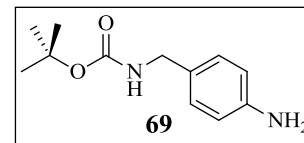
Molekülmasse: 222.3 g/mol

Ausbeute: 5.36 g (24.0 mmol / 74 %); Lit¹⁴⁸: 96 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.39 (Kieselgel, EtOAc/PE 1:1).

Schmp: 71 - 72 °C (EtOAc/PE); Lit¹⁴⁸: 74 - 75 °C (n-Hexan/EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3427 (m), 3343 (s), 3023 (w), 2996 (w), 2977 (s), 2932 (w), 1686 (s), 1618 (m), 1527 (s), 1513 (s), 1363 (m), 1170 (m), 1048 (m), 818 (m), 657 (m).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁴⁸

N-(4-(Aminomethyl)phenyl)methansulfonamid (**70**)¹⁴⁸

In Anlehnung an die Literaturvorschrift von Lee *et al.*¹⁴⁸ werden 800 mg (3.60 mmol) **69** und 1.40 g (10.8 mmol, 1.85 ml) DIPEA unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Eine Lösung aus 495 mg (4.32 mmol, 334 μ l) Mesylchlorid in 10 ml abs. THF werden über einen Zeitraum von 20 min zugetropft und die resultierende Lösung für 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und mit CH₂Cl₂ (5 \times 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen

werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml CH_2Cl_2 gelöst, auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlt und mit 2 ml TFA versetzt. Nach 4 h Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit wässriger NaOH-Lösung (2 N) auf 8 eingestellt. Die wässrige Lösung wird mit EtOAc (5×50 ml) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak entfernt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl_3 /methanolische NH_3 (6 N) 2:1) des Rohprodukts liefert Verbindung **70** als beigen Feststoff.

Summenformel: $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$

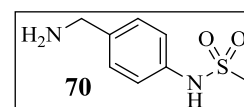
Molekülmasse: 200.3 g/mol

Ausbeute: 424 mg (2.13 mmol / 59 %); Lit:¹⁴⁸ 92 %.

Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Amidierung: $R_f = 0.41$ (Kieselgel, CHCl_3 /MeOH 20:1).
2. Schritt: Abspaltung der Boc-Schutzgruppe: $R_f = 0.16$ (Kieselgel, CHCl_3 /methanolische NH_3 (6 N) 2:1).

Schmp: $129 - 130\text{ }^\circ\text{C}$ (CHCl_3 /methanolische NH_3 (6 N))

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3087 (m), 3012 (m), 2960 (w), 2925 (w), 1608 (m), 1507 (s), 1320 (m), 1264 (m), 1210 (s), 1086 (s), 996 (m), 812 (m), 763 (m).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁴⁸

N-(4-(Aminomethyl)phenyl)pyridin-3-sulfonamid (**71**)

688 mg (4.32 mmol) Pyridin-3-sulfonsäure und 1.80 g (8.64 mmol) PCl_5 werden in 1 ml POCl_3 suspendiert und für 3 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird der Ansatz mit 20 ml Toluol versetzt und i. Vak. bis zur Trockene eingengt. Parallel dazu werden 800 mg (3.60 mmol) **69** und 1.40 g (10.8 mmol, 1.85 ml) DIPEA unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. THF gelöst und auf $0\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Dieser Lösung wird das zuvor hergestellte Sulfonsäurechlorid, gelöst in 10 ml abs. THF, über einen Zeitraum von 20 min zugetropft. Nach 10 h Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und mit CHCl_3 extrahiert (3×60 ml). Die organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und unter vermindertem Druck zur Trockene eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wird ohne weitere Charakterisierung in 20 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 2 ml TFA bei

0 °C versetzt. Nach 16 h Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 30 ml dem. Wasser aufgenommen und mittels wässriger NaOH-Lösung (2 N) ein pH-Wert von 8 eingestellt. Die wässrige Lösung wird mit EtOAc extrahiert (5 × 50 ml) und nach dem Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄ das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, CHCl₃/methanolische NH₃ (6 N) 2:1) und man erhält Verbindung **71** als beigen Feststoff.

Summenformel: C₁₂H₁₃N₃O₂S

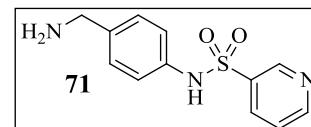
Molekülmasse: 263.3 g/mol

Ausbeute: 616 mg (2.34 mmol / 65 %).

Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Amidierung: R_f = 0.54 (Kieselgel, EtOAc).
2. Schritt: Abspaltung der Boc-Schutzgruppe: R_f = 0.47 (Kieselgel, CHCl₃/ methanolische NH₃ (6 N) 2:1).

Schmp: 223 - 224 °C (CHCl₃/ methanolische NH₃ (6 N))

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3052 (w), 2925 (w), 2770 (m), 1614 (m), 1517 (s), 1324 (m), 1163 (s), 1112 (s), 949 (s), 810 (m), 698 (m).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (s, 1H, SO₂NHR), 8.91 (d, 1H, ⁴*J* = 2.0, Py-CH), 8.77 (d, 1H, ³*J* = 4.8, Py-CH), 8.09 (dt, 1H, ³*J* = 8.0, ⁴*J* = 2.0, Py-CH), 7.61 (dd, 1H, ³*J* = 8.0, ³*J* = 4.8, Py-CH), 7.39 (d, 2H, ³*J* = 8.5, benzyl-CH_{arom.}), 7.17 (d, 2H, ³*J* = 8.5, benzyl-CH_{arom.}), 3.88 (s, 2H, benzyl-CH₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 153.4 (1C, Py-CH), 147.0 (1C, Py-CH), 137.3 (1C, benzyl-C_q), 135.8 (1C, Py-C_q), 134.7 (1C, Py-CH), 130.0 (1C, benzyl-C_q), 129.9 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 124.3 (1C, Py-CH), 120.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 41.3 (1C, benzyl-CH₂).

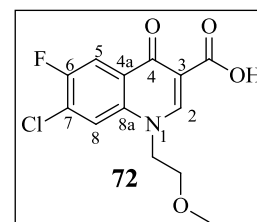
6.5.1.2 Synthese von 6-Fluor-1-(2-methoxyethyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**73**)

7-Chlor-6-fluor-1-(2-methoxyethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (**72**)

1.00 g (3.71 mmol) **4a/4a'** (Kapitel 6.2.3) und 2.56 g (18.5 mmol) K₂CO₃ werden unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DMF suspendiert und 15 min bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend werden 2.10 g (22.2 mmol, 2.03 ml) 2-Chlor-1-methoxyethan sowie eine katalytische Menge Kaliumiodid zugegeben und die Reaktionsmischung für 24 h bei 100 °C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 40 ml Wasser aufgenommen und mit EtOAc (5 × 40 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird ohne weitere Charakterisierung in 100 ml wässriger HCl-Lösung (2 N) suspendiert und 24 h zum Sieden erhitzt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert, gründlich mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet, wodurch Verbindung **72** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₁₃H₁₁ClFNO₄
 Molekülmasse: 299.7 g/mol
 Ausbeute: 567 mg (1.89 mmol / 51 %).
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.46 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 50:1).
 Schmp: 260 - 262 °C (H₂O)
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3115 (w), 3080 (w), 3044 (m), 2999 (w), 2930 (w), 2826 (w), 1714 (s), 1613 (s), 1557 (s), 1469 (s), 1455 (s), 1378 (m), 1235 (m), 1213 (m), 1107 (m), 910 (m), 808 (m), 753 (m).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 14.8 (s, 1H, COOH), 8.91 (s, 1H, **H**-2), 8.47 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 5.8, **H**-8), 8.16 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 8.2, **H**-5), 4.78 (t, 2H, ³*J* = 4.5, NCH₂CH₂O), 3.70 (t, 2H, ³*J* = 4.5, NCH₂CH₂O), 3.23 (s, 3H, OCH₃).

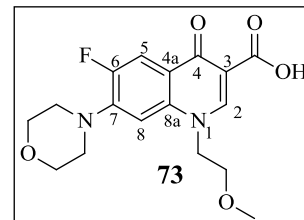
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 176.6 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.8, **C**-4), 165.5 (1C, COOH), 151.8 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 246.5, **C**-6), 150.8 (1C, **C**-2), 136.6 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 1.1, **C**-8a), 127.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 19.5, **C**-7), 125.9 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 6.9, **C**-4a), 121.4 (1C, **C**-8), 111.9 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.7, **C**-5), 107.4 (1C, **C**-3), 69.3 (1C, NCH₂CH₂O), 58.3 (1C, OCH₃), 53.5 (1C, NCH₂CH₂O).

6-Fluor-1-(2-methoxyethyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure (73)

360 mg (1.19 mmol) **72** werden mit 15 ml Morpholin in einem Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) gelöst und 4 h in der Synthesemikrowelle bei 100 °C gerührt (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 600 W). Die Reaktionslösung wird im Anschluß mit 30 ml dem. Wasser versetzt und der

pH-Wert mit wässriger HCl-Lösung (2 N) auf 4 - 5 eingestellt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und gründlich mit EtOH gewaschen. Nach dem Trocknen i. Vak. über Phosphor(V)-oxid wird Verbindung **73** als hellgelber Feststoff erhalten.

Summenformel: $C_{17}H_{19}FN_2O_5$
 Molekülmasse: 350.3 g/mol
 Ausbeute: 346 mg (988 μ mol / 83 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.41$ (Kieselgel, EtOAc/MeOH/FA 100:10:1).
 Schmp: 263 - 265 °C (H₂O)
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2961 (w), 2925 (w), 2889 (w), 2859 (w), 1720 (m), 1627 (m), 1524 (m), 1500 (m), 1470 (s), 1358 (m), 1263 (s), 1106 (s), 932 (m), 805 (m), 754 (m).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.3 (s, 1H, COOH), 8.86 (s, 1H, **H**-2), 7.97 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.3, **H**-5), 7.30 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, **H**-8), 4.81 (t, 2H, ³*J* = 4.3, NCH₂CH₂O), 3.84 (m, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.78 (t, 2H, ³*J* = 4.3, NCH₂CH₂O), 3.36 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 3.28 (s, 3 H, OCH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 177.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.8, **C**-4), 166.8 (1C, COOH), 153.6 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 249.4, **C**-6), 150.5 (1C, **C**-2), 146.0 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, **C**-7), 138.3 (1C, **C**-8a), 120.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.1, **C**-4a), 111.9 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.3, **C**-5), 107.4 (1C, **C**-3), 107.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 2.4, **C**-8), 69.9 (1C, NCH₂CH₂O), 66.6 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 59.1 (1C, OCH₃), 54.1 (1C, NCH₂CH₂O), 50.6 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.6, morpholino-CH₂-N-CH₂).

6.5.1.3 Synthese der 4-Chinolon-3-carboxamide **74** - **77**

Allgemeine Vorschrift (AV12): Synthese der Derivate **74** - **77**

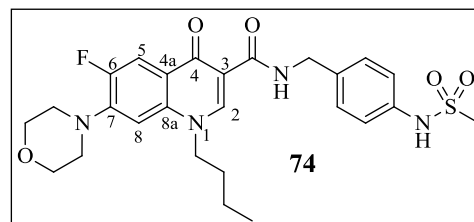
1 Äquivalent der 4-Chinolon-3-carbonsäure **6g** bzw. **73** wird mit 4 - 5 Äquivalenten NMM unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. DMF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Durch Zugabe von 3 - 4 Äquivalenten Isobutylchlorformiat und einstündiges Rühren bei 0 °C wird das gemischte Anhydrid generiert, welches mit 3 - 4 Äquivalenten des entsprechenden Benzylamin-Derivats amidiert wird. Nach 45 min Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das

Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt. Anschließende Umkristallisation aus ACN bzw. Toluol liefert das gewünschte 4-Chinolon-3-carboxamid (**74 - 77**).

1-Butyl-6-fluor-N-(4-(methylsulfonamido)benzyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (74)

Gemäß AV12 wird das gemischte Anhydrid aus 100 mg (287 μmol) **6g**, 116 mg (1.15 mmol, 126 μl) NMM und 118 mg (862 μmol , 113 μl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 173 mg (862 μmol) des Benzylamins **70** umgesetzt. Säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/MeOH 10:1) des Rohprodukts und anschließende Umkristallisation aus ACN liefert Verbindung **74** als weißen kristallinen Feststoff.

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{FN}_4\text{O}_5\text{S}$
 Molekülmasse: 530.6 g/mol
 Ausbeute: 128 mg (241 μmol / 84 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.51$ (Kieselgel, EtOAc/MeOH 10:1).

Schmp: 227 - 228 $^{\circ}\text{C}$ (ACN)

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3105 (m), 3055 (m), 2961 (w), 2917 (w), 2855 (m), 1651 (s), 1626 (m), 1541 (m), 1492 (s), 1446 (m), 1329 (s), 1255 (m), 1147 (s), 1112 (m), 987 (m), 804 (m), 733 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 1.61

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.7$, CONHR), 9.66 (s, 1H, SO_2NHR), 8.78 (s, 1H, **H-2**), 7.87 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.6$, **H-5**), 7.31 (d, 2H, $^3J = 8.4$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.18 (d, 2H, $^3J = 8.4$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.09 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.2$, **H-8**), 4.50-4.46 (m, 4H, benzyl- CH_2 , $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3.79 (br, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 3.25 (br, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 2.96 (s, 3H, SO_2CH_3), 1.77 (quint, 2H, $^3J = 7.2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.1$, **C-4**), 164.1 (1C, CONHR), 152.5 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.6$, **C-6**), 147.8 (1C, **C-2**), 144.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.4$, **C-7**), 137.1 (1C,

benzyl- C_q), 136.6 (1C, C-8a), 135.0 (1C, benzyl- C_q), 128.4 (2C, benzyl- $CH_{arom.}$), 121.5 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.1$, C-4a), 120.2 (2C, benzyl- $CH_{arom.}$), 111.4 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.7$, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 3.1$, C-8), 65.9 (2C, morpholino- CH_2-O-CH_2), 52.8 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 49.8 (2C, $^4J_{C,F} = 4.3$, morpholino- CH_2-N-CH_2), 41.6 (1C, benzyl- CH_2), 39.5 (1C, SO_2CH_3), 30.3 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 19.2 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 13.5 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

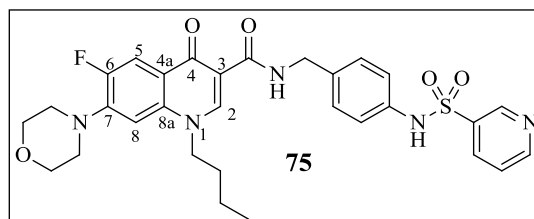
1-Butyl-6-fluor-7-morpholino-N-(4-(pyridin-3-sulfonamido)benzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid (75)

Entsprechend AV12 wird das gemischte Anhydrid aus 100 mg (287 μ mol) **6g**, 116 mg (1.15 mmol, 126 μ l) NMM und 118 mg (862 μ mol, 113 μ l) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 227 mg (862 μ mol) des Benzylamins **71** umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, EtOAc/MeOH 10:1) des Rohprodukts und anschließendes Umkristallisieren aus ACN wird Verbindung **75** in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

Summenformel: $C_{30}H_{32}FN_5O_5S$

Molekülmasse: 593.7 g/mol

Ausbeute: 58 mg (121 μ mol / 42 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.34$ (Kieselgel, EtOAc/MeOH 10:1).

Schmp: 267 - 268 °C (ACN)

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3071 (m), 3023 (w), 2958 (m), 2903 (w), 2871 (w), 2845 (w), 1644 (s), 1626 (m), 1552 (m), 1488 (s), 1454 (m), 1339 (m), 1262 (s), 1169 (s), 1115 (m), 928 (m), 804 (m), 700 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 0.32

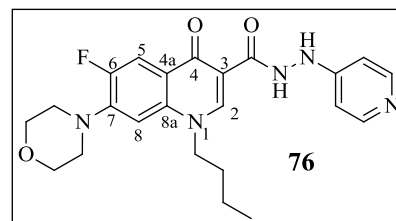
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (s, 1H, SO_2NHR), 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.5$, $CONHR$), 8.87 (br, 1H, Py- CH), 8.77-8.76 (m, 2H, $H-2$, Py- CH), 8.10 (d, 1H, $^3J = 8.0$, Py- CH), 7.85 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.5$, $H-5$), 7.59 (dd, 1H, $^3J = 8.0$, $^3J = 4.8$, Py- CH), 7.22 (d, 2H, $^3J = 8.1$, benzyl- $CH_{arom.}$), 7.08-7.06 (m, 3H, $H-8$, benzyl- $CH_{arom.}$), 4.45-4.44 (m, 4H, benzyl- CH_2 , $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 3.79 (br, 4H, morpholino- CH_2-O-CH_2), 3.25 (br, 4H, morpholino- CH_2-N-

CH_2), 1.77 (quint, 2H, $^3J = 7.2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.33 (sext, 2H, $^3J = 7.2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.91 (t, 3H, $^3J = 7.2$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 174.0 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 153.4 (1C, Py-CH), 152.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 248.0$, C-6), 147.7 (1C, C-2), 147.0 (1C, Py-CH), 144.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.5$, C-7), 136.5 (1C, C-8a), 135.8 (1C, benzyl-C_q), 135.7 (1C, benzyl-C_q), 135.6 (1C, Py-C_q), 134.6 (1C, Py-CH), 128.2 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 124.3 (1C, Py-CH), 121.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.8$, C-4a), 120.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.1$, C-5), 109.9 (1C, C-3), 105.5 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 3.6$, C-8), 65.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 52.8 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 49.8 (2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.5$, morpholino-CH₂-N-CH₂), 41.4 (1C, benzyl-CH₂), 30.2 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19.1 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 13.4 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

1-Butyl-6-fluor-7-morpholino-N'-(pyridin-4-yl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbohydrazid (76)
 188 mg (1.29 mmol) 4-Hydrazinopyridin-Hydrochlorid und 87 mg (861 μmol , 94 μl) NMM werden unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. DMF gelöst und 1 h bei RT gerührt. Zeitgleich wird das gemischte Anhydrid analog AV12 aus 150 mg (431 mmol) **6g**, 174 mg (1.72 mmol, 189 μl) NMM und 176 mg (1.29 mmol, 168 μl) Isobutylchlorformiat bei 0 °C hergestellt. Dieser Ansatz wird nach einstündigem Rühren langsam (15 min) zum Hydrazinopyridin gegeben und anschließend 45 min bei RT gerührt. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1) und durch Umkristallisation aus ACN, wodurch Verbindung **76** als hellgelber Feststoff gewonnen wird.

Summenformel: $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{FN}_5\text{O}_3$
 Molekülmasse: 439.5 g/mol
 Ausbeute: 35 mg (80 μmol / 19 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.45$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1).

Schmp: 232 - 233 °C (ACN)

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3261 (m), 3060 (w), 2954 (m), 2871 (w), 2853 (w), 2819 (w), 1652 (m), 1602 (m), 1506 (m), 1487 (s), 1379 (m), 1302 (m), 1262 (m), 1206 (m), 1122 (m), 935 (w), 804 (m), 734 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: 94.8 %.

logP (HPLC): 1.81

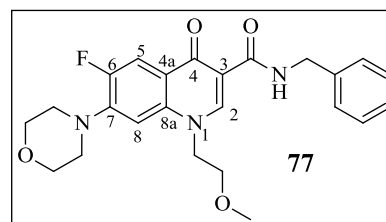
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 11.4 (br, 1H, CONHR), 8.80 (s, 1H, H-2), 8.74 (br, 1H, NH), 8.14 (d, 2H, ³*J* = 5.9, Py-CH), 7.94 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.5, H-5), 7.12 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, H-8), 6.62 (d, 2H, ³*J* = 5.9, Py-CH), 4.51 (t, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.82-3.79 (m, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.29-2.27 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 1.78 (quint, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 173.6 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.3, C-4), 164.4 (1C, CONHR), 154.0 (1C, Py-C_q), 152.3 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.8, C-6), 149.3 (2C, Py-CH), 147.7 (1C, C-2), 144.2 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, C-7), 136.4 (1C, C-8a), 121.0 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.1, C-4a), 111.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.7, C-5), 108.9 (1C, C-3), 106.4 (2C, Py-CH), 105.1 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 1.6, C-8), 65.6 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 52.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.5 (d, 2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.3, morpholino-CH₂-N-CH₂), 30.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 18.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-6-fluor-1-(2-methoxyethyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid
(77)

Analog AV12 wird das gemischte Anhydrid aus 410 mg (1.17 mmol) **73**, 592 mg (5.85 mmol, 643 µl) NMM und 639 mg (4.68 mmol, 612 µl) Isobutylchlorformiat gebildet und mit 502 mg (4.68 mmol, 510 µl) Benzylamin umgesetzt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 50:1) des Rohprodukts und anschließendes Umkristallisieren aus Toluol wird Verbindung **77** in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

Summenformel: C₂₄H₂₆FN₃O₄
Molekülmasse: 439.5 g/mol
Ausbeute: 372 mg (846 µmol / 72 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.22 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH 50:1).

Schmp: 169 - 171 °C (Toluol)

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3186 (w), 3034 (w), 2963 (w), 2928 (w), 2878 (w), 2830 (w), 1655 (m), 1630 (m), 1538 (s), 1488 (s), 1447 (m), 1361 (m), 1254 (s), 1117 (s), 930 (m), 803 (m), 746 (s).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 2.38

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.4 (t, 1H, $^3J = 5.9$, CONHR), 8.71 (1H, **H-2**), 7.87 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.7$, **H-5**), 7.35-7.25 (m, 5H, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.28 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.3$, **H-8**), 4.67 (t, 2H, $^3J = 4.8$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.55 (d, 2H, $^3J = 5.9$, benzyl- CH_2), 3.80-3.78 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 3.72 (t, 2H, $^3J = 4.8$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.31 (br, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 3.24 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 175.2 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.2$, **C-4**), 165.2 (1C, CONHR), 153.6 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 247.6$, **C-6**), 149.8 (1C, **C-2**), 145.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.3$, **C-7**), 140.5 (1C, benzyl- C_q), 137.9 (1C, **C-8a**), 129.5 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 128.3 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.9 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 122.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.0$, **C-4a**), 112.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.4$, **C-5**), 110.8 (1C, **C-3**), 106.9 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.9$, **C-8**), 70.4 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 66.9 (2C, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 59.3 (1C, OCH_3), 53.9 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 51.0 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.6$, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 43.2 (1C, benzyl- CH_2).

6.5.2 Synthese von pharmazeutischen Salzen

6.5.2.1 Synthese von 4-Chinolon-3-carboxamidin-Derivaten (78 - 79)

Allgemeine Vorschrift (AV13): Synthese der Derivate 78 und 79

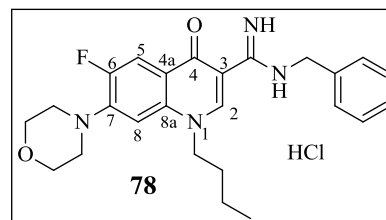
1 Äquivalent **33** wird in 4 ml POCl_3 für 24 h bei 40 °C gerührt. Die Lösung wird mit 20 ml Toluol versetzt und i. Vak. zur Trockene eingedampft. 2 Äquivalente des entsprechenden Amins werden mit 2 Äquivalenten DIPEA unter Argonatmosphäre in 5 ml abs. ACN gelöst und 30 min bei RT gerührt. Zeitgleich wird das erhaltene Iminoylchlorid unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. ACN gelöst und auf 0 °C gekühlt. Die Amin/DIPEA-Lösung wird mittels eines Tropftrichters über einen Zeitraum von 10 min zugetropft und die resultierende Reaktionsmischung für 3 h bei 0 °C gerührt. Nach Zugabe von 20 ml dem. Wasser wird der pH-

Wert mittels konz. NH_3 auf 8 - 9 eingestellt und die wässrige Lösung mit CH_2Cl_2 (4×30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1) des Rohprodukts wird das gewünschte Carboxamidin erhalten, welches in 10 ml THF gelöst und unter Eiskühlung mit 1 ml isopropanolischer HCl-Lösung (6 N) versetzt wird. Der ausgefallene Feststoff wird in 10 ml ACN suspendiert, zum Sieden erhitzt und tropfenweise MeOH zugegeben, bis alles gelöst ist. Beim Abkühlen auf RT kristallisiert das gewünschte Hydrochlorid aus.

N-Benzyl-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamidin-Hydrochlorid (**78**)

Gemäß AV13 werden 200 mg (457 μmol) **33** mit 4 ml POCl_3 in das entsprechende Iminoylchlorid überführt, welches anschließend mit 49 mg (914 μmol) NH_4Cl und 118 mg (914 μmol , 159 μl) DIPEA umgesetzt wird. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1) und Umkristallisation aus ACN/MeOH wird Verbindung **78** als Hydrochlorid in Form eines hellgelben Feststoffs erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClFN}_4\text{O}_2$
 Molekülmasse: 473.0 g/mol
 Ausbeute: 56 mg (118 μmol / 26 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.31$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1).
 Schmp: 311 - 312 °C (ACN/MeOH).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3223 (w), 3113 (w), 3060 (w), 2965 (w), 2872 (w), 1644 (s), 1626 (m), 1557 (m), 1509 (s), 1449 (m), 1370 (m), 1255 (s), 1118 (m), 929 (m), 823 (m), 737 (w), 694 (m).
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: > 99.9 %.
 logP (HPLC): 3.02

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, δ [ppm], J [Hz]): 9.93 (s, 1H, CNH_2NHR^+), 9.67 (t, 1H, $^3J = 5.6$, CNH_2NHR^+), 9.47 (s, 1H, CNH_2NHR^+), 9.34 (s, 1H, **H-2**), 8.56 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 15.0$, **H-5**), 7.42-7.25 (m, 5H, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 7.20 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 7.7$, **H-8**), 4.59 (t, 2H, $^3J = 7.4$,

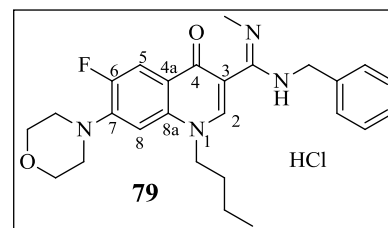
$\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4.51 (d, 2H, $^3J = 5.6$, benzyl- CH_2), 3.82-3.80 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 3.41-3.38 (m, 4H, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 1.86 (quint, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.41 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.95 (t, 3H, $^3J = 7.4$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 165.3 (1C, CNH_2NHR^+), 155.7 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.7$, C-4), 152.8 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 251.7$, C-6), 146.4 (1C, C-2), 145.6 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.0$, C-7), 138.8 (1C, benzyl- C_q), 135.7 (1C, C-8a), 128.3 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 127.5 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 126.9 (1C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 111.6 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 9.6$, C-4a), 111.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 25.4$, C-5), 105.0 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 4.6$, C-8), 103.0 (1C, C-3), 65.7 (2C, morpholino- $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$), 54.2 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 49.5 (2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.6$, morpholino- $\text{CH}_2\text{-N-CH}_2$), 42.5 (1C, benzyl- CH_2), 30.1 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 19.1 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 13.4 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

N-Benzyl-1-butyl-6-fluor-N'-methyl-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamidin-Hydrochlorid (79)

Analog AV13 werden 200 mg (457 μmol) **33** mit 4 ml POCl_3 in das entsprechende Iminoylchlorid überführt, welches anschließend mit 457 μl (914 μmol , 2 M Lösung in THF) Methylamin und 118 mg (914 μmol , 159 μl) DIPEA umgesetzt wird. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1) und Umkristallisation aus ACN/MeOH wird Verbindung **79** als Hydrochlorid in Form eines hellgelben Feststoffs erhalten.

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{ClFN}_4\text{O}_2$
 Molekülmasse: 487.0 g/mol
 Ausbeute: 60 mg (123 μmol / 27 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.34$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1).

Schmp: 230 - 231 $^\circ\text{C}$ (ACN/MeOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3166 (w), 3034 (w), 2991 (w), 2962 (m), 2858 (w), 1662 (s), 1631 (s), 1565 (m), 1509 (s), 1451 (m), 1383 (m), 1250 (s), 1117 (m), 930 (w), 755 (m), 699 (m).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: 99.3 %.

logP (HPLC): 3.47

¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], *J* [Hz]): 11.8 (br, 1H, CNHCH₃NHR⁺), 10.7 (s, 1H, CNHCH₃NHR⁺), 10.3 (s, 1H, **H**-2), 8.06 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 14.2, **H**-5), 7.52 (d, 2H, ³*J* = 7.2, benzyl-CH_{arom.}), 7.29 (t, 2H, ³*J* = 7.2, benzyl-CH_{arom.}), 7.20 (t, 1H, ³*J* = 7.2, benzyl-CH_{arom.}), 6.91 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.4, **H**-8), 4.68 (br, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.58 (d, 2H, ³*J* = 5.1, benzyl-CH₂), 3.92 (br, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.48 (br, 3H, NCH₃), 3.89 (br, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 1.91 (br, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.48 (sext, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.99 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm], *J* [Hz]): 166.7 (1C, CNHCH₃NHR⁺), 157.3 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.9, **C**-4), 151.7 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 250.8, **C**-6), 146.4 (1C, **C**-2), 145.6 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 9.9, **C**-7), 138.7 (1C, benzyl-C_q), 137.5 (1C, **C**-8a), 128.4 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 128.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.0 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 114.1 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 25.7, **C**-5), 111.9 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 8.3, **C**-4a), 104.6 (1C, **C**-3), 103.6 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 4.2, **C**-8), 65.4 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 54.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.7 (2C, ⁴*J*_{C,F} = 5.3, morpholino-CH₂-N-CH₂), 43.7 (1C, benzyl-CH₂), 34.8 (1C, NCH₃), 30.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.5.2.2 *Synthese von Natrium-3-(benzylcarbamoyl)-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,2-dihydro-2-oxo-chinolin-4-olat (83)*

2-(Butylamino)-4-chlor-5-fluor-benzoesäure (80)

2.00 g (9.57 mmol) 2,4-Dichlor-5-fluorbenzoesäure, 1.32 g (9.57 mmol) K₂CO₃ und 608 mg (9.57 mmol) Kupferpulver werden unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DMF suspendiert und 10 min bei RT gerührt. Nach Zugabe von 1.40 g (19.1 mmol, 1.89 ml) *n*-Butylamin wird die Reaktionsmischung für 5 h auf 80 °C erwärmt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit wässriger HCl-Lösung (2 N) auf 4 eingestellt. Die resultierende Suspension wird mit CH₂Cl₂ extrahiert (4 × 50 ml), die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel,

CHCl₃/FA 100:1) wird das Anthranilsäure-Derivat **80** in Form eines hellgelben Feststoffs erhalten.

Summenformel: C₁₁H₁₃ClFNO₂

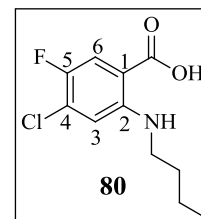
Molekülmasse: 245.7 g/mol

Ausbeute: 1.74 g (7.08 mmol / 74 %).

Reaktionskontrolle: R_f = 0.65 (Kieselgel, CHCl₃/FA 100:1).

Schmp: 138 - 139 °C (CHCl₃/FA).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3380 (m), 2954 (m), 2929 (w), 2869 (m), 1660 (s), 1570 (s), 1510 (s), 1478 (m), 1406 (m), 1223 (s), 1191 (s), 997 (m), 840 (m).



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 11.7 (s, 1H, COOH), 7.74 (d, 1H, ³J_{H,F} = 9.9, H-6), 7.45 (s, 1H, NH), 6.71 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 6.1, H-3), 3.18 (t, 2H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.71 (quint, 2H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.49 (sext, 2H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.02 (t, 3H, ³J = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

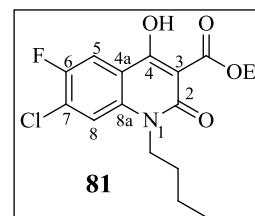
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 172.6 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.2, COOH), 148.9 (1C, C-2), 148.1 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 236.3, C-5), 129.6 (d, 1C, ²J_{C,F} = 18.9, C-4), 118.6 (d, 1C, ²J_{C,F} = 22.8, C-6), 112.7 (1C, C-3), 106.8 (d, 1C, ³J_{C,F} = 5.3, C-1), 43.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 31.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 20.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-7-chloro-6-fluor-4-hydroxy-1,2-dihydro-2-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester (81)

In Anlehnung an Tedesco *et al.*¹⁵⁵ werden 628 mg (2.12 mmol) Triphosgen unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. CHCl₃ gelöst und auf 0 °C gekühlt. 400 mg (1.63 mmol) **80** werden, gelöst in 5 ml abs. CHCl₃, langsam zugetropft (15 min) und die Reaktionsmischung bei RT gerührt. Nach 20 h werden vorsichtig 5 ml ges. NaHCO₃-Lösung zugegeben, 5 min bei RT gerührt und die organische Phase abgetrennt. Die wässrige Lösung wird mit CHCl₃ extrahiert (2 × 30 ml) und die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das gewonnene Isatosäureanhydrid ohne weitere Charakterisierung umgesetzt. 98 mg (2.45 mmol) Natriumhydrid (60 % in Paraffinöl) werden unter Argonatmosphäre in 15 ml abs. DMF suspendiert und langsam 522 mg (3.26 mmol, 493 μ l) Malonsäurediethylester zugegeben. Die Lösung wird 15 min bei RT gerührt, auf 0 °C abgekühlt

und das zuvor isolierte Isatosäureanhydrid, gelöst in 5 ml abs. DMF, über einen Zeitraum von 10 min zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird die Reaktionsmischung langsam auf RT erwärmt und 16 h gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml dem. Wasser aufgenommen und der pH-Wert mit wässriger HCl-Lösung (2 N) auf 4 eingestellt, wobei das Rohprodukt als beiger Feststoff ausfällt. Dieser wird abfiltriert, in 1 - 2 ml CHCl₃ gelöst und säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃), wodurch Verbindung **81** als weißer Feststoff erhalten wird.

Summenformel: C₁₆H₁₇ClFNO₄
 Molekülmasse: 341.8 g/mol
 Ausbeute: 310 mg (907 μmol / 56 %).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Isatosäureanhydrid: R_f = 0.69 (Kieselgel, CHCl₃).
 2. Schritt: 4-Hydroxy-2-chinolon: R_f = 0.94 (Kieselgel, CHCl₃).
 Schmp: 119 - 120 °C (CHCl₃).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3079 (w), 2965 (m), 2934 (m), 2874 (w), 1666 (s), 1629 (s), 1593 (m), 1555 (m), 1500 (s), 1467 (m), 1410 (m), 1318 (s), 1207 (s), 1042 (m), 898 (m), 807 (m).

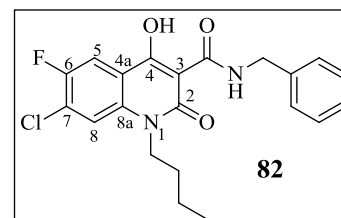
¹H-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 14.2 (s, 1H, OH), 7.90 (d, 1H, ³J_{H,F} = 8.9, H-5), 7.31 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 5.9, H-8), 4.50 (q, 2H, ³J = 7.1, OCH₂CH₃), 4.14 (t, 2H, ³J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.67 (quint, 2H, ³J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.49 (sext, 2H, ³J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.47 (t, 3H, ³J = 7.1, OCH₂CH₃), 1.00 (t, 3H, ³J = 7.5, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (CDCl₃, δ [ppm], J [Hz]): 172.9 (1C, CO₂Et), 170.6 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 2.8, C-4), 159.2 (1C, C-2), 153.5 (d, 1C, ¹J_{C,F} = 245.8, C-6), 137.9 (d, 1C, ⁴J_{C,F} = 1.8, C-8a), 128.9 (d, 1C, ²J_{C,F} = 19.6, C-7), 116.6 (1C, C-8), 114.9 (d, 1C, ³J_{C,F} = 7.3, C-4a), 112.6 (d, 1C, ²J_{C,F} = 23.6, C-5), 99.1 (1C, C-3), 63.1 (1C, OCH₂CH₃), 43.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 29.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 20.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 14.7 (1C, OCH₂CH₃), 14.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-butyl-7-chlor-6-fluor-4-hydroxy-1,2-dihydro-2-oxo-chinolin-3-carboxamid (**82**)

In Anlehnung an die Synthesevorschrift von Jansson *et al.*¹⁶⁴ werden 280 mg (819 μ mol) **81** und 220 mg (2.05 mmol, 223 μ l) Benzylamin in 100 ml Toluol gelöst und am Wasserabscheider für 1 h zum Sieden erhitzt. Innerhalb dieser Zeit werden ca. 3×10 ml Toluol abdestilliert und der Lösungsmittelverlust durch Zugabe von frischem Toluol kompensiert. Anschließend wird das Lösungsmittelverlust durch Zugabe von frischem Toluol kompensiert. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. auf ca. 5 ml eingengt, wodurch Verbindung **82** beim Abkühlen auf RT in Form eines weißen Feststoffs kristallisiert.

Summenformel: $C_{21}H_{20}ClFN_2O_3$
 Molekülmasse: 402.9 g/mol
 Ausbeute: 264 mg (655 μ mol / 80 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.85$ (Kieselgel, PE/EtOAc 3:1).

Schmp: 111 - 112 °C (Toluol).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3210 (w), 2957 (m), 2925 (w), 2867 (w), 1638 (s), 1585 (m), 1542 (s), 1498 (s), 1457 (m), 1397 (m), 1335 (m), 1218 (m), 1031 (m), 885 (m), 801 (m), 693 (m).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 10.6 (t, 1H, ³ $J = 6.0$, CONHR), 7.87 (d, 1H, ⁴ $J_{H,F} = 4.8$, H-8), 7.85 (d, 1H, ³ $J_{H,F} = 8.2$, H-5), 7.37-7.26 (m, 5H, benzyl-CH_{arom.}), 4.58 (d, 2H, ³ $J = 6.0$, benzyl-CH₂), 4.17 (t, 2H, ³ $J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.54 (quint, 2H, ³ $J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.37 (sext, 2H, ³ $J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.91 (t, 3H, ³ $J = 7.3$, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 170.1 (1C, CONHR), 169.8 (d, 1C, ⁴ $J_{C,F} = 2.5$, C-4), 161.0 (1C, C-2), 152.3 (d, 1C, ¹ $J_{C,F} = 244.8$, C-6), 137.8 (1C, benzyl-C_q), 135.9 (d, 1C, ⁴ $J_{C,F} = 1.3$, C-8a), 128.5 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.5 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.2 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 126.6 (d, 1C, ² $J_{C,F} = 19.8$, C-7), 117.4 (1C, C-8), 115.0 (d, 1C, ³ $J_{C,F} = 6.8$, C-4a), 110.9 (d, 1C, ² $J_{C,F} = 22.7$, C-5), 96.4 (1C, C-3), 42.3 (1C, benzyl-CH₂), 41.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 29.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.6 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

Natrium-3-(benzylcarbamoyl)-1-butyl-6-fluor-7-morpholino-1,2-dihydro-2-oxo-chinolin-4-olat
(**83**)

420 mg (1.04 mmol) **82** werden in 15 ml Morpholin in einem Reagenzglas mit Abrisskante (*MLS*) unter Mikrowellenstrahlung für 4 h auf 110 °C erwärmt (Aufheizrate: in 3 min auf 110 °C, 600 W). Die auf RT abgekühlte Lösung wird mit 50 ml dem. Wasser verdünnt und ein pH-Wert von 6 mittels wässriger HCl-Lösung (2 N) eingestellt. Die Lösung wird mit EtOAc extrahiert (4 × 50 ml), die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, PE/EtOAc 3:1) und der erhaltene Feststoff im Anschluß entsprechend der Synthesevorschrift von Jansson *et al.*¹⁶⁴ in 10 ml EtOH suspendiert. Nach Zugabe von 114 µl (1.14 mmol) NaOH-Lösung (10 N) wird die Lösung für 15 h bei RT gerührt. Nach zwischenzeitlicher Auflösung der Suspension fällt das gewünschte Natrium-Salz **83** schließlich als weißer Feststoff aus, welcher abfiltriert und mit einer Mischung aus EtOH und dem. Wasser (1:1) gründlich gewaschen wird.

Summenformel: C₂₅H₂₇FN₃NaO₄

Molekülmasse: 475.5 g/mol

Ausbeute: 112 mg (236 µmol / 23 %).

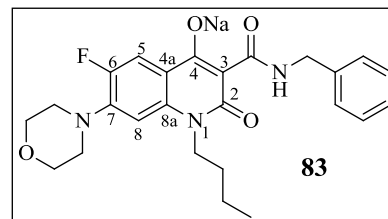
Reaktionskontrolle: R_f = 0.57 (Kieselgel, PE/EtOAc 3:1).

Schmp: 317 - 318 °C (EtOH).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2956 (w), 2852 (w), 1617 (s), 1573 (m), 1496 (s), 1455 (m), 1406 (m), 1259 (m), 1122 (m), 909 (m), 807 (m), 697 (s).

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 3*: 98.0 %.

logP (HPLC): 5.53



¹H-NMR (DMSO, δ [ppm], J [Hz]): 11.5 (t, 1H, ³J = 5.4, CONHR), 7.68 (d, 1H, ³J_{H,F} = 13.9, H-5), 7.32-7.21 (m, 5H, benzyl-CH_{arom.}), 6.64 (d, 1H, ⁴J_{H,F} = 7.0, H-8), 4.46 (d, 2H, ³J = 5.4, benzyl-CH₂), 4.10 (br, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.77 (br, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.12 (br, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 1.56 (quint, 2H, ³J = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.37 (sext, 2H, ³J = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.95 (t, 3H, ³J = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO, δ [ppm], J [Hz]): 173.7 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.5$, C-4), 169.1 (1C, CONHR), 164.0 (1C, C-2), 149.6 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 239.9$, C-6), 141.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 9.6$, C-7), 140.8 (1C, benzyl-C_q), 136.0 (1C, C-8a), 128.1 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.2 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.3 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 117.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 7.2$, C-4a), 111.9 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 20.5$, C-5), 102.8 (1C, C-8), 97.7 (1C, C-3), 66.0 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 50.1 (2C, $^4J_{\text{C,F}} = 3.5$, morpholino-CH₂-N-CH₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 40.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 22.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.7 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.5.3 Synthese von Oxalsäure-Salzen und -Co-Kristallen

6.5.3.1 Synthese von Benzylaminen mit Ether-verbrückten Pyridin- und tert. Amin-Substituenten (84 - 85)

Allgemeine Vorschrift (AV14): Synthese von Benzylaminen 84 und 85

Unter Argonatmosphäre werden 2 Äquivalente NaH (60 % in Paraffinöl) in 10 ml abs. DMF suspendiert und auf 0 °C gekühlt. 1 Äquivalent **64** (Kapitel 3.2.2.3) wird portionsweise zugegeben und die Lösung für 30 min bei 0 °C gerührt. 1.2 Äquivalente des entsprechenden Pyridins bzw. Amins werden in 10 ml abs. DMF gelöst und über einen Zeitraum von 10 min zum deprotonierten 4-Hydroxybenzylamin **64** zugetropft. Anschließend wird die Lösung für 15 h bei RT gerührt, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen. Die wässrige Lösung wird mit CH₂Cl₂ extrahiert (4 × 50 ml), die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch aufgereinigt und ohne weitere Charakterisierung in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst. Nach Zugabe von 4 ml TFA wird die Lösung für 2 h bei RT gerührt, anschließend i. Vak. zur Trockene eingedampft und der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen. Mittels wässriger NaOH-Lösung (2 N) wird der pH-Wert auf 9 - 10 eingestellt und die Lösung mit CH₂Cl₂ (4 × 50 ml) extrahiert. Durch Trocknen der organischen Phasen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das gewünschte Benzylamin erhalten.

*(4-(Pyridin-2-ylmethoxy)phenyl)methanamin (84)*¹⁶⁶

Analog AV14 (Nakamoto *et al.*¹⁶⁶ verwendet eine alternative Syntheseroute) werden 300 mg (1.34 mmol) **64**, 108 mg (2.69 mmol) NaH (60 % in Paraffinöl) und 408 mg (1.61 mmol) 2-(Brommethyl)pyridin-Hydrobromid unter Argonatmosphäre in abs. DMF zur Reaktion gebracht. Mittels säulenchromatographischer Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/methanolische NH₃ (6 N) 75:1) und Schutzgruppenabspaltung wird Verbindung **84** in Form eines hellgelben Öls gewonnen.

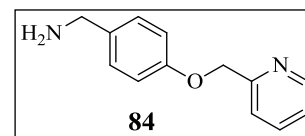
Summenformel: C₁₃H₁₄N₂O

Molekülmasse: 214.3 g/mol

Ausbeute: 202 mg (943 μmol / 70 %); Lit¹⁶⁶: 90 %.

Reaktionskontrolle: R_f = 0.48 (Kieselgel, CHCl₃/methanolische NH₃ (6 N) 75:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3359 (w), 3284 (w), 3060 (w), 3012 (w), 2925 (w), 2861 (w), 1591 (m), 1509 (s), 1435 (m), 1234 (s), 1048 (m), 811 (m), 755 (m).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁶⁶

*2-(4-(Aminomethyl)phenoxy)-N,N-dimethylethanamin (85)*¹⁶⁷

Gemäß AV14 (Löber *et al.*¹⁶⁷ verwendet eine alternative Syntheseroute) werden 600 mg (2.69 mmol) **64**, 215 mg (5.38 mmol) NaH (60 % in Paraffinöl) und 465 mg (3.23 mmol) *N*-(2-Chlorethyl)-*N,N*-dimethylamin-Hydrochlorid unter Argonatmosphäre in abs. DMF umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung des Rohprodukts (Kieselgel, CHCl₃/methanolische NH₃ (6 N) 40:1) und Abspaltung der Schutzgruppe mit TFA wird Verbindung **85** als klares Öl erhalten.

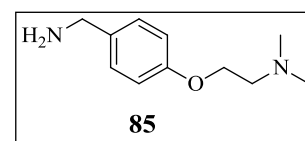
Summenformel: C₁₁H₁₈N₂O

Molekülmasse: 194.3 g/mol

Ausbeute: 193 mg (995 μmol / 37 %); Lit¹⁶⁷: 82 %

Reaktionskontrolle: R_f = 0.85 (Kieselgel, CHCl₃/methanolische NH₃ (6 N) 40:1).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3361 (w), 3275 (w), 2940 (m), 2863 (m), 2821 (m), 2770 (m), 1610 (m), 1583 (m), 1510 (s), 1463 (m), 1239 (s), 1031 (m), 811 (m).



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 7.21 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 6.89 (d, 2H, $^3J = 8.6$, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 4.06 (t, 2H, $^3J = 5.8$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.80 (s, 2H, benzyl- CH_2), 2.72 (t, 2H, $^3J = 5.8$, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.33 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.54 (s, 2H, NH_2).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , δ [ppm], J [Hz]): 157.8 (1C, benzyl- C_q), 135.7 (1C, benzyl- C_q), 128.2 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 114.6 (2C, benzyl- $\text{CH}_{\text{arom.}}$), 66.1 (1C, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 58.3 (1C, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 45.9 (1C, benzyl- CH_2), 45.8 (2C, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

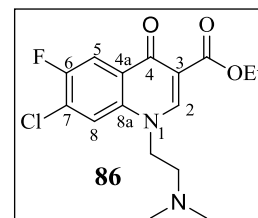
Löber *et al.*¹⁶⁷ veröffentlichte keine NMR-Daten.

6.5.3.2 Synthese von 1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (87)

7-Chlor-1-(2-(dimethylamino)ethyl)-6-fluor-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäureethylester (86)

1.00 g (3.71 mmol) **4a/4a'** wird unter Argonatmosphäre zusammen mit 769 mg (5.57 mmol) K_2CO_3 in abs. DMF suspendiert und 30 min bei RT gerührt. Der Zugabe einer katalytischen Menge KI folgen 588 mg (4.08 mmol) *N*-(2-Chlorethyl)-*N,N*-dimethylamin-Hydrochlorid. Die Lösung wird für 16 h bei 100 °C gerührt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml dem. Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit EtOAc extrahiert (3 × 50 ml) und die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 150:10:1), wodurch man Verbindung **86** als weißen Feststoff erhält.

Summenformel: $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClFN}_2\text{O}_3$
 Molekülmasse: 340.8 g/mol
 Ausbeute: 480 mg (1.41 mmol / 38 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.43$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 150:10:1).

Schmp: 140 - 141 °C ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 2981 (w), 2933 (w), 2871 (w), 2840 (w), 2776 (w), 1716 (s), 1611 (m), 1594 (m), 1548 (m), 1487 (s), 1460 (m), 1384 (m), 1313 (m), 1209 (m), 1160 (s), 1040 (m), 893 (m), 800 (m), 770 (m).

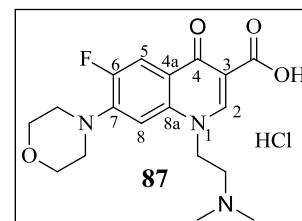
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 8.61 (s, 1H, **H-2**), 8.18 (d, 1H, $^4J_{\text{H,F}} = 6.0$, **H-8**), 8.03 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 9.4$, **H-5**), 4.47 (t, 2H, $^3J = 5.7$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.23 (q, 2H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3), 2.58 (t, 2H, $^3J = 5.7$, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.18 (s, 6H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.28 (t, 3H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 171.2 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 2.3$, **C-4**), 164.3 (1C, COOEt), 154.2 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 246.9$, **C-6**), 150.5 (1C, **C-2**), 135.9 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.8$, **C-8a**), 128.6 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 5.4$, **C-4a**), 125.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 20.0$, **C-7**), 120.1 (1C, **C-8**), 112.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.4$, **C-5**), 109.1 (1C, **C-3**), 59.8 (1C, OCH_2CH_3), 56.9 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 50.4 (1C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 45.2 (2C, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 14.2 (1C, OCH_2CH_3).

1-(2-(Dimethylamino)ethyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (87)

670 mg (1.97 mmol) **86** werden in eine Mischung aus 5 ml EtOH und 10 ml wässriger HCl-Lösung (6N) suspendiert und für 4 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung i. Vak. zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 15 ml Morpholin aufgenommen und in der Synthesemikrowelle für 4 h bei 100 °C (Aufheizrate: in 3 min auf 100 °C, 600 W) gerührt. Das überschüssige Morpholin wird i. Vak. entfernt, das Rohprodukt in 10 ml MeOH aufgenommen und die Lösung mit 1.5 ml isopropanolischer HCl-Lösung (6 N) versetzt. Das dabei ausgefallene Hydrochlorid wird abfiltriert, in 15 ml MeOH suspendiert und in der Siedehitze tropfenweise dem. Wasser zugegeben bis alles gelöst ist. Beim Abkühlen auf RT kristallisiert Verbindung **87** in Form eines hellgelben Feststoffs aus.

Summenformel: $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{ClFN}_3\text{O}_4$
 Molekülmasse: 399.8 g/mol
 Ausbeute: 276 mg (690 μmol / 35 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.28$ (Kieselgel, (Kieselgel, H₂O/TEA/Toluol/CHCl₃/MeOH 2:14:20:40:20).

Schmp: 298 - 299 °C (MeOH/H₂O).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3246 (w), 3046 (w), 2968 (w), 2903 (w), 2864 (m), 2373 (br), 1700 (s), 1622 (s), 1523 (m), 1488 (s), 1468 (m), 1385 (m), 1267 (s), 1118 (s), 1036 (m), 884 (m), 807 (m), 752 (m).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 15.2 (s, 1H, COOH), 11.5 (br, 1H, NH⁺), 9.03 (s, 1H, H-2), 7.94 (d, 1H, ³ $J_{\text{H,F}} = 13.4$, H-5), 7.26 (d, 1H, ⁴ $J_{\text{H,F}} = 7.1$, H-8), 5.03 (t, 2H, ³ $J = 7.2$, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 3.79 (br, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.53 (br, 2H, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 3.40 (br, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 2.83 (s, 6H, NCH₂CH₂N(CH₃)₂).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 176.3 (d, 1C, ⁴ $J_{\text{C,F}} = 2.3$, C-4), 165.7 (1C, COOH), 152.7 (d, 1C, ¹ $J_{\text{C,F}} = 249.5$, C-6), 149.7 (1C, C-2), 145.5 (d, 1C, ² $J_{\text{C,F}} = 9.9$, C-7), 137.3 (1C, C-8a), 119.1 (d, 1C, ³ $J_{\text{C,F}} = 7.8$, C-4a), 111.3 (d, 1C, ² $J_{\text{C,F}} = 23.1$, C-5), 107.3 (1C, C-3), 105.5 (d, 1C, ³ $J_{\text{C,F}} = 3.3$, C-8), 65.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 53.0 (1C, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 50.0 (2C, ⁴ $J_{\text{C,F}} = 4.8$, morpholino-CH₂-N-CH₂), 47.6 (1C, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 42.2 (2C, NCH₂CH₂N(CH₃)₂).

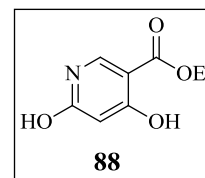
6.5.3.3 Synthese von 1-Butyl-7-morpholino-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (92)

6.5.3.3.1 Synthese von 4,6-Dichlornicotinsäure (90)

4-Hydroxy-6-oxo-1,6-dihydropyridin-3-carbonsäureester (**88**)¹⁶⁸

Gemäß der Synthesevorschrift von Kellenberger *et al.*¹⁶⁸ werden 7.00 g (34.6 mmol) Acetondicarbonsäurediethylester, 5.13 g (34.6 mmol, 5.70 ml) *ortho*-Ameisensäuretriethylester und 7.07 g (69.2 mmol, 6.55 ml) Essigsäureanhydrid für 3 h bei 120 °C zur Reaktion gebracht. Die flüchtigen Bestandteile werden i. Vak. entfernt und 15 ml konz. NH₃ zum Rückstand zugegeben. Die Reaktionsmischung wird 15 h bei RT gerührt, anschließend mit wässriger HCl-Lösung (2 N) angesäuert (pH = 2) und der ausgefallene gelbe Feststoff abfiltriert. Durch gründliches Waschen mit dem. Wasser und Trocknen i. Vak. über Phosphor(V)-oxid wird Verbindung **88** als gelber Feststoff erhalten.

Summenformel: $C_8H_9NO_4$
 Molekülmasse: 183.2 g/mol
 Ausbeute: 4.68 g (26.5 μ mol / 77 %); Lit¹⁶⁸: 50 %
 Schmp: 214 - 215 °C (H₂O).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3438 (w), 3126 (w), 3051 (w), 2984 (w), 2777 (br), 1653 (s), 1568 (m), 1463 (m), 1315 (s), 1221 (m), 1189 (m), 1118 (m), 1017 (m), 919 (m), 780 (m).

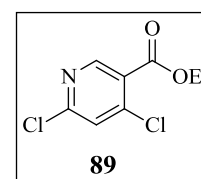


Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁶⁸

4,6-Dichlornicotinsäureethylester (**89**)¹⁶⁹

In Anlehnung an Kellenberger *et al.*¹⁶⁸ werden 2.50 g (13.7 mmol) **88** in 21.0 g (0.14 mol, 12.6 ml) POCl₃ gelöst und für 24 h bei 80 °C gerührt. Die auf RT abgekühlte Lösung wird vorsichtig auf Eis (ca. 150 g) gegossen und die wässrige Lösung mit EtOAc extrahiert (4 × 40 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit je 50 ml wässriger (10 %) Na₂CO₃- und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Kieselgel, CHCl₃/PE 2:1), wodurch Verbindung **89** als hellgelbes Öl erhalten wird.

Summenformel: $C_8H_7Cl_2NO_2$
 Molekülmasse: 220.1 g/mol
 Ausbeute: 2.14 g (9.73 μ mol / 71 %); Lit¹⁶⁹: 81 %.



IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3090 (w), 2983 (w), 2938 (w), 1733 (s), 1565 (s), 1537 (m), 1445 (m), 1266 (s), 1220 (m), 1112 (s), 859 (m), 779 (m).

Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁶⁹

4,6-Dichlornicotinsäure (**90**)¹⁷⁰

Analog der Literaturvorschrift von Brunette *et al.*¹⁷⁰ werden 1.93 g (8.77 mmol) **89** in 15 ml THF gelöst und eine Lösung aus 441 mg (10.5 mmol) LiOH in 15 ml dem. Wasser über einen Zeitraum von 15 min zugetropft. Die Reaktionslösung wird 15 h bei RT gerührt, anschließend

unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 15 ml eingengt und mit wässriger HCl-Lösung (2 N) auf pH = 3 eingestellt. Das als weißer Feststoff ausgefallene Produkt **90** wird abfiltriert, mit dem. Wasser gewaschen und i. Vak. über Phosphor(V)-oxid getrocknet.

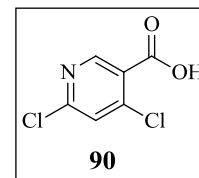
Summenformel: C₆H₃Cl₂NO₂

Molekülmasse: 192.0 g/mol

Ausbeute: 1.28 g (6.67 mmol / 76 %); Lit¹⁷⁰: 81 %.

Schmp: 151 - 152 °C (H₂O).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3192 (m), 3091 (m), 2840 (w), 2455 (br), 1743 (s), 1675 (m), 1565 (s), 1532 (s), 1205 (s), 1117 (s), 854 (s), 785 (m), 728 (m).



Die erhaltenen spektroskopischen Daten stimmen mit den Angaben in der Literatur überein.¹⁷⁰

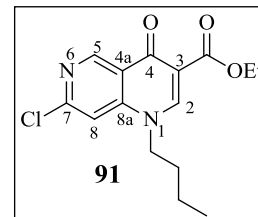
6.5.3.3.2 Synthese von 1-Butyl-7-morpholino-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (**92**)

1-Butyl-7-chlor-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäureethylester (91)

Die Acrylat-Zwischenstufe wird gemäß der Literaturvorschrift von Tabarrini *et al.*¹⁷¹ synthetisiert. 900 mg (4.69 mmol) **90** werden in 15 ml SOCl₂ gelöst und für 2 h bei 80 °C gerührt. Die flüchtigen Bestandteile werden i. Vak. entfernt und der Rückstand unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. Toluol aufgenommen. Nach Zugabe von 1.21 g (9.38 mmol, 1.63 ml) DIPEA und 1.01 g (7.03 mmol) 3-(Dimethylamino)-acrylsäureethylester wird die Reaktionsmischung für 2 h auf 90 °C erwärmt. Anschließend wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt (Kieselgel, EtOAc/PE 2:1), wobei 1.15 g (3.63 mmol / 77 %; Lit¹⁷¹: 37 %) der Acrylat-Zwischenstufe erhalten werden. Ohne weitere Charakterisierung wird, in Anlehnung an Tabarrini *et al.*¹⁷¹, dieses Intermediat in 60 ml EtOH/Et₂O (2:1) gelöst und mit 398 mg (5.45 mmol, 538 μ l) *n*-Butylamin bei RT umgesetzt. Nach 10 min wird die Lösung i. Vak. zur Trockene eingedampft, der Rückstand unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. DMF gelöst und in Gegenwart von 1.00 g (7.26 mmol) K₂CO₃ für 1 h bei 100 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, der Rückstand in 50 ml dem. Wasser aufgenommen und das Rohprodukt mit CH₂Cl₂ (5 \times 40 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter

vermindertem Druck entfernt, wobei ein beiger Feststoff zurück bleibt. Durch Umkristallisation aus EtOAc wird Verbindung **91** als hellgelber, kristalliner Feststoff erhalten.

Summenformel: $C_{15}H_{17}ClN_2O_3$
 Molekülmasse: 308.8 g/mol
 Ausbeute: 862 mg (2.79 mmol / 77 %).



Reaktionskontrolle: 1. Schritt: Acrylatsynthese: $R_f = 0.27$ (Kieselgel, EtOAc/PE 2:1).
 2. Schritt: Cyclisierung: $R_f = 0.39$ (Kieselgel, EtOAc/PE 2:1).

Schmp: 161 - 162 °C (EtOAc).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3071 (w), 2956 (w), 2933 (m), 2872 (w), 1724 (s), 1634 (m), 1577 (s), 1466 (s), 1318 (m), 1225 (m), 1190 (s), 1072 (s), 928 (m), 890 (m), 808 (m).

1H -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 9.36 (s, 1H, **H-2**), 8.40 (s, 1H, **H-5**), 7.27 (s, 1H, **H-8**), 4.37 (q, 2H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3), 4.09 (t, 2H, $^3J = 7.4$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.85 (quint, 2H, $^3J = 7.4$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.44 (sext, 2H, $^3J = 7.4$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.39 (t, 3H, $^3J = 7.1$, OCH_2CH_3), 1.01 (t, 3H, $^3J = 7.4$, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$).

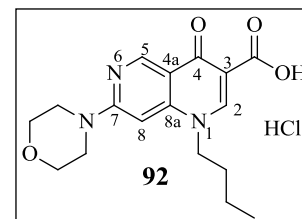
^{13}C -NMR ($CDCl_3$, δ [ppm], J [Hz]): 173.1 (1C, **C-4**), 164.5 (1C, CO_2Et), 154.4 (1C, **C-7**), 152.3 (1C, **C-5**), 150.3 (1C, **C-2**), 145.8 (1C, **C-8a**), 122.8 (1C, **C-4a**), 114.6 (1C, **C-3**), 109.2 (1C, **C-8**), 61.3 (1C, OCH_2CH_3), 53.3 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 30.6 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 19.8 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 14.3 (1C, $NCH_2CH_2CH_2CH_3$), 13.5 (1C, OCH_2CH_3).

1-Butyl-7-morpholino-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carbonsäure-Hydrochlorid (92)

400 mg (1.30 mmol) **91** werden in 15 ml Morpholin gelöst und unter Mikrowellenstrahlung für 1.5 h bei 85 °C gerührt (Aufheizrate: in 2 min auf 85 °C, 600 W). Die Reaktionslösung wird mit 30 ml dem. Wasser verdünnt und das Rohprodukt mit CH_2Cl_2 extrahiert (4 × 50 ml). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 10 ml einer 1:1-Mischung aus EtOH und wässriger HCl-Lösung (6 N) suspendiert und für 3 h zum Sieden erhitzt. Die Lösung wird anschließend i. Vak. zur Trockene eingedampft, das Rohprodukt in 10 ml EtOAc suspendiert und in der Siedehitze

tropfenweise MeOH bis zur vollständigen Auflösung zugegeben. Beim Abkühlen auf RT fällt Verbindung **92** als gelber kristalliner Feststoff aus.

Summenformel: C₁₇H₂₂ClN₃O₄
 Molekülmasse: 367.8 g/mol
 Ausbeute: 356 mg (968 μmol / 75 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.49 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:2:1).
 Schmp: 257 - 259 °C (EtOAc/MeOH).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 2962 (w), 2856 (w), 2497 (br), 1710 (m), 1607 (s), 1525 (m), 1467 (s), 1418 (m), 1112 (m), 967 (m), 821 (m), 806 (m).

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 15.0 (s, 1H, COOH), 9.06 (s, 1H, H-5), 8.84 (s, 1H, H-2), 6.89 (s, 1H, H-8), 4.41 (t, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.73 (s, 8H, morpholino-CH₂), 1.72 (quint, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.33 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.01 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 177.2 (1C, C-4), 165.6 (1C, COOH), 160.7 (1C, C-7), 151.2 (1C, C-2), 149.9 (1C, C-5), 146.1 (1C, C-8a), 112.2 (1C, C-4a), 107.6 (1C, C-3), 88.7 (1C, C-8), 65.7 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 52.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 44.8 (2H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 30.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 14.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.5.3.4 Amidierung und Synthese von Oxalsäuresalzen und Co-Kristallen (93 - 98)

Allgemeine Vorschrift (AV15): Synthese von Verbindungen 93 - 98

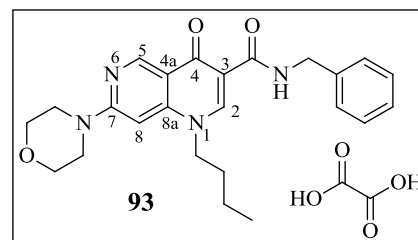
Die Aktivierung der Carbonsäure (**6g**, **87**, **92**) erfolgt via gemischtem Anhydrid, gebildet aus 2.5 - 4 Äquivalenten Isobutylchlorformiat und 4 - 8 Äquivalenten NMM unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. DMF. Nach 1 h bei 0 °C werden 2.5 - 5 Äquivalente des entsprechenden Amins zugegeben und nach 45 min Rühren bei RT wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt, anschließend in 4 ml ACN gelöst und zu

einer Lösung aus 5 Äquivalenten Oxalsäure (bezogen auf die Stoffmenge der eingesetzten 4-Chinolon-3-carbonsäure) in 6 ml ACN über einen Zeitraum von 5 min zugegeben. Unter kräftigem Rühren fällt das entsprechende Oxalat (**93** - **98**) bei RT oder -20 °C aus und wird anschließend aus ACN oder MeOH umkristallisiert.

N-Benzyl-1-butyl-7-morpholino-4-oxo-1,4-dihydro-1,6-naphthyridin-3-carboxamid-Oxalat (**93**)

Gemäß AV15 werden 200 mg (544 µmol) **92** mit 275 mg (2.72 mmol, 299 µl) NMM, 298 mg (2.18 mmol, 285 µl) Isobutylchlorformiat und 234 mg (2.18 mmol, 238 µl) Benzylamin amidiert. Die Aufreinigung erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 20:1) und die Oxalat-Fällung gelingt mit 245 mg (2.72 mmol) Oxalsäure bei -20 °C. Nach Umkristallisation aus ACN wird Verbindung **93** als weißer Feststoff erhalten.

Stöchiometrie: **API/Ox** 1:0.5
 Summenformel: C₂₅H₂₉N₄O₅ (für **API/Ox** 1:0.5)
 Molekülmasse: 465.5 g/mol (für **API/Ox** 1:0.5)
 Ausbeute: 217 mg (465 µmol / 85 %).



Reaktionskontrolle: R_f = 0.49 (Kieselgel, CHCl₃/EtOH 20:1).

Schmp: 178 - 179 °C (ACN).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3171 (w), 3056 (m), 2954 (m), 2911 (m), 2867 (m), 2603 (w), 1734 (m), 1645 (s), 1610 (s), 1552 (s), 1467 (m), 1454 (m), 1440 (m), 1363 (m), 1192 (s), 1118 (m), 813 (m), 736 (m), 682 (m).

CHN: ber. C: 64.50, H: 6.28, N: 12.04, O: 17.18 (für **API/Ox** 1:0.5)

gef. C: C: 64.42, H: 6.29, N: 11.98.

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: 99.2 %.

logP (HPLC): 3.05

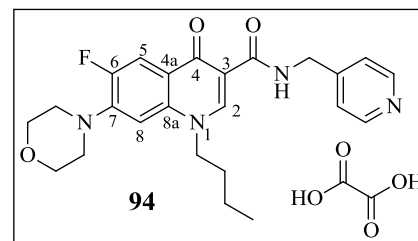
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.2 (t, 1H, ³*J* = 5.8, CONHR), 9.02 (s, 1H, **H**-5), 8.70 (s, 1H, **H**-2), 7.37-7.24 (m, 5H, benzyl-CH_{arom.}), 6.63 (s, 1H, **H**-8), 4.53 (d, 2H, ³*J* = 5.8, benzyl-CH₂), 4.34 (t, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.73-3.63 (m, 8H, morpholino-CH₂), 1.72 (quint, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.31 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.91 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 175.4 (1C, C-4), 163.7 (1C, CONHR), 160.8 (1C, C-7), 160.5 (Oxalat), 149.9 (1C, C-5), 149.7 (1C, C-2), 146.0 (1C, C-8a), 139.2 (1C, benzyl-C_q), 128.4 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 127.3 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-CH_{arom.}), 114.2 (1C, C-4a), 111.4 (1C, C-3), 88.5 (1C, C-8), 65.7 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 51.6 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 44.8 (2H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 42.1 (1C, benzyl-CH₂), 30.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.0 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-6-fluor-7-morpholino-N-(pyridin-4-ylmethyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-Oxalat (94)

Entsprechend AV15 werden 150 mg (431 μmol) **6g** mit 218 mg (2.16 mmol, 237 μl) NMM, 235 mg (1.72 mmol, 224 μl) Isobutylchlorformiat und 186 mg (1.72 mmol, 175 μl) 4-(Aminomethyl)-pyridin amidiert. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/PE 100:1), anschließende Oxalat-Fällung mit 194 mg (2.16 mmol) Oxalsäure bei RT und Umkristallisation aus ACN wird Verbindung **94** als weißer Feststoff erhalten.

Stöchiometrie: **API/Ox** 1:1.5
 Summenformel: C₂₇H₃₀FN₄O₉ (für **API/Ox** 1:1.5)
 Molekülmasse: 573.6 g/mol (für **API/Ox** 1:1.5)
 Ausbeute: 87 mg (151 μmol / 35 %).
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.49 (Kieselgel, CHCl₃/PE 100:1).
 Schmp: 191 - 192 °C (ACN).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3235 (w), 3073 (w), 2957 (m), 2931 (w), 2871 (w), 2614 (br), 1905 (br), 1728 (br), 1660 (s), 1629 (s), 1530 (m), 1489 (s), 1451 (m), 1376 (w), 1258 (s), 1198 (m), 1114 (m), 932 (m), 799 (m), 692 (m).
 CHN: *ber.* C: 56.54, H: 5.27, F: 3.31, N: 9.77, O: 25.06 (für **API/Ox** 1:1.5)
gef. C: 56.46, H: 5.28, N: 9.70.
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: 98.1 %.
 logP (HPLC): 1.74
 UV-Vis (ACN): λ_{max} = 281, 318 nm.



$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.5 (t, 1H, $^3J = 5.8$, CONHR), 8.78 (s, 1H, H-2), 8.55 (d, 2H, $^3J = 5.2$, Py-CH), 7.90 (d, 1H, $^3J_{\text{H,F}} = 13.5$, H-5), 7.39 (d, 2H, $^3J = 5.2$, Py-CH), 7.10 (d,

^1H , $^4J_{\text{H,F}} = 7.2$, **H-8**), 4.62 (d, 2H, $^3J = 5.8$, **CH₂**), 4.48 (t, 2H, $^3J = 7.3$, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**), 3.80 (br, 4H, morpholino-**CH₂-O-CH₂**), 3.26 (br, 4H, morpholino-**CH₂-N-CH₂**), 1.77 (quint, 2H, $^3J = 7.3$, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**), 1.32 (sext, 2H, $^3J = 7.3$, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**), 0.92 (t, 3H, $^3J = 7.3$, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**).

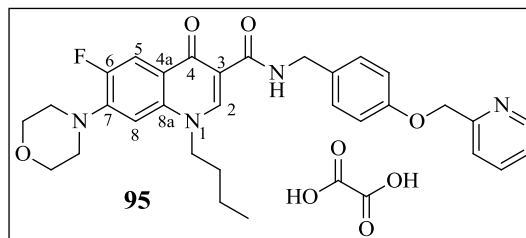
^{13}C -NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], J [Hz]): 174.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C,F}} = 1.8$, **C-4**), 164.5 (1C, **CONHR**), 161.0 (Oxalat), 152.5 (d, 1C, $^1J_{\text{C,F}} = 248.0$, **C-6**), 149.9 (1C, **Py-C_q**), 148.6 (2C, **Py-CH**), 147.8 (1C, **C-2**), 144.3 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 10.4$, **C-7**), 136.6 (1C, **C-8a**), 122.4 (2C, **Py-CH**), 121.4 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 6.6$, **C-4a**), 111.4 (d, 1C, $^2J_{\text{C,F}} = 22.7$, **C-5**), 109.7 (1C, **C-3**), 105.5 (d, 1C, $^3J_{\text{C,F}} = 2.0$, **C-8**), 65.8 (2C, morpholino-**CH₂-O-CH₂**), 52.8 (1C, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**), 49.8 (d, 2C, $^4J_{\text{C,F}} = 4.4$, morpholino-**CH₂-N-CH₂**), 41.2 (1C, **CH₂**), 30.2 (1C, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**), 19.1 (1C, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**), 13.4 (1C, **NCH₂CH₂CH₂CH₃**).

1-Butyl-6-fluor-7-morpholino-N-(4-(pyridin-2-ylmethoxy)benzyl)-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-Oxalat (95)

Analog AV15 werden 100 mg (287 μmol) **6g** mit 116 mg (1.15 mmol, 126 μl) NMM, 98 mg (718 μmol , 94 μl) Isobutylchlorformiat und 154 mg (718 μmol , 175 μl) **84** amidiert. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1) wird das entsprechende 4-Chinolon-3-carboxamid isoliert und anschließend mit 129 mg (1.44 mmol) Oxalsäure bei RT als Oxalat gefällt. Nach Umkristallisation aus ACN wird Verbindung **95** als weißer Feststoff erhalten.

Stöchiometrie: **API/Ox** 1:2.5
 Summenformel: $\text{C}_{36}\text{H}_{38}\text{FN}_4\text{O}_{14}$
 (für **API/Ox** 1:2.5)
 Molekülmasse: 769.7 g/mol (für **API/Ox** 1:2.5)
 Ausbeute: 162 mg (211 μmol / 73 %).
 Reaktionskontrolle: $R_f = 0.82$ (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{konz. NH}_3$ 100:10:1).
 Schmp: 137 - 138 °C (ACN).

IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3295 (w), 3055 (w), 2927 (m), 2872 (w), 2602 (w), 1733 (br), 1637 (s), 1555 (m), 1493 (s), 1378 (w), 1249 (s), 1180 (s), 1116 (m), 877 (m), 770 (m), 678 (m).



CHN: *ber.* C: 56.10, H: 5.10, F: 2.47, N: 7.27, O: 29.06 (für **API/Ox** 1:2.5).
gef. C: 56.26, H: 4.97, N: 7.20.

HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: > 99.9 %.

logP (HPLC): 3.27

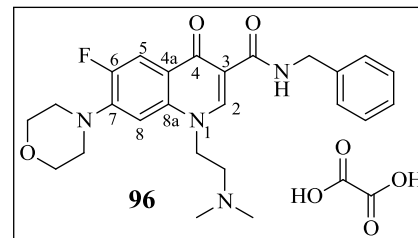
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³*J* = 5.7, CONHR), 8.78 (s, 1H, **H-2**), 8.57 (d, 1H, ³*J* = 5.0, Py-CH), 7.86 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.6, **H-5**), 7.82 (td, 1H, ³*J* = 7.5, ⁴*J* = 1.6, Py-CH), 7.51 (d, 1H, ³*J* = 7.5, Py-CH), 7.34 (dd, 1H, ³*J* = 7.5, ³*J* = 5.0, Py-CH), 7.27 (d, 2H, ³*J* = 8.6, benzyl-CH_{arom.}), 7.09 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, **H-8**), 6.99 (d, 2H, ³*J* = 8.6, benzyl-CH_{arom.}), 5.17 (s, 2H, OCH₂Py), 4.49-4.46 (m, 4H, benzyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.80-3.78 (m, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.26-2.24 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 1.76 (quint, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.31 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.0 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.1, **C-4**), 163.9 (1C, CONHR), 160.9 (Oxalat), 157.0 (1C, benzyl-C_q), 156.6 (1C, Py-C_q), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 252.1, **C-6**), 148.9 (1C, Py-CH), 147.7 (1C, **C-2**), 144.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, **C-7**), 137.1 (1C, Py-CH), 136.6 (1C, **C-8a**), 131.8 (1C, benzyl-C_q), 128.7 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 122.9 (1C, Py-CH), 121.6 (1C, Py-CH), 121.4 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 6.7, **C-4a**), 114.7 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 23.3, **C-5**), 110.0 (1C, **C-3**), 105.5 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 2.9, **C-8**), 70.1 (1C, OCH₂Py), 65.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 52.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.8 (2C, ⁴*J* = 4.4, morpholino-CH₂-N-CH₂), 41.5 (1C, benzyl-CH₂), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

N-Benzyl-1-(2-(dimethylamino)ethyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-Oxalat (**96**)

Gemäß AV15 werden 250 mg (625 μmol) **87** mit 506 mg (5.00 mmol, 550 μl) NMM, 342 mg (2.50 mmol, 326 μl) Isobutylchlorformiat und 268 mg (2.50 mmol, 273 μl) Benzylamin amidiert. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1), anschließende Oxalat-Fällung mit 281 mg (3.13 mmol) Oxalsäure bei RT und Umkristallisation aus MeOH wird Verbindung **96** als weißer Feststoff erhalten.

Stöchiometrie: **API/Ox** 1:1
 Summenformel: $C_{27}H_{31}FN_4O_7$ (für **API/Ox** 1:1)
 Molekülmasse: 542.6 g/mol (für **API/Ox** 1:1)
 Ausbeute: 145 mg (267 μ mol / 43 %).



Reaktionskontrolle: $R_f = 0.65$ (Kieselgel, $CHCl_3/MeOH/konz. NH_3$ 100:10:1).
 Schmp: 227 - 228 °C (MeOH).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm^{-1}]: 3175 (w), 3056 (m), 2981 (w), 2885 (w), 2815 (w), 2716 (br), 1717 (br), 1635 (s), 1572 (s), 1490 (s), 1450 (m), 1360 (m), 1251 (m), 1171 (m), 1122 (m), 1001 (m), 932 (m), 745 (m), 694 (m).
 CHN: *ber.* C: 59.77, H: 5.76, F: 3.50, N: 10.33, O: 20.64 (für **API/Ox** 1:1).
gef. C: 59.62, H: 5.62, N: 10.36.
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 4*: 99.8 %.
 logP (HPLC): 2.67
 UV-Vis (ACN): $\lambda_{max} = 278, 319$ nm.

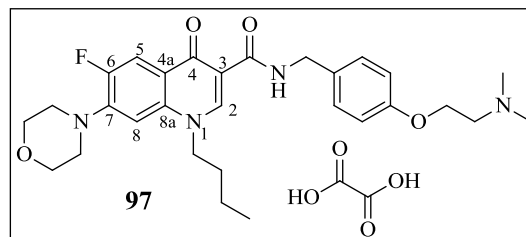
1H -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 10.3 (t, 1H, $^3J = 5.8$, CONHR), 8.86 (s, 1H, **H-2**), 7.88 (d, 1H, $^3J_{H,F} = 13.6$, **H-5**), 7.35-7.23 (m, 5H, benzyl-**CH**_{arom.}), 7.12 (d, 1H, $^4J_{H,F} = 7.0$, **H-8**), 4.79 (t, 2H, $^3J = 6.8$, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 4.56 (d, 2H, $^3J = 5.8$, benzyl-**CH**₂), 3.79 (br, 4H, morpholino-**CH**₂-O-**CH**₂), 3.28 (br, 6H, morpholino-**CH**₂-N-**CH**₂, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 2.68 (s, 6H, NCH₂CH₂N(CH₃)₂).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , δ [ppm], J [Hz]): 174.2 (d, 1C, $^4J_{C,F} = 2.2$, **C-4**), 163.9 (1C, CONHR), 163.8 (Oxalat), 152.4 (d, 1C, $^1J_{C,F} = 247.5$, **C-6**), 148.5 (1C, **C-2**), 144.6 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 9.9$, **C-7**), 139.3 (1C, benzyl-**C**_q), 136.6 (1C, **C-8a**), 128.3 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 127.3 (2C, benzyl-**CH**_{arom.}), 126.8 (1C, benzyl-**CH**_{arom.}), 121.2 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 7.1$, **C-4a**), 111.5 (d, 1C, $^2J_{C,F} = 22.9$, **C-5**), 110.4 (1C, **C-3**), 105.2 (d, 1C, $^3J_{C,F} = 2.3$, **C-8**), 65.9 (2C, morpholino-**CH**₂-O-**CH**₂), 54.2 (1C, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 49.9 (2C, $^4J_{C,F} = 4.4$, morpholino-**CH**₂-N-**CH**₂), 48.2 (1C, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 43.3 (2C, NCH₂CH₂N(CH₃)₂), 42.1 (1C, benzyl-**CH**₂).

1-Butyl-N-(4-(2-(dimethylamino)ethoxy)benzyl)-6-fluor-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-quinolin-3-carboxamid-Oxalat (97)

Gemäß AV15 werden 100 mg (287 μ mol) **6g** mit 116 mg (1.15 mmol, 126 μ l) NMM, 118 mg (862 μ mol, 112 μ l) Isobutylchlorformiat und 168 mg (862 μ mol) **85** amidiert. Die Aufreinigung erfolgt säulenchromatographisch (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1) und die Oxalat-Fällung gelingt mit 129 mg (1.44 mmol) Oxalsäure bei -20 °C. Nach Umkristallisation aus ACN wird Verbindung **97** als weißer Feststoff erhalten.

Stöchiometrie: **API/Ox** 1:1.5
 Summenformel: C₃₂H₄₀FN₄O₁₀
 (für **API/Ox** 1:1.5)
 Molekülmasse: 659.7 g/mol (für **API/Ox** 1:1.5)
 Ausbeute: 103 mg (156 μ mol / 54 %).
 Reaktionskontrolle: R_f = 0.81 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1).
 Schmp: 172 - 173 °C (ACN).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3175 (w), 3034 (w), 2956 (w), 2925 (w), 2853 (w), 2593 (w), 1732 (br), 1645 (s), 1558 (m), 1490 (s), 1376 (w), 1241 (m), 1179 (m), 1117 (m), 934 (m), 802 (m), 681 (m).
 CHN: *ber.* C: 58.26, H: 6.11, F: 2.88, N: 8.49, O: 24.25 (für **API/Ox** 1:1.5).
gef. C: 58.57, H: 6.33, N: 8.71.
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 5*: 99.3 %.
 logP (HPLC): 3.41



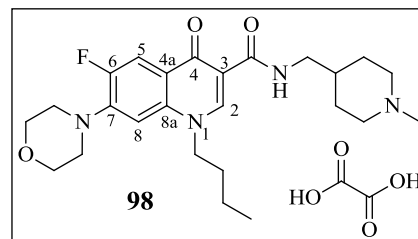
¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.3 (t, 1H, ³*J* = 5.7, CONHR), 8.77 (s, 1H, **H-2**), 7.85 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.6, **H-5**), 7.29 (d, 2H, ³*J* = 8.6, benzyl-CH_{arom.}), 7.08 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, **H-8**), 6.96 (d, 2H, ³*J* = 8.6, benzyl-CH_{arom.}), 4.48-4.46 (m, 4H, benzyl-CH₂, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.29 (t, 2H, ³*J* = 5.0, OCH₂CH₂N(CH₃)₂), 3.79-3.77 (m, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.44 (t, 2H, ³*J* = 5.0, OCH₂CH₂N(CH₃)₂), 3.25-2.24 (m, 4H, morpholino-CH₂-N-CH₂), 2.80 (s, 6H, OCH₂CH₂N(CH₃)₂), 1.75 (quint, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.30 (sext, 2H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.91 (t, 3H, ³*J* = 7.3, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 2.5, C-4), 164.0 (1C, CONHR), 163.4 (Oxalat), 156.6 (1C, benzyl-C_q), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.5, C-6), 147.8 (1C, C-2), 144.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.3, C-7), 136.6 (1C, C-8a), 132.3 (1C, benzyl-C_q), 128.8 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 121.5 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 7.0, C-4a), 114.7 (2C, benzyl-CH_{arom.}), 111.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.4, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.6 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.1, C-8), 65.9 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 62.4 (1C, OCH₂CH₂N(CH₃)₂), 55.3 (1C, OCH₂CH₂N(CH₃)₂), 52.9 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.8 (2C, ⁴*J*_{C,F} = 4.4, morpholino-CH₂-N-CH₂), 42.8 (2C, OCH₂CH₂N(CH₃)₂), 41.6 (1C, benzyl-CH₂), 30.3 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 19.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.5 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

1-Butyl-6-fluor-N-((1-methylpiperidin-4-yl)methyl)-7-morpholino-1,4-dihydro-4-oxo-chinolin-3-carboxamid-Oxalat (98)

Analog AV15 werden 150 mg (431 μmol) **6g** mit 174 mg (1.72 mmol, 189 μl) NMM, 176 mg (1.29 mmol, 168 μl) Isobutylchlorformiat und 166 mg (1.29 mmol, 184 μl) (1-Methyl-4-piperidinyl)methylamin amidiert. Durch säulenchromatographische Aufreinigung (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1), anschließende Oxalat-Fällung mit 194 mg (2.16 mmol) Oxalsäure bei RT und Umkristallisation aus ACN wird Verbindung **98** als weißer Feststoff erhalten.

Stöchiometrie: **API/Ox** 1:2.5
 Summenformel: C₃₀H₄₀FN₄O₁₃ (für **API/Ox** 1:2.5)
 Molekülmasse: 683.7 g/mol (für **API/Ox** 1:2.5)
 Ausbeute: 132 mg (193 μmol / 45 %).



Reaktionskontrolle: *R*_f = 0.36 (Kieselgel, CHCl₃/MeOH/konz. NH₃ 100:10:1).
 Schmp: 154 - 156 °C (ACN).
 IR (ATR), $\tilde{\nu}$ [cm⁻¹]: 3169 (w), 3040 (m), 2938 (m), 2935 (m), 2863 (m), 2574 (br), 1922 (br), 1719 (br), 1625 (s), 1557 (m), 1494 (s), 1451 (m), 1375 (w), 1200 (s), 1112 (m), 930 (m), 799 (m), 624 (m).
 CHN: *ber.* C: 52.71, H: 5.90, F: 2.78, N: 8.20, O: 30.42 (für **API/Ox** 1:2.5).
gef. C: 52.34, H: 6.02, N: 8.24.
 HPLC-Reinheit: *HPLC-Methode 1*: 97.2 %.
 logP (HPLC): 3.20

¹H-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 10.1 (t, 1H, ³*J* = 5.6, CONHR), 8.75 (s, 1H, H-2), 7.88 (d, 1H, ³*J*_{H,F} = 13.5, H-5), 7.09 (d, 1H, ⁴*J*_{H,F} = 7.2, H-8), 4.47 (t, ³*J* = 7.2, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 3.79 (br, 4H, morpholino-CH₂-O-CH₂), 3.41 (br, 2H, piperidiny-CH₂), 3.25 (br, 6H, CH₂, morpholino-CH₂-N-CH₂), 2.89 (br, 2H, piperidiny-CH₂), 2.72 (s, 3H, NCH₃), 1.86-1.73 (m, 5H, NCH₂CH₂CH₂CH₃, piperidiny-CH/CH₂), 1.46 (br, 2H, piperidiny-CH₂), 1.32 (sext, 2H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 0.92 (t, 3H, ³*J* = 7.2, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, δ [ppm], *J* [Hz]): 174.1 (d, 1C, ⁴*J*_{C,F} = 1.6, C-4), 164.2 (1C, CONHR), 162.5 (Oxalat), 152.5 (d, 1C, ¹*J*_{C,F} = 247.6, C-6), 147.7 (1C, C-2), 144.3 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 10.2, C-7), 136.6 (1C, C-8a), 121.4 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 6.8, C-4a), 111.4 (d, 1C, ²*J*_{C,F} = 22.8, C-5), 110.0 (1C, C-3), 105.5 (d, 1C, ³*J*_{C,F} = 3.0, C-8), 65.8 (2C, morpholino-CH₂-O-CH₂), 53.2 (2C, piperidiny-CH₂), 52.8 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 49.8 (2C, ³*J*_{C,F} = 4.3, morpholino-CH₂-N-CH₂), 42.8 (1C, CH₂), 42.6 (1C, NCH₃), 33.3 (1C, piperidiny-CH), 30.2 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 26.9 (2C, piperidiny-CH₂), 19.1 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 13.4 (1C, NCH₂CH₂CH₂CH₃).

6.6 Herstellung von sprühgetrockneten Dispersionen der Verbindung 33 und Freisetzungsexperimente

6.6.1 Herstellung von PVP-Partikel

201.0 mg PVP und 20.5 mg **33** werden in einem Falkontube eingewogen und mit 10 ml *i*PrOH im Ultraschallbad gelöst (10 % Beladung, w/w). Die klare Lösung wird anschließend vernebelt.

Bedingungen:

Luftstrom:	150 l/min
Druck:	50 mbar
Eingangstemperatur:	70 °C
Sprührate:	100 %
Luftfeuchtigkeit:	49 %

Die wirkstoffbeladenen Mikropartikel (ASDD_{PVP}) werden als weißes amorphes Pulver in einer Ausbeute von 191.9 mg (87 %, w/w) erhalten.

6.6.2 Herstellung von Eudragit® L100-Partikel

200.2 mg Eudragit® L100 und 19.8 mg **33** werden in 10 ml MeOH im Ultraschallbad gelöst (10 % Beladung, w/w) und sprühgetrocknet.

Bedingungen:

Luftstrom:	150 l/min
Druck:	53 mbar
Eingangstemperatur:	60 °C
Sprührate:	100 %
Luftfeuchtigkeit:	49 %

ASDD_{Eudragit} wird als weißes amorphes Pulver in einer Ausbeute von 201.5 mg (92 %, w/w) isoliert.

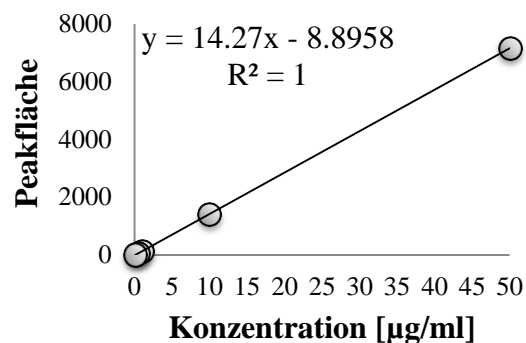
6.6.3 Durchführung der Freisetzungsexperimente

HPLC-Methode:

Temperatur:	40 °C
Injektionsvolumen:	20 µl
Solvent A:	H ₂ O
Solvent B:	ACN
Fluss:	0.7 ml/min
Detektion:	280 nm
Gradient:	0-5 min: 10 % B auf 90 % B
	5-7 min: 90 % B
	7-9 min: 90 % B auf 10 % B
	9-13 min: 10 % B
Retentionszeit t _R :	8.72

Tab. 44: Standardkonzentrationen, ermittelte Peakflächen und Regressionsgerade.

33 [µg/ml]	Peakfläche		Stabw	Mittelwert
	1. Best.	2. Best.		
50	7159.42	7155.83	1.79	7157.62
10	1411.09	1405.42	2.83	1408.25
1	134.14	135.02	0.44	134.58
0.5	67.63	67.45	0.09	67.54
0.1	13.01	12.85	0.08	12.93



Eine 1 mg/ml Stammlösung von Verbindung **33** in ACN wird zu 50 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml sowie 0.1 µg/ml mit ACN verdünnt und jede Konzentration mittels HPLC zweifach vermessen. Anhand der mittleren Peakfläche und den entsprechenden Konzentrationen (**Tab. 44**) wird durch lineare Regression eine Kalibriergerade erstellt.

Für die Freisetzung wird eine maximale Wirkstoffkonzentration von 250 µg/ml gewählt. Dementsprechend ergeben sich folgende Ansätze:

- Wirkstoff_{Krist.}: 500 µg/2ml
- Wirkstoff_{Krist.} und PVP: (500 µg + 4500 µg)/2ml
- ASDD_{PVP}: 5 mg/2ml
- ASDD_{Eudragit}: 5 mg/2ml

Die Feststoffe werden in wässrigen PBS-Puffer (pH = 7.4) suspendiert und mittels eines Thermomixer (800 rpm) bei 37 °C gemischt. Für die Gehaltsbestimmung werden zu bestimmten Zeitpunkten ($t = 0.5, 2, 5, 10, 30, 60, 120, 240, 1320$ min) Proben von je 100 µl entnommen. Vor jeder Entnahme werden die Suspensionen für 60 sek. zentrifugiert und nach erfolgter Probenziehung die Ansätze für 30 sek. resuspendiert.

Die entnommenen Proben werden mit der oben aufgeführten HPLC-Methode analysiert. Anhand der bestimmten Peakflächen und unter Zuhilfenahme der aus der Kalibriergeraden resultierenden Geradengleichung lassen sich für alle Zeitpunkte absolute Konzentrationen von Verbindung **33** in wässrigem Medium bestimmen (**Tab 45**).

Tab 45: Peakflächen und berechnete Konzentrationen.

t [min]	0.5	2	5	10	30	60	120	240	1320
Wirkstoff _{krist.} Peak- fläche	0	10.2	8.82	18.3	36.5	43.4	21.7	26.9	33.9
	Konz. [µg/ml]	0	0.13	0.12	0.19	0.32	0.37	0.21	0.25
Wirkstoff _{krist.} + PVP Peak- fläche	13.7	25.2	37.7	61.4	109.6	112.0	128.3	95.7	72.3
	Konz. [µg/ml]	0.16	0.24	0.33	0.49	0.83	0.84	0.96	0.73
ASDD _{PVP} Peak- fläche	1801.0	2821.7	969.4	845.9	314.1	325.9	326.6	554.9	449.8
	Konz. [µg/ml]	12.6	19.8	6.83	5.97	2.26	2.34	2.34	3.94
ASDD _{Eudragit} Peak- fläche	476.7	6223.5	6795.9	6528.1	7118.3	7941.5	8759.4	7873.8	1425.8
	Konz. [µg/ml]	3.39	43.5	47.5	45.6	49.8	55.5	61.2	55.0

6.7 Bestimmung der Permeabilität von Verbindung 94 und 96

Pro Verbindung (**94** und **96**) werden im Teilprojekt Z1 (SFB630) drei Zellversuche nach einem Protokoll von Hubatsch *et al.*¹⁷⁸ durchgeführt. Die Proben werden zum Zeitpunkt $t = 0$ min (apikal, $1 \times 100 \mu\text{l}$) und nach 60 min (basolateral, $2 \times 100 \mu\text{l}$) entnommen, jeweils mit $100 \mu\text{l}$ ACN verdünnt und mittels HPLC (RP-C12-Säule) vermessen.

HPLC-Methode für Verbindung **94** und **96**:

Temperatur:	40 °C
Injektionsvolumen:	30 µl
Solvent A:	10 mM NH ₄ OAc-Puffer (pH = 4)
Solvent B:	ACN
Fluss:	0.4 ml/min
Detektion:	281 nm (Verbindung 94) 278 nm (Verbindung 96)
Gradient:	0-12 min: 20 % B auf 80 % B 12-14 min: 80 % B 14-17 min: 80 % B auf 20 % B 17-22 min: 20 % B
Retentionszeit t_R :	12.9 (Verbindung 94) 10.4 (Verbindung 96)

Die Peakflächen der basolateralen Proben jedes Zellversuchs werden mit vier multipliziert (basolaterales Volumen ist um Faktor vier größer) und nach Mittelwertbildung mit der Peakfläche der apikalen Probe ins Verhältnis gesetzt, um den relativen Wirkstoffanteil zu berechnen, der die Caco-2-Zellschicht passiert hat (**Tab. 46**).

Der aus den erhaltenen basolateralen Wirkstoffanteilen gebildete Mittelwert kann für die Berechnung des Permeabilitätskoeffizienten verwendet werden (Kapitel 3.4.3.1).

Mittelwert basolateraler Anteil (aus drei Zellversuchen):

Verbindung 94 :	3.6 % (\pm 0.6)
Verbindung 96 :	2.6 % (\pm 1.5)

Tab. 46: Peakflächen der untersuchten apikalen und basolateralen Proben sowie prozentualer basolateraler Wirkstoffanteil.

Verbindung	Caco-2-Assay	Probe	Peakfläche	Multiplikation mit Faktor 4	Mittelwert basolateral	Anteil basolateral [%]
Verbindung 94	1	apikal	5675.2	-	215.8	3.8
		basolateral	56.4	225.4		
		basolateral	51.6	206.3		
	2	apikal	8247.9	-	236.1	2.9
		basolateral	56.3	225,2		
		basolateral	61.7	246,9		
	3	apikal	8462.9	-	341.0	4.0
		basolateral	87.6	350,3		
		basolateral	82.9	331,8		
Verbindung 96	1	apikal	8399.3	-	162.4	1.9
		basolateral	46.3	185.2		
		basolateral	34.9	139.6		
	2	apikal	10551.1	-	161.4	1.5
		basolateral	40.4	161.6		
		basolateral	40.3	161.2		
	3	apikal	4233.4	-	181.0	4.3
		basolateral	63.1	252.4		
		basolateral	27.4	109.6		

6.8 Bestimmung der Plasmastabilität von Verbindung 94 und 96

Die Durchführung des Plasmastabilitäts-Assays erfolgt im Teilprojekt Z1 (SFB630) nach einem Protokoll von Di *et al.*¹⁷⁹: Eine 1 mM DMSO-Stammlösung der zu untersuchenden Verbindung wird mit einem Rattenplasma/PBS-Puffer (pH = 7.4)-Mix für 2 h bei 37 °C inkubiert (Wirkstoffkonzentration: 10 µM). 100 µl Proben werden zum Zeitpunkt t = 0 (Referenz), 30, 60 sowie 120 min genommen, mit 300 µl ACN verdünnt, zentrifugiert und der Überstand (200 µl)

für die HPLC-Analytik (RP-C12-Säule) zur Verfügung gestellt. Pro Verbindung wird der Stabilitätsversuch zwei Mal durchgeführt.

HPLC-Methode für Verbindung **94** und **96**:

Temperatur: 40 °C

Injektionsvolumen: 30 µl

Solvent A: 10 mM NH₄OAc-Puffer (pH = 4)

Solvent B: ACN

Fluß: 0.4 ml/min

Detektion: 281 nm (Verbindung **94**)

278 nm (Verbindung **96**)

Gradient: 10 % B bei t = 0

90 % B bei t = 7

90 % B bis t = 9

10 % B bei t = 11

10 % B bis t = 13

Retentionszeit t_R: 7.66 (Verbindung **94**)

6.95 (Verbindung **96**)

*Tab. 47: Peakflächen und prozentuale Abnahme der Verbindungen **94** und **96**.*

Verbindung	Zeit [min]	Peakfläche		Mittelwert	Stabw	Abnahme [%]
		1. Best.	2. Best.			
94	0	478.7	492.9	485.8	7.10	100.0
	30	487.1	497.0	492.0	4.92	101.3
	60	473.1	495.2	484.1	11.1	98.4
	120	472.9	497.9	485.4	12.5	100.3
96	0	432.2	444.0	438.1	5.92	100.0
	30	446.7	450.4	448.5	1.87	102.4
	60	441.3	446.0	443.6	2.33	98.9
	120	446.2	463.9	455.1	8.86	102.6

Aus den erhaltenen Peakflächen der Doppelbestimmung wird der Mittelwert gebildet. Die prozentuale Abnahme pro Zeit wird bezüglich der Referenzpeakfläche ($t = 0$ min, entspricht einer Wirkstoffkonzentration von 100 %) berechnet (**Tab. 47**).

6.9 Bestimmung der logP-Werte

Die experimentelle Bestimmung der logP-Werte der synthetisierten Verbindungen erfolgt analog zu M. Muth.¹⁸⁸ Mittels HPLC werden die Retentionszeit t_R von Referenzsubstanzen und synthetisierten Verbindungen bestimmt, woraus sich der mit dem logP-Wert korrelierende Kapazitätsfaktor k' nach folgender Gleichung berechnen lässt:

$$k' = (t_R - t_0)/t_0$$

t_R ist dabei Retentionszeit, t_0 die Totzeit.

Zur Bestimmung von k' werden zunächst Stammlösung der Test- und Referenzsubstanzen von 4 mg/ml in DMSO vorbereitet, welche anschließend mit MeOH zu 40 µg/ml verdünnt werden. Die Vermessung der Proben erfolgt einer RP-C18-Säule als stationäre Phase (HPLC). Für die mobile Phase wird eine 30:70 Mischung aus Kaliumdihydrogenphosphat-Puffer (10 mM, pH = 7.4) und MeOH (mit 0.02 % *N,N*-Dimethylhexylamin) verwendet. Jede Probe wird doppelt vermessen.

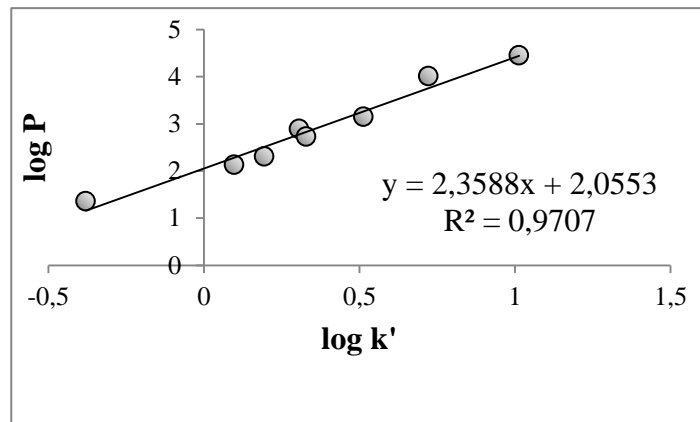
HPLC-Bedingungen:

Isokratisch:	Phosphat-Puffer/MeOH 30:70
Fluß:	1.5 ml/min
Injektionsvolumen:	40 µl
Temperatur:	30 °C
Detektionswellenlänge:	254 nm

Als Referenzsubstanzen dienen 2-Phenylethanol, Benzol, *N,N*-Dimethylanilin, Toluol, Chlorbenzol, Ethylbenzol, Biphenyl und Anthracen. Anhand der bestimmten k' -Werte und der literaturbekannten logP-Werte¹⁸² wird durch lineare Regression eine Kalibriergerade berechnet (**Tab 48**).

Tab 48: $\log k'$ - und $\log P$ -Werte der verwendeten Referenzsubstanzen.

Referenzsubstanz	$\log k'$	$\log P^{182}$
2-Phenylethanol	-0.38	1.36
Benzol	0.10	2.13
<i>N,N</i> -Dimethylanilin	0.19	2.31
Toluol	0.33	2.73
Chlorbenzol	0.31	2.89
Ethylbenzol	0.51	3.15
Biphenyl	0.72	4.01
Anthracen	1.01	4.45



Mittels der erhaltenen Geradengleichung und den bestimmten k' -Werten kann der $\log P$ -Wert für die Testsubstanzen errechnet werden.

6.10 Röntgenstrukturanalyse

Struktur- und Ortsparameter der Röntgenbeugungsanalyse von Verbindung **32**.

Summenformel	$C_{26}H_{30}FN_3O_2$
CCDC-Nummer	859395
Molekulargewicht [g/mol]	435.5
Messtemperatur [K]	100(2)
Kristallabmessung [mm ³]	0.17 × 0.08 × 0.07
Strahlung, λ (Å)	MoK α
Kristallsystem	triklin
Raumgruppe	<i>P</i> 1
a [Å]	11.7836(7)
b [Å]	14.1295(6)
c [Å]	15.0035(8)
α [°], β [°], γ [°]	73.458(2), 67.822(2), 83.709(2)
V [Å ³]	2217.5(2)
Z	4
Berechnete Kristalldichte [Mg × m ⁻³]	1.305
Absorptionskoeffizient [mm ⁻¹]	0.089
F(000)	928
Daten/Parameter/restrains	9070/585/0
R-Werte (alle Daten)	$R_1 = 0.0632$, $wR^2 = 0.1117$

7 ANHANG

7.1 Abkürzungsverzeichnis

9-BBN:	9-Borabicyclo[3.3.1]nonan	HPLC:	Hochleistungsflüssig- chromatographie
abs.:	absolutiert	HOBT:	Hydroxybenzotriazol
ACN:	Acetonitril	i. Vak.	im Vakuum
BSF:	Blutstromform	konz.:	konzentriert
dem.:	demineralisiert	MW:	Mikrowelle
DIPEA:	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin	n.b.:	nicht bestimmt
DMAP:	4-Dimethylaminopyridin	NMM:	<i>N</i> -Methylmorpholin
DMF:	Dimethylformamid	PE	Petrolether
DMSO:	Dimethylsulfoxid	<i>p</i> -TosOH:	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
EDC×HCl:	1-Ethyl-3-(3- dimethylaminopropyl)- carbodiimid Hydrochlorid	RT	Raumtemperatur
EMME:	Diethylethoxymethylenmalonat	SAR	Struktur-Wirkungs-Beziehung
EtOAc:	Essigsäureethylester	SPR	Struktur-Eigenschaft-Beziehung
FA:	Ameisensäure	TBME	<i>tert</i> -Butylmethylether
ges.:	gesättigt	TEA	Triethylamin
HBA:	Wasserstoffbrückenakzeptor	TFA	Trifluoressigsäure
HBD:	Wasserstoffbrückendonor	THF	Tetrahydrofuran

7.2 LE- und LLE-Werte der 4-Chinolon-3-carboxamid-Derivate

		<i>T. b. brucei</i> IC ₅₀ [μM] 48 h (Stabw)	Heavy atoms (HA)	pIC ₅₀ [M]	logP	LE	LLE
1-Alkyl-4-chinolon-3-carboxamide des SAR-Ansatzes	8	2.75 (± 0.31)	36	5.56	2.34	0.22	3.22
	11	4.01 (± 0.99)	39	5.40	2.33	0.19	3.07
	14	8.89 (± 4.17)	33	5.05	1.95	0.21	3.10
	15	1.07 (± 0.16)	34	5.97	2.50	0.25	3.47
	16	2.28 (± 0.51)	36	5.64	2.50	0.22	3.14
	20	4.60 (± 0.53)	33	5.34	2.10	0.23	3.24
	21	0.75 (± 0.23)	34	6.13	2.64	0.25	3.49
	22	0.78 (± 0.14)	37	6.11	2.92	0.23	3.19
	24	3.07 (± 0.59)	40	5.51	2.31	0.19	3.20
	25	1.73 (± 0.73)	41	5.76	2.42	0.20	3.34
	26	1.03 (± 0.13)	34	5.99	2.43	0.25	3.56
	27	1.09 (± 0.47)	35	5.96	3.15	0.24	2.81
	29	0.54 (± 0.14)	38	6.27	2.78	0.23	3.49
	30	5.40 (± 0.55)	35	5.27	4.32	0.21	0.95
	31	1.37 (± 0.45)	34	5.86	4.61	0.24	1.25
	32	0.67 (± 0.11)	32	6.17	1.71	0.26	4.46
	33	0.047 (± 0.00)	32	7.33	3.76	0.32	3.57
	34	2.57 (± 0.06)	32	5.59	3.42	0.25	2.17
	35	0.68 (± 0.16)	29	6.17	4.07	0.30	2.10
	37	>40	32	<4.40	5.08	0.19	-0.68
38	3.09 (± 0.56)	36	5.51	1.89	0.21	3.62	
39	0.85 (± 0.46)	32	6.07	2.30	0.27	3.77	

1-Aryl-4-chinolon-3-carboxamide	45	0.62 (\pm 0.62)	35	6.21	3.70	0.25	2.51
	46	0.62 (\pm 0.17)	37	6.21	4.87	0.24	1.34
	49	0.57 (\pm 0.03)	37	6.24	5.07	0.24	1.17
	50	0.64 (\pm 0.07)	39	6.19	5.29	0.22	0.90
	51	1.83 (\pm 0.12)	36	5.74	4.32	0.22	1.42
	53	5.85 (\pm 0.18)	33	5.23	4.19	0.22	1.04
	54	4.04 (\pm 0.60)	38	5.39	4.10	0.20	1.29
	58	2.62 (\pm 0.32)	35	5.58	4.78	0.22	0.80
	59	0.78 (\pm 0.11)	35	6.11	4.15	0.24	1.96
	60	1.37 (\pm 0.12)	35	5.86	4.08	0.24	1.78
	61	12.32 (\pm 0.83)	36	4.91	4.14	0.19	0.77
Strukturmodifizierte Chinolon-Derivate mit verbesserter Wasserlöslichkeit	74	1.83 (\pm 0.12)	37	5.74	1.61	0.22	4.13
	75	4.32 (\pm 0.71)	42	5.37	0.32	0.18	5.05
	76	2.83 (\pm 0.86)	32	5.55	1.81	0.24	3.74
	77	0.17 (\pm 0.06)	32	6.77	2.38	0.29	4.39
	78	9.08 (\pm 0.12)	32	5.04	3.47	0.22	1.57
	79	13.09 (\pm 1.89)	33	4.88	3.02	0.21	1.86
	83	3.08 (\pm 0.69)	33	5.51	5.53	0.23	-0.02
	93	0.55 (\pm 0.08)	31	6.26	3.05	0.28	3.21
	94	0.29 (\pm 0.26)	32	6.54	1.74	0.28	4.8
	95	0.79 (\pm 0.17)	40	6.10	3.27	0.21	2.83
	96	0.54 (\pm 0.01)	33	6.27	2.67	0.27	3.60
	97	2.89 (\pm 0.62)	38	5.54	3.41	0.20	2.13
	98	16.43 (\pm 3.78)	33	4.78	3.20	0.20	1.58

8 LITERATUR

1. Second WHO Report on Neglected Tropical Disease, Sustaining the Drive to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Disease. **2013**.
2. Steverding, D. The History of African Trypanosomiasis. *Parasit. Vectors* **2008**, *1* (3), 1-8.
3. Stich, A. Die afrikanische Schlafkrankheit. Eine alte Bedrohung kehrt zurück. *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, *38* (6), 546-550.
4. Steverding, D. The Development of Drugs for Treatment of Sleeping Sickness: A Historical Review. *Parasit. Vectors* **2010**, *3* (1), 1-9.
5. Dressel, J. The Discovery of Germanin by Oskar Dressel and Richard Kothe. *J. Chem. Educ.* **1961**, *38* (12), 620.
6. De Raadt, P. The History of Sleeping Sickness. Fourth International Cours on African Trypanosomoses Tunis, 11-28 October 2005.
http://www.who.int/trypanosomiasis_african/country/history/en/index.html (22.1.2013).
7. Van Hove, D. Sleeping Sickness in Zaire. *Lancet* **1997**, *349* (9049), 438.
8. Who/Cds/Csr/Isr/2000.1 Chapter 8-African Trypanosomiasis. *WHO Report on Global Surveillance of Epidemic-prone Infectious Diseases* **2000**, 95-106.
9. Simarro, P. P.; Jannin, J.; Cattand, P. Eliminating Human African Trypanosomiasis: Where Do We Stand and What Comes Next? *PLoS Med.* **2008**, *5* (2), e55.
10. Stich, A.; Steverding, D. Die Rückkehr einer Seuche: Trypanosomen. *Biol. unserer Zeit* **2002**, *32* (5), 294-302.
11. WHO Fact Sheet, Trypanosomiasis, Human African (Sleeping Sickness), Oktober 2012.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/en/> (23.01.2013).
12. Hasker, E.; Lutumba, P.; Chappuis, F.; Kande, V.; Potet, J.; De Weggheleire, A.; Kambo, C.; Depoortere, E.; Pécou, B.; Boelaert, M. Human African Trypanosomiasis in the Democratic Republic of the Congo: A Looming Emergency? *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2012**, *6* (12), e1950.
13. Simarro, P. P.; Diarra, A.; Ruiz Postigo, J. A.; Franco, J. R.; Jannin, J. G. The Human African Trypanosomiasis Control and Surveillance Programme of the World Health Organization 2000 - 2009: The Way Forward. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2011**, *5* (2), e1007.
14. Barrett, M. P.; Boykin, D. W.; Brun, R.; Tidwell, R. R. Human African Trypanosomiasis: Pharmacological Re-engagement With a Neglected Disease. *Br. J. Pharmacol.* **2007**, *152* (8), 1155-1171.
15. Brun, R.; Blum, J.; Chappuis, F.; Burri, C. Human African Trypanosomiasis. *Lancet* **2010**, *375* (9709), 148-159.
16. August, S.; Paulo, M. A.; Sanjeev, K. Human African trypanosomiasis. *BMJ* **2002**, 325.
17. Kennedy, P. G. E. The Continuing Problem of Human African Trypanosomiasis (Sleeping Sickness). *Ann. Neurol.* **2008**, *64* (2), 116-126.

18. Fairlamb, A. H. Chemotherapy of Human African Trypanosomiasis: Current and Future Prospects. *Trends Parasitol.* **2003**, *19* (11), 488-494.
19. Delespaux, V.; De Koning, H. P. Drugs and Drug Resistance in African Trypanosomiasis. *Drug Resist. Updat.* **2007**, *10* (1-2), 30-50.
20. Carter, N. S.; Fairlamb, A. H. Arsenical-Resistant Trypanosomes Lack an Unusual Adenosin Transporter. *Nature* **1993**, *361*, 173-176.
21. Legros, D.; Ollivier, G.; Gastellu-Etcheberry, M.; Paquet, C.; Burri, C.; Jannin, J.; Büscher, P. Treatment of Human African Trypanosomiasis-Present Situation and Needs for Research and Development. *Lancet Infect. Dis.* **2002**, *2* (7), 437-440.
22. Schlitzer, M. Wirkstoffe zur Behandlung der afrikanischen Schlafkrankheit. Im letzten Jahrhundert entwickelt. *Pharm. Unserer Zeit* **2009**, *38* (6), 552-558.
23. Priotto, G.; Kasparian, S.; Mutombo, W.; Ngouama, D.; Ghorashian, S.; Arnold, U.; Ghabri, S.; Baudin, E.; Buard, V.; Kazadi-Kyanza, S.; Ilunga, M.; Mutangala, W.; Pohlig, G.; Schmid, C.; Karunakara, U.; Torreele, E.; Kande, V. Nifurtimox-Eflornithine Combination Therapy for Second-Stage African Trypanosoma brucei gambiense Trypanosomiasis: A Multicentre, Randomised, Phase III, Non-Inferiority Trial. *Lancet* **2009**, *374* (9683), 56-64.
24. Ansele, J. H.; Anbazhagan, M.; Brun, R.; Easterbrook, J. D.; Hall, J. E.; Boykin, D. W. O-Alkoxyamidine Prodrugs of Furamidine: *In vitro* Transport and Microsomal Metabolism as Indicators of *in vivo* Efficacy in a Mouse Model of Trypanosoma brucei rhodesiense Infection. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (17), 4335-4338.
25. Kaiser, M.; Bray, M. A.; Cal, M.; Trunz, B. B.; Torreele, E.; Brun, R. Antitrypanosomal Activity of Fexinidazole, a New Oral Nitroimidazole Drug Candidate for Treatment of Sleeping Sickness. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55* (12), 5602-5608.
26. Torreele, E.; Bourdin Trunz, B.; Tweats, D.; Kaiser, M.; Brun, R.; Mazué, G.; Bray, M. A.; Pécou, B. Fexinidazole - A New Oral Nitroimidazole Drug Candidate Entering Clinical Development for the Treatment of Sleeping Sickness. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2010**, *4* (12), e923.
27. DNDi Fexinidazole (HAT), December 2012. <http://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/fexinidazole.html> (31.1.13).
28. Jacobs, R. T.; Nare, B.; Wring, S. A.; Orr, M. D.; Chen, D.; Sligar, J. M.; Jenks, M. X.; Noe, R. A.; Bowling, T. S.; Mercer, L. T.; Rewerts, C.; Gaukel, E.; Owens, J.; Parham, R.; Randolph, R.; Beaudet, B.; Bacchi, C. J.; Yarlett, N.; Plattner, J. J.; Freund, Y.; Ding, C.; Akama, T.; Zhang, Y. K.; Brun, R.; Kaiser, M.; Scandale, I.; Don, R. SCYX-7158, an Orally-Active Benzoxaborole for the Treatment of Stage 2 Human African Trypanosomiasis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2011**, *5* (6), e1151.
29. DNDi Press Releases 2012. <http://www.dndi.org/media-centre/press-releases/354-media-centre/press-releases/1169-oxa-phasei.html> (31.1.13).
30. Abraham, D. J. Burgers's Medicinal Chemistry & Drug Discovery. 6. Aufl., Bd. 2, Wiley-Interscience, New Jersey, **2003**, S. 37-69.
31. Mullard, A. 2012 FDA Drug Approvals. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12* (2), 87-90.

32. Tayler, J. B.; Triggle, D. J. *Comprehensive Medicinal Chemistry II*. 1. Aufl., Bd. 2, Elsevier, Oxford, **2007**, S. 99-134.
33. Tralau, T.; Luch, A. Drug-Mediated Toxicity: Illuminating the 'Bad' in the Test Tube by Means of Cellular Assays? *Trends Pharmacol. Sci.* **2012**, *33* (7), 353-364.
34. Dickson, M.; Gagnon, J. P. Key Factors in the Rising Cost of New Drug Discovery and Development. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3* (5), 417-429.
35. Bleicher, K. H.; Bohm, H. J.; Muller, K.; Alanine, A. I. Hit and Lead Generation: Beyond High-Throughput Screening. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2* (5), 369-378.
36. Wermuth, C. G. Selective Optimization of Side Activities: Another Way for Drug Discovery. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (6), 1303-1314.
37. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliver. Rev.* **1997**, *23* (1-3), 3-25.
38. Teague, S. J.; Davis, A. M.; Leeson, P. D.; Oprea, T. The Design of Leadlike Combinatorial Libraries. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38* (24), 3743-3748.
39. Hopkins, A. L.; Groom, C. R.; Alex, A. Ligand Efficiency: A Useful Metric for Lead Selection. *Drug Discov. Today* **2004**, *9* (10), 430-431.
40. Keserü, G. M.; Makara, G. M. Hit Discovery and Hit-to-Lead Approaches. *Drug Discov. Today* **2006**, *11* (15-16), 741-748.
41. Hodgson, J. ADMET-Turning Chemicals into Drugs. *Nat. Biotech.* **2001**, *19* (8), 722-726.
42. Leeson, P. D.; Springthorpe, B. The Influence of Drug-Like Concepts on Decision-Making in Medicinal Chemistry. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6* (11), 881-890.
43. Hann, M. M.; Keserü, G. M. Finding the Sweet Spot: The Role of Nature and Nurture in Medicinal Chemistry. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2012**, *11* (5), 355-365.
44. Pritchard, J. F.; Jurima-Romet, M.; Reimer, M. L. J.; Mortimer, E.; Rolfe, B.; Cayen, M. N. Making Better Drugs: Decision Gates in Non-Clinical Drug Development. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2* (7), 542-553.
45. Meanwell, N. A. Improving Drug Candidates by Design: A Focus on Physicochemical Properties as a Means of Improving Compound Disposition and Safety. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, *24* (9), 1420-1456.
46. Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H. Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (12), 2615-2623.
47. Varma, M. V. S.; Obach, R. S.; Rotter, C.; Miller, H. R.; Chang, G.; Steyn, S. J.; El-Kattan, A.; Troutman, M. D. Physicochemical Space for Optimum Oral Bioavailability: Contribution of Human Intestinal Absorption and First-Pass Elimination. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (3), 1098-1108.
48. Johnson, T. W.; Dress, K. R.; Edwards, M. Using the Golden Triangle to Optimize Clearance and Oral Absorption. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (19), 5560-5564.

49. Livingstone, D. J.; Davis, A. M. *Drug Design Strategies; Quantitative Approach*. 1. Aufl., *Royal Society of Chemistry*, Cambridge, **2011**, S. 35-59.
50. Peters, J. U.; Schnider, P.; Mattei, P.; Kansy, M. Pharmacological Promiscuity: Dependence on Compound Properties and Target Specificity in a Set of Recent Roche Compounds. *ChemMedChem*. **2009**, *4* (4), 680-686.
51. Lo, B.; Field, M. J. *Conflict of Interest in Medical Research, Education, and Practice*. 1. Aufl., *National Academies Press*, Washington DC, **2009**, S. 375-383.
52. Innovation.org, Drug Discovery and Development, February 2007. http://www.innovation.org/drug_discovery/objects/pdf/RD_Brochure.pdf (10.02.2013).
53. Moore, S.; Shrestha, S.; Tomlinson, K. W.; Vuong, H. Predicting the Effect of Climate Change on African Trypanosomiasis: Integrating Epidemiology with Parasite and Vector Biology. *J. R. Soc. Interface* **2011**, *9* (70), 817-830.
54. Baker, N.; De Koning, H. P.; Mäser, P.; Horn, D. Drug Resistance in African Trypanosomiasis: The Melarsoprol and Pentamidine Story. *Trends Parasitol.* **2013**, *29* (3), 110-118.
55. Nwaka, S.; Hudson, A. Innovative Lead Discovery Strategies for Tropical Diseases. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5* (11), 941-955.
56. Leshner, G. Y.; Froelich, E. J.; Gruett, M. D.; Bailey, J. H.; Brundage, R. P. 1,8-Naphthyridine Derivatives. A New Class of Chemotherapeutic Agents. *J. Med. Chem.* **1962**, *5* (5), 1063-1065.
57. Ball, P. Quinolone Generations: Natural History or Natural Selection? *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**, *46*, 17-24.
58. Nenortas, E.; Burri, C.; Shapiro, T. A. Antitrypanosomal Activity of Fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43* (8), 2066-2068.
59. Nenortas, E.; Kulikowicz, T.; Burri, C.; Shapiro, T. A. Antitrypanosomal Activities of Fluoroquinolones with Pyrrolidinyl Substitutions. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47* (9), 3015-3017.
60. Keiser, J.; Burri, C. Evaluation of Quinolone Derivatives for Antitrypanosomal Activity. *Trop. Med. Int. Health* **2001**, *6* (5), 369-389.
61. Niedermeier, S. 4-Chinolone als Ausgangspunkt für antiparasitäre und antivirale Wirkstoffe. Dissertation, Würzburg, **2010**.
62. Kugelmann, E. Random Chemistry-Leitstruktursuche mittels Fentons Reagenz. Dissertation, Würzburg, **2011**.
63. Kugelmann, E.; Albert, C. R.; Bringmann, G.; Holzgrabe, U. Fenton's oxidation: A tool for the investigation of potential drug metabolites. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2011**, *54* (5), 1047-1058.
64. Kapková, P.; Heller, E.; Kugelmann, E.; Faber, J.; Bringmann, G.; Kessler, U.; Folkers, G.; Holzgrabe, U. Random Chemistry as a New Tool for the Generation of Small-Compound Libraries. *Arch. Pharm.* **2006**, *339* (9), 489-497.

65. Kapková, P.; Heller, E.; Unger, M.; Folkers, G.; Holzgrabe, U. Random Chemistry as a New Tool for the Generation of Small Compound Libraries: Development of a New Acetylcholinesterase Inhibitor. *J. Med. Chem.* **2005**, *48* (23), 7496-7499.
66. Gould, R. G.; Jacobs, W. A. The Synthesis of Certain Substituted Quinolines and 5,6-Benzoquinolines. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61* (10), 2890-2895.
67. Koga, H.; Itoh, A.; Murayama, S.; Suzue, S.; Irikura, T. Structure-Activity Relationships of Antibacterial 6,7- and 7,8-Disubstituted 1-Alkyl-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic Acids. *J. Med. Chem.* **1980**, *23* (12), 1358-1363.
68. Austin, W. B.; Bilow, N.; Kelleghan, W. J.; Lau, K. S. Y. Facile Synthesis of Ethynylated Benzoic Acid Derivatives and Aromatic Compounds via Ethynyltrimethylsilane. *J. Org. Chem.* **1981**, *46* (11), 2280-2286.
69. De La Cruz, A.; Elguero, J.; Goya, P.; Martínez, A.; Pfliederer, W. Tautomerism and Acidity in 4-Quinolone-3-carboxylic Acid Derivatives. *Tetrahedron* **1992**, *48* (29), 6135-6150.
70. Chen, Y.-L.; Zacharias, J.; Vince, R.; Geraghty, R. J.; Wang, Z. C-6 Aryl Substituted 4-Quinolone-3-carboxylic Acids as Inhibitors of Hepatitis C Virus. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20* (15), 4790-4800.
71. Leyva, E.; Monreal, E.; Hernández, A. Synthesis of Fluoro-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic Acids by the Gould-Jacobs Reaction. *J. Fluorine Chem.* **1999**, *94* (1), 7-10.
72. Kappe, O. C.; Stadler, A. *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*. 2. Aufl., Wiley-VCH, Weinheim, **2005**, S. 9-28.
73. Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. Microwave Assisted Organic Synthesis-A Review. *Tetrahedron* **2001**, *57* (45), 9225-9283.
74. Kappe, C. O.; Dallinger, D. The Impact of Microwave Synthesis on Drug Discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2006**, *5* (1), 51-63.
75. Kappe, C. O.; Pieber, B.; Dallinger, D. Microwave Effects in Organic Synthesis - Myth or Reality? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2-9.
76. Gilligan, P. J.; Witty, M. J.; McGuirk, P. R. Substitute Dihydroquinoline Carboxylic Acids, Anti-Bacterial Compositions Containing Them. *Eur. Pat. Appl.* EP 0184384 A1, **1985**.
77. Hoffmann, J.; Nuchter, M.; Ondruschka, B.; Wasserscheid, P. Ionic Liquids and Their Heating Behaviour During Microwave Irradiation - A State of the Art Report and Challenge to Assessment. *Green Chem.* **2003**, *5* (3), 296-299.
78. Pearson, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85* (22), 3533-3539.
79. Makara, G.; Keser, G. M.; Kovacs, A. On the Mechanism of the Alkylation of Quinoline and Naphthyridine Derivatives. *J. Chem. Soc. Perk. T. 2* **1994**, *0* (3), 591-594.
80. Shiyutsurumu, E. Quinolonecarboxylic Acid and Bactericide Containing Same. JP19780080466, **1979**.

81. Alihodzic, S.; Berge, J. M.; Frydrych, C. S. V.; Kapic, S.; Palej, I. Preparation of macrolones erythromycin derivatives as antibacterial agents. *PCT Int. Appl.* WO 2007054296 A1, **2007**.
82. Niedermeier, S.; Singethan, K.; Rohrer, S. G.; Matz, M.; Kossner, M.; Diederich, S.; Maisner, A.; Schmitz, J.; Hiltensperger, G.; Baumann, K.; Holzgrabe, U.; Schneider-Schaulies, J. R. A Small-Molecule Inhibitor of Nipah Virus Envelope Protein-Mediated Membrane Fusion. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (14), 4257-4265.
83. Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. 7. Aufl., *Thieme Verlag KG*, Stuttgart, **2005**,
84. Aakeröy, C. B.; Beatty, A. M.; Helfrich, B. A. A High-Yielding Supramolecular Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (48), 14425-14432.
85. Gorobets, N. Y.; Yermolayev, S. A.; Gurley, T.; Gurinov, A. A.; Tolstoy, P. M.; Shenderovich, I. G.; Leadbeater, N. E. Difference Between ¹H NMR Signals of Primary Amide Protons as a Simple Spectral Index of the Amide Intramolecular Hydrogen Bond Strength. *J. Phys. Org. Chem.* **2012**, 25 (4), 287-295.
86. Metzger, J. O. Solvent-Free Organic Syntheses. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37 (21), 2975-2978.
87. Heravi, M. M.; Jaddi, Z. S.; Oskooie, H. A.; Khaleghi, S.; Ghassemzadeh, M. Regioselective Synthesis of Quinolone Antibacterials via Borate Complex of Quinolone Carboxylic Acid. *J. Chem. Res.* **2005**, 2005 (9), 578-579.
88. Su, D. S.; Meng, D.; Bertinato, P.; Balog, A.; Sorensen, E. J.; Danishefsky, S. J.; Zheng, Y. H.; Chou, T. C.; He, L.; Horwitz, S. B. Total Synthesis of (-)-Epothilone B: An Extension of the Suzuki Coupling Method and Insights into Structure-Activity Relationships of the Epothilones. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, 36 (7), 757-759.
89. Kobayashi, Y.; Shimazaki, T.; Taguchi, H.; Sato, F. Highly Stereocontrolled Total Synthesis of Leukotriene B₄, 20-Hydroxyleukotriene B₄, Leukotriene B₃, and their Analogs. *J. Org. Chem.* **1990**, 55 (19), 5324-5335.
90. Magano, J.; Dunetz, J. R. Large-Scale Applications of Transition Metal-Catalyzed Couplings for the Synthesis of Pharmaceuticals. *Chem. Rev.* **2011**, 111 (3), 2177-2250.
91. Miyaura, N.; Suzuki, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem. Rev.* **1995**, 95 (7), 2457-2483.
92. Barnard, C. Palladium-Catalysed CC Coupling: Then and Now. *Platinums Metals Rev.* **2008**, 52 (1), 38-45.
93. Zhang, P.; Cedilote, M.; Cleary, T. P.; Pierce, M. E. Mono-Nitration of Aromatic Compounds via Their Nitric Acid Salts. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48 (49), 8659-8664.
94. Callow, R. K.; Gulland, J. M.; Haworth, R. D. CLXXXV. Synthetical Experiments on the Aporphine Alkaloids. Part VI. isoThebaine. Attempted Syntheses of 3,4,5-trimethoxyaporphine. *J. Chem. Soc.* **1929**, (0), 1444-1456.
95. Bandgar, B. P.; Nikat, S. M.; Wadgaonkar, P. P. The Reduction of Aromatic Oximes to Amines with Borohydride Exchange Resin-Nickel Acetate System. *Synthetic Commun.* **1995**, 25 (6), 863-869.

96. Pattabiraman, V. R.; Bode, J. W. Rethinking Amide Bond Synthesis. *Nature* **2011**, *480* (7378), 471-479.
97. Rätz, B.; Iten, M.; Grether-Bühler, Y.; Kaminsky, R.; Brun, R. The Alamar Blue® Assay to Determine Drug Sensitivity of African Trypanosomes (*T. b. rhodesiense* and *T. b. gambiense*) *in vitro*. *Acta Trop.* **1997**, *68* (2), 139-147.
98. Ansar Ahmed, S.; Gogal Jr, R. M.; Walsh, J. E. A New Rapid and Simple Non-Radioactive Assay to Monitor and Determine the Proliferation of Lymphocytes: An Alternative to [³H]Thymidine Incorporation Assay. *J. Immunol. Methods* **1994**, *170* (2), 211-224.
99. Grohe, K.; Heitzer, H. Cycloaracylierung von Enaminen, I. Synthese von 4-Chinolon-3-carbonsäuren. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, *1987* (1), 29-37.
100. Grohe, K.; Schriewer, M.; Zeiler, H. J.; Metzger, K. G. Alkyl-1-cyclopropyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic Acids, Process for Their Preparation, and Antibacterial Agents Containing Them. *Eur. Pat. Appl.* DE 3441788 A1, **1986**.
101. Jürgens, J. Synthese, mikrobiologische Testung und Ableitung quantitativer Struktur-Wirkungs-Beziehungen N-1 arylsubstituierter Fluorchinolone. Dissertation, Bonn, **1994**.
102. Jürgens, J.; Schedletzky, H.; Heisig, P.; Seydel, J. K.; Wiedemann, B.; Holzgrabe, U. Synthesis and Biological Activities of New N1-Aryl Substituted Quinolone Antibacterials. *Arch. Pharm.* **1996**, *329*, 179-190.
103. Chu, D. T. W.; Fernandes, P. B.; Claiborne, A. K.; Pihuleac, E.; Nordeen, C. W.; Maleczka, R. E., Jr.; Pernet, A. G. Synthesis and Structure-Activity Relationships of Novel Arylfluoroquinolone Antibacterial Agents. *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 1558-64.
104. Renau, T. E.; Sanchez, J. P.; Shapiro, M. A.; Dever, J. A.; Gracheck, S. J.; Domagala, J. M. Effect of Lipophilicity at N-1 on Activity of Fluoroquinolones against Mycobacteria *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2974-2977.
105. Senger, N. A.; Bo, B.; Cheng, Q.; Keeffe, J. R.; Gronert, S.; Wu, W. The Element Effect Revisited: Factors Determining Leaving Group Ability in Activated Nucleophilic Aromatic Substitution Reactions. *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (21), 9535-9540.
106. Hall, H. K. Correlation of the Nucleophilic Reactivity of Aliphatic Amines. *J. Org. Chem.* **1964**, *29* (12), 3539-3544.
107. Bartoli, G.; Todesco, P. E. Nucleophilic Substitution. Linear Free Energy Relations Between Reactivity and Physical Properties of Leaving Groups and Substrates. *Acc. Chem. Res.* **1977**, *10* (4), 125-132.
108. Cox, B. G.; Parker, A. J. Solvation of Ions. XVIII. Protic-dipolar Aprotic Solvent Effects on the Free Energies, Enthalpies, and Entropies of Activation of an S_NAr Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95* (2), 408-410.
109. Vasudevan, D.; Bruland, G. L.; Torrance, B. S.; Upchurch, V. G.; Mackay, A. A. pH-Dependent Ciprofloxacin Sorption to Soils: Interaction Mechanisms and Soil Factors Influencing Sorption. *Geoderma* **2009**, *151* (3-4), 68-76.

110. Peters, J. U.; Hert, J.; Bissantz, C.; Hillebrecht, A.; Gerebtzoff, G.; Bendels, S.; Tillier, F.; Migeon, J.; Fischer, H.; Guba, W.; Kansy, M. Can We Discover Pharmacological Promiscuity Early in the Drug Discovery Process? *Drug Discov. Today* **2012**, *17* (7-8), 325-335.
111. Azzaoui, K.; Hamon, J.; Faller, B.; Whitebread, S.; Jacoby, E.; Bender, A.; Jenkins, J. L.; Urban, L. Modeling Promiscuity Based on *in vitro* Safety Pharmacology Profiling Data. *ChemMedChem*. **2007**, *2* (6), 874-880.
112. Montay, G.; Goueffon, Y.; Roquet, F. Absorption, Distribution, Metabolic Fate, and Elimination of Pefloxacin Mesylate in Mice, Rats, Dogs, Monkeys, and Humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1984**, *25* (4), 463-472.
113. Hagenbuch, B.; Meier, P. J. The Superfamily of Organic Anion Transporting Polypeptides. *BBA-Biomembranes* **2003**, *1609* (1), 1-18.
114. Giacomini, K. M.; Huang, S.; Tweedie, D. J.; Benet, L. Z.; Brouwer, K. L. R.; Chu, X.; Dahlin, A.; Evers, R.; Fischer, V.; Hillgren, K. M.; Hoffmaster, K. A.; Ishikawa, T.; Keppler, D.; Kim, R. B.; Lee, C. A.; Niemi, M.; Polli, J. W.; Sugiyama, Y.; Swaan, P. W.; Ware, J. A.; Wright, S. H.; Yee, S. W.; Zamek-Gliszczynski, M. J.; Zhang, L. Membrane Transporters in Drug Development. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9* (3), 215-236.
115. Kalliokoski, A.; Niemi, N. Impact of OATP Transporters on Pharmacokinetics. *Br. J. Pharmacol.* **2009**, *158*, 693-705.
116. Li, A. P.; Carver, J. H.; Choy, W. N.; Hsie, A. W.; Gupta, R. S.; Loveday, K. S.; O'Neill, J. P.; Riddle, J. C.; Stankowski Jr, L. F.; Yang, L. L. A Guide for the Performance of the Chinese Hamster Ovary Cell/Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyl Transferase Gene Mutation Assay. *Mutat. Res.* **1987**, *189* (2), 135-141.
117. Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavec, M.; Roth, H. J. Medizinische Chemie. 2. Aufl., *Deutscher Apotheker Verlag*, Stuttgart, **2012**,
118. Schmidt, S.; Gonzalez, D.; Derendorf, H. Significance of Protein Binding in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *J. Pharm. Sci.* **2010**, *99* (3), 1107-1122.
119. Hörst, A. Aspekte der Bestimmung des Ausmaßes der Proteinbindung mittels kontinuierlicher Ultrafiltration. Dissertation, Würzburg, **2013**.
120. Kelder, J.; Grootenhuys, P. J.; Bayada, D.; Delbressine, L. C.; Ploemen, J. P. Polar Molecular Surface as a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs. *Pharm. Res.* **1999**, *16* (10), 1514-1519.
121. Förster, C.; Silwedel, C.; Golenhofen, N.; Burek, M.; Kietz, S.; Mankertz, J.; Drenckhahn, D. Occludin as Direct Target for Glucocorticoid-Induced Improvement of Blood-Brain Barrier Properties in a Murine *in vitro* System. *J. Physiol.* **2005**, *565* (2), 475-486.
122. Shaik, S.; Kumar, D.; De Visser, S. P.; Altun, A.; Thiel, W. Theoretical Perspective on the Structure and Mechanism of Cytochrome P450 Enzymes. *Chem. Rev.* **2005**, *105* (6), 2279-2328.
123. Margittai, É.; Bánhegyi, G. Isocitrate Dehydrogenase: A NADPH-Generating Enzyme in the Lumen of the Endoplasmic Reticulum. *Arch. Biochem. Biophys.* **2008**, *471* (2), 184-190.

124. Sissi, C.; Palumbo, M. In Front of and Behind the Replication Fork: Bacterial Type IIA Topoisomerases. *Cell. Mol. Life Sci.* **2010**, *67* (12), 2001-2024.
125. Fàbrega, A.; Madurga, S.; Giralt, E.; Vila, J. Mechanism of Action of and Resistance to Quinolones. *Microb. Biotechnol.* **2009**, *2* (1), 40-61.
126. Kohanski, M. A.; Dwyer, D. J.; Collins, J. J. How Antibiotics Kill Bacteria: From Targets to Networks. *Nat. Rev. Micro.* **2010**, *8* (6), 423-435.
127. Shen, L. L.; Mitscher, L. A.; Sharma, P. N.; O'donnell, T. J.; Chu, D. W. T.; Cooper, C. S.; Rosen, T.; Pernet, A. G. Mechanism of Inhibition of DNA Gyrase by Quinolone Antibacterials: A Cooperative Drug-DNA Binding Model. *Biochemistry* **1989**, *28* (9), 3886-3894.
128. Wohlkonig, A.; Chan, P. F.; Fosberry, A. P.; Homes, P.; Huang, J.; Kranz, M.; Leydon, V. R.; Miles, T. J.; Pearson, N. D.; Perera, R. L.; Shillings, A. J.; Gwynn, M. N.; Bax, B. D. Structural Basis of Quinolone Inhibition of Type IIA Topoisomerases and Target-Mediated Resistance. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2010**, *17* (99), 1152-1153.
129. Hiltensperger, G.; Jones, N. G.; Niedermeier, S.; Stich, A.; Kaiser, M.; Jung, J.; Puhl, S.; Damme, A.; Braunschweig, H.; Meinel, L.; Engstler, M.; Holzgrabe, U. Synthesis and Structure-Activity Relationships of New Quinolone-Type Molecules against *Trypanosoma brucei*. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (6), 2538-2548.
130. Shapiro, T. A.; Englund, P. T. The Structure and Replication of Kinetoplast DNA. *Ann. Rev. Microbiol.* **1995**, *49*, 117-143.
131. Höfelschweiger, B. K. The Pyrylium Dyes: A New Class of Biolabels. Synthesis, Spectroscopy, and Application as Labels and in General Protein Assay. Dissertation, Regensburg, **2005**.
132. Heller, E.; Klöckner, J.; Lautenschläger, W.; Holzgrabe, U. Online Monitoring of Microwave-Enhanced Reactions by UV/Vis Spectroscopy. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *2010* (19), 3569-3573.
133. Chichak, K. S.; Peters, A. J.; Cantrill, S. J.; Stoddart, J. F. Nanoscale Borromean Rings. *J. Org. Chem.* **2005**, *70* (20), 7956-7962.
134. Johansson, M. K.; Cook, R. M. Intramolecular Dimers: A New Design Strategy for Fluorescence-Quenched Probes. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9* (15), 3466-3471.
135. Wouters, J.; Quere, L. Pharmaceutical Salts and Co-crystals. 1. Aufl., *Royal Society of Chemistry*, Cambridge, **2011**,
136. Jain, N.; Yang, G.; Machatha, S. G.; Yalkowsky, S. H. Estimation of the Aqueous Solubility of Weak Electrolytes. *Int. J. Pharm.* **2006**, *319* (1-2), 169-171.
137. Bhattachar, S. N.; Deschenes, L. A.; Wesley, J. A. Solubility: It's Not Just for Physical Chemists. *Drug Discov. Today* **2006**, *11* (21-22), 1012-1018.
138. Mafra, L.; Santos, S. M.; Siegel, R.; Alves, I.; Almeida Paz, F. A.; Dudenko, D.; Spiess, H. W. Packing Interactions in Hydrated and Anhydrous Forms of the Antibiotic Ciprofloxacin: a Solid-State NMR, X-ray Diffraction, and Computer Simulation Study. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *134* (1), 71-74.

139. Amidon, G. L.; Lennernäs, H.; Shah, V. P.; Crison, J. R. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of *in vitro* Drug Product Dissolution and *in vivo* Bioavailability. *Pharm. Res.* **1995**, *13* (3), 413-420.
140. Stegemann, S.; Leveiller, F.; Franchi, D.; De Jong, H.; Lindén, H. When Poor Solubility Becomes an Issue: From Early Stage to Proof of Concept. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2007**, *31* (5), 249-261.
141. Miyako, Y.; Tai, H.; Ikeda, K.; Kume, R.; Pinal, R. Solubility Screening on a Series of Structurally Related Compounds: Cosolvent-Induced Changes on the Activity Coefficient of Hydrophobic Solutes. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **2008**, *34* (5), 499-505.
142. Pouton, C. W. Lipid Formulations for Oral Administration of Drugs: Non-Emulsifying, Self-Emulsifying and 'Eelf-Microemulsifying' Drug Delivery Systems. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2000**, *11* (Suppl. 2), 93-S98.
143. Porter, C. J. H.; Trevaskis, N. L.; Charman, W. N. Lipids and Lipid-Based Formulations: Optimizing the Oral Delivery of Lipophilic Drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, *6* (3), 231-248.
144. Lückel, B. Microemulsion Formulations Comprising Substance P Antagonists. *PCT Int. Appl.* WO 2005074891 A1, **2005**.
145. Williams, R. O.; Watts, A. B.; Miller, D. A. Formulating Poorly Water Soluble Drugs. *Springer*, New York, Dordrecht, Heidelberg, London, **2012**.
146. Leuner, C.; Dressman, J. Improving Drug Solubility for Oral Delivery Using Solid Dispersions. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2000**, *50* (1), 47-60.
147. Berezhkovskiy, L. M. Volume of Distribution at Steady State for a Linear Pharmacokinetic System with Peripheral Elimination. *J. Pharm. Sci.* **2004**, *93* (6), 1628-1640.
148. Lee, J.; Lee, J.; Kang, M.; Shin, M.; Kim, J. M.; Kang, S. U.; Lim, J. O.; Choi, H.-K.; Suh, Y. G.; Park, H. G.; Oh, U.; Kim, H. D.; Park, Y. H.; Ha, H. J.; Kim, Y. H.; Toth, A.; Wang, Y.; Tran, R.; Pearce, L. V.; Lundberg, D. J.; Blumberg, P. M. *N*-(3-Acyloxy-2-benzylpropyl)-*N'*-[4-(methylsulfonylamino)benzyl]thiourea Analogues: Novel Potent and High Affinity Antagonists and Partial Antagonists of the Vanilloid Receptor. *J. Med. Chem.* **2003**, *46* (14), 3116-3126.
149. Datta, S.; Grant, D. J. W. Crystal Structures of Drugs: Advances in Determination, Prediction and Engineering. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, *3* (1), 42-57.
150. Serajuddin, A. T. M. Salt Formation to Improve Drug Solubility. *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2007**, *59* (7), 603-616.
151. Vishweshwar, P.; McMahon, J. A.; Bis, J. A.; Zaworotko, M. J. Pharmaceutical Co-Crystals. *J. Pharm. Sci.* **2006**, *95* (3), 499-516.
152. Elder, D. P.; Holm, R.; Diego, H. L. D. Use of Pharmaceutical Salts and Co-Crystals to Address the Issue of Poor Solubility. *Int. J. Pharm.* (in press).

153. Steiner, G.; Franke, A.; Haedicke, E.; Lenke, D.; Teschendorf, H. J.; Hofmann, H. P.; Kreiskott, H.; Worstmann, W. Tricyclic Epines. Novel (E)- and (Z)-11H-Dibenz[b,e]azepines as Potential Central Nervous System Agents. Variation of the Basic Side Chain. *J. Med. Chem.* **1986**, *29* (10), 1877-1888.
154. Nicholas, J.; Morgan-Followell, B.; Pitt, D.; Racke, M. K.; Boster, A. New and Emerging Disease-Modifying Therapies for Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: What is New and What is to Come. *J. Cent. Nerv. Syst. Dis.* **2012**, *4*, 81-103.
155. Tedesco, R.; Shaw, A. N.; Bambal, R.; Chai, D.; Concha, N. O.; Darcy, M. G.; Dhanak, D.; Fitch, D. M.; Gates, A.; Gerhardt, W. G.; Halegoua, D. L.; Han, C.; Hofmann, G. A.; Johnston, V. K.; Kaura, A. C.; Liu, N.; Keenan, R. M.; Lin-Goerke, J.; Sarisky, R. T.; Wiggall, K. J.; Zimmerman, M. N.; Duffy, K. J. 3-(1,1-Dioxo-2H-(1,2,4)-benzothiadiazin-3-yl)-4-hydroxy-2(1H)-quinolinones, Potent Inhibitors of Hepatitis C Virus RNA-Dependent RNA Polymerase. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (3), 971-983.
156. Jönsson, S.; Andersson, G.; Fex, T.; Fristedt, T.; Hedlund, G.; Jansson, K.; Abramo, L.; Fritzson, I.; Pekarski, O.; Runström, A.; Sandin, H.; Thuvesson, I.; Björk, A. Synthesis and Biological Evaluation of New 1,2-Dihydro-4-hydroxy-2-oxo-3-quinolinecarboxamides for Treatment of Autoimmune Disorders: Structure-Activity Relationship. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (8), 2075-2088.
157. Wennerberg, J.; Björk, A.; Fristedt, T.; Granquist, B.; Jansson, K.; Thuvesson, I. Development of a Practical and Reliable Synthesis of Laquinimod. *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11* (4), 674-680.
158. Sperotto, E.; Van Klink, G. P. M.; Van Koten, G.; De Vries, J. G. The Mechanism of the Modified Ullmann Reaction. *Dalton Trans.* **2010**, *39* (10338-10351).
159. Martin, A.; Pellón, R. F.; Mesa, M.; Docampo, M. L.; Gómez, V. Microwave-Assisted Synthesis of *N*-Phenylanthranilic Acids in Water. *J. Chem. Res.* **2005**, *9*, 561-563.
160. O'Neill, B. T. A Process for Preparing Quinolone Carboxylic Acid Intermediates. *Eur. Pat. Appl.* EP 0370686 A2, **1989**.
161. Docampo, M. L.; Pellón, R. F.; Estevez-Braun, A.; Ravelo, A. G. Ultrasound-Promoted Reaction of 2-Chlorobenzoic Acids and Aliphatic Amines. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, (2007), 4111-4115.
162. Zeng, L.; Fu, H.; Qiao, R.; Jiang, Y.; Zhao, Y. Efficient Copper-Catalyzed Synthesis of *N*-Alkylanthranilic Acids via an *ortho*-Substituent Effect of the Carboxyl Group of 2-Halobenzoic Acids at Room Temperature. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351* (10), 1671-1676.
163. Beutner, G. L.; Kuethe, J. T.; Yasuda, N. A Practical Method for Preparation of 4-Hydroxyquinolinone Esters. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (18), 7058-7061.
164. Jansson, K.; Fristedt, T.; Olsson, A.; Svensson, B.; Jönsson, S. Synthesis and Reactivity of Laquinimod, a Quinoline-3-carboxamide: Intramolecular Transfer of the Enol Proton to a Nitrogen Atom as a Plausible Mechanism for Ketene Formation. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (4), 1658-1667.
165. Aakeröy, C. B.; Beatty, A. M.; Helfrich, B. A. "Total Synthesis" Supramolecular Style: Design and Hydrogen-Bond-Directed Assembly of Ternary Supermolecules. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40* (17), 3240-3242.

166. Nakamoto, K.; Tsukada, I.; Tanaka, K.; Matsukura, M.; Haneda, T.; Inoue, S.; Ueda, N.; Abe, S.; Hata, K.; Watanabe, N. Preparation of Heterocyclic Compounds as Antifungal Agents. *PCT Int. Appl.* WO 2006016548 A1, **2005**.
167. Löber, O.; Benisch, C.; Ebel, K.; Johann, P. Verfahren zur Herstellung von Aminoalkoxybenzylaminen und Aminoalkoxybenzonnitrilen als Zwischenprodukte. *Ger. Offen.* DE 10235312 A1, **2004**.
168. Kellenberger, J. L.; Dreier, J.; Reinelt, S. B. Preparation of Clarithromycin Macrolide Derivatives as Antiinflammatory Agents. *PCT Int. Appl.* WO 2009106419 A1, **2009**.
169. Kohlmann, A.; Zech, S. G.; Li, F.; Zhou, T.; Squillace, R. M.; Commodore, L.; Greenfield, M. T.; Lu, X.; Miller, D. P.; Huang, W. S.; Qi, J.; Thomas, R. M.; Wang, Y.; Zhang, S.; Dodd, R.; Liu, S.; Xu, R.; Xu, Y.; Miret, J. J.; Rivera, V.; Clackson, T.; Shakespeare, W. C.; Zhu, X.; Dalgarno, D. C. Fragment Growing and Linking Lead to Novel Nanomolar Lactate Dehydrogenase Inhibitors. *J. Med. Chem.* **2013**, *56* (3), 1023-1040.
170. Brunette, S. R.; Kim, J. M.; Lemieux, R. M.; Tschantz, M. A. Preparation of Pyridine Derivatives Useful as Inhibitors of PKC-Theta for Treating Various Diseases. *U.S. Pat. Appl. Publ.* US 20060217417 A1, **2006**.
171. Tabarrini, O.; Stevens, M.; Cecchetti, V.; Sabatini, S.; Dell'Uomo, M.; Manfroni, G.; Palumbo, M.; Pannecouque, C.; De Clercq, E.; Fravolini, A. Structure Modifications of 6-Aminoquinolones with Potent Anti-HIV Activity. *J. Med. Chem.* **2004**, *47* (22), 5567-5578.
172. Childs, S. L.; Stahly, G. P.; Park, A. The Salt-Cocrystal Continuum: The Influence of Crystal Structure on Ionization State. *Mol. Pharm.* **2007**, *4* (3), 323-338.
173. Evans, R. F.; Kynastan, W. Infrared Spectra and Hydrogen Bonding in Pyridine Derivatives. *J. Chem. Soc.* **1962**, *1962*, 1005-1008.
174. Schultes, S.; De Graaf, C.; Haaksma, E. E. J.; De Esch, I. J. P.; Leurs, R.; Krämer, O. Ligand Efficiency as a Guide in Fragment Hit Selection and Optimization. *Drug Discov. Today* **2010**, *7* (3), 157-162.
175. Smith, D. A.; Di, L.; Kerns, E. H. The Effect of Plasma Protein Binding on *in vivo* Efficacy: Misconceptions in Drug Discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, *9* (12), 929-939.
176. Stein, C. A. Suramin: A Novel Antineoplastic Agent with Multiple Potential Mechanisms of Action. *Cancer Res.* **1993**, *53*, 2239-2248.
177. Condren, M. E.; Bradshaw, M. D. Ivacaftor: A Novel Gene-Based Therapeutic Approach for Cystic Fibrosis. *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.* **2013**, *18* (1), 8-13.
178. Hubatsch, I.; Ragnarsson, E. G. E.; Artursson, P. Determination of Drug Permeability and Prediction of Drug Absorption in Caco-2 Monolayers. *Nat. Protocols* **2007**, *2* (9), 2111-2119.
179. Di, L.; Kerns, E. H.; Hong, Y.; Chen, H. Development and Application of High Throughput Plasma Stability Assay for Drug Discovery. *Int. J. Pharm.* **2005**, *297* (1-2), 110-119.

180. Sirius T3 Instruction Manual. Revision 1.0, East Sussex, **2009**,
181. Henderson, L. J. Concerning the Relationship Between the Strength of Acid and Their Capacity to Preserve Neutrality. *Am. J. Physiol.* **1908**, *21* (2), 173-179.
182. Hansch, C.; Leo, A.; Hoekman, D. Exploring QSAR. Hydrophobic, electronic and steric constants. 4. Aufl., *American Chemical Society*, Washington DC, **1995**,
183. Sheldrick, G. M. A Short History of SHELX. *Acta Crystallogr. A* **2008**, *64* (1), 112-122.
184. Autorenkollektiv Organikum. 16. Aufl., *VEB Deutscher Verlag der Wissenschaft*, Berlin, **1986**, S. 638-660.
185. Smith, K.; Musson, A.; Deboos, G. A. A Novel Method for the Nitration of Simple Aromatic Compounds. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (23), 8448-8454.
186. Vice, S.; Bara, T.; Bauer, A.; Evans, C. A.; Ford, J.; Josien, H.; Mc Combie, S.; Miller, M.; Nazareno, D.; Palani, A.; Tagat, J. Concise Formation of 4-Benzyl Piperidines and Related Derivatives Using a Suzuki Protocol. *J. Org. Chem.* **2001**, *66* (7), 2487-2492.
187. Gunanathan, C.; Milstein, D. Selective Synthesis of Primary Amines Directly from Alcohols and Ammonia. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (45), 8661-8664.
188. Muth, M. Synthese und Charakterisierung allosterer Modulatoren muscarinischer M2-Rezeptoren - Strukturvariationen der Bis(ammonium)alkan Verbindung W84. Dissertation, Würzburg, **2004**.