

**Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät Chemie und Pharmazie der
Ludwig-Maximilians-Universität München**



**Analyse von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen in der
ersten Stoffklasse von allosterischen Inhibitoren der
PARP14MD2**

Kerstin Jutta Mautner

aus

Passau

2016

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 7 der Promotionsordnung vom 28. November 2011 von Herrn Prof. Dr. Franz Bracher betreut.

Eidesstattliche Versicherung

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den 05.02.2016

Kerstin J. Mautner

Dissertation eingereicht am: 08.02.2016
1. Gutachter: Prof. Dr. Franz Bracher
2. Gutachter: Prof. Dr. Franz Paintner
Mündliche Prüfung am: 08.04.2016

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Franz Bracher für seine engagierte und stets wohlwollende Unterstützung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt ebenso den Mitgliedern der Prüfungskommission, insbesondere Herrn Prof. Dr. Franz Paintner für die freundliche Übernahme des Koreferats.

Ferner danke ich:

Herrn Prof. Dr. Stefan Knapp, Prof. Dr. Benedikt Kessler, Dr. Jon Elkins und Dr. Oleg Fedorov vom Structural Genomics Consortium in Oxford, sowie deren Mitarbeitern Octovia Monteiro, James Bennett und vor allem Marion Schuller für die Durchführung der Macrodomein-Screenings.

Den Teams der Analytikabteilungen der Chemie und Pharmazie um die Herrn Dr. Werner Spahl und Dr. Lars Allmendinger für die Durchführung NMR-, IR-spektroskopischer und massenspektrometrischer Messungen und die Hilfe bei analytischen Fragestellungen.

Frau Martina Stadler für die Durchführung der Agar-Diffusions-Tests und der MTT-Assays, sowie für das Abwiegen unzähliger Substanzproben.

Frau Uschi Kopp und Frau Melanie Pfoser für ihre umfassende Unterstützung in organisatorischen Fragen.

Ich danke allen aktuellen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises für die stets gute Zusammenarbeit. Außerdem danke ich Herrn Dr. Christoph Müller für die Unterstützung bei der Bestimmung der HPLC-Reinheiten.

Ganz besonders danke ich Frau Dr. Sandra Hemmers für die erstklassige Zusammenarbeit in Lehre und Studentenbetreuung, sowie Herrn Dr. Marco Keller für die Beherbergung in seinem Büro.

Meinen Laborkollegen Christian Aigner, Dr. Alois Plodek sowie Dr. Jürgen Krauss möchte ich für die unvergessliche Zeit in C2.028 danken.

Mein größter Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, insbesondere meinen Eltern, die mir so vieles ermöglicht haben.

Besonders danken möchte ich an dieser Stelle auch Falko, auf den ich mich immer verlassen kann.

... für Falke

... für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Proteom und posttranslationale Proteinmodifikationen (PTMs)	1
1.2	NAD ⁺ und NADP ⁺ aus Niacin	3
1.3	Das Writer-Reader-Eraser-Konzept.....	4
1.4	Macrodomain-containing-proteins (MCP)	6
1.5	Poly(ADP-Ribose)-Polymerasen (PARPs)	7
2.	Themenstellung und Syntheseplanung.....	13
2.1	Themenstellung	13
2.1.1	Aufbau eines Assays für ein Macrodomain-high-throughput-screening durch unseren Kooperationspartner in Oxford	13
2.1.2	N-(2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl)acetamid (1) als Leitstruktur	14
2.1.3	Variationen der Leitstruktur	16
2.2	Syntheseplanung	18
2.2.1	Variationen der Acetamidfunktion der Leitstruktur 1	18
2.2.2	Variationen des Phenylsubstituenten	19
2.2.3	Variationen des Carbazolgrundkörpers	21
3.	Synthesen	33
3.1	Variationen der Amidgruppe	33
3.1.1	Aliphatische lineare und cyclische Carbonsäureamide	34
3.1.2	(Hetero)aromatische Carbonsäureamide	35
3.1.3	Sulfonsäureamide	36
3.1.4	Weitere Variationen an der Amidfunktion	37
3.1.5	Diskussion der ersten Testergebnisse	43
3.2	Variationen des Phenylrings	48
3.2.1	Exkurs: Bioisosterie	48
3.2.2	Bioisostere Variationen des Phenylrings	49
3.2.3	Bachelorarbeit Britta Hettich.....	53

3.2.4 Testergebnisse der Verbindungen mit Variationen des Phenylrings und Diskussion	57
3.3 Variationen an Ring A der Leitstruktur 1	60
3.3.1 β -Carbolin-Analoga	61
3.3.2 Testergebnisse und Diskussion	62
3.4 Variationen des Pyrrol-Rings (Ring B) der Leitstruktur 1	63
3.4.1 N-substituierte Carbazole	63
3.4.2 Bachelorarbeit Carina Glas	65
3.4.3 Bioisostere	67
3.4.4 Seco-Verbindung und Acridon-Analogon	68
3.4.5 Ergebnisse der biologischen Testung der Verbindungen mit Variationen an Ring B und Diskussion	73
3.5 Variationen an Ring C der Leitstruktur 1	78
3.5.1 Exkurs: Buchwald-Liganden in Palladium-katalysierten Kreuzkupplungen	80
3.5.2 α -Carbolin-Analogon	82
3.5.3 Tetrahydrocarbazol-Analogon der Leitstruktur 1	84
3.5.4 Aza-Analogon des Tetrahydrocarbazols 51	85
3.5.5 Flexible Einführung von Substituenten an Ring C	87
3.5.6 Indol-Derivate	91
3.5.7 Ergebnisse der biologischen Testung und Diskussion	92
4. Biologische Testung	97
4.1 Methoden	97
4.1.1 ALPHA-Screen	97
4.1.2 ITC (Isotherme Titrationskalorimetrie)	98
4.1.3 BLI (Bio-Layer Interferometrie)	99
4.2 Hochdurchsatz-Screening vor Beginn dieser Arbeit	100
4.3 Testergebnisse zu den Verbindungen aus dieser Arbeit	101
4.4 Diskussion der Testergebnisse	111
4.5 Agar-Diffusions-Test	117
4.5.1 Beschreibung der Testung	117

4.5.2 Testergebnisse und Diskussion	118
4.6 MTT-Test	119
4.6.1 Beschreibung der Testung	119
4.6.2 Testergebnisse und Diskussion	120
5. Zusammenfassung und Ausblick	123
5.1 Synthesen	123
5.2 Biologische Testung	135
5.3 Ausblick	141
6. Experimenteller Teil.....	143
6.1 Geräte und Parameter	143
6.2 Beschreibung der Substanzen	146
6.3 Arbeitsmethoden biologische Testung	285
6.3.1 ALPHA-Screen.....	285
6.3.2 ITC (Isotherme Titrationskalorimetrie)	286
6.3.3 BLI (Bio-Layer-Interferometrie)	287
6.3.4 Agar-Diffusions-Test.....	287
6.3.5 MTT-Test	288
6.3.6 Proteinkristallographie	289
7. Abkürzungsverzeichnis	291
8. Literaturverzeichnis.....	297

1. Einleitung

1.1 Proteom und posttranslationale Proteinmodifikationen (PTMs)

Das Genom umfasst alle vererbaren Informationen eines Individuums. Die darin enthaltenen Informationen werden jedoch weiter verarbeitet: Die DNA wird durch Transkription in die entsprechende RNA übersetzt; Die RNA wird dann prozessiert und nachfolgend durch Translation in die entsprechenden Proteine übersetzt (vgl. Abb.1). Mit jedem Schritt nimmt dabei die Vielfalt und Komplexität zu.

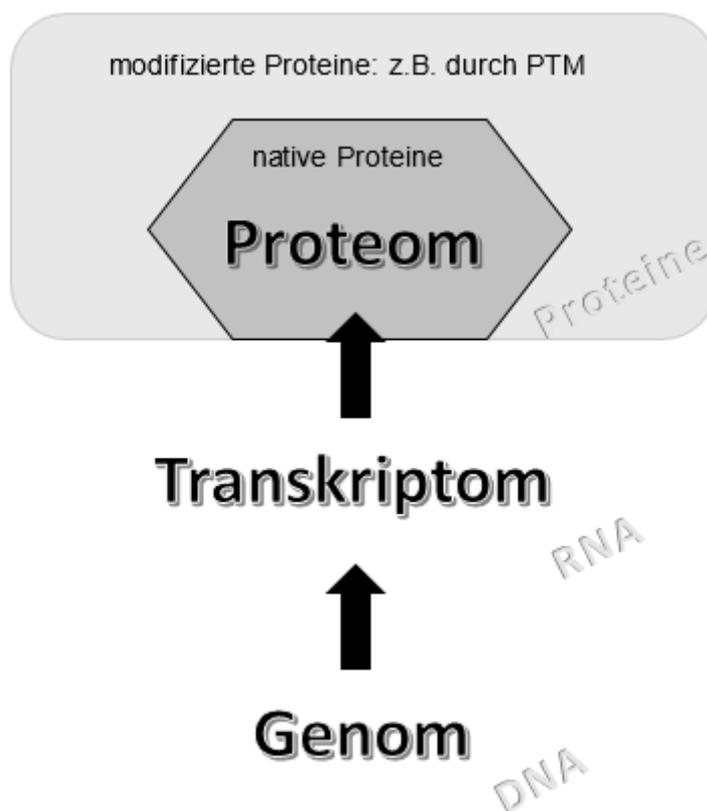


Abbildung 1: Vom Genom zum Proteom

Der Begriff Proteom beschreibt nicht nur alle im Genom direkt codierten Proteine, sondern umfasst die Gesamtheit aller Proteinisoformen und deren Modifikationen einer Zelle bzw. eines Organismus (vgl. Abb. 2) zu einem bestimmten Zeitpunkt und unter definierten Umständen. Während das Genom eine feste Menge an Informationen

beinhaltet, umfasst das Proteom alle im Genom codierten Proteine, aber zusätzlich auch noch alle alternativen Splice-Formen davon, alle nachträglich modifizierten Proteine, alle während des Proteinabbaus auftretenden Zwischenstufen, sowie alle durch Zusammenlagerung von einzelnen Proteinen entstehenden Komplexe. Das Forschungsfeld der Proteomik beschäftigt sich folglich mit der strukturellen Beschreibung von Proteinen und deren Interaktionen untereinander (insbesondere auch in Multi-Protein-Komplexen).^{[3], [4]}

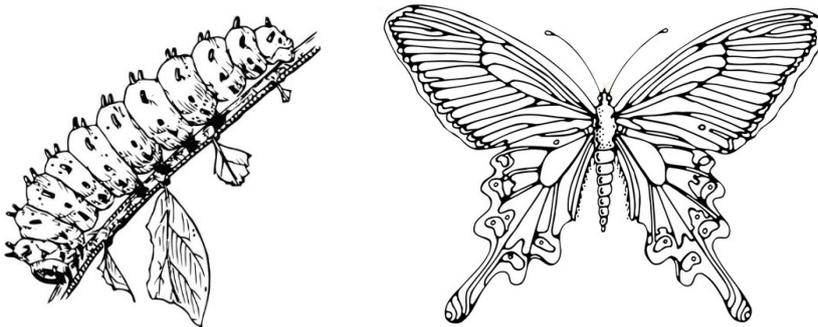


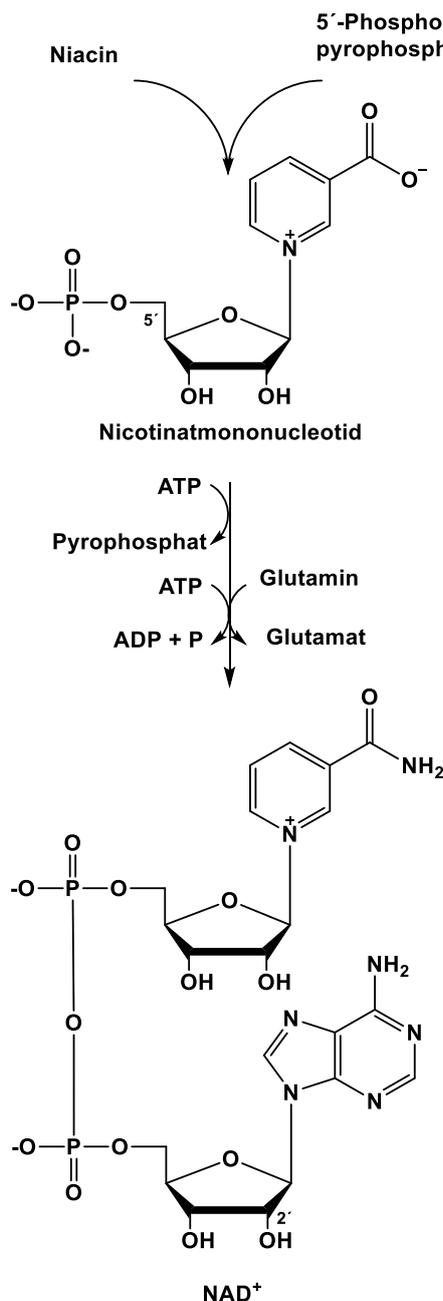
Abbildung 2: Gleiches Genom – unterschiedliches Proteom^{[1], [2]}

Im Jahr 2014 haben die Gruppen um Gowda & Pandey sowie Färber & Kuster unabhängig voneinander Proteom-Datenbanken veröffentlicht, die aus verschiedenen Geweben und Zelllinien gewonnen werden konnten und etwa 84 % bzw. >90 % des humanen Proteoms abdecken.^{[5], [6]} Färber & Kuster konnten zeigen, dass etwa 10.000 – 12.000 Proteine zusammen ein „Basis-Proteom“ ausbilden, das in den verschiedensten Geweben ubiquitär zu finden ist. Dieses ist vor allem an generellen Kontrollfunktionen und an der Aufrechterhaltung allgemeiner Vorgänge in Zellen beteiligt.^[5]

Posttranslationale Modifikationen (PTMs) ermöglichen es im Organismus, die in einer begrenzten Anzahl von Genen codierte und somit limitierte Anzahl von Proteinen flexibel zu modifizieren und an unterschiedliche Anforderungen anzupassen. So können die vorhandenen Proteine z.B. für ein bestimmtes Entwicklungsstadium eines Organismus adaptiert werden oder aber auf verschiedene physiologische Vorgänge oder Umwelteinflüsse abgestimmt werden. Über 200 verschiedene Arten von PTMs sind bekannt. Prominente Beispiele sind die Protein-Phosphorylierung oder -Acetylierung.^{[7], [8]} Bisher weniger bekannt, jedoch für die vorliegende Arbeit von

besonderem Interesse, ist die ADP-Ribosylierung als posttranslationale Proteinmodifikation. Bei dieser reversiblen PTM werden verschiedene Aminosäuren im Protein (z.B. Arg, Lys, Glu bzw. R, K, E) enzymatisch mit ADP-Ribose-Einheiten verknüpft.^{[7], [9]} Die ADP-Ribose-Untereinheiten stehen aus NAD^+ zur Verfügung.

1.2 NAD^+ und NADP^+ aus Niacin



Das Coenzym NAD^+ (und auch das nahe verwandte NADP^+) wird im Körper aus Vitamin B_3 (Niacin) gewonnen. Dabei kondensiert erst Niacin mit 5'-Phosphoribosylpyrophosphat zu Nicotinatmononucleotid, dieses wird dann unter Pyrophosphat-Abspaltung mit AMP (aus ATP) verknüpft. Abschließend wird dann noch unter ATP-Verbrauch Ammoniak aus der Amidgruppe eines Glutamins auf die Carboxylatgruppe des Nicotinats übertragen (vgl. Abb.3). Durch Phosphorylierung der 2'-Hydroxylgruppe der Adenin-Ribose-Untereinheit kann NAD^+ zu NADP^+ weiter umgesetzt werden.^{[8], [10]} NAD^+ ist im Körper an verschiedensten RedOx-Reaktionen beteiligt, dient aber unter anderem auch als Donormolekül bei der Übertragung von ADP-Ribose-Resten auf Proteine (zu Details siehe Abb. 4).^[11]

Abbildung 3: Biosynthese von NAD^+ aus Niacin

1.3 Das Writer-Reader-Eraser-Konzept

Posttranslationale Proteinmodifikationen (PTM) bieten die Möglichkeit, die im Genom verankerten starren Informationen nachträglich und bedarfsorientiert auf verschiedene Umwelteinflüsse, Stoffwechselsituationen oder diverse andere Anforderungen anzupassen. Dafür ist es notwendig, dass ein dynamisch reguliertes System mit verschiedenen Komponenten zur Verfügung steht, das diese Modifikationen an den Proteinen anbringt (Writer), das Ablesen der Proteinmodifikation erlaubt (Reader) und das durch Abspalten der Modifikation eine Rückkehr zum Ursprungszustand ermöglicht, wenn die dadurch übermittelte Information nicht mehr benötigt wird (Eraser). Die Aktivitäten von Writer und Eraser stehen in einem Gleichgewicht. Die eigentlichen Writer, Reader bzw. Eraser sind jeweils katalytisch aktive Zentren von komplexen Proteinen.^{[12], [13]} Im Folgenden ist das Writer-Reader-Eraser-System für die ADP-Ribosylierung von Proteinen beschrieben.

Writer

In Eukaryonten sind über 20 Enzyme bekannt, die ADP-Ribose (ADP-R) auf verschiedene Substrate übertragen können. Die einzelnen Vertreter können in zwei Gruppen eingeteilt werden: extrazelluläre und intrazelluläre Enzyme.^[14] Die Mitglieder der Proteinfamilie der poly(ADP-Ribose)-Polymerasen (PARPs) gehören zu den intrazellulär aktiven Enzymen. Sie sind in der Lage, einzelne ADP-Ribose-Reste oder auch Ketten aus mehreren ADP-Ribose-Resten als PTM auf ein Akzeptor-Protein zu „schreiben“. Die PARP-Familie wird in Kapitel 1.5 näher dargestellt.

Die mono-ADP-Ribosylierung von Proteinen kann außerdem durch verschiedene Toxine aus Bakterien induziert werden, wie z.B. Diphtheria-, Cholera-, Pertussis- oder Clostridien-Toxine, und spielt eine Rolle in der Pathogenese verschiedener Krankheiten wie beispielsweise Cholera oder Botulismus.^{[15], [16]}

Reader

Der erste bekannte Reader für ADP-Ribose-Protein-Modifikationen wurde als „*PAR-binding motif*“ (PBM) bezeichnet. Diese Domäne ist bei sehr vielen Proteinen mit unterschiedlichsten Funktionen zu finden und deutet dadurch bereits darauf hin, wie

weit verbreitet die Regulation von Proteinen über mono- bzw. poly-ADP-Ribosylierung (MARylierung bzw. PARylierung) ist.

Eine weitere Reader-Domäne für ADP-R-Reste ist der „*PAR-binding Zinkfinger*“ (PBZ). Sie erkennt zwei aneinander gebundene ADP-R-Einheiten innerhalb einer Kette aus ADP-Ribosyl-Resten.

Die „*WWE-Domain*“ ist nach drei in ihrer Sequenz konservierten Aminosäuren benannt (Trp-Trp-Glu bzw. W-W-E). Sie konnte bisher nur in zwei Proteinfamilien gefunden werden: PARPs und Ubiquitin-Ligasen. Sie bindet bevorzugt iso-ADP-Ribose.^[17]

„*Macrodomains*“ sind Reader für mono-ADP-Ribose-Einheiten (MAR). Dennoch können manche Macrodomains auch Proteine, die poly-ADP-Ribose-Ketten tragen erkennen, sie interagieren dabei aber dennoch nur mit der terminalen ADP-R-Einheit der Kette. Außerdem erkennen Macrodomains auch O-Acetyl-ADP-Ribose-Modifikationen an Proteinen (vgl. Abb. 4). Macrodomains sind evolutionär hoch konservierte Strukturelemente aus 130-190 Aminosäuren, die neben ihrer Reader-Funktion teilweise auch hydrolytische Aktivität zeigen.^[14]

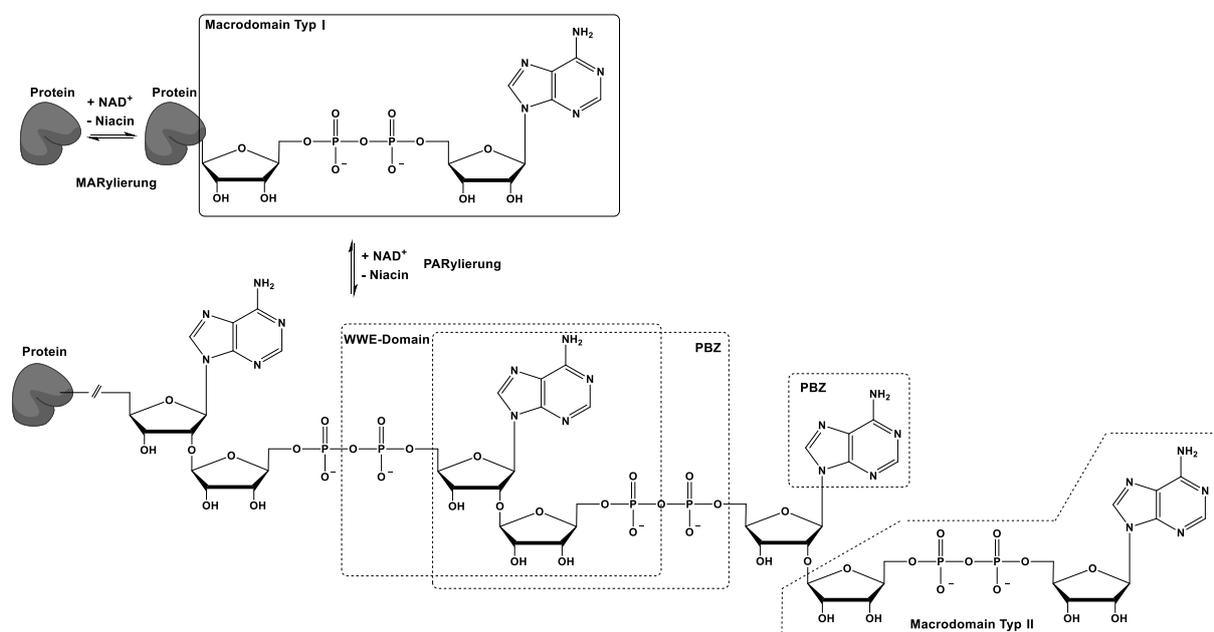


Abbildung 4: MARYlierung, PARYlierung und die entsprechenden Reader-Domains: Macrodomains vom Typ I erkennen MAR-Reste an Proteinen, WWE-Domain bzw. PBZ erkennen unterschiedliche Bereiche in der PAR-Kette, Macrodomains vom Typ II erkennen die endständige ADP-Ribose-Einheit einer PAR-Kette^[18]

Weiterhin sind FHA- (forkhead-associated) und BRCT-Domains (BRCA1 C-terminal), sowie verschiedene RNA- bzw. DNA-Bindungsmotive als Reader für ADP-Ribosylierung bekannt. Da sie für diese Arbeit keine Rolle spielen, soll hier nicht weiter darauf eingegangen werden.^[12]

Eraser

Der Abbau von pADP-R-Ketten erfolgt unter anderem durch die Glycohydrolase PARG (Poly(ADP-Ribose)-Glycohydrolase). Dabei handelt es sich um ein Enzym, das bevorzugt als Exoglycosidase, optional aber auch als Endoglycosidase fungiert.^[11] Weitere Enzyme, die den Abbau von PAR- bzw. MAR-Modifikationen durch Abspaltung von AMP-Einheiten katalysieren sind beispielsweise ARH3 (ADP-ribosylhydrolase 3), TARG 1 (ADP-ribose glycohydrolase 1), MacroD1 und MacroD2. Wie im Namen der beiden letzteren ersichtlich, tragen diese Enzyme (wie auch PARG) Macrodomains, die ADP-Ribose-Einheiten nicht nur erkennen, sondern auch hydrolytisch abbauen können. MacroD1 und MacroD2 spalten bevorzugt die MAR-Einheit ab, die direkt mit dem Protein verknüpft ist.^{[13], [19]}

1.4 Macrodomain-containing-proteins (MCP)

Es sind 11 humane Proteine bekannt (vgl. Abb. 5), die Macrodomains tragen, darunter drei poly(ADP-Ribose)-Polymerasen, die jeweils zwei (PARP9@X, PARP15@X) bzw. drei (PARP14@X) Macrodomains tragen (vgl. Kapitel 1.5). Außerdem gibt es drei Histonvarianten sowie verschiedene Glycohydrolasen, die Macrodomains tragen.^[12] Macrodomains als Reader sind also in verschiedenen Enzymen gemeinsam mit Writern, aber auch Erasern für ADP-Ribose-Modifikationen vorhanden.^[13] Manche Macrodomain-containing-proteins zeigen noch weitere katalytische Aktivitäten, wie z.B. die Hydrolyse von O-Acetyl-Ribose (OAR) oder auch Phosphatase-Aktivität. Bisher relativ gut erforscht ist der Zusammenhang zwischen verschiedenen MCPs und der Zellantwort auf DNA-Schäden, dennoch spielen diese Proteine auch in vielen anderen Bereichen eine Rolle.^[14]

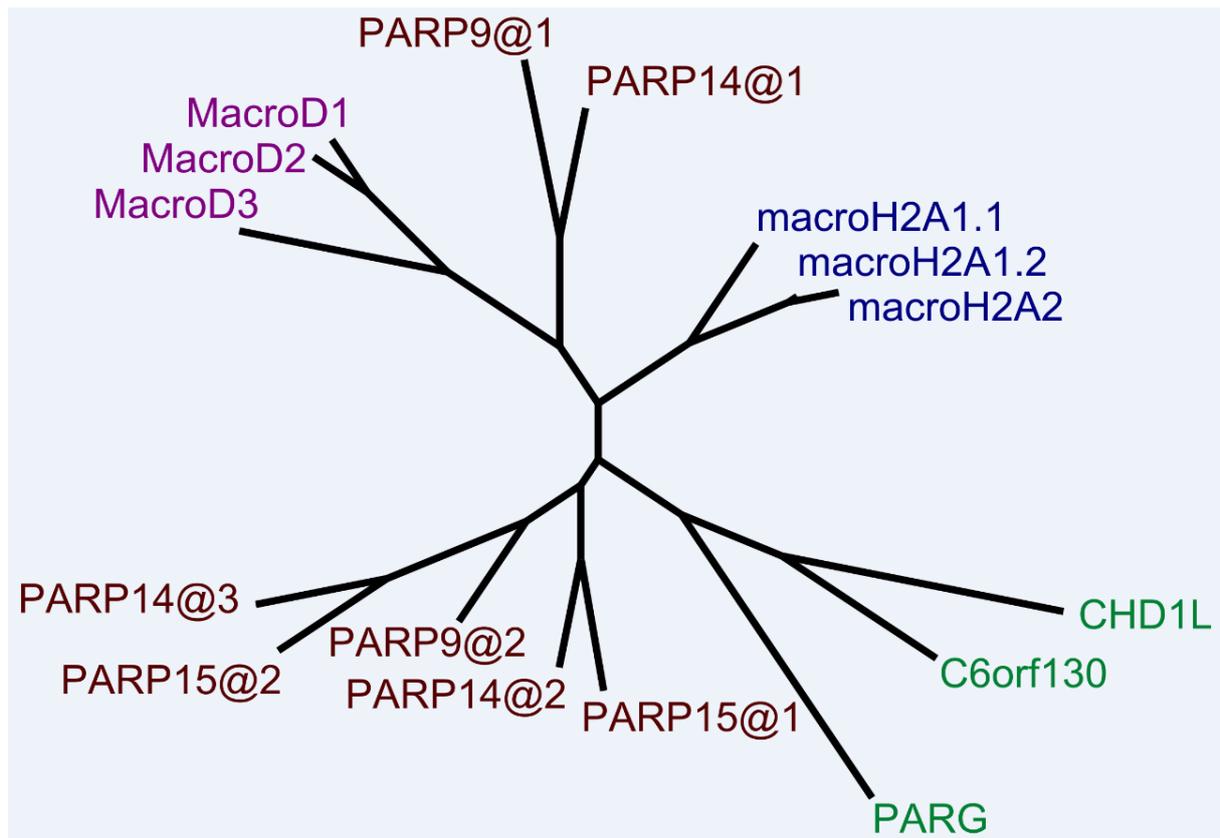


Abbildung 5: Phylogenetischer Stammbaum der Macrodomains aller bekannten Macrodomain-containing-proteins

1.5 Poly(ADP-Ribose)-Polymerasen (PARPs)

Bisher sind 18 Mitglieder der PARP-Familie bekannt. Einige davon fungieren tatsächlich als **poly**(ADP-Ribose)-Polymerasen, sie bauen an spezifischen Aminosäuren lineare oder verzweigte Ketten unterschiedlicher Länge aus ADP-Ribose-Einheiten (ADP-R) auf. Andere Mitglieder dieser Familie sind **mono**(ADP-Ribose)-Polymerasen, sie übertragen nur einen ADP-Ribose-Rest auf das Protein. Zusätzlich werden noch einige PARPs auf Grund struktureller Ähnlichkeiten dieser Familie zugerechnet, obwohl sie keine katalytische Aktivität zeigen (vgl. Tab. 1). Im Jahr 2015 wurde eine alternative Bezeichnung für die Proteinfamilie etabliert: ARTD (**A**DP-ribosyltransferase, **d**iphtheria toxin-like). Sie ist formal die richtige Bezeichnung, da eben nicht alle Mitglieder der Familie tatsächlich *poly*(ADP-Ribose)-Einheiten auf Proteine übertragen und die Enzyme eigentlich Transferasen und keine Polymerasen sind.^{[13], [16]}

Name	weitere Bezeichnungen	übertragene Einheit
PARP1	ARTD1	PAR, verzweigt
PARP2	ARTD2	PAR
PARP3	ARTD3	MAR
PARP4	ARTD4, vPARP	MAR
PARP5A	ARTD5, Tankyrase 1	OAR
PARP5A / 6	ARTD6, Tankyrase 2	OAR
PARP6	ARTD17	MAR
PARP7	ARTD14, tiPARP, RM1	MAR
PARP8	ARTD16	MAR
PARP9	ARTD9, BAL1	keine Aktivität bekannt
PARP10	ARTD10	MAR
PARP11	ARTD11	MAR
PARP12	ARTD12, ZC3HDC1	MAR
PARP13	ARTD13, ZC3HAV1, ZAP1	keine Aktivität bekannt
PARP14	ARTD8, BAL2, CoaSt6	MAR
PARP15	ARTD7, BAL3	MAR
PARP16	ARTD15	MAR
TPT1	ARTD18	keine Aktivität bekannt

Tabelle 1: Proteine der PARP-Superfamilie mit ihren alternativen Bezeichnungen^[18]

Die einzelnen Mitglieder der PARP-Familie sind Multi-Domain-Enzyme und an vielen verschiedenen Prozessen in der Zelle beteiligt, beispielsweise an der Regulation der Transkription, am Ausbilden der Spindel während der Zellteilung, an der Immunantwort, der Reparatur von DNA-Schäden oder an Transportmechanismen innerhalb der Zelle.^{[11], [13], [19]}

PARP-Inhibitoren sind auf Grund ihres Eingriffs in zahlreiche physiologische Vorgänge potentiell als Wirkstoffe z. B. zur Krebstherapie, zur Behandlung kardiovaskulärer sowie neurodegenerativer Erkrankungen geeignet.^{[9], [13], [20]}

PARP14

Die poly(ADP-Ribose)-Polymerase 14 ist auch unter den Namen ARTD 8 (ADP-ribosyltransferase, diphtheria toxin-like 8), BAL2 (B-aggressive lymphoma 2) und CoaSt6 (Collaborator of STAT6) bekannt.^[21] Sie gehört zur Untergruppe der macroPARPs; Die Mitglieder der PARP-Familie, die Macrodomains tragen (PARP9/PARP14/PARP15). Das Protein ist aus 1801 Aminosäuren aufgebaut und enthält drei Macrodomains, ein RNA-recognition-motif, sowie eine WWE-Domain und C-terminal (wie die meisten anderen Vertreter dieser Familie) die PARP-Domain selbst (vgl. Abb. 6).^{[11], [13], [18]}



Abbildung 6: Aufbau der PARP14 (ART = PARP: ADP-R-Transferase; WWE: WWE-Domain; Macro: Macrodomain; RRM RNA-recognition motif)^[13]

Bereits der alternative Name BAL2 (B-aggressive lymphoma) deutet an, dass PARP14 bei bestimmten Vorgängen in B-Lymphozyten (jedoch auch in T-Lymphozyten) eine Rolle spielt. PARP14 ist in verschiedenen aggressiven Lymphomen überexprimiert. In Experimenten mit Knockout-Mäusen konnte gezeigt werden, dass PARP14 einen Interleukin-4-induzierten Apoptoseschutz in B-Zellen vermittelt. Außerdem ist PARP14 an der Differenzierung von B-Vorläuferzellen sowie an der IgA-vermittelten Immunantwort beteiligt.^{[22], [23]} PARP14 begünstigt in T-Zellen, durch MARYlierung der Transkriptionsrepressoren Histondeacetylase 2 und 3 (HDAC2/HDAC3), die Anlagerung des Transkriptionsfaktors STAT6 nach Interleukin-4-Stimulation an seine Promotor-Region. Dadurch wirkt PARP14 protektiv gegen apoptotische Vorgänge in verschiedenen Zelltypen und reguliert auf gleiche Weise die Differenzierung von TH2-Zellen.^{[11], [14], [16]}

Des Weiteren kann PARP14 über seine Macrodomains mit ADP-R-markiertem PARP10 (einem Interaktionspartner des Transkriptionsfaktors MYC, einem Proto-Oncoprotein) und mit dessen MARYlierten Substraten interagieren.^{[13], [14], [24]} Außerdem spielt PARP14 eine Rolle bei Entzündungsgeschehen (als antiinflammatorischer Faktor, z.B. bei Allergien)^[16], der Regulation des

Zellmetabolismus, der Aus- und Rückbildung von Membranausstülpungen von Zellen (durch Interaktion mit fokalen Adhäsions-Komplexen), bei der Prozessierung von RNA im Zellkern und der Transkription, sowie in verschiedenen Tumorarten.^{[14], [19], [25]}

In sich schnell teilenden Tumorzellen verlagert sich die Energiegewinnung in Richtung der „aeroben Glykolyse“. Dieser als Warburg-Effekt bezeichnete Vorgang geht oft einher mit sehr aggressiven Tumoren (beispielsweise dem hepatozellulären Karzinom, HCC) und einer schlechten Prognose für den Patienten. PARP14 ist in vielen soliden Tumoren (z.B. im HCC) stark hochreguliert und führt durch Inaktivierung des proapoptischen Proteins JNK1 (c-Jun N-terminale Kinase) zu einer verringerten Aktivität von PKM2 (einer tumorspezifischen Isoform der Pyruvat-Kinase), wodurch der Warburg-Effekt (also schnelles Tumorwachstum sowie antiapoptische Eigenschaften der Zellen) begünstigt wird.^[26]

Kürzlich konnte gezeigt werden, dass die mono-ADP-Ribosylierung von Proteinen eine wichtige Rolle bei der Beseitigung von DNA-Schäden spielt, insbesondere im Rahmen der homologen Rekombination (HR), einem Mechanismus zur Reparatur von DNA-Doppelstrangbrüchen. PARP14 dient dabei nicht nur als Writer, sondern über seine zweite Macrodomain (PARP14MD2) gleichzeitig als Reader von m-ADP-R-Modifikationen an Proteinen (z.B. von PARP10). Die homologe Rekombination ist einerseits essenziell für die Stabilität des Genoms einer Zelle und schützt diese dadurch vor Entartung. Andererseits ist die HR einer der Hauptschutzmechanismen, die Tumorzellen gegen verschiedene Chemotherapeutika einsetzen.^{[19], [27]} Somit könnten Inhibitoren von PARP14, insbesondere von dessen zweiter Macrodomain, als Sensitizer für Tumorzellen auf bestimmte Zytostatika genutzt werden.^[26]

Dafür spricht auch ein aktuell von der EMA und der FDA als Orphan Drug zugelassener PARP-Inhibitor für Patientinnen mit „high-grade“ serösem epithelalem Ovarialkarzinom. Das Arzneimittel Lynparza™ (Wirkstoff: Olaparib, vgl. Abb. 7) greift in zelluläre Reparaturmechanismen für DNA-Schäden ein, die während der Zellteilung auftreten können. Dieser Wirkstoff hemmt als „dirty drug“ allerdings verschiedene Mitglieder der PARP-Familie, u.a. PARP1 und PARP5A-Tankyrase 2.^{[28], [29], [30]}

Da die verschiedenen Mitglieder der PARP-Familie in so viele unterschiedliche Mechanismen in Zellen regulierend eingreifen, wäre ein möglichst selektiver Inhibitor für PARP14, oder idealerweise für die einzelnen Domains (Macro/RRM/WWE/PARP), wünschenswert: Einerseits als molekulares Werkzeug, um die Funktion von PARP14 besser verstehen zu lernen, andererseits möglicherweise als Leitstruktur für neue Arzneistoffe.

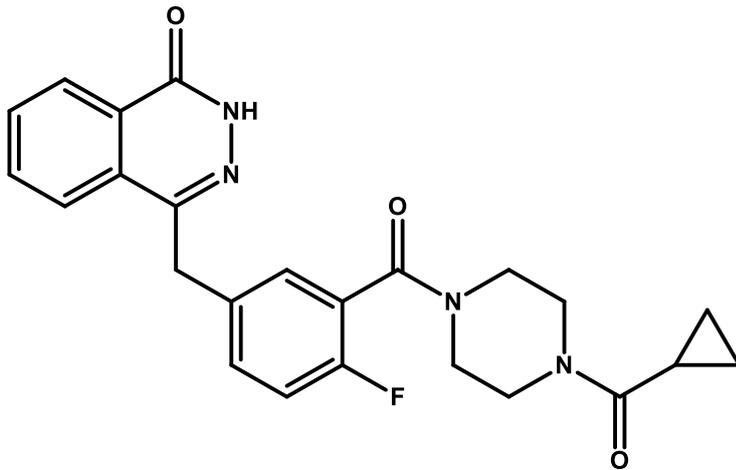


Abbildung 7: Olaparib^[29]

2. Themenstellung und Syntheseplanung

2.1 Themenstellung

2.1.1 Aufbau eines Assays für ein Macrodomein-high-throughput-screening durch unseren Kooperationspartner in Oxford

Während eines Projekts unseres Kooperationspartners in Oxford sollte ein Primärscreening für Verbindungen mit Aktivität an ADP-Ribose-bindenden Proteinen und humanen Macrodomeinen etabliert werden. Zu Beginn des Projekts wurden die Differential Scanning Fluorimetrie (DSF, auch Thermal Shift Assay genannt) sowie der ALPHA-Screen als mögliche geeignete Methoden für die Testung mittlerer bis großer Substanzbibliotheken in Betracht gezogen.

Das Messprinzip der DSF beruht auf einer Stabilisierung des Proteins durch die Anlagerung eines Liganden. Setzt man ein Protein einer kontinuierlichen Temperaturerhöhung aus, so denaturiert es bei seiner spezifischen „Schmelztemperatur“. Bei diesem Denaturierungsvorgang gelangen die hydrophoben Teile des Proteins, die normalerweise im Inneren liegen, nach außen und ein zuvor zugesetzter lipophiler Fluoreszenzfarbstoff kann sich anlagern, dadurch ist ein Anstieg der Fluoreszenz im System messbar. Die Zugabe eines Liganden kann diesen Schmelzpunkt durch eine Stabilisierung der Struktur erhöhen.^[31] Im Falle der Macrodomeinen ist die Stabilisierung durch Liganden sehr gering, so dass die Unterschiede der Schmelztemperaturen des nativen Proteins und des Protein-Ligand-Komplexes nicht sonderlich aussagekräftig sind.

Der ALPHA-Screen ist ein klassischer Proximity-Assay. Gemessen wird hier ein Signal, das durch die räumliche Nähe zweier Strukturen zueinander entsteht, in diesem Fall zwischen der Macrodomein und einem ADP-ribosylierten Peptid. Das Erkennen der Zielstruktur durch die Macrodomein, wird in Anwesenheit eines Inhibitors verhindert, die beiden Strukturen stehen dann nicht mehr in räumlicher Nähe zueinander und das Messsignal wird entsprechend abgeschwächt.^{[32], [33], [34], [35]} Diese Methode ist in Kapitel 4.1.1 noch einmal genauer beschrieben. Es zeigte sich, dass

der ALPHA-Screen die geeignetere Methode für die Bestimmung der Aktivitäten von niedermolekularen Substanzen an verschiedenen Macrodomains ist.

2.1.2 *N*-(2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl)acetamid (1) als Leitstruktur

Nach der Etablierung und Optimierung des Assays in Oxford erfolgte ein Screening von ca. 1000 Verbindungen. Etwa 200 Substanzen davon stammten aus unserem Arbeitskreis. Gehring^[36] entwickelte im Rahmen seiner Dissertation Kinase-Inhibitoren sowie Modulatoren für verschiedene zelluläre Charakteristika im Bereich der Alzheimer-Erkrankung, ausgehend von der Leitstruktur Desaza-Annomontin. Die Leitstruktur wurde aus dem Naturstoff Annomontin (vgl. Abb. 8) entwickelt, einem Alkaloid aus dem tropischen Baum *Annona montana* (Annonaceae)^[37].

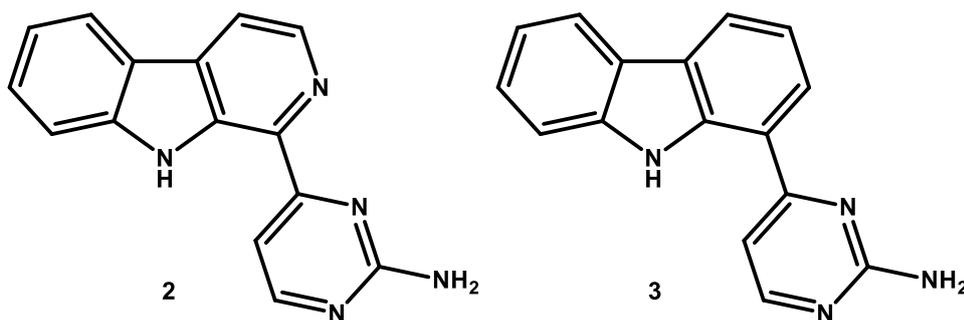
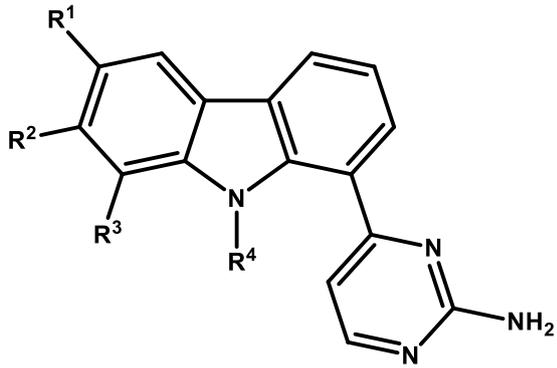


Abbildung 8: Das Alkaloid Annomontin (2) und sein Analogon Desaza-Annomontin (3)

Neben zahlreichen anderen Substanzen wurden mehrere Desaza-Analoga von Annomontin aus der Arbeit von Gehring getestet, die alle als Grundgerüst ein an Position 1 substituiertes Arylcarbazol haben (vgl. Abb. 9 und 10).



- | | | | | |
|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 4 | R ¹ = Br | R ² = H | R ³ = H | R ⁴ = H |
| 5 | R ¹ = H | R ² = Cl | R ³ = Cl | R ⁴ = H |
| 6 | R ¹ = H | R ² = Cl | R ³ = Cl | R ⁴ = Me |
| 7 | R ¹ = H | R ² = Cl | R ³ = Cl | R ⁴ = Bn |

Abbildung 9: Desaza-Annomontin-Derivate von Gehring, die im High-Throughput-Screening an verschiedenen Macrodomeins getestet wurden

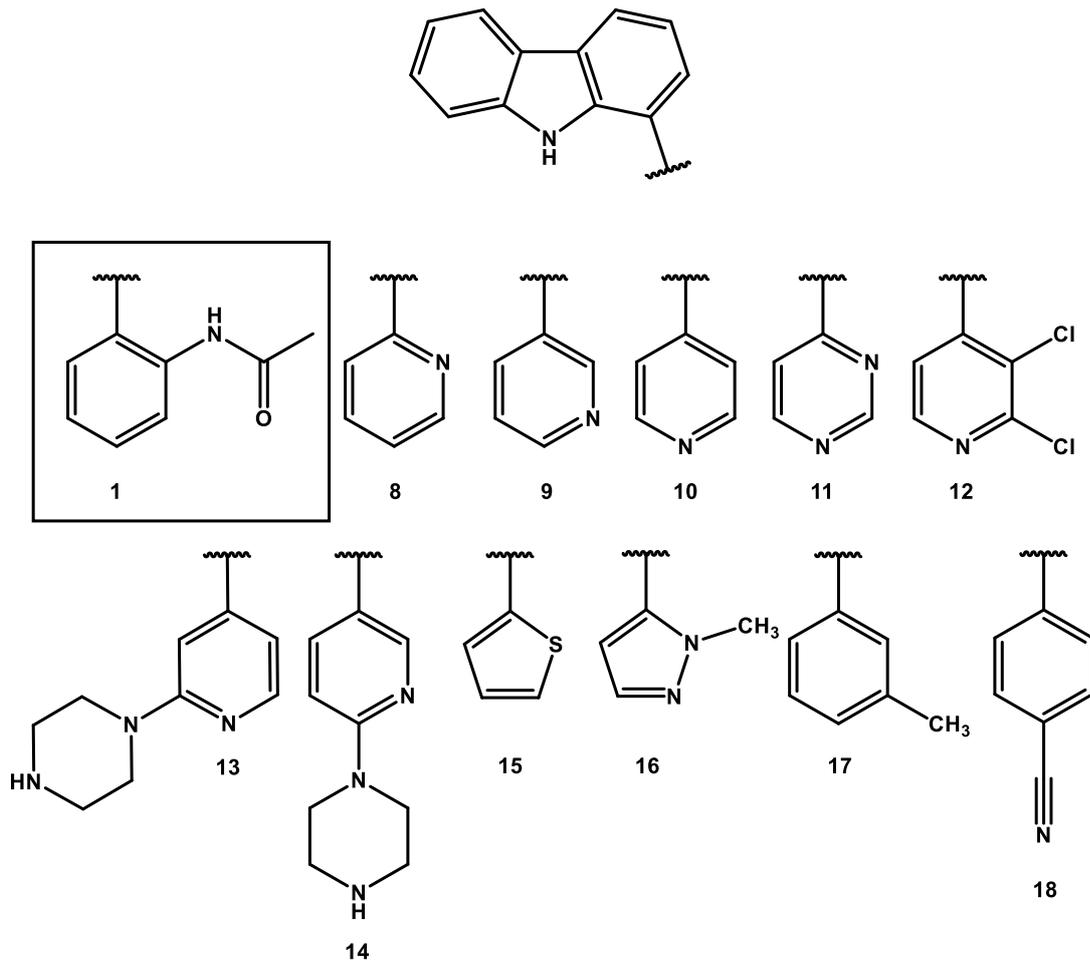


Abbildung 10: Auswahl von Verbindungen aus dem High-Throughput-Screening, die von Gehring synthetisiert wurden

Trotz der vielen ähnlichen Strukturen zeigte nur eine einzige Verbindung (**1**, Abb. 10) im ALPHA-Screen eine sehr gute Aktivität gegen die zweite Macrodomain von PARP14 (PARP14MD2). Der Vergleich der relativ ähnlichen Verbindungen miteinander (vgl. Abb. 10) ließ erahnen, dass insbesondere der Acetamidrest von Bedeutung für die Aktivität am Protein sein könnte.

Der ALPHA-Screen wurde als dose-response-Experiment bei nur einer Konzentration durchgeführt. Um das Ergebnis zu bestätigen und um gleichzeitig eine quantitative Aussage zu den inhibitorischen Eigenschaften der Verbindung **1** treffen zu können, wurden die ALPHA-Screen-Ergebnisse mittels Isothermal Titration Calorimetry (ITC) bestätigt. Bei der ITC werden Protein- und Ligandlösung unter isothermen Bedingungen portionsweise vermischt. Dabei wird die Leistung (im Vergleich zu einer Referenzzelle) ermittelt, die benötigt wird um im Reaktionsgefäß den isothermen Zustand zu erhalten. Diese Methode wird in Kapitel 4.1.2 genauer erläutert. Mit der ITC konnte die inhibitorische Aktivität von Verbindung **1** bestätigt werden, es wurde eine Dissoziationskonstante von 640 nM ermittelt.

Die Verbindung **1** war der erste bekannte Inhibitor für die zweite Macrodomain von PARP14. Da zu diesem Zeitpunkt die genaue Funktion von PARP14(MD2) noch nicht bekannt war, eröffnete ein potenter und selektiver Inhibitor die Möglichkeit aufzuklären, an welchen Vorgängen in der Zelle das Protein beteiligt ist bzw. in welche Signalwege PARP14 durch das Erkennen der ADP-Ribosylierung an anderen Proteinen eingreift.

Meine Aufgabe war daher die rationale Synthese von Strukturanaloga von **1** und die Analyse von Struktur-Wirkungs-Beziehungen in dieser Stoffklasse. Im Idealfall sollten hierbei sowohl die Aktivität als auch die Selektivität weiter gesteigert werden.

2.1.3 Variationen der Leitstruktur

Das Hauptziel der Arbeit bestand in der Aufklärung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen anhand von Analoga der Leitstruktur **1**. Die niedermolekulare Verbindung **1** besitzt einen relativ übersichtlichen Aufbau. Grundkörper, Phenylsubstituent und die Amid-Funktion bieten vielfältige Variationsmöglichkeiten. Am Ringsystem des Grundkörpers (Ringe A - C) sowie am Phenyl-Substituenten

sollten verschiedene Variationen durchgeführt werden. Außerdem sollte die Amidfunktion variiert werden (vgl. Abb. 11).

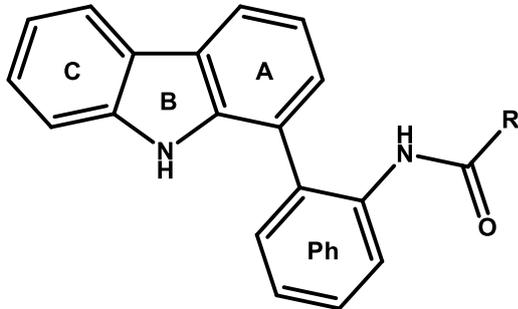


Abbildung 11: Der tricyclische Grundkörper, der Phenylsubstituent (Ph) und die Amid-Funktion bieten vielfältige Variationsmöglichkeiten

Ein weiteres Ziel der Arbeit war es, die Leitstruktur so zu verändern, dass weitere Wechselwirkungen (z.B. Wasserstoffbrückenbindungen) zum Protein ausgebildet werden können, die möglicherweise zu einer Steigerung der Aktivität führen. Denkbar waren hier ebenfalls Variationen an der Amidgruppe, das Einführen weiterer Substituenten an den aromatischen Ringen oder das Einführen von Heteroatomen in die bestehenden Ringsysteme (vgl. Abb. 12). Die durch weitere Interaktionen gefestigte Bindung sollte die Möglichkeit eröffnen, das Protein mit seinem Liganden gemeinsam zu kristallisieren. Aus Kristallisationsexperimenten können dreidimensionale Modelle erstellt werden, aus denen Rückschlüsse auf Interaktionen zwischen den Bindungspartnern gezogen werden können. Diese Informationen würden das Ableiten von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen erlauben, aber gleichzeitig auch das rationale Design eines noch potenteren und selektiven Analogons unterstützen.

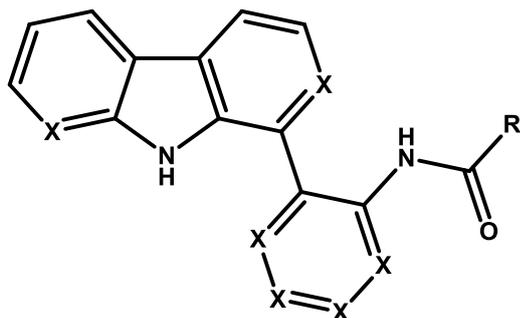


Abbildung 12: Ins Auge gefasste Positionen für das Einführen von Heteroatomen (X) beziehungsweise für Veränderungen an der Amidgruppe (R)

Außerdem war es Ziel dieser Arbeit, anhand verschiedener Verbindungen zu zeigen, ob Selektivität gegenüber den anderen Macrodomains besteht. Macrodomains sind evolutionär hochkonservierte Proteindomänen^[38], daher könnte das Erreichen von Selektivität eine gewisse Schwierigkeit darstellen. Zu Beginn meiner Arbeit waren die Assays unseres Kooperationspartners in Oxford, die die Aktivität der Verbindungen an anderen Macrodomains zeigen sollten, noch im Aufbau, also konnte anfangs noch keine Aussage zur Selektivität der Leitstruktur **1** getroffen werden. Mit den Ergebnissen aus der Testung der Leitstruktur und den Informationen, die ein 3D-Modell der Verbindung liefern kann, sollte später festgelegt werden, mit welchen Eigenschaften sich die Selektivität der Leitstruktur gegebenenfalls verbessern lässt.

Zusammenfassend sollten ausgehend von der Leitstruktur **1** Analoga entwickelt werden, mit denen sich Struktur-Aktivitäts-Beziehungen aufklären lassen und die idealerweise für die Co-Kristallisation geeignet sind. Außerdem sollte die inhibitorische Aktivität, sowie insbesondere die Selektivität der Verbindung gesteigert werden.

2.2 Syntheseplanung

2.2.1 Variationen der Acetamidfunktion der Leitstruktur **1**

Für die Darstellung verschiedener Amid-Analoga bot es sich an, von einer zentralen Zwischenstufe mit einer Anilin-Partialstruktur auszugehen. Dafür sollte analog der von Gehring^[36] durchgeführten Synthese der Leitstruktur vorgegangen werden. Zunächst sollte in einer Fischer-Borsche-Reaktion mit 2-Bromphenylhydrazin (**21**) und Cyclohexanon^{[39], [40]}, nach anschließender Oxidation mit Chloranil^[41], die Vorstufe

1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) dargestellt werden. Diese Vorstufe sollte dann über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung mit einer geeigneten Boronsäure^[42] zur gewünschten zentralen Zwischenstufe **20** führen (vgl. Abb. 13).

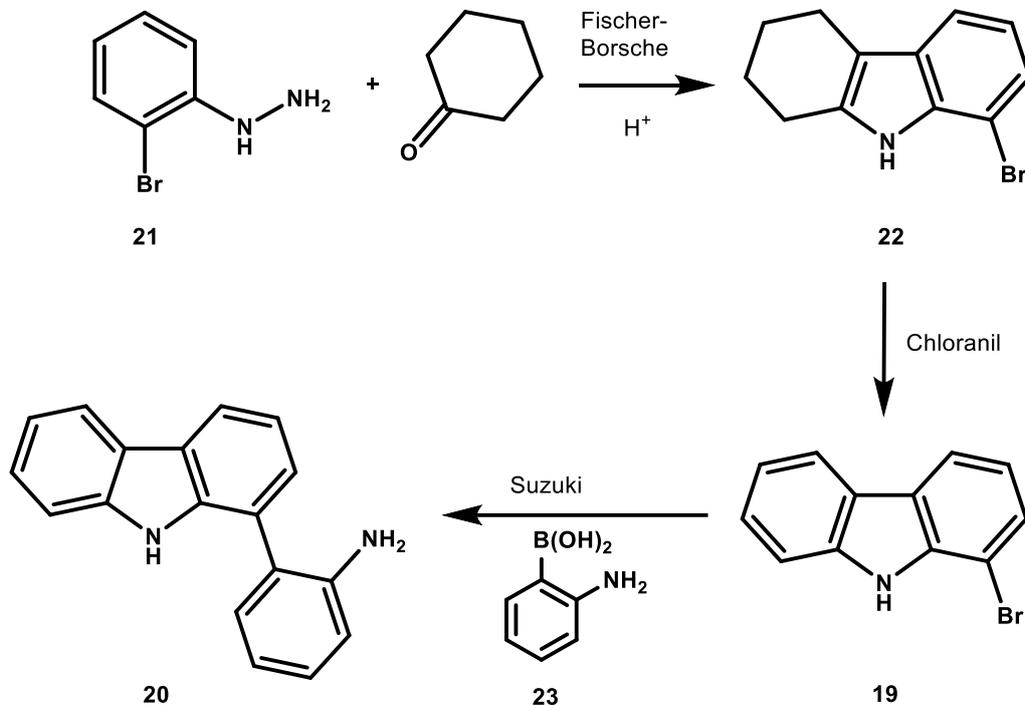


Abbildung 13: Darstellung der zentralen Zwischenstufe **20**

Ausgehend von Verbindung **20** können durch Derivatisierung mit Carbonsäurechloriden^[43] oder -anhydriden verschiedenste Analoga der Leitstruktur **1** hergestellt werden. Weitere Modifikationen sollten z.B. durch den Einsatz von Sulfonsäurechloriden möglich sein. Durch Umsetzung von Verbindung **20** mit Isocyanaten oder Isothiocyanaten sollten sich Harnstoffe bzw. Thioharnstoffe darstellen lassen.

2.2.2 Variationen des Phenylsubstituenten

Bei der Darstellung der Leitstruktur durch Gehring^[36] wurde 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) in einer Suzuki-Kupplung mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) verknüpft. Da Boronsäuren mit ortho-ständiger Acetamidogruppe nur in sehr begrenztem Umfang

käuflich zur Verfügung stehen, sollte hier ein anderer, flexiblerer Syntheseweg eröffnet werden.

Eine Arbeit von Merkul^[44] beschreibt eine Methode zur Funktionalisierung eines Indolgrundkörpers, ausgehend von einem Bromindol zum Pinacolester mit direkter anschließender Kreuzkupplung mit verschiedenen Halogen(hetero)aromaten. Sollte die Borylierung auf den hier benötigten Carbazol-Grundkörper übertragbar sein, so bestünde die Möglichkeit, ausgehend von *N*-geschütztem 1-Bromcarbazol (**25**) und unterschiedlichen halogenierten (Hetero)aromaten zu einer Vielzahl neuer Zielverbindungen zu gelangen (vgl. Abb. 14).

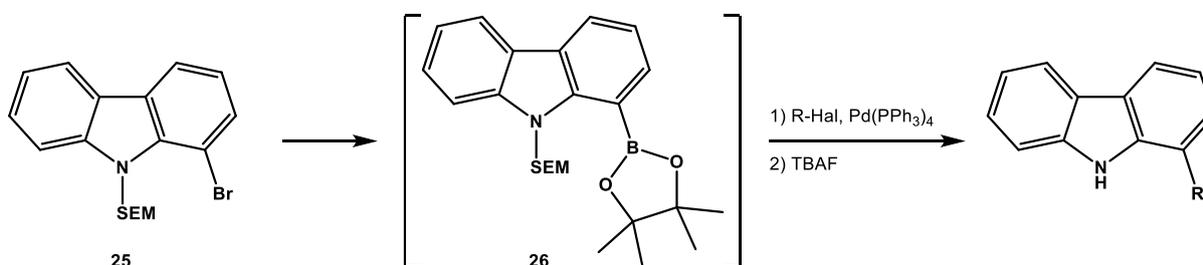


Abbildung 14: Geplante Borylierung des Carbazolgrundkörpers mit anschließender Kreuzkupplung in Anlehnung an Merkul^[44]

Falls diese Methode nicht zum Ziel führt, könnten alternativ die für die Suzuki-Kupplung nach Gehring benötigten Boronsäuren selbst hergestellt werden. Dazu sollten unterschiedlich substituierte Halogen(hetero)aromaten z.B. angelehnt an Moleele^[45] mit *n*-Butyllithium lithiiert und anschließend mit Borsäuretrimethylester zu den entsprechenden Boronsäuren umgesetzt werden. Alternativ stehen für die Borylierung auch andere Reagenzien wie Borsäuretriisopropylester^[46] oder Diisopropylaminoboran^[47] zur Verfügung. Wahlweise sollten unter Verwendung geeigneter Reagenzien wie z.B. Bispinacoldiboran^[48] auch die stabileren Boronsäureester dargestellt werden können.

2.2.3 Variationen des Carbazolgrundkörpers

Um möglichst variabel neue Reste an verschiedenen Positionen des Grundkörpers anfügen zu können, war es erforderlich, diesen jeweils neu aufzubauen. Je nachdem an welchem der drei Ringe des Grundkörpers (vgl. Abb. 11) eine Variation erfolgen sollte, waren verschiedene Vorgehensweisen nötig.

Ring A:

Während eines Projekts in unserem Arbeitskreis von Tremmel, das parallel zu meiner Arbeit stattfand, wurden Verbindungen mit β -Carbolin-Grundkörper hergestellt. Im Zuge dessen wurde von Tremmel auch das Aza-Analogon **27** zur Leitstruktur **1** dargestellt (vgl. Abb. 15). Welche weiteren Variationen an Ring A sinnvoll sind, sollte unter Einbeziehung der Testergebnisse von Verbindung **27** zu einem späteren Zeitpunkt festgelegt werden.

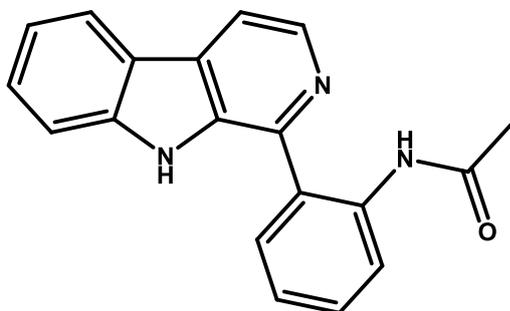


Abbildung 15: β -Carbolin-Analogon **27** von Tremmel

Ring B:

Als naheliegende Variante der Leitstruktur **1** sollten Verbindungen dargestellt werden, bei denen der Pyrrolstickstoff erhalten bleibt, jedoch substituiert mit verschiedenen Resten ist. Für erste Testungen mit Verbindungen dieses Musters sollten Substanzen hergestellt werden, die am Pyrrol-Stickstoff eine Methyl- bzw. Benzyl-Gruppe tragen (vgl. Abb. 16).

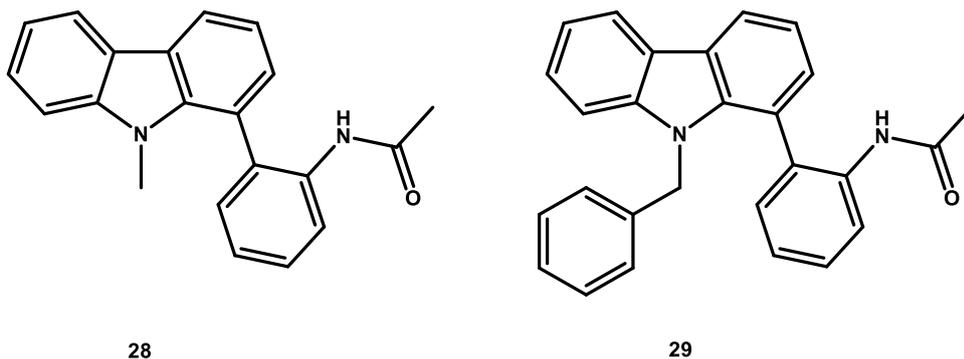
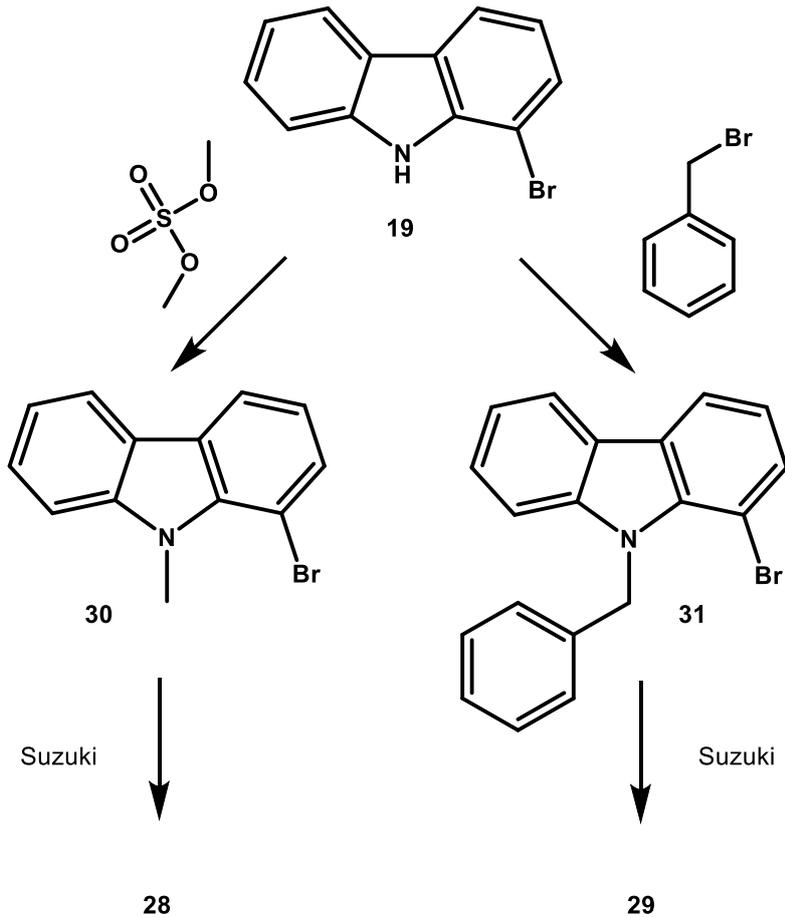
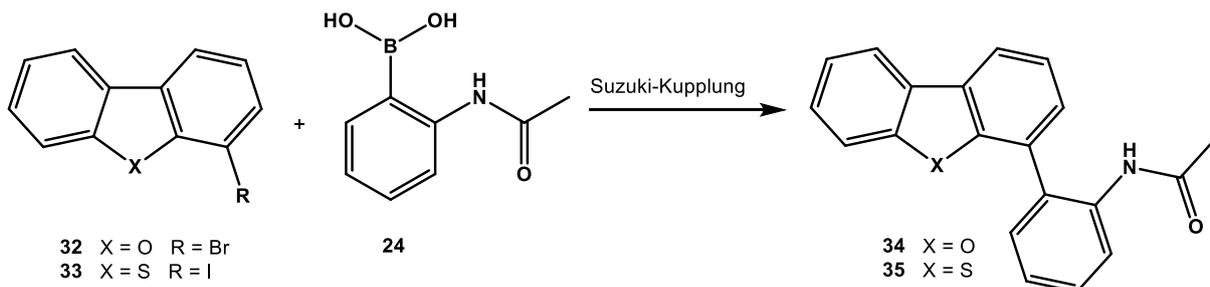


Abbildung 16: N-substituierte Analoga der Leitstruktur

Die Darstellung der beiden Verbindungen sollte in Anlehnung an den Syntheseweg der Leitstruktur **1** erfolgen: Dort wurde am Grundkörper 1-Brom-9H-carbazol (**19**) über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) der gewünschte Substituent an Position 1 eingeführt. Hier sollten jedoch schon vor dem Kupplungsschritt die gewünschten Reste am Pyrrol-Stickstoff eingeführt werden. Die am Stickstoff methylierte Spezies sollte durch Umsetzung von **19** mit dem Alkylierungsmittel Dimethylsulfat in Anlehnung an eine Vorschrift von Romero-Ale^[49] entstehen, für die Darstellung der N-benzylierten Zwischenstufe sollte Benzylbromid angelehnt an Milen^[50] als Alkylanz verwendet werden (vgl. Abb. 17).

Abbildung 17: Synthesepfad für N-substituierte Derivate der Leitstruktur **1**

Der Pyrrol-Ring der Leitstruktur bietet unter anderem die Möglichkeit, verschiedene Variationen durch Austausch des Heteroatoms darzustellen. Es sollte ein Sauerstoff- und ein Schwefel-Analogon der Leitstruktur **1** entstehen. Ausgehend von dem käuflich erwerbbaeren 4-Bromdibenzofuran (**32**) sollte über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**), angelehnt an die Synthese der Leitstruktur **1**, der gewünschte Acetamidophenyl-Substituent eingeführt werden (vgl. Abb. 18).

Abbildung 18: Darstellung des Thia- bzw. Oxa-Analogons (**34** bzw. **35**)

Die benötigte halogenierte Zwischenstufe **33** für das Schwefel-Analogon sollte angelehnt an eine Vorschrift von Jung^[51] hergestellt werden: Dibenzothiophen (**36**) sollte durch regioselektive Ringmetallierung mit *n*-Butyllithium und anschließende Iodierung mit 1,2-Diodethan die monohalogenierte Verbindung **33** liefern (vgl. Abb. 19), die wiederum in einer Suzuki-Kupplung die Zielverbindung liefern sollte.

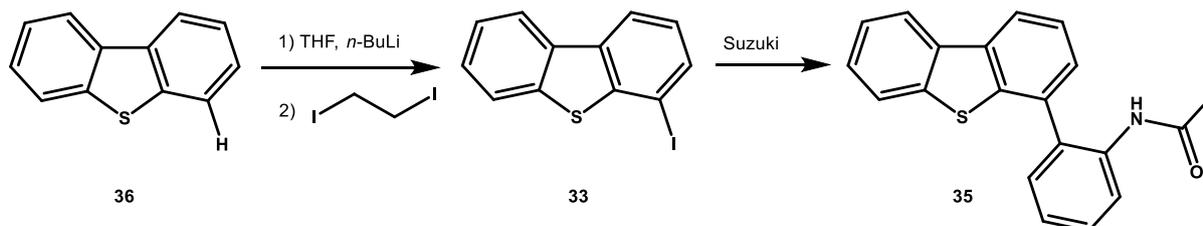


Abbildung 19: Synthese der Zwischenstufe **33** aus Dibenzothiophen **36**

Eine andere Möglichkeit, Ring B der Verbindung zu verändern ist, den Pyrrolring an sich zu verändern. Als Beispielverbindungen sollten das Seco-Analogon **37** und das Acridon **38** dargestellt werden (vgl. Abb. 20).

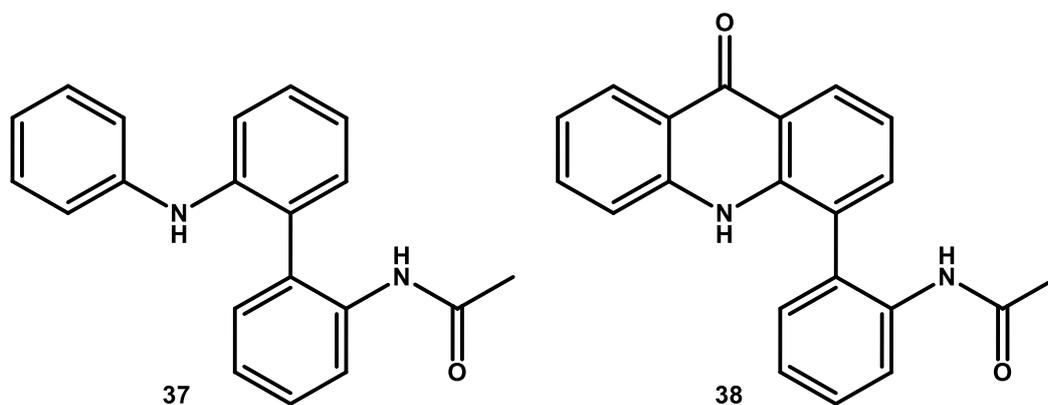


Abbildung 20: Die geplanten Verbindungen **37** (Seco-Analogon) und **38** (mit Acridon-Grundkörper)

Für die Darstellung der beiden Verbindungen (vgl. Abb. 21) sollte aus 2,2'-Dinitro-1,1'-biphenyl (**39**) durch Reduktion der beiden Nitro-Gruppen das symmetrische 2,2'-Diamino-1,1'-biphenyl (**40**) hergestellt werden. Anschließend sollte eine Desymmetrisierung erfolgen. Eine Arbeit von Wang^[52] beschreibt die Acetylierung einer Aminogruppe neben einer zweiten Aminogruppe. Angelehnt daran, sollte der im

Produkt gewünschte Acetamidophenyl-Substituent aufgebaut werden und gleichzeitig noch eine weitere freie Aminogruppe für die Anknüpfung eines (substituierten) Phenylrests zur Verfügung stehen (vgl. Abb. 21).

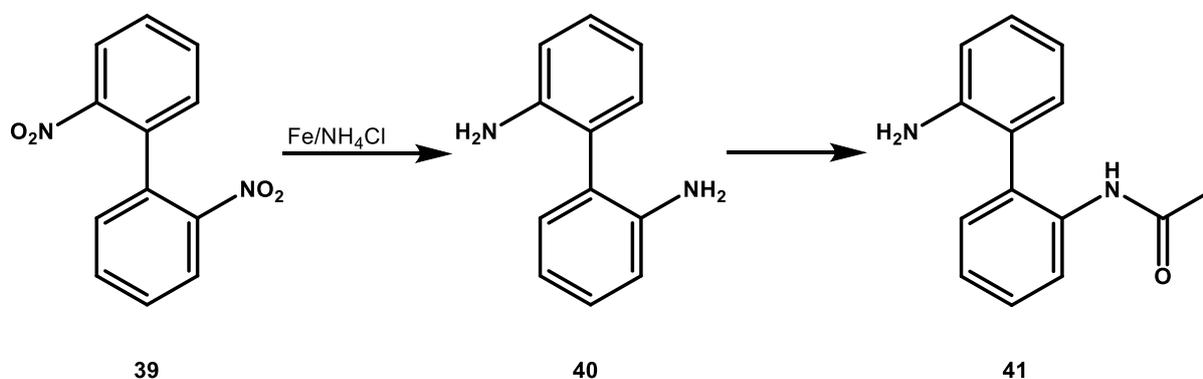


Abbildung 21: Geplante Reduktion von 2,2'-Dinitro-1,1'-biphenyl (**39**) und anschließende Desymmetrisierung

Ausgehend von Verbindung **41** sollten das gewünschte Seco-Derivat **37** und eine geeignete Zwischenstufe, die nach Ringschluss das Acridon **38** ergibt, über mehrere Wege zugänglich sein. Eine Möglichkeit wäre eine direkte Aminierung und anschließender Aromatisierung mit Cyclohex-2-en-1-on (**42**) angelehnt an eine Vorschrift von Barros^[53] (vgl. Abb. 22). Neben der dort beschriebenen Oxidation zum Aromaten mit Iod, sollten auch andere Methoden zum Ziel führen, wie etwa eine Palladium-katalysierte Reaktion mit Sauerstoff als Oxidationsmittel^[54] oder die Umsetzung mit Titan(IV)chlorid und Triethylamin^[55].

2. Themenstellung und Syntheseplanung

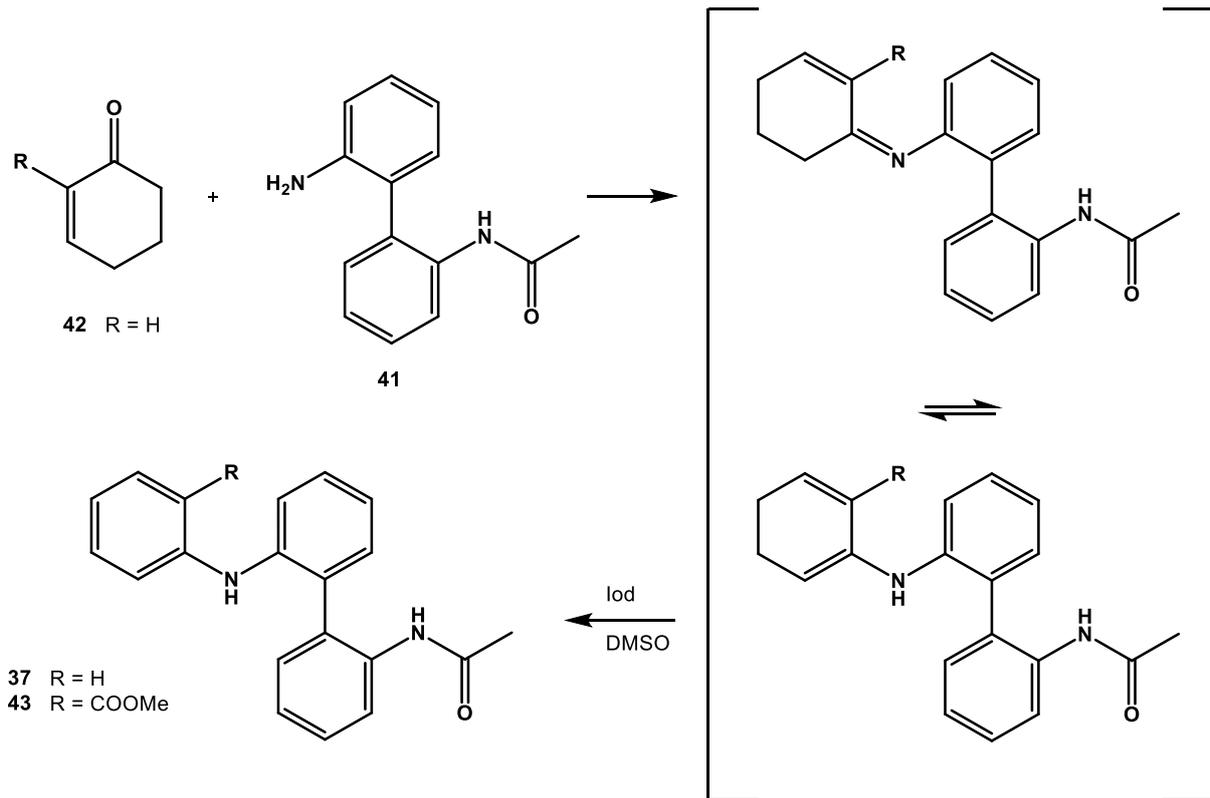


Abbildung 22: Geplante Darstellung des Seco-Analogons **37** bzw. der Zwischenstufe für das Acridon **43** angelehnt an Barros^[53]

Eine andere Möglichkeit einen weiteren Phenyl-Substituenten mit dem aromatischen Amin von Verbindung **41** zu verknüpfen bietet die Hartwig-Buchwald-Kupplung^[56] (vgl. Abb. 23).

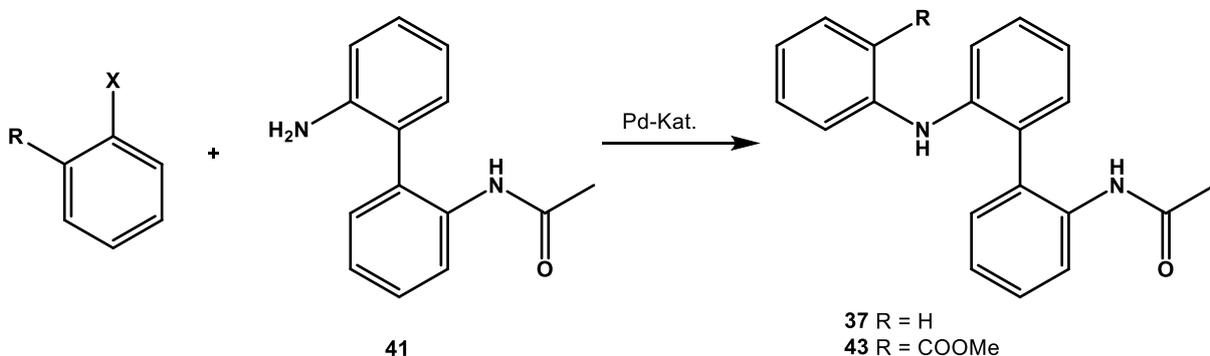


Abbildung 23: Geplante Darstellung des Seco-Analogons **37** bzw. der Zwischenstufe **43** für das Acridon über eine Hartwig-Buchwald-Reaktion

Aus der Zwischenstufe **43** sollte sich, angelehnt an eine Methode von Watterson^[57], nach Spaltung des Esters zur freien Säure und Cyclisierung mit Polyphosphorsäure das Acridon **38** darstellen lassen (vgl. Abb. 24).

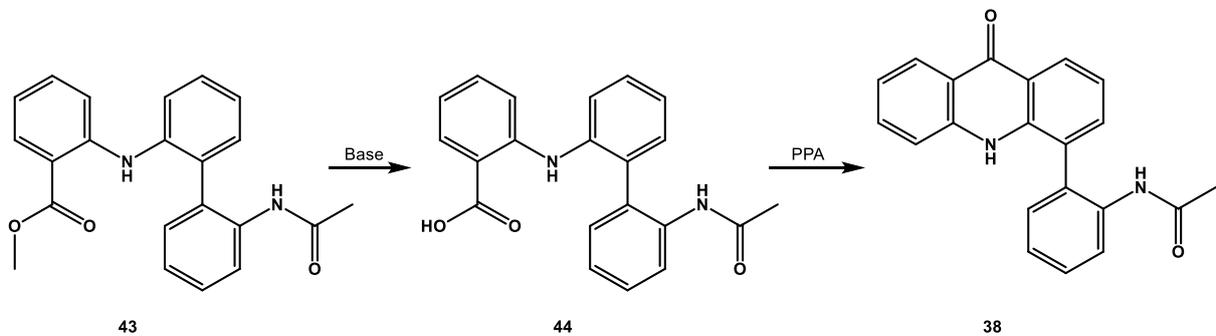


Abbildung 24: Geplante Esterspaltung und Cyclisierung zum Acridon **38**

Um herauszufinden, ob die Wasserstoffbrückendonor-Eigenschaften des Pyrrol-NH aus der Leitstruktur für die Bindung des Inhibitors an das Protein von Bedeutung sind, sollten zwei vom Fluoren abgeleitete Verbindungen hergestellt werden, die eine Carbonylgruppe beziehungsweise einen sekundären Alkohol anstelle des Pyrrol-NH tragen (vgl. Abb. 25).

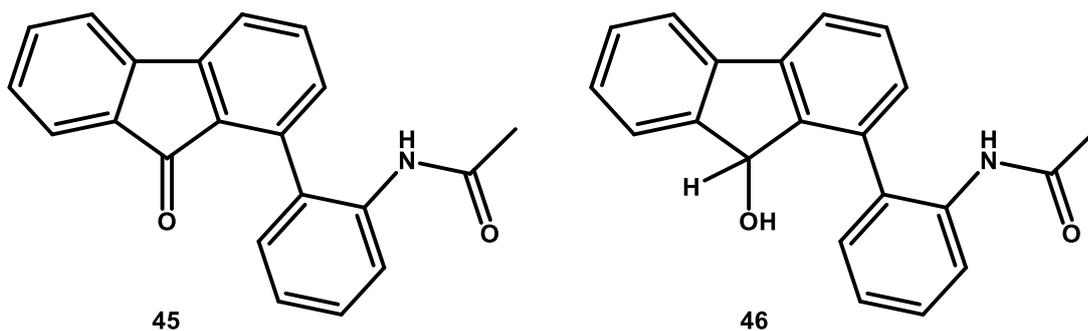


Abbildung 25: Verbindung **45** mit H-Brücken-Akzeptor-Eigenschaften und Verbindung **46** mit H-Brücken-Donor-Eigenschaften (im Vergleich zur Leitstruktur **1** nicht im Grundgerüst, sondern etwas außerhalb lokalisiert)

Als Grundbaustein für beide Verbindungen sollte sich Biphenyl-2-carbonsäure (**47**) eignen. In der Literatur ist eine Iodierung nach ortho-Metallierung neben der Carbonsäure als dirigierende Gruppe beschrieben. Anschließend kann die

entstehende Zwischenverbindung (**48**) säurekatalysiert zum 1-Iod-9*H*-fluorenon (**49**) cyclisiert werden^[58] (vgl. Abb. 26).

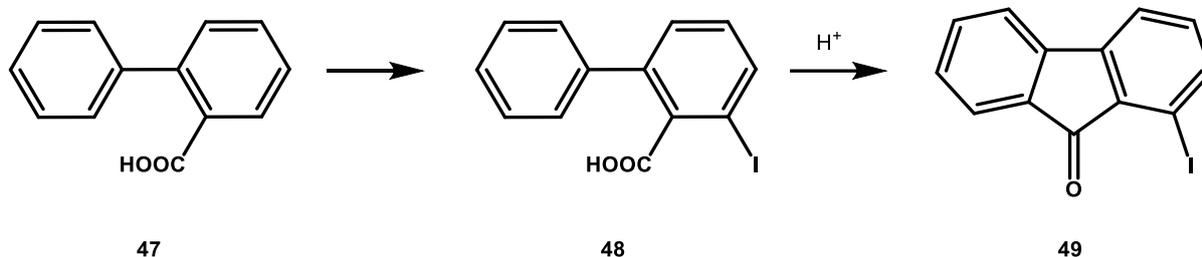


Abbildung 26: Darstellung von 1-Iod-9*H*-fluorenon nach Tilly^[58]

Verbindung **49** sollte als zentraler Baustein für die Darstellung der beiden Zielverbindungen dienen. Über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] mit der geeigneten Boronsäure sollte sich die erste Zielverbindung **45** darstellen lassen. Eine anschließende schonende Reduktion der Carbonylfunktion, z.B. mit Natriumborhydrid in Anlehnung an Fomina^[59], sollte zur zweiten Zielverbindung **46** führen (vgl. Abb. 27). Es sollte ebenfalls möglich sein den Reduktionsschritt vorzuziehen und erst anschließend die Suzuki-Kupplung durchzuführen.

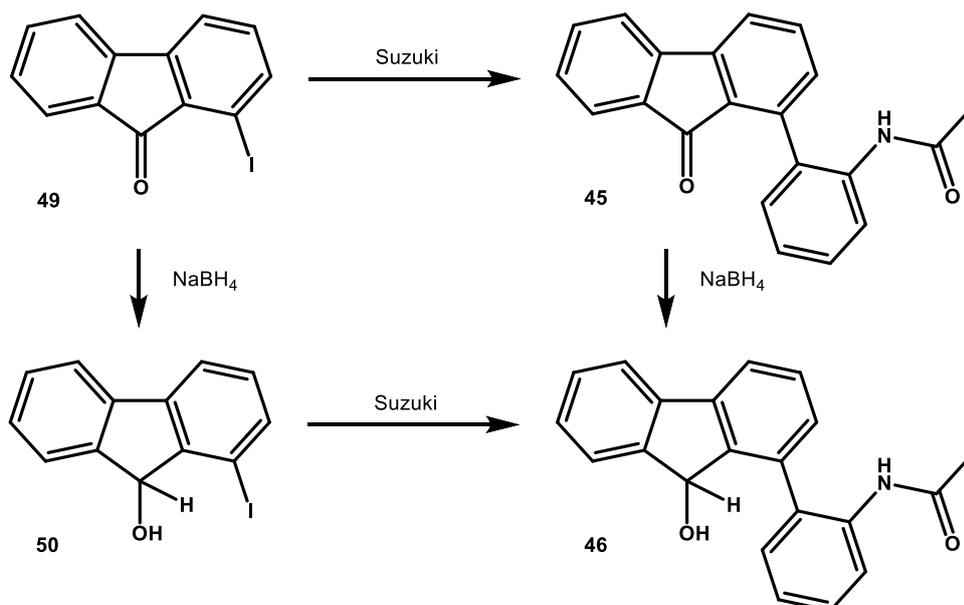


Abbildung 27: Geplante Darstellung der Verbindungen **45** und **46** aus dem zentralen Baustein **49**

Ring C:

Eine Variation an Ring C des Grundkörpers sollte durch eine kleine Veränderung der Synthesestrategie der Leitstruktur darstellbar sein. Der Baustein 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) wird dort durch Dehydrierung des entsprechenden 5,6,7,8-Tetrahydrocarbazols synthetisiert. Unterlässt man diesen Oxidationsschritt und setzt stattdessen die Tetrahydro-Stufe **22** in einer Suzuki-Miyaura-Kupplung mit der entsprechenden Boronsäure um, so sollte man das Tetrahydro-Analogon **51** zur Leitstruktur **1** erhalten (vgl. Abb. 28).

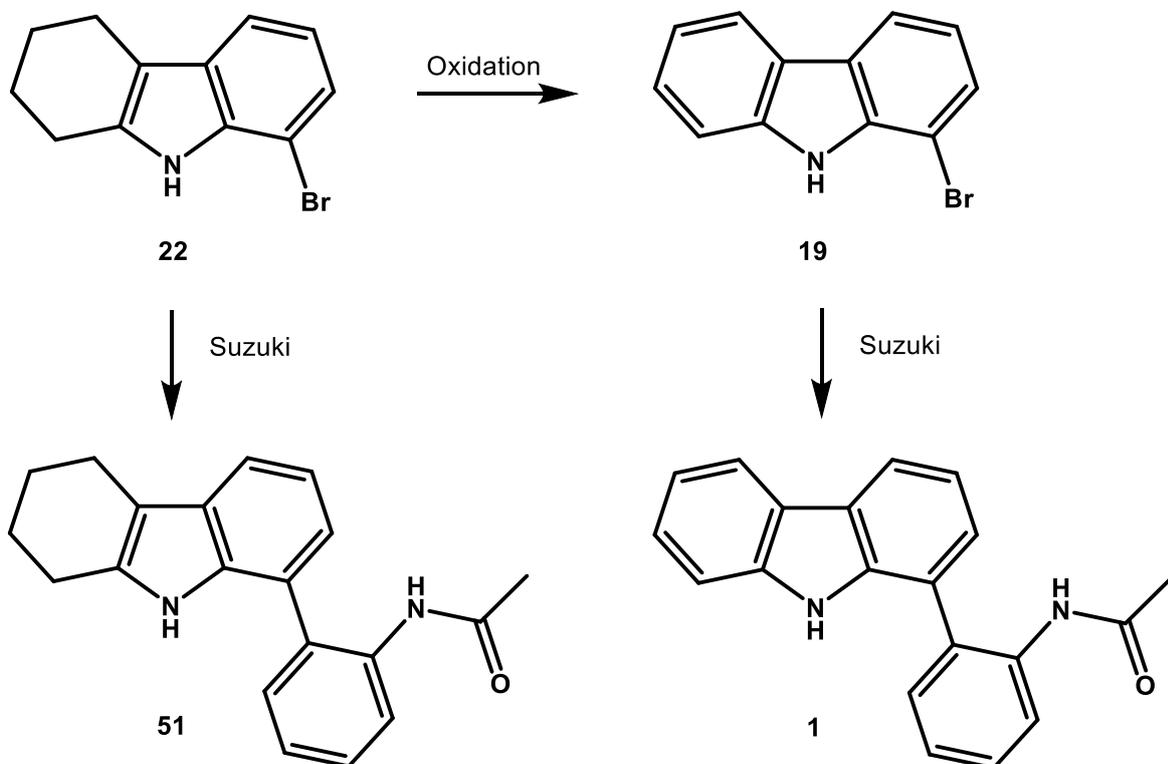


Abbildung 28: Geplante Synthese des Tetrahydro-Analogons **51**

Aus den Arbeiten von Gehring^[36] standen im Arbeitskreis einige Tetrahydrocarbazol-1-one mit verschiedenen Substitutionsmustern an Ring C zur Verfügung. Da diese Verbindungen über eine im Arbeitskreis etablierte Reaktionsfolge nach Abramovitch^{[60], [61]} gut zugänglich sind, sollten sie als Edukte für neue Analoga der Leitstruktur **1** mit verschiedenen Resten an Ring C dienen.

Eine Möglichkeit, die vorhandenen Tetrahydrocarbazol-1-one an C-1 mit dem gewünschten Substituenten zu versehen, sollte die Umsetzung dieser zu den entsprechenden Tosylhydrazonen und eine anschließende C-C-Bindungsknüpfung mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) in Anlehnung an eine Methode von Barluenga^[62] sein (vgl. Abb. 29). Durch eine milde Dehydrierung der resultierenden Dihydrocarbazole zum vollaromatischen System, z.B. mit Chloranil^[41], sollten die gewünschten Analoga der Leitstruktur **1** mit verschiedenen Substituenten an Ring C zugänglich sein.

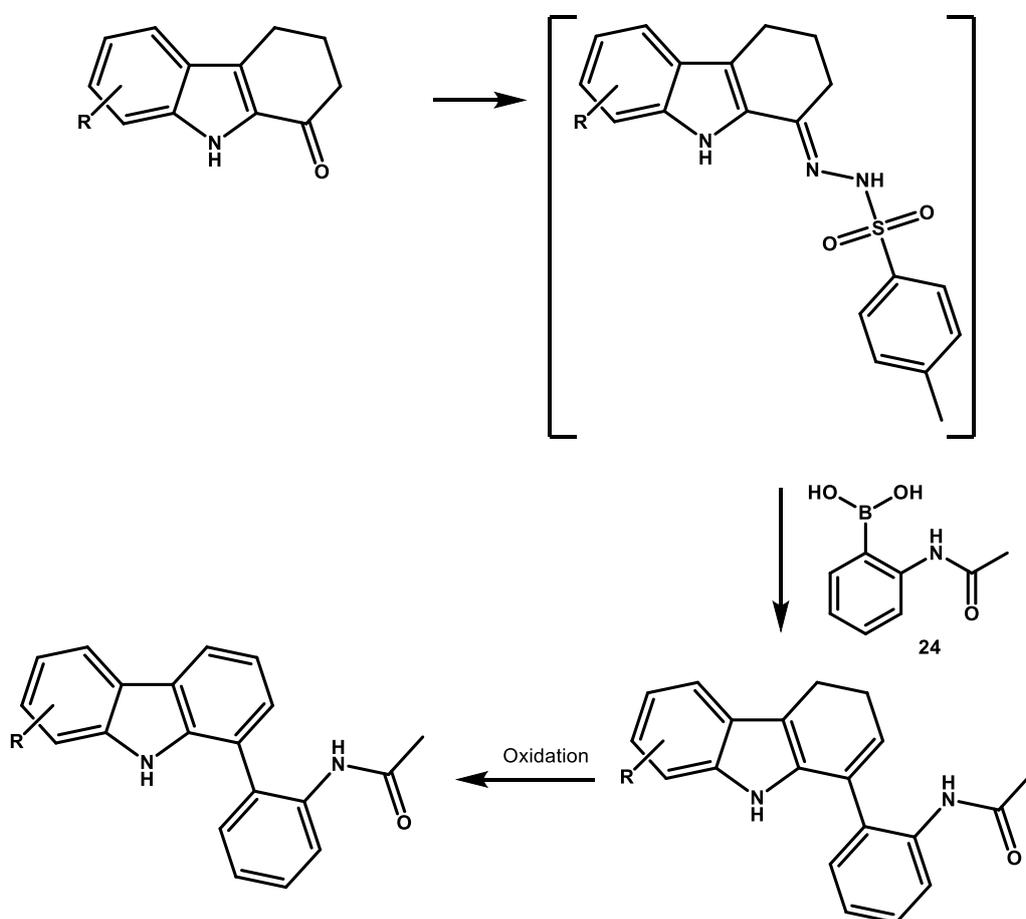


Abbildung 29: Synthesestrategie für Analoga mit verschiedenen Substitutionsmustern an Ring C

Falls diese Methode nicht zu den gewünschten an Ring C substituierten Analoga der Leitstruktur **1** führen sollte, bietet sich folgende Methode als Alternative an: *N*-(2-Bromphenyl)acetamid (**52**) sollte mit *tert*-Butyllithium-Lösung (2 Äquiv.) lithiiert werden und die dabei in situ entstehende metallorganische Verbindung sollte dann mit

der Carbonylgruppe der Tetrahydrocarbazol-1-one zu den entsprechenden tertiären Alkoholen umgesetzt werden können. Diese sollten dann in Anlehnung an Gehring^[63] in einem Arbeitsgang mit Schwefelsäure unter Dehydratisierung und Dehydrierung zu den gewünschten vollaromatischen Produkten umgesetzt werden können (vgl. Abb. 30).

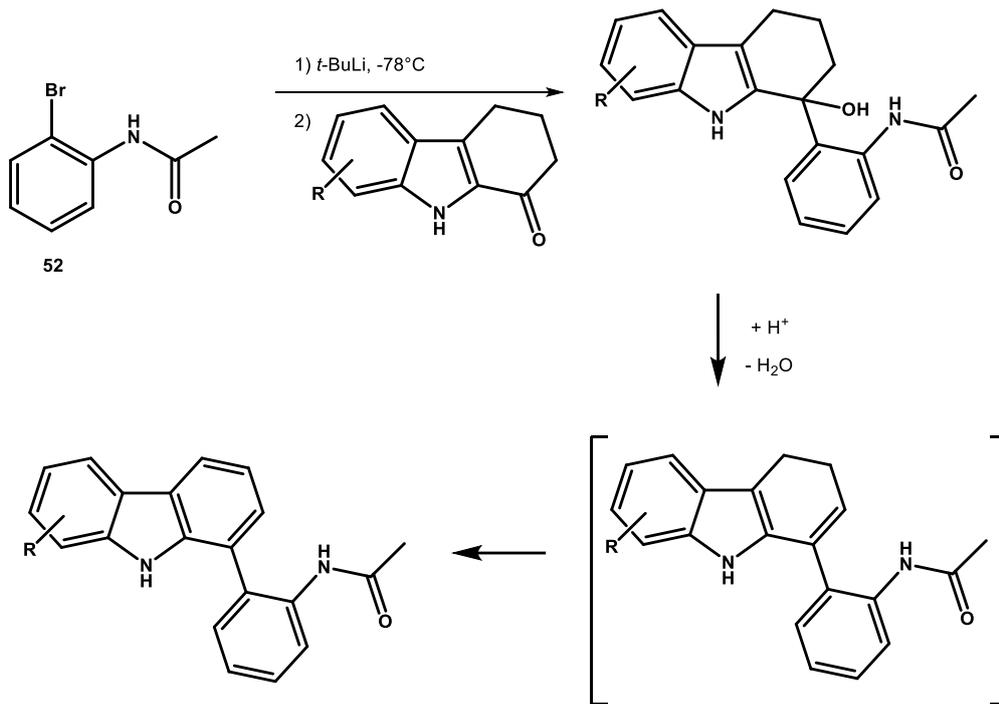


Abbildung 30: Alternativer Syntheseweg für an Ring C substituierte Analoga

Als weitere Modifikation der Leitstruktur sollten Verbindungen dargestellt werden, die an Stelle von Ring C nur noch Fragmente von diesem tragen, also ein substituiertes Indol anstelle des Carbazols als Grundkörper haben. Durch die Wahl einer geeigneten Aldehyd- oder Ketoverbindung sollten sich über eine Fischer-Borsche-Synthese^{[39], [40]} mit 2-Bromphenylhydrazin-Hydrochlorid (**21**) Indolgrundkörper mit verschiedenen Resten an Position 2 bzw. 3 herstellen lassen. Diese sollten sich dann über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] zu den entsprechenden Indol-Analoga der Leitstruktur **1** umsetzen lassen (vgl. Abb. 31).

2. Themenstellung und Syntheseplanung

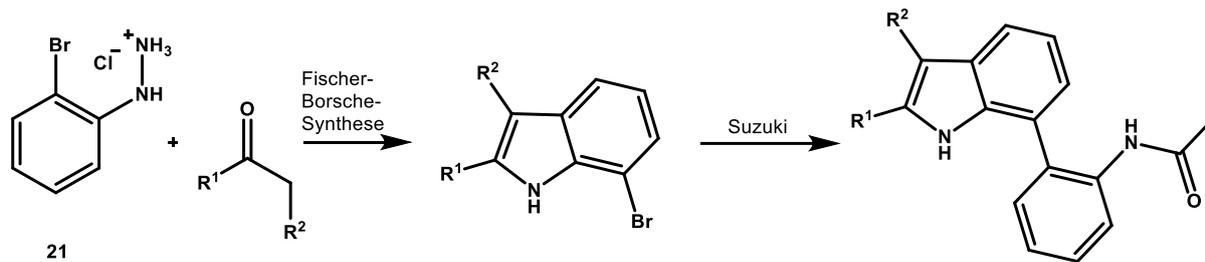


Abbildung 31: Geplante Darstellung unterschiedlich substituierter Indol-Analoga der Leitstruktur **1**

Abschließend sollten gegebenenfalls Strukturelemente der aktivsten bzw. selektivsten Variationen in einer Verbindung kombiniert werden, um zu testen ob sich synergistische Effekte erzielen lassen.

3. Synthesen

3.1 Variationen der Amidgruppe

Am Anfang des Projekts war die Hit-Verbindung **gea_69 (1)** der erste bekannte Inhibitor der Macrodomain 2 von PARP14. Deshalb war das Ziel zu Beginn dieser Arbeit, rasch einen ersten Eindruck über Bindungs- und Platzverhältnisse an der Zielstruktur im Protein zu gewinnen.

Um möglichst schnell eine große Anzahl verschiedener Analoga der Hit-Verbindung **1** für erste weiterführende Testungen zu erhalten, wurde als zentrale Zwischenstufe 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) hergestellt (vgl. Abb. 32). Hierzu wurde 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**), analog der Synthese von Gehring^[36], in einer Fischer-Borsche-Reaktion aus 2-Bromphenylhydrazin (**21**) mit Cyclohexanon^{[39],[40]} und anschließender Oxidation mit Chloranil^[41] dargestellt. Die Ausbeute an 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) betrug dabei 60 % über beide Stufen. Dieses konnte dann über eine Suzuki-Miyaura-Reaktion mit der kommerziell erhältlichen 2-Aminophenylboronsäure (**23**)^[42] in sehr guten Ausbeuten zur gewünschten Zwischenstufe **20** umgesetzt werden.

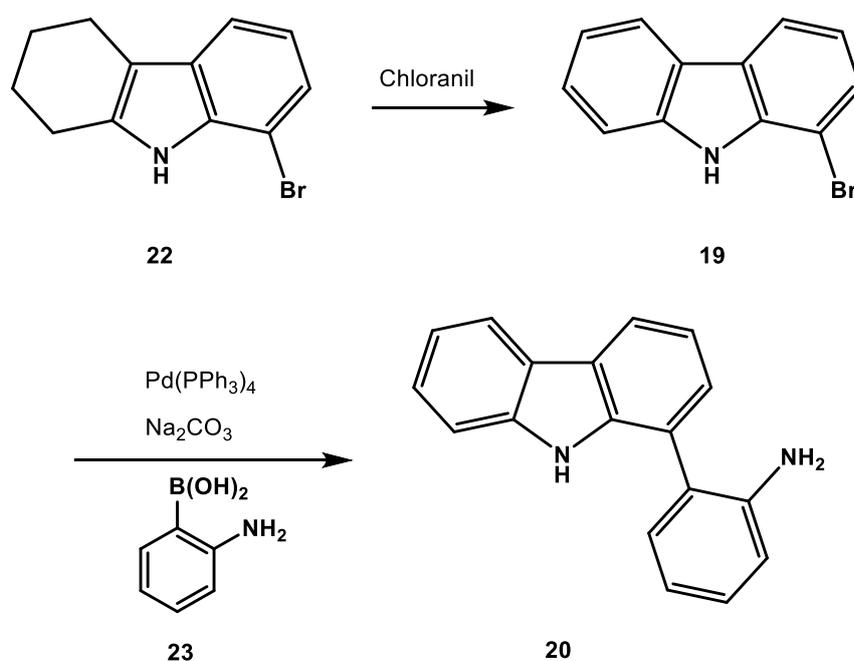


Abbildung 32: Darstellung der zentralen Zwischenstufe (**20**)

Durch Reaktion von **20** mit verschiedenen Säurechloriden in Gegenwart einer Hilfsbase^[43] konnte eine große Anzahl neuer Verbindungen hergestellt werden (vgl. Abb. 33, 34, 35). Als mögliches Problem bei dieser Vorgehensweise war ein Angriff des Säurechlorids am Carbazol-Stickstoff zu sehen. Da diese Nebenreaktion beim Einsatz stöchiometrischer Mengen Säurechlorid nicht zu beobachten war, wurde auf die Verwendung einer Schutzgruppe verzichtet. Im Folgenden sind die erhaltenen Analoga dargestellt.

3.1.1 Aliphatische lineare und cyclische Carbonsäureamide

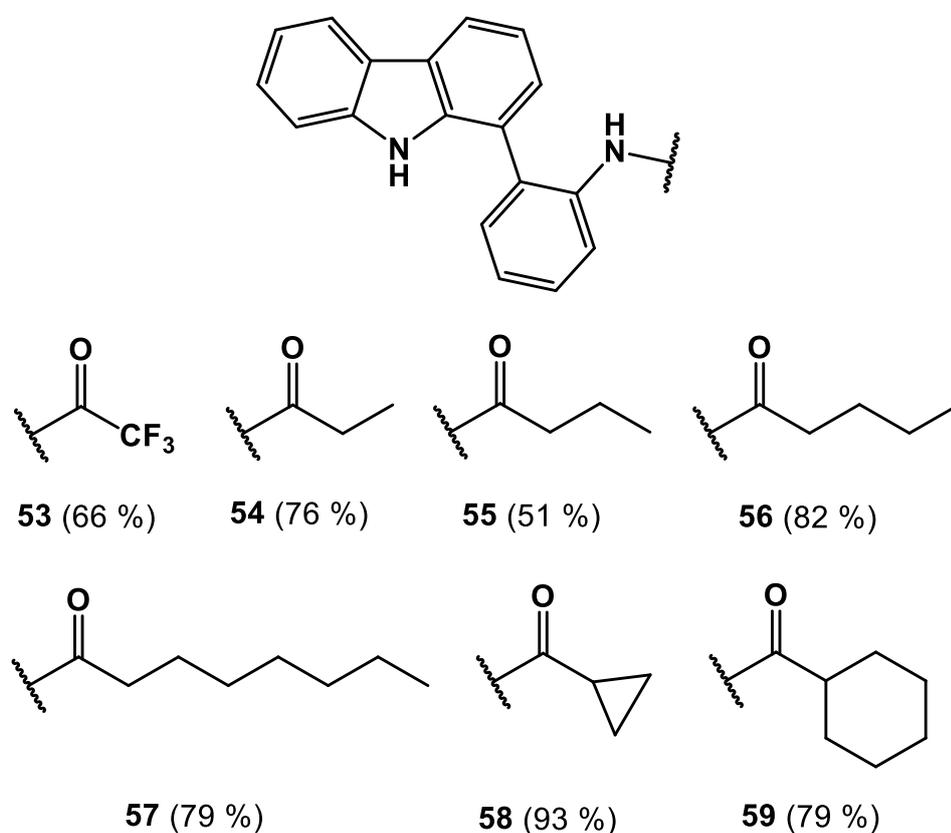


Abbildung 33: Aliphatische lineare und cyclische Carbonsäureamide

Diese Verbindungen sind relativ nahe mit der Hit-Verbindung (**1**) verwandt. Die homologe Reihe soll zeigen, ob durch Verlängerung der Acylkette eine Verbesserung der Bindungseigenschaften an der Zielstruktur erreicht werden kann. Mit den beiden cyclischen Analoga wurden sterisch anspruchsvollere Reste eingeführt, um zu sehen, ob an dieser Position noch Platz an der Bindungsstelle zur Verfügung steht.

3.1.2 (Hetero)aromatische Carbonsäureamide

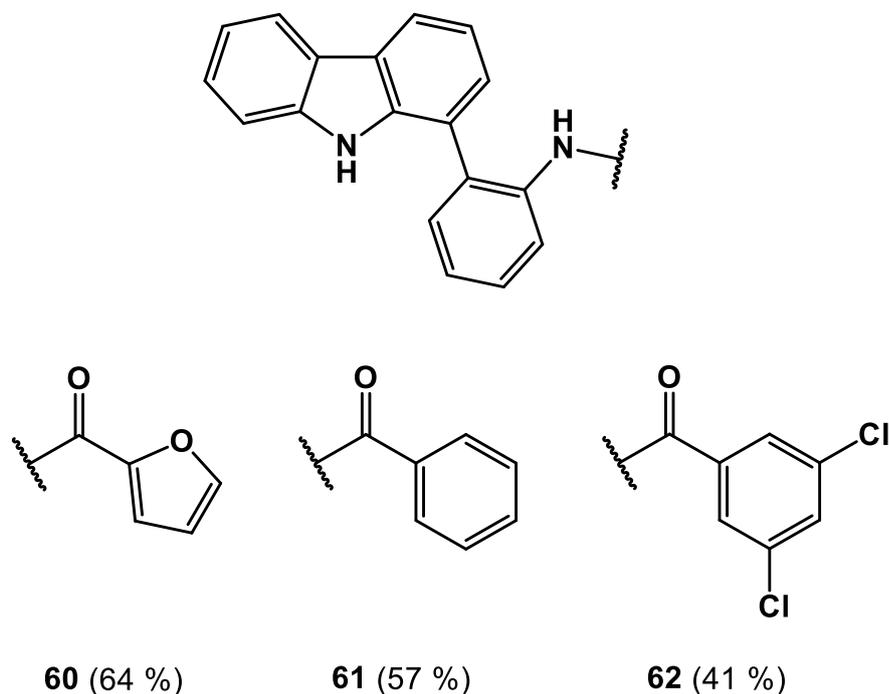


Abbildung 34: Aromatische Carbonsäureamide

Mit dieser Reihe von Verbindungen stehen Strukturen zur Verfügung, die im Grundkörper identisch zu **1** sind, sich allerdings im Amid-Rest sowohl elektronisch als auch sterisch deutlich davon unterscheiden. Die neu eingeführten Reste könnten zusätzliche Wechselwirkungen (z.B. hydrophobe Wechselwirkungen, Kation- π -Wechselwirkungen) mit verschiedenen Aminosäureresten im Protein ermöglichen. Der Heteroaromat könnte ferner die Möglichkeit bieten, zusätzliche Wasserstoffbrücken zum Protein aufzubauen und auf diese Art die Ligand-Protein-Bindung so weit stabilisieren, dass eine Co-Kristallisation ermöglicht wird. Dies würde tiefere Einblicke in die Interaktionen in der Bindungstasche des Proteins gewähren, wodurch das Ableiten von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und damit das Optimieren des Inhibitors deutlich vereinfacht würde.

3.1.3 Sulfonsäureamide

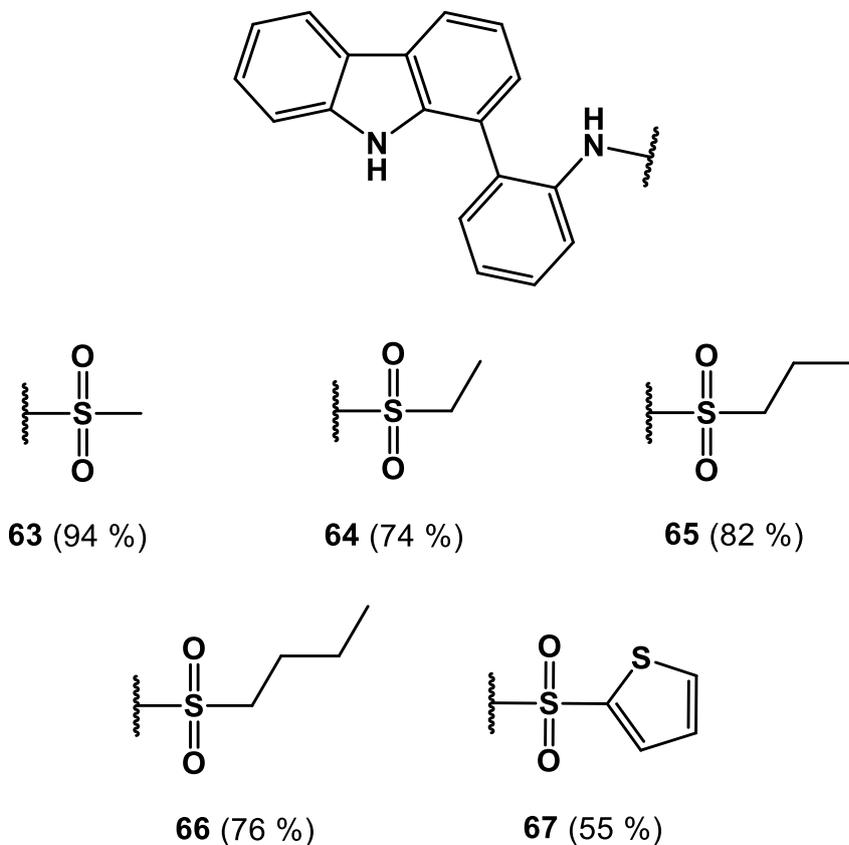


Abbildung 35: Verschiedene Sulfonsäureamide

Mit der homologen Reihe der Sulfonsäureamide wird die Amid-Gruppe an sich verändert. Hier stehen nun zwei Sauerstoffatome für Wechselwirkungen mit dem Protein zur Verfügung. Die Geometrie des Amids ist etwas verändert von trigonal planar zu tetraedrisch. Ebenso ist der Amid-Stickstoff hier leicht sauer im Vergleich zum neutralen Carbonsäureamid. Beginnend mit dem Methansulfonsäureamid, das zur Ausgangsverbindung **1** bioisoster ist, wurde hier ebenfalls die homologe Reihe hergestellt, um gleichzeitig nochmals den Einfluss von voluminöseren Resten auf die Ligand-Protein-Bindung zeigen zu können. Außerdem wurde ein heteroaromatisches Sulfonsäureamid dargestellt, um Vergleiche zu den entsprechenden (hetero)aromatischen Carbonsäureamid-Analoga ziehen zu können.

3.1.4 Weitere Variationen an der Amidfunktion

Eine Option, die Amidfunktion nur wenig zu verändern und trotzdem eine weitere Interaktionsmöglichkeit zu schaffen, ist der Austausch dieser gegen eine Harnstofffunktion. Die gewünschte Verbindung lässt sich aus der zentralen Vorstufe **20** in einer basenvermittelten Umsetzung mit dem entsprechenden Isocyanat (**68**) darstellen (vgl. Abb. 36). In der Literatur wird die Umsetzung meist in Gegenwart von Hilfsbasen wie Triethylamin oder Diisopropylethylamin beschrieben^[64], die nach dem nucleophilen Angriff desamins am Kohlenstoff des Isocyanats lediglich an der Protonenübertragung beteiligt sind.^[65] Dies hat in der hier beabsichtigten Reaktion nicht zum gewünschten Produkt geführt, deshalb wurde auf die stärkere Base Natriumhydrid zurückgegriffen. So konnte durch Deprotonierung des aromatischenamins die Nucleophilie ausreichend gesteigert werden, um die Reaktion mit dem Isocyanat **68** zum Harnstoff zu ermöglichen. Eine mögliche Nebenreaktion ist die Bildung des Harnstoffs an der, verglichen mit der Anilin-NH-Funktion, acideren NH-Funktion des Carbazolgrundkörpers. Dies liefert eine Erklärung für die relativ niedrige Ausbeute.

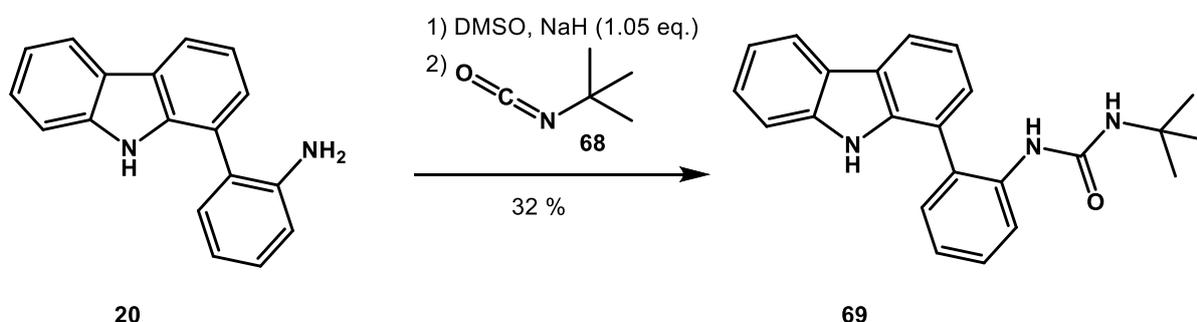


Abbildung 36: Synthese des Harnstoffs-Analogons **69** aus der zentralen Zwischenstufe **20**

Als weitere Modifikation sollte eine basische Aminofunktion in die Seitenkette eingeführt werden. Die bei physiologischem pH-Wert protonierte Form der Aminogruppe ermöglicht im Proteinumfeld möglicherweise Ion-Ion-Wechselwirkungen mit Glutamat oder Aspartat bzw. Kation- π -Wechselwirkungen zu verschiedenen Aminosäuren wie Phenylalanin, Thyrosin oder Tryptophan und könnte so die Affinität des Liganden zum Protein steigern.^[66]

Auch hier fand die zentrale Zwischenstufe **20** als Edukt Verwendung. Sie wurde in Gegenwart einer Hilfsbase mit Bromacetyl bromid^[67] umgesetzt. Das entstandene 2-Bromacetamid (**70**) ergab dann mit Dimethylamin^[68] in einer S_N2-Reaktion die gewünschte Verbindung **71** (vgl. Abb. 37). Die Ausbeute betrug über beide Stufen 87 %.

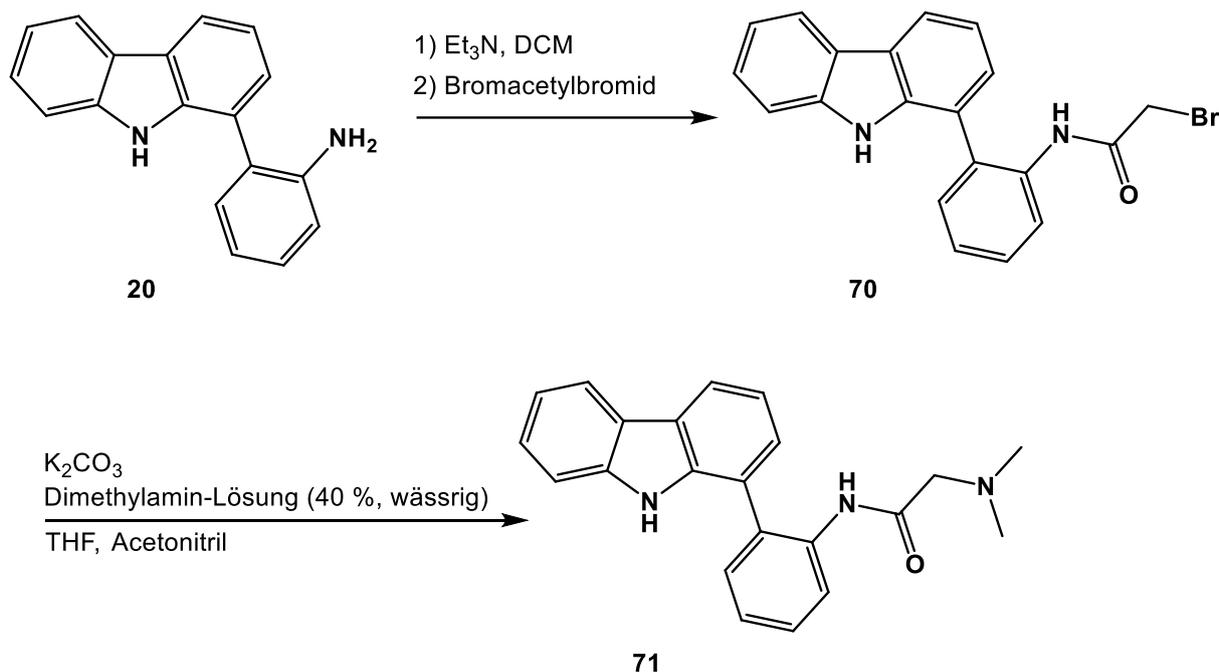


Abbildung 37: Synthese des *N,N*-Dimethylaminoacetamid-Analogons (**71**)

Um herauszufinden, ob der Carbonyl-Sauerstoff der Amidfunktion der Leitstruktur **1** an der Bindung zur Macrodomain maßgeblich beteiligt ist, sollte das Amin-Analogon hergestellt werden. Dazu wurde Verbindung **1** mit Boran-Dimethylsulfid in Anlehnung an eine Arbeit von Bonnat^[69] reduziert (vgl. Abb. 38).

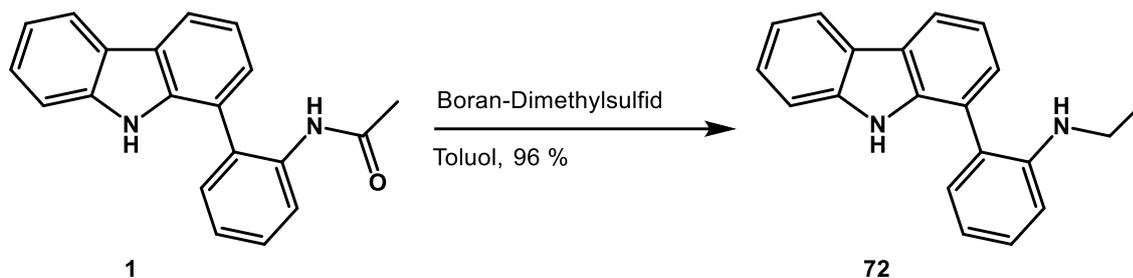
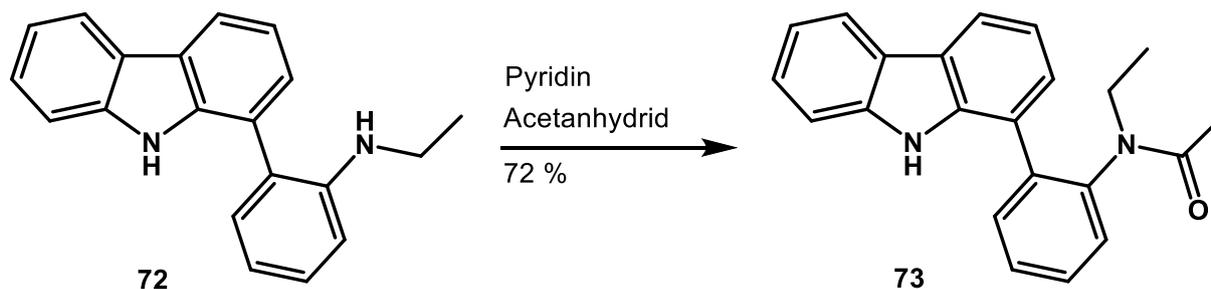


Abbildung 38: Reduktion mit Borandimethylsulfid

Mit dem nun zur Verfügung stehenden *N*-Ethylanilin-Analogen (**72**) war es möglich, durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid ein tertiäres Amid darzustellen (vgl. Abb. 39). So kann überprüft werden, ob die NH-Funktion des Amids der Hit-Verbindung **1** für die Aktivität der Verbindung mitbestimmend ist.

Abbildung 39: Darstellung des tertiären Amids **73**

Da die Leitstruktur nur eine begrenzte Anzahl funktioneller Gruppen besitzt, die Wechselwirkungen mit dem Protein eingehen können, lag die Vermutung nahe, dass die Amidfunktion oder Teile davon maßgeblich an der Ligand-Protein-Bindung beteiligt sind. Um festzustellen, ob die Amidgruppe bereits in der für die Bindung idealen Position im Molekül vorliegt, wurde ein Konstitutionsisomer zur Ausgangsverbindung dargestellt, das die Amidgruppe metaständig zum Grundkörper trägt, anstelle von orthoständig.

Dazu wurde 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) in einer Suzuki-Miyaura-Reaktion, angelehnt an eine Methode von de Koning^[42], mit kommerziell erhältlicher 3-Aminophenylboronsäure (**74**) gekuppelt und das erhaltene Anilin (**75**) im Anschluss

3. Synthesen

mit Acetylchlorid in Gegenwart einer Hilfsbase zum Acetamid (**76**) umgesetzt (vgl. Abb. 40).

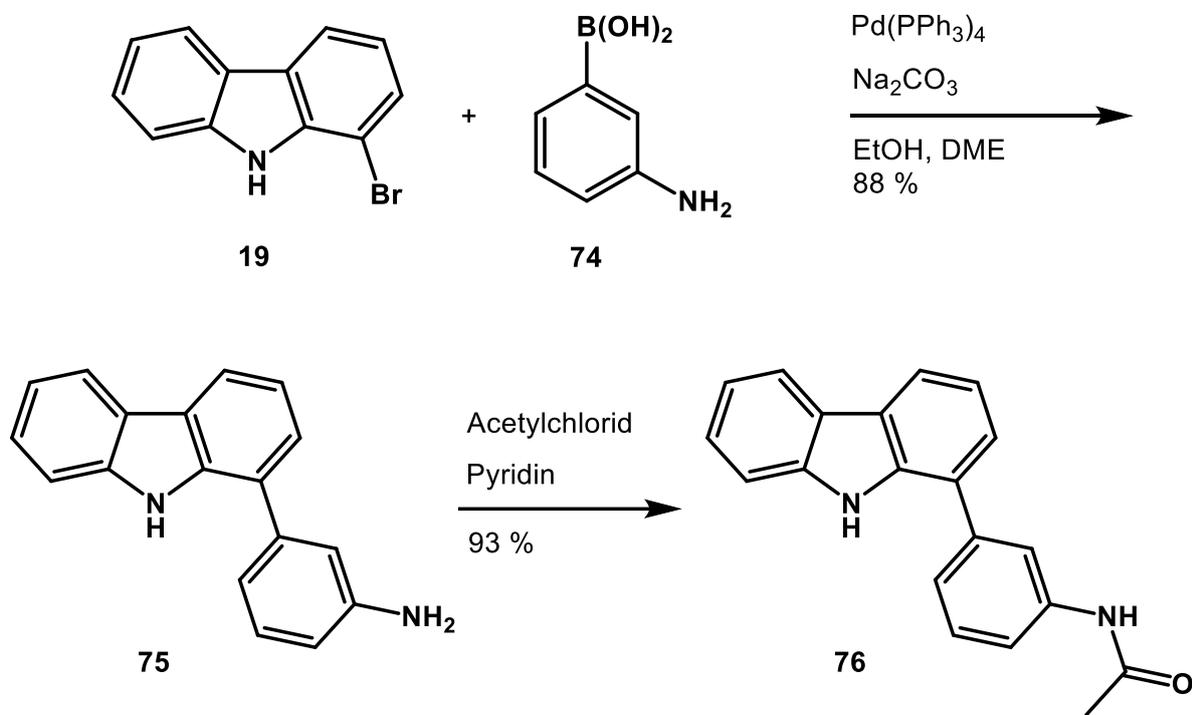


Abbildung 40: Synthese des Konstitutionsisomers **76**

Als weitere Variation der Ausgangsverbindung (**1**) sollte das bioisostere Thioacetamid dargestellt werden. Hierfür wurde gea_{69} (**1**) in Anlehnung an Koduri^[70] mit Lawessons Reagenz in das Thioamid überführt (vgl. Abb. 41).

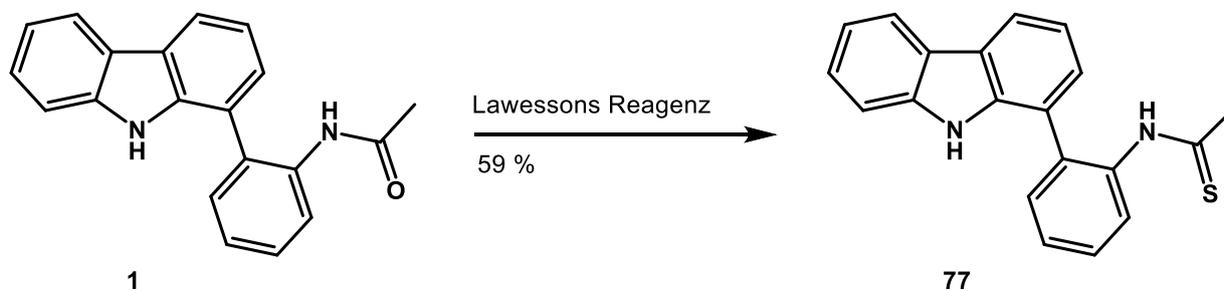


Abbildung 41: Darstellung des Thioanalogons **77**

Ein anderes Bioisoster zur Amid-Gruppe, das ursprünglich in Peptiden Anwendung fand, ist die Trifluorethylamin-Funktion.^[71] Auch für die Synthese dieser Verbindung konnte die zentrale Zwischenstufe **20** als Edukt genutzt werden. Über eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung mit 2-Brom-3,3,3-trifluor-1-propen (**78**) kann in Anlehnung an Arbeiten von Kino^[72] das 1,1,1-Trifluorpropan-2-imin (**79**) als Zwischenprodukt in guter Ausbeute dargestellt werden (vgl. Abb. 42).

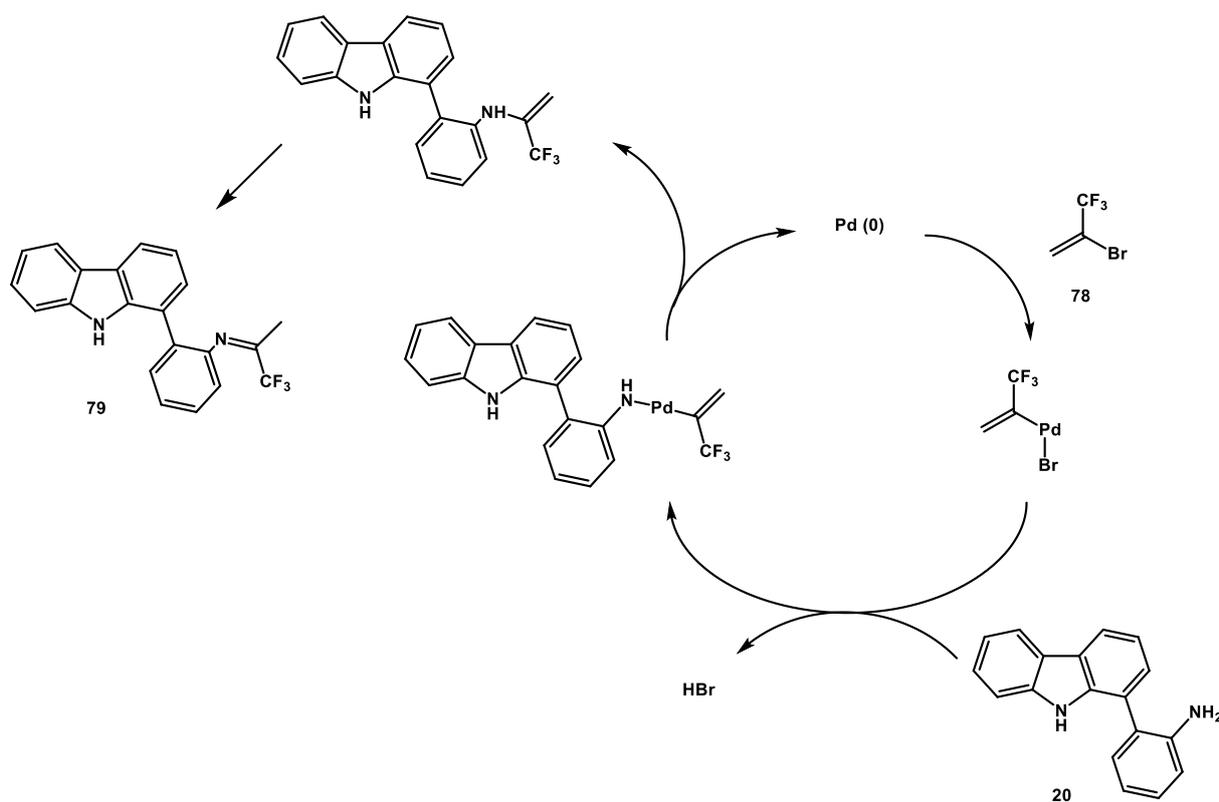
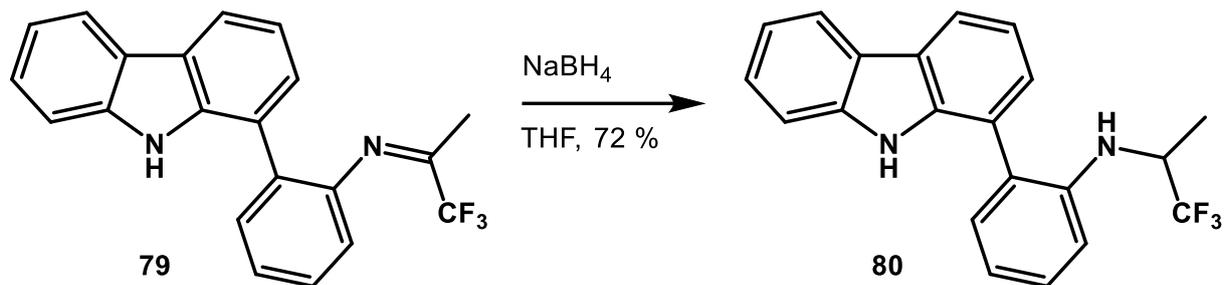
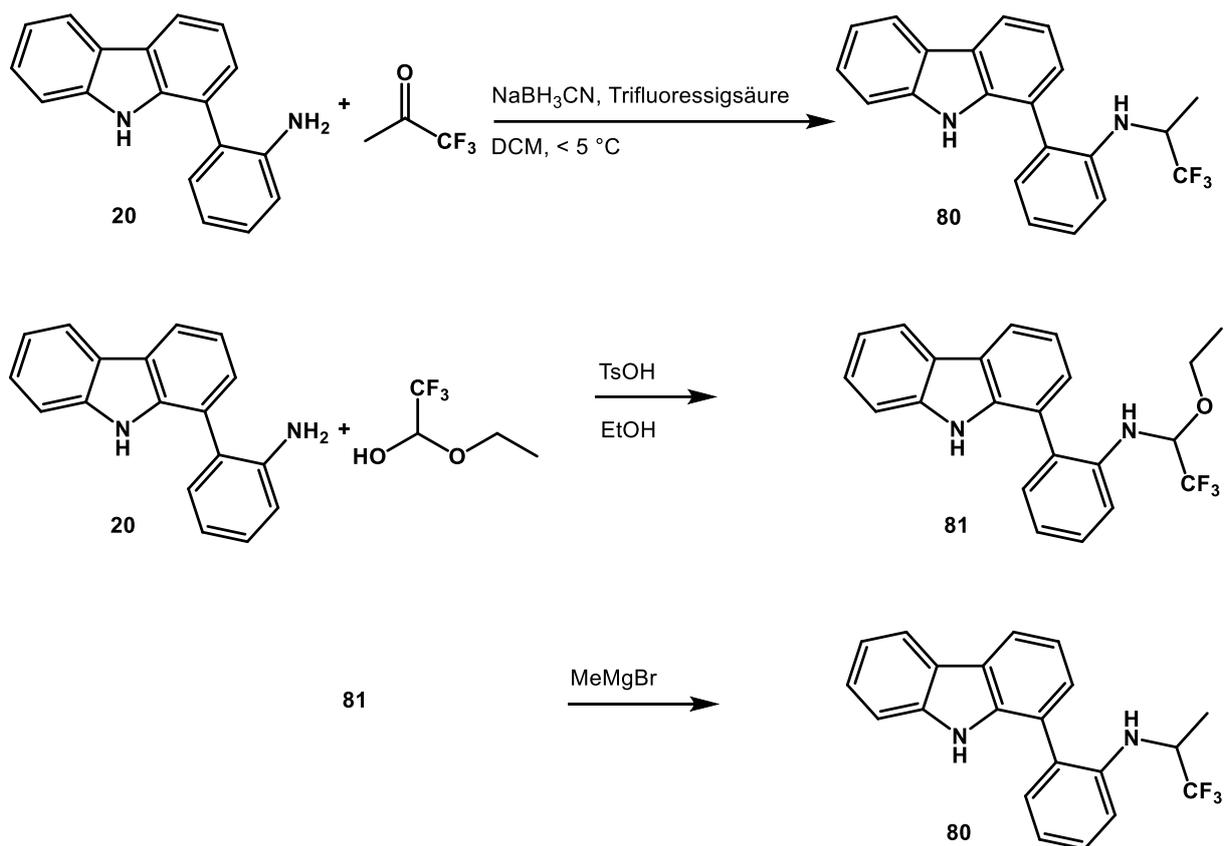


Abbildung 42: Palladium-katalysierte Kupplung von **20** mit 2-Brom-3,3,3-trifluor-1-propen^[72] (**78**)

Durch eine Reduktion von **79**, z.B. mit komplexen Hydriden^[72], lässt sich das zu Verbindung **1** bioisostere *N*-(1,1,1-Trifluorpropan-2-yl)anilin (**80**) herstellen (vgl. Abb. 43). Dies gelang hier mit Natriumborhydrid in guter Ausbeute.

Abbildung 43: Reduktion von **79** mit Natriumborhydrid

Ein anderer Weg, diese Verbindung herzustellen, wäre eine reduktive Aminierung von **20** mit Trifluoraceton^[73] in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid (Borch Reagenz). Außerdem gibt es noch die Möglichkeit, das Arylamin **20** mit Trifluoracetaldehydethylhalbacetal säurekatalysiert zum (1-Ethoxy-2,2,2-trifluorethyl)amin^[74] umzusetzen und nach anschließender Reaktion mit Methylmagnesiumbromid^[75] die gewünschte Verbindung **80** zu erhalten (vgl. Abb. 44).

Abbildung 44: Alternative Synthesewege zu Verbindung **80**

3.1.5 Diskussion der ersten Testergebnisse

Bei der ersten weiterführenden Testung am SGC in Oxford wurde die dose-response-Beziehung mittels ALPHA-Screen-Methode im Vergleich zur Leitstruktur **1** ermittelt. Die vollständigen Daten sind in Kapitel 4 (biologische Testung) dargestellt. Es zeigte sich, dass eine Verlängerung der Alkylkette von zwei auf vier Kohlenstoffatome (Verbindung **55**) zu einer Verbesserung der Affinität zur zweiten Macrodomain von PARP14 führt. Ebenfalls zeigten das Methansulfonsäureamid (**63**) und das Benzamid (**61**) eine erhöhte Affinität im Vergleich zu **1** (vgl. Abb. 45).

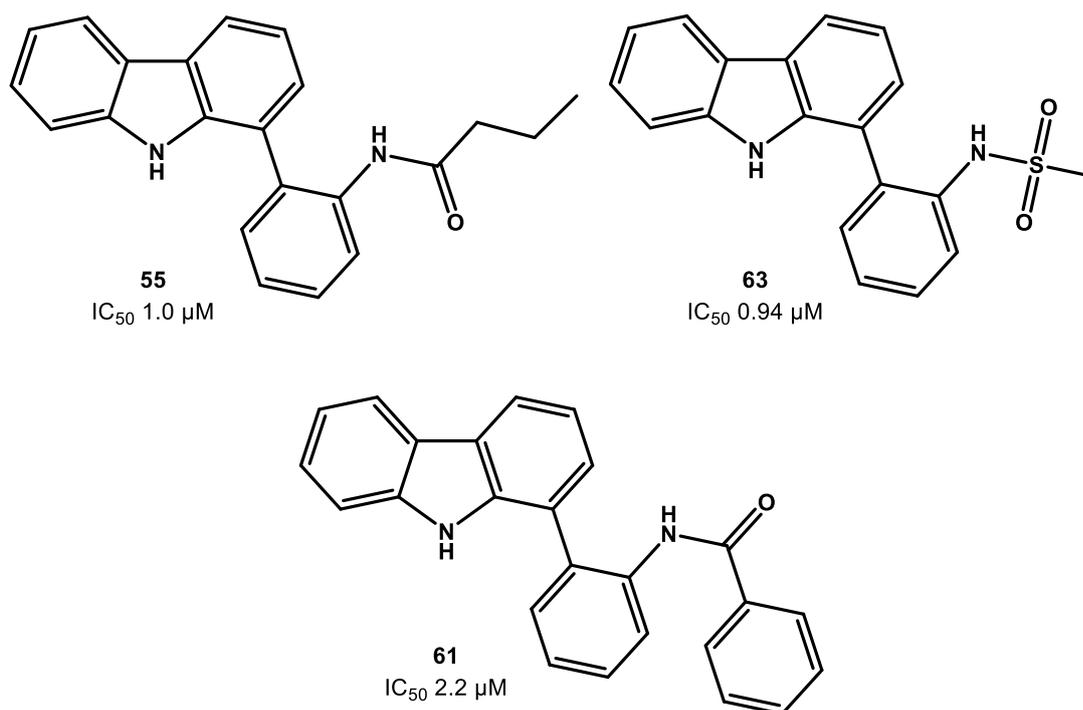


Abbildung 45: Ausgewählte Strukturen aus dem ALPHA-Screen mit verbesserter Aktivität im Vergleich zur Leitstruktur

Um die Daten aus dem dose-response-Experiment für die sechs aktivsten Verbindungen zu bestätigen, wurde ein zweites ALPHA-Screen-Experiment durchgeführt, bei dem die IC_{50} -Werte der Verbindungen bestimmt wurden. Hierbei zeigte sich, dass die Leitstruktur **1** den niedrigsten IC_{50} -Wert (0.393 μ M) im Vergleich zu allen mitgetesteten Verbindungen aufweist. Die Ergebnisse aus dem ersten ALPHA-Screen konnten also nicht reproduziert werden. Trotzdem bestätigte sich, dass die Verbindungen **63**, **55** und **61**, die der Leitstruktur **1** relativ ähnlich sind, Aktivitäten im einstelligen mikromolaren Bereich aufweisen und eine enge Struktur-Aktivitäts-Beziehung besteht.

Insgesamt ergab die Testung der Amidvariationen ein stimmiges Bild: Die Aktivität sinkt mit zunehmendem Volumen des Rests der Amidgruppe. Kleine Veränderungen an der Amidfunktion selbst, z.B. vom Carbonsäureamid zum Sulfonsäureamid oder der Austausch des Carbonylsauerstoffs gegen ein Schwefelatom, werden toleriert, können die Aktivität jedoch nicht steigern. Größere Abweichungen, wie das Ersetzen der Amidfunktion durch eine Aminofunktion oder das Einführen eines Alkylrests am Amidstickstoff, führen zu einem massiven Aktivitätsverlust (vgl. Tab. 3 \rightarrow Kapitel 4 - biologische Testung).

Die Ergebnisse zeigen, dass alle durchgeführten Modifikationen des Acetamids zu einer Verringerung der Aktivität führen. Aus diesem Grund wurde in den nachfolgenden Verbindungen, mit Variationen in anderen Bereichen des Moleküls, dieser Rest beibehalten.

Neben der Bestimmung der Aktivität der neuen Verbindungen, wurden von unserem Kooperationspartner in Oxford, mit den besten drei aus dieser Serie (**63**, **55**, **61**) Co-Kristallisationsversuche mit der zweiten Macrodomain von PARP14 durchgeführt. Verbindung **63** lieferte den erhofften Kristall und ermöglichte ein dreidimensionales Modell des Liganden im Protein (vgl. Abb. 46).

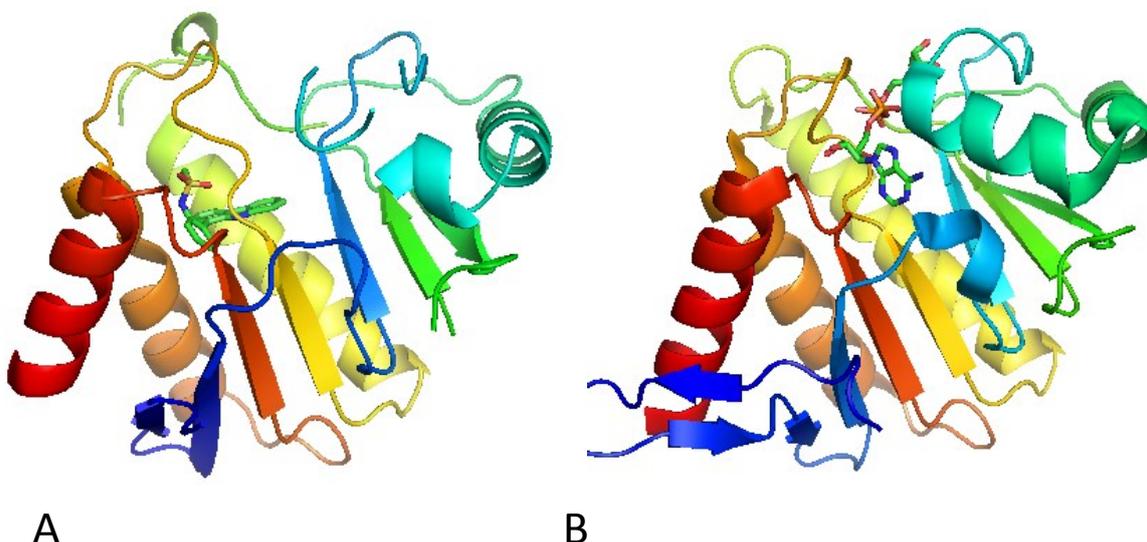


Abbildung 46:

A PARP14 Macrodomain 2 mit Verbindung **63**

B PARP14 Macrodomain 2 mit dem natürlichen Liganden ADP-Ribose^[76]

Im direkten Vergleich erkennt man, dass der Inhibitor **63** nicht an der gleichen Position im Protein lokalisiert ist wie der natürliche Ligand ADP-Ribose. Außerdem sieht man bei genauerer Betrachtung, dass das Protein mit dem Inhibitor in einer anderen Konformation vorliegt als mit dem natürlichen Liganden. Beide Erkenntnisse sprechen für eine allosterische Bindung. Weiter fällt auf, dass sich **63**, anders als ADP-Ribose, nicht in einer Bindungstasche auf der Proteinoberfläche anlagert, sondern tief im Inneren des Proteins sitzt (vgl. Abb. 47).

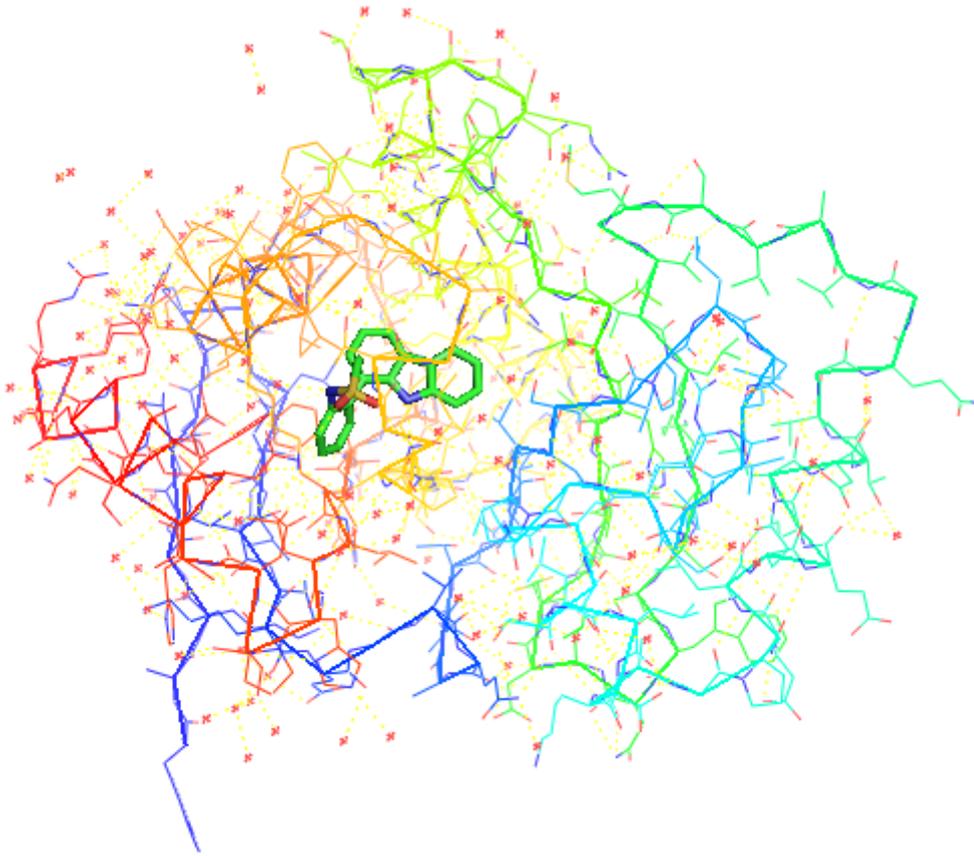


Abbildung 47: Lage von **63** in der Proteindomäne

In der Vergrößerung lässt sich die direkte Umgebung des Liganden beurteilen (vgl. Abb. 48). Die NH-Funktion des Carbazols bildet eine Wasserstoffbrücke zur Carbonylgruppe von Prolin 1130. Von einem der beiden Sauerstoffatome der Sulfonamidgruppe reichen zwei Wasserstoffbrücken zu Isoleucin 1132 und Glycin 1133. Das zweite Sauerstoffatom ist über eine Wasserstoffbrücke mit der Amidgruppe der Seitenkette von Asparagin 1178 verbunden. Außerdem bildet der Ligand über die NH-Funktion des Sulfonamids eine Wasserstoffbrücke zu einem Wassermolekül, welches wiederum zwei Wasserstoffbrücken zu Lysin 1141 und zum Carbonylsauerstoff aus der Seitenkette von Asparagin 1178 bildet. Diese beiden Aminosäuren liegen in zwei verschiedenen alpha-Helices und werden über das Wassermolekül verbunden, was vermutlich die veränderte Konformation des Proteins zusammen mit anderen Wechselwirkungen stabilisiert.

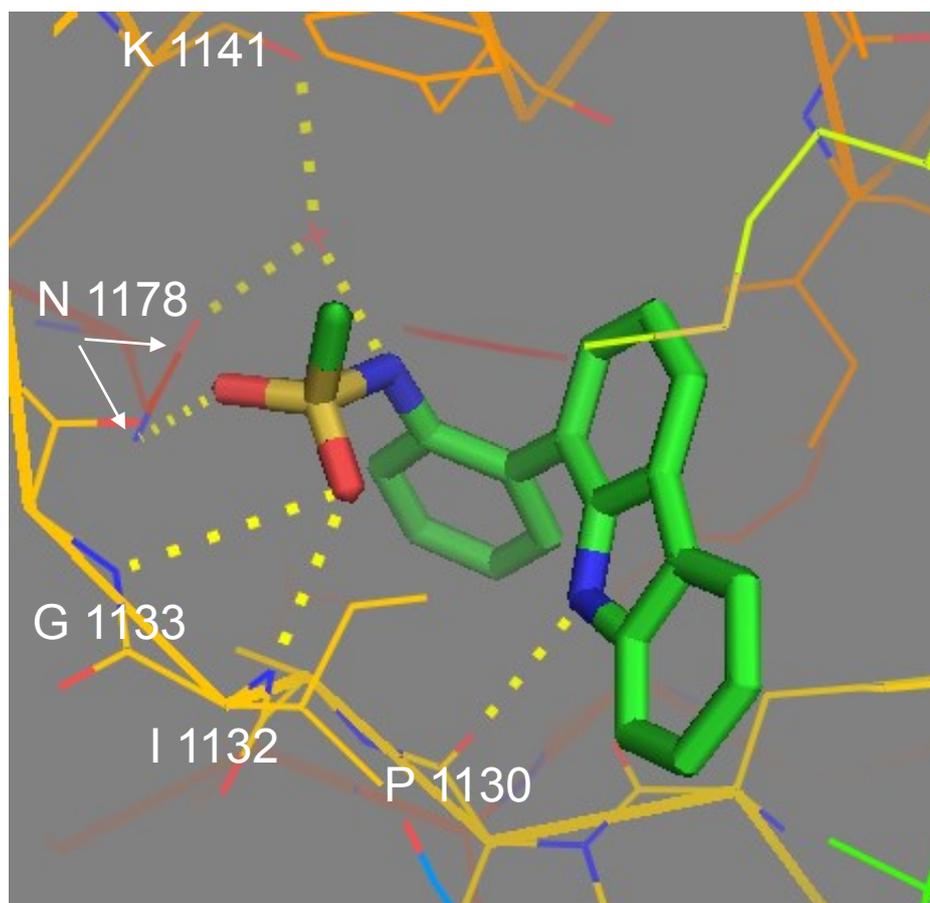


Abbildung 48: Interaktionen von **63** mit der direkten Umgebung

Der Kristall bestätigte die bisherigen Testergebnisse. Sowohl die NH-Funktion des (Sulfon)amids als Wasserstoffbrücken-Donator, als auch die Carbonylgruppe bzw. Sulfonylgruppe als Wasserstoffbrücken-Akzeptor scheinen für die Interaktion mit dem Protein essenziell zu sein. Dies belegen auch die Testergebnisse der Verbindungen **72** (sekundäres Amin) und **73** (tertiäres Amid). Die Bindungsstelle im Inneren des Proteins bietet wenig Platz für sterisch anspruchsvolle Reste, was über die beiden homologen Reihen (Carbonsäure- und Sulfonsäureamide) und verschiedene andere voluminöse Reste bestätigt werden konnte.

Entsprechend der Ergebnisse aus der ersten Testreihe und der Einblicke in die Bindungstasche aus der Kristallstruktur wurden die Anforderungen an die folgenden Zielstrukturen modifiziert. Die nächsten Variationen sollten idealerweise nur kleine zusätzliche Reste am Grundkörper tragen, einen kleineren oder nur geringfügig veränderten Grundkörper besitzen oder Bioisostere zu **1** darstellen.

3.2 Variationen des Phenylrings

Mit den Informationen aus dem Co-Kristallisations-Experiment konnten die Struktur-Variationen besser geplant werden. Im 3D-Modell von Verbindung **63** an seiner Bindungsstelle im Protein war zu sehen, dass im Umfeld des Phenylrings sehr wenig Platz zur Verfügung steht. Aus diesem Grund sollte der Fokus für Variationen an dieser Stelle auf Bioisosteren mit ähnlichen Volumina liegen.

3.2.1 Exkurs: Bioisosterie

Die Affinität eines Arzneistoffs zu seiner biologischen Zielstruktur ist von vielen Faktoren abhängig. Dies sind unter anderem Eigenschaften wie Größe, Polarität oder Lipophilie der Substanz. Bei der Entwicklung von Wirkstoffen werden oft bioisostere Analoga von bekannten Arzneistoffen entwickelt, mit dem Ziel die Wirkung zu erhalten bzw. zu verbessern, aber gleichzeitig z.B. die Selektivität zu verbessern, Nebenwirkungen zu verringern oder metabolische Stabilität zu erreichen.^[71] Eine Verbindung ist bioisoster zu einer anderen Substanz, wenn sie in etwa die gleiche räumliche Ausdehnung besitzt, eine ähnliche Elektronenverteilung aufweist und vor allem eine vergleichbare pharmakologische Wirkung hervorruft.^[77] Ein Beispiel für ein klassisches Bioisoster ist das Zytostatikum 5-Fluoruracil (**83**).^[78] Hier ist ein Wasserstoffatom des Uracil gegen ein Fluoratom ausgetauscht (vgl. Abb. 49).

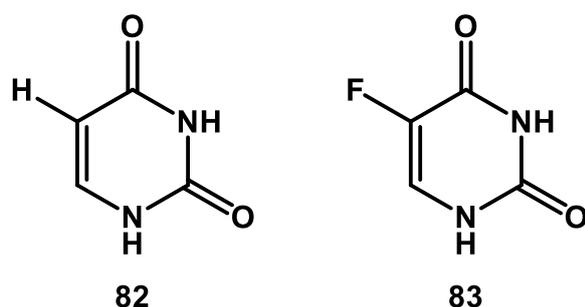


Abbildung 49: Das Zytostatikum 5-Fluoruracil (**83**) ist ein Bioisoster der Nukleinbase Uracil (**82**)

Fluor und Wasserstoff besitzen eine sehr ähnliche Größe, deshalb können körpereigene Enzyme die beiden Verbindungen nicht unterscheiden und setzen beide um. Das Enzymsystem, das normalerweise der Umsetzung von Uracil (**82**) in das entsprechende Nukleotid dient, kann genutzt werden um das Prodrug 5-Fluoruracil in

seine Wirkform 5-Fluordesoxyuracilmonophosphat zu überführen. Diese bindet dann kovalent an die Thymidylat-Synthase (TS) und kann auf Grund der durch das zusätzliche Fluoratom blockierten Position 5 im Molekül nicht wieder abgespalten werden. Das blockierte Enzym kann kein Thymidin bilden, der Mangel führt insbesondere bei sich schnell teilenden Zellen zu einer Hemmung des Zellwachstums. Außerdem können Zwischenstufen aus der Aktivierung des Prodrugs (5-Fluoruracildiphosphat und 5-Fluordesoxyuracildiphosphat) durch weitere Kinasen in die entsprechenden Triphosphate (5-FUTP und 5-FdUTP) überführt werden. Diese können als falsche Basen in die RNA bzw. DNA eingebaut werden und beeinträchtigen dadurch zusätzlich das Zellwachstum.^[79]

Mehrere Verbindungen die im Rahmen dieser Arbeit dargestellt wurden, wurden als Bioisostere der Leitstruktur **1** designt. Sie gelten allerdings per Definition nur dann als „echte“ Bioisostere, wenn sie zusätzlich zu ähnlichen Eigenschaften auch eine vergleichbare pharmakologische Wirkung wie die Leitstruktur hervorrufen. Dies ist nicht bei allen als Bioisostere entwickelten Verbindungen der Fall, dennoch werden sie hier der Einfachheit halber als Bioisostere bezeichnet.

3.2.2 Bioisostere Variationen des Phenylrings

Bioisostere Verbindungen entstehen oft durch den Austausch einzelner Atome, wie z.B. Kohlenstoff gegen Stickstoff, Schwefel oder Sauerstoff. Da in unserer Leitstruktur **1** der Phenylring den zur Verfügung stehenden Platz an der Bindungsstelle optimal nutzt, sollte der sechsgliedrige Ring beibehalten werden, der Carbocyclus sollte jedoch gegen einen Heteroaromaten ausgetauscht werden. Heteroatome bieten neue Möglichkeiten zum Aufbau von Wasserstoffbrücken zum Protein. Eine weitere Wasserstoffbrücke könnte die Bindung des Liganden ans Protein festigen und so gegebenenfalls die Affinität im Vergleich zur Leitstruktur **1** steigern.

Pyridin gilt als bioisoster zu Benzol und sollte in eine Modellverbindung integriert werden, um zu überprüfen, ob Heteroatome im Phenylsubstituenten zu einer Verbesserung der Aktivität führen.

Eine einfache Möglichkeit, die gewünschten Aza-Analoga zu erhalten, wäre die Verbindung in Analogie zur Leitstruktur **1** über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung von

1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) mit den entsprechenden Boronsäuren darzustellen (vgl. Kap. 3.1). Da die benötigten Pyridin-Boronsäuren nicht bzw. nur zu sehr hohen Preisen käuflich erwerbbar sind, wurde nach einer alternativen Synthesestrategie gesucht.

Die neue Methode sollte die Möglichkeit bieten, sehr variabel Substituenten mit dem Grundkörper zu verknüpfen. Die Suzuki-Miyaura-Kupplung lieferte in den vorangegangenen Arbeiten gute bis sehr gute Ausbeuten und war in diesem Fall nur wegen der fehlenden bzw. teuren Bausteine nicht geeignet. Deshalb war als flexible Alternative geplant, die Boronsäuregruppe (bzw. einen Boronsäureester) an den Carbazolring anzubringen, so dass sich anschließend durch Suzuki-Miyaura-Kupplungen mit leicht zugänglichen Halogenpyridinen flexibel die gewünschten Pyridylcarbazole herstellen lassen sollten. In einer Arbeit von Merkul^[44] ist die Darstellung einer Vielzahl von substituierten Indolen beschrieben, wobei hier eine Halogenfunktion am Grundkörper in Anlehnung an Miyaura^[80] und Masuda^[81] boryliert und der entstandene Pinacolester direkt im Anschluss mit verschiedensten halogenierten Aromaten und Heteroaromaten zu den gewünschten (Hetero)Arylindolen umgesetzt wurde. Diese Methode konnte auf den Carbazolgrundkörper übertragen werden (vgl. Abb. 50).

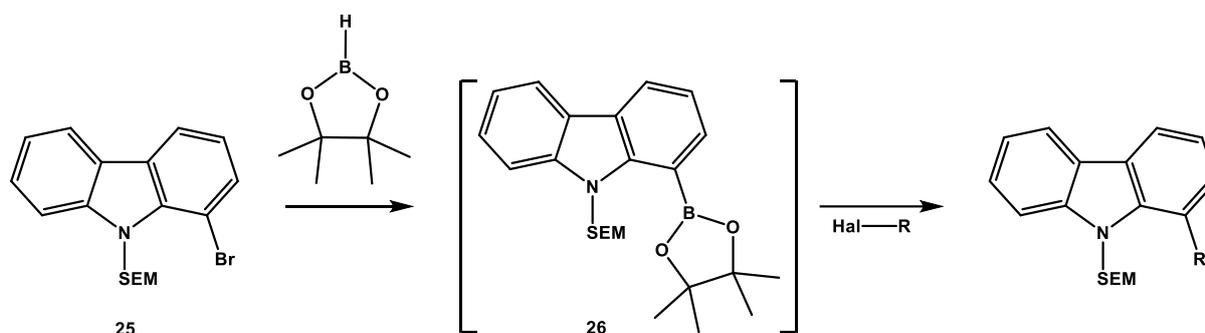
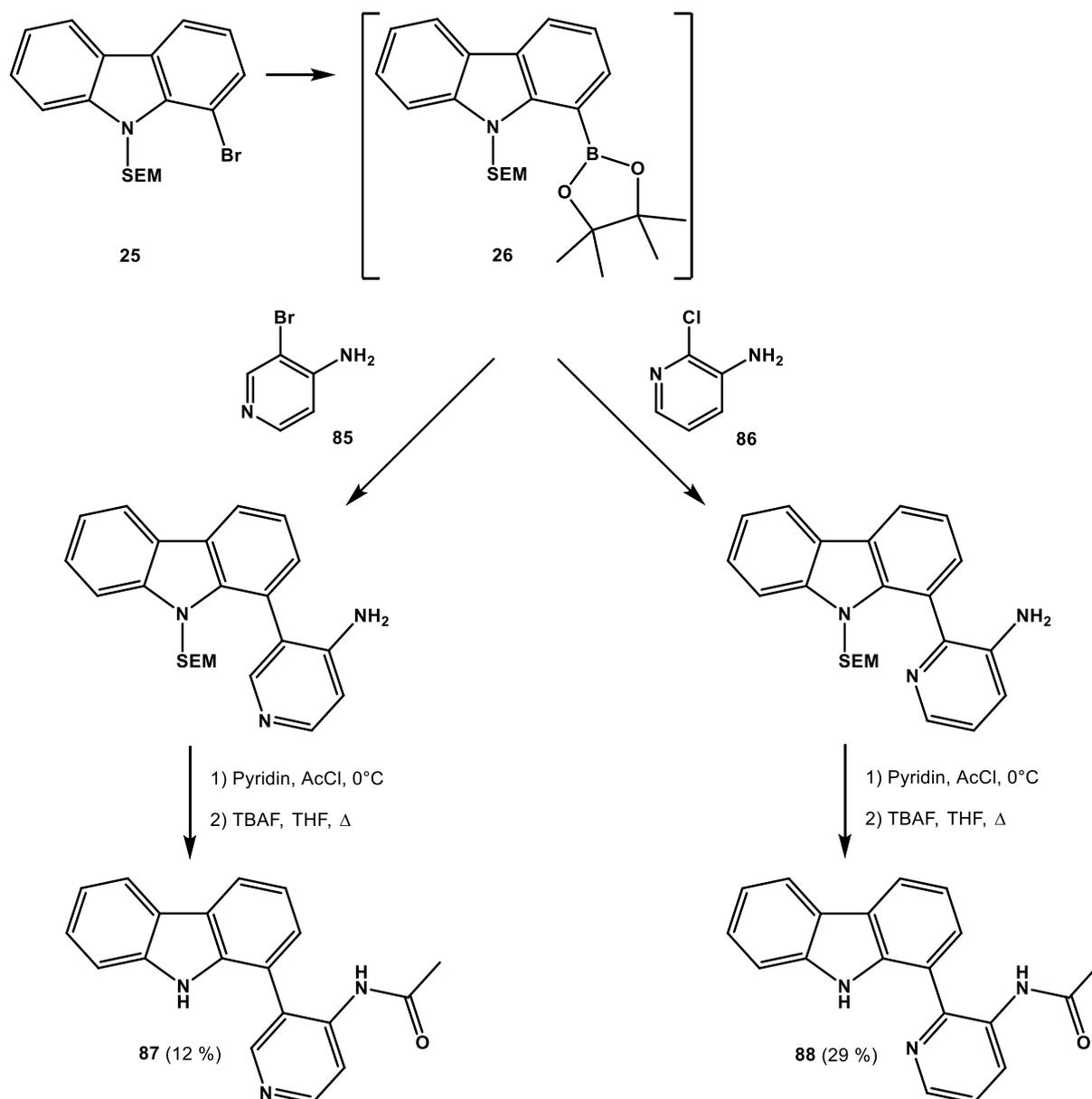


Abbildung 50: Geplante Masuda-Borylierung des Carbazolgrundkörpers und anschließende Kupplung mit Halogenaromaten

Eine Vielzahl von Halogen(hetero)aromaten mit ortho-ständiger Amin- bzw. Acetamidfunktion sind kommerziell erhältlich. Somit stand eine flexible Methode zur Verfügung, mit der sich der Acetamidophenyl-Substituent aus der Leitstruktur **1** nahezu beliebig gegen andere Aromaten austauschen lässt.

Um zu sehen, ob das Einführen von Heteroatomen generell zu einer Verbesserung der Bindung des Liganden an die Macrodomain führt, wurden zwei Aza-Analoga nach der oben beschriebenen Methode dargestellt.

Tasch konnte in seiner Arbeit zur Masuda-Borylierung mit anschließender Suzuki-Miyaura-Kupplung an Indolen zeigen, dass eine Schutzgruppe am Indolstickstoff zu deutlich besseren Ausbeuten im Kupplungsschritt führt.^[82] Deshalb sollte am Stickstoff des Pyrrolrings eine Schutzgruppe angebracht werden. Dazu wurde 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) mit Natriumhydrid deprotoniert und anschließend mit 2-Trimethylsilylethoxymethylchlorid (SEM-Cl) (**84**) geschützt. Die Umsetzung erfolgte annähernd quantitativ. Das erhaltene SEM-geschützte Bromcarbazol (**25**) wurde dann in Gegenwart von Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und Triethylamin mit 4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan zum entsprechenden Pinacolboronsäureester **26** umgesetzt. Dieser Boronsäureester konnte dann ohne weitere Aufreinigung mit 4-Amino-3-brompyridin (**85**) bzw. 3-Amino-2-chlorpyridin (**86**) zu den in Position 1 entsprechend substituierten Carbazolen gekuppelt werden (vgl. Abb. 51). Die aromatische Amino-Funktion der beiden Produkte konnte im Anschluss mit Acetylchlorid in Gegenwart einer Hilfsbase^[43] zum benötigten Acetamid derivatisiert werden. Durch Abspaltung der SEM-Schutzgruppe mit Tetrabutylammoniumfluorid wurden die Zielverbindungen **87** und **88** erhalten (vgl. Abb. 51).

Abbildung 51: Darstellung der Aza-Analoga **87** und **88**

Da sich bei der biologischen Testung (vgl. Kapitel 3.2.4) dieser beiden Aza-Analoga herausstellte, dass das Einführen eines Heteroatoms zu einem vollständigen Verlust der Aktivität der Verbindung an der zweiten Macrodomain von PARP14 führt, wurden auf die Darstellung weiterer Analoga mit Heteroaromaten als Substituenten am Carbazol-Grundkörper verzichtet. Dennoch ist es gelungen, eine Methode im Arbeitskreis zu etablieren, die eine flexible Substitution von Carbazolen mit einer Vielzahl kommerziell erhältlicher Bausteine ermöglicht.

3.2.3 Bachelorarbeit Britta Hettich

In der von mir betreuten Bachelorarbeit von Britta Hettich sollten verschiedene Verbindungen entstehen, die wie die Leitstruktur **1** einen Acetamidophenylsubstituenten tragen. Dieser sollte jedoch über Position N-9 an Stelle von Position C-1 mit dem Carbazol-Grundkörper verknüpft sein. Durch die Wahl verschiedener Brücken zwischen Substituent und Grundkörper sollten Verbindungen mit unterschiedlichen Freiheitsgraden der Rotation entstehen, die im Idealfall am Protein die Möglichkeit haben, sich in eine für die Bindung ideale Konformation zu drehen (vgl. Abb. 52). Ferner wurde ein von Fluoren abgeleitetes Molekül (**89**) geplant.

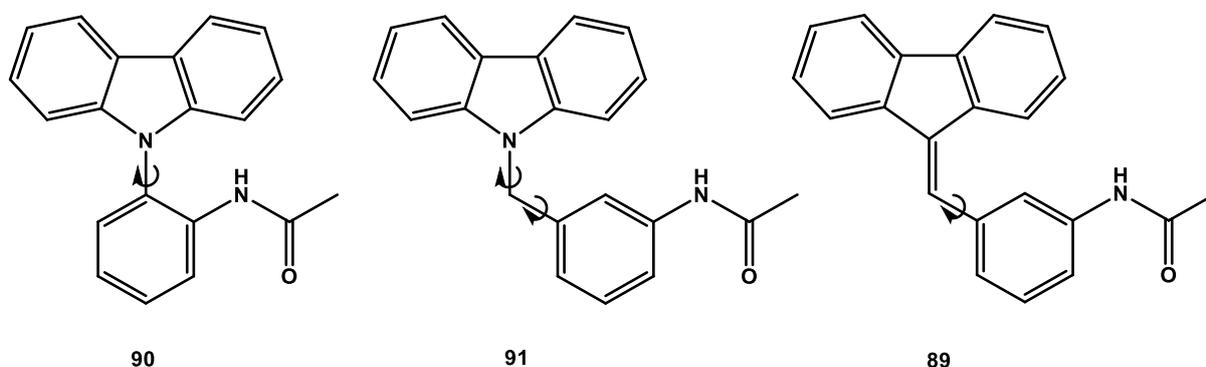


Abbildung 52: Verbindungen aus der Bachelorarbeit von Britta Hettich

Bei der Darstellung von Verbindung **90** diente Carbazol (**92**) als Edukt. Mittels einer nucleophilen aromatischen Substitution konnte der Grundkörper mit dem *ortho*-Nitrophenyl-Substituenten nach einer Methode von Cooper verknüpft werden (vgl. Abb. 53).^[83] Anschließend erfolgte eine schonende Reduktion der Nitrogruppe mit Eisen/Ammoniumchlorid^[84] und die Umsetzung mit Essigsäurechlorid in Gegenwart einer Hilfsbase^[43] zum gewünschten Acetamid **90**.

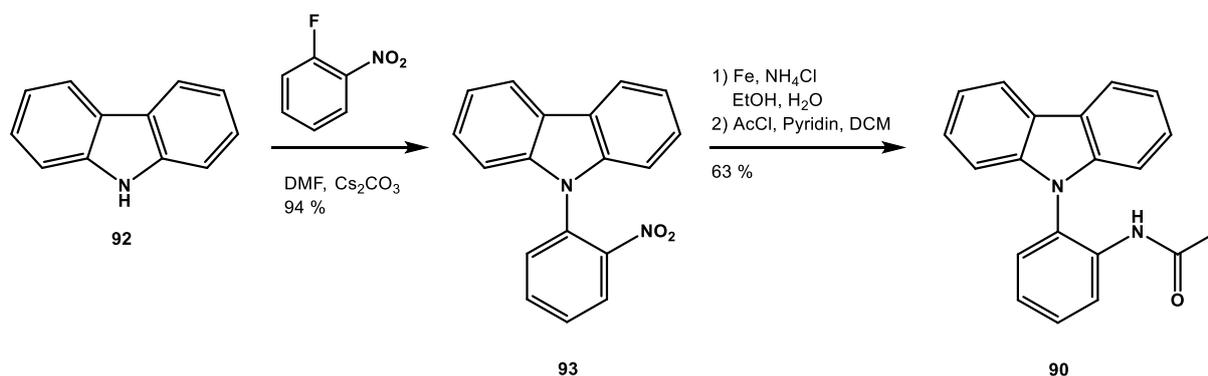


Abbildung 53: Nucleophile aromatische Substitution an 2-Nitrofluorobenzol mit anschließender Reduktion und Umsetzung mit Acetylchlorid zu Verbindung **90**

Verbindung **91** besitzt den flexibelsten Aufbau der drei Zielstrukturen, eines ihrer Rotamere kann aber den Acetamidophenyl-Rest in die fast identische relative Position zum Carbazolring bringen, wie es in der Leitstruktur **1** der Fall ist. Um Verbindung **91** herzustellen, konnte ebenfalls Carbazol (**92**) als Edukt genutzt werden. Über eine *N*-Benzylierung mit 1-Chlormethyl-3-nitrobenzol konnte der Stickstoff des Grundkörpers, angelehnt an eine Methode von Milen^[50], mit dem gewünschten Substituenten versehen werden (vgl. Abb. 54). Anschließend konnte erneut die Strategie angewendet werden, die bereits bei Verbindung **90** zum Ziel geführt hatte: die Nitro-Gruppe wurde schonend mit Eisen/Ammoniumchlorid zum aromatischen Amin reduziert^[84] und dieses dann mit Acetylchlorid zum Acetamid **91** umgesetzt^[43] (vgl. Abb. 54). Verbindung **91** entstand dabei mit einer Ausbeute von 38 % über beide Schritte.

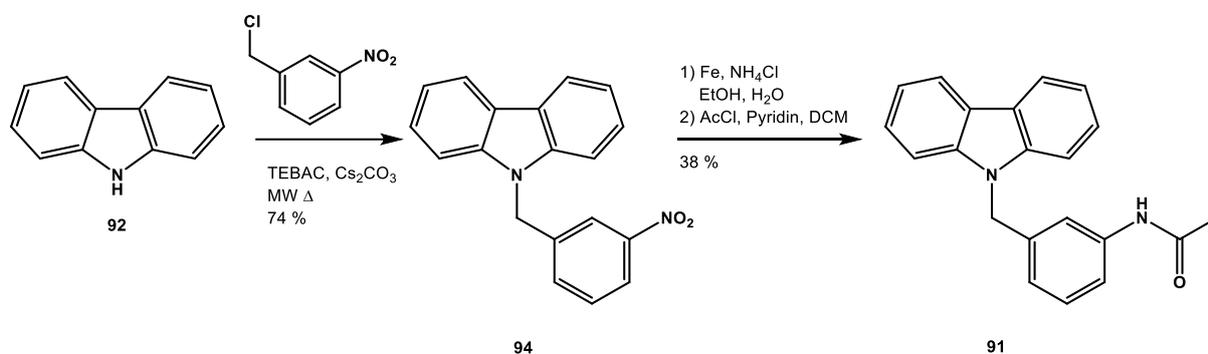


Abbildung 54: *N*-Benzylierung von Carbazol und anschließende Reduktion und Umsetzung mit Essigsäurechlorid zu **91**

Die dritte Verbindung **89** besitzt als Tricyclus ein Fluoren, im Gegensatz zu den anderen beiden Substanzen mit einem Carbazol als Grundkörper. Hier wurde für die Synthese Fluorenon (**95**) als Ausgangspunkt gewählt. Dieses wurde mit *para*-Toluolsulfonsäurehydrazid (**96**) nach einer Vorschrift von Meca^[85] zum entsprechenden *N*-Tosylhydrazon **97** umgesetzt (vgl. Abb. 55).

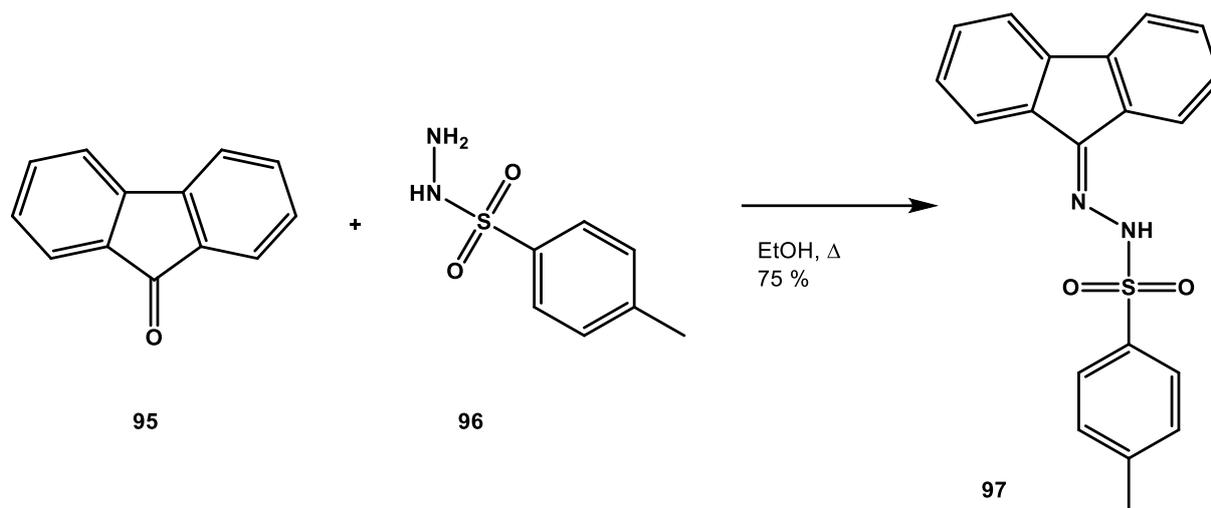


Abbildung 55: Darstellung des *N*-Tosylhydrazons **97** nach Meca^[85]

Aus Verbindung **97** konnte in situ mittels einer Bamford-Stevens-Shapiro-Reaktion^[86],^[87], angelehnt an eine Methode von Xiao^[88], ein reaktives Diazointermediat erzeugt werden, das über eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung mit 3-Nitrobenzylchlorid zu 9-(3-Nitrobenzyliden)-9*H*-fluoren (**98**) umgesetzt werden konnte (vgl. Abb. 56). Die erhaltene Nitroverbindung **98** sollte dann wiederum mit Eisen/Ammoniumchlorid schonend reduziert werden^[84] und mit Acetylchlorid in Gegenwart einer Hilfsbase^[43] zum gewünschten Acetamid **89** umgesetzt werden (vgl. Abb. 57). Die Reduktion der Verbindung lieferte, vermutlich auf Grund der sehr reaktiven Fulven-Partialstruktur, verschiedene Nebenprodukte jedoch das gewünschte Produkt nur in Spuren. Da sich bei der Testung der beiden ähnlichen Verbindung **90** und **91** herausstellte, dass beide keine Aktivität an der zweiten Macrodomain von PARP14 zeigen (vgl. Kap. 3.2.4), wurde auf die Optimierung der Darstellung von Verbindung **89** verzichtet.

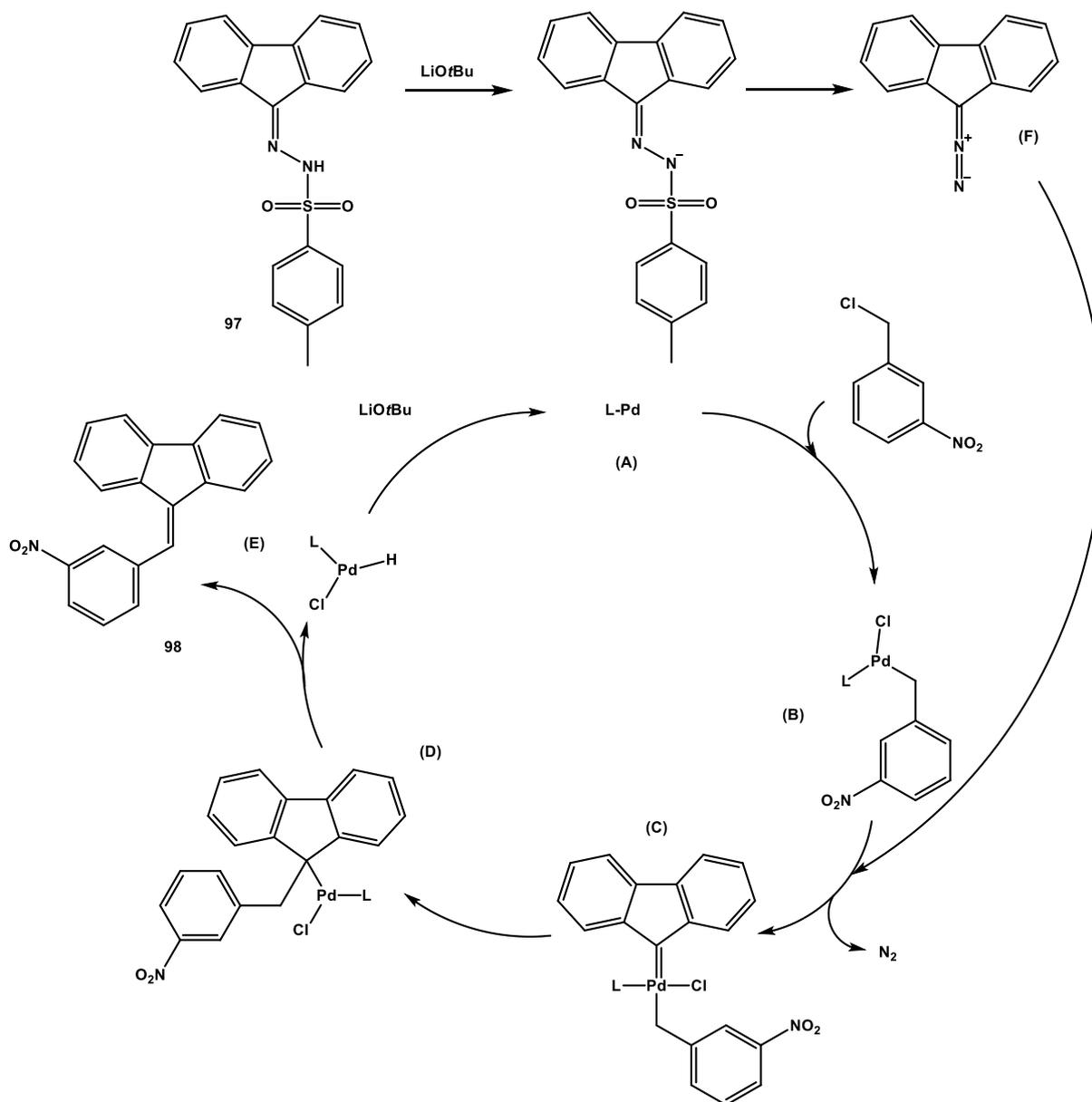


Abbildung 56: Bamford-Stevens-Shapiro-Reaktion mit anschließender Palladium-katalysierter Kreuzkupplung. Der Katalysezyklus startet mit der oxidativen Addition des Pd(0)-Katalysators **(A)** an 3-Nitrobenzylchlorid. Dabei erfolgt die Oxidation zur entsprechenden Palladium(II)-Spezies **(B)**. Palladium koordiniert sich dann unter Abspaltung von elementarem Stickstoff an das reaktive Diazointermediat **(F)** und bildet das instabile Pd-Carben-Intermediat **(C)**. Es folgt die migratorische Insertion der Benzylgruppe an das Carben **(D)** und die anschließende Freisetzung des Olefins **(E)** über eine β -Hydrideliminierung. Die Pd(0)-Katalysator-Spezies wird mit Hilfe der Base regeneriert und der Katalysezyklus kann erneut ablaufen (angelehnt an Xiao^[88])

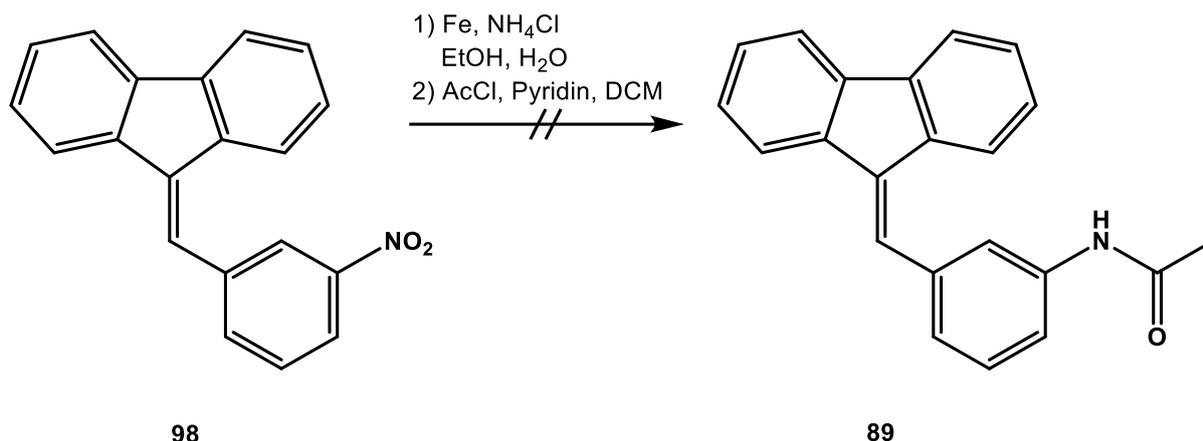


Abbildung 57: Geplante Reduktion von **98** und anschließende Umsetzung zum Acetamid **89**

In der Bachelorarbeit von Britta Hettich konnten somit in Anlehnung an die Leitstruktur **1** zwei neue Verbindungen dargestellt werden, mit denen weitere Erkenntnisse zu den Struktur-Aktivitäts-Beziehungen bei der Bindung der Liganden an die zweite Macrodomain von PARP14 gewonnen werden konnten.

3.2.4 Testergebnisse der Verbindungen mit Variationen des Phenylrings und Diskussion

Bei der Testung der Pyridin-Analoga **87** und **88** (vgl. Abb. 58) durch unseren Kooperationspartner in Oxford stellte sich heraus, dass beide Verbindungen keine Aktivität mehr an PARP14MD2 zeigen.

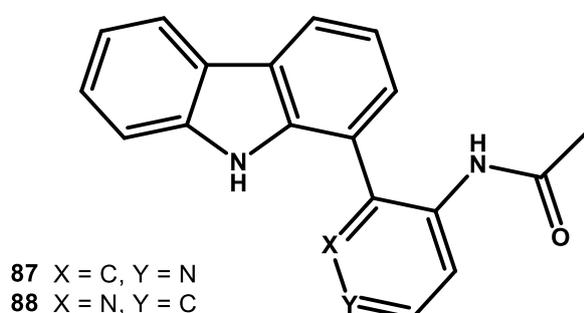


Abbildung 58: Pyridin-Analoga

Als mögliche Erklärung für die Inaktivität von Verbindung **88** wäre die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen dem Pyridin-Stickstoff und der NH-Funktion des Carbazols denkbar. Diese Wechselwirkung würde die Rotation um die Bindung zwischen beiden aromatischen Ringsystemen einschränken und eine bestimmte Orientierung des Phenylsubstituenten relativ zum Grundkörper fixieren, welche der optimalen Ausrichtung der Amidgruppe für die Wechselwirkungen mit dem Protein entgegensteht. Dieser Aktivitätsverlust bei eingeschränkter Drehbarkeit um die Bindung zwischen Grundkörper und Phenylsubstituenten konnte auch bei anderen Verbindungen beobachtet werden (vgl. Kap. 4 – biologische Testung). Dieser Effekt liefert allerdings keine Erklärung für die fehlende Aktivität von Verbindung **87**, bei der eine entsprechende intramolekulare Wasserstoffbrücke nicht möglich ist. In der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 ist zu erkennen, dass der Phenylring im Protein in unmittelbarer Nachbarschaft zu zwei Phenylalanin-Resten liegt. Der im Vergleich zum Phenylring der Leitstruktur polarere Pyridin-Rest kann nur wesentlich schwächere oder gar keine hydrophoben Wechselwirkungen mit den beiden Phenylringen des Proteins eingehen, dies könnte zu einer Abschwächung der Bindung führen.

Da sich gezeigt hatte, dass der Austausch des Phenylrings gegen Heteroaromaten in beiden Fällen zu einem totalen Verlust der Aktivität der Substanzen am Protein führt, wurde trotz der zur Verfügung stehenden flexiblen Methode zur Darstellung derartiger Modifikationen darauf verzichtet, weitere Hetero-Analoga herzustellen.

Die Testung der beiden in der Bachelorarbeit von Britta Hettich entstandenen Substanzen (vgl. Abb. 59) ergab ebenfalls, dass beide Verbindungen keine Aktivität an der Macrodomain zeigen.

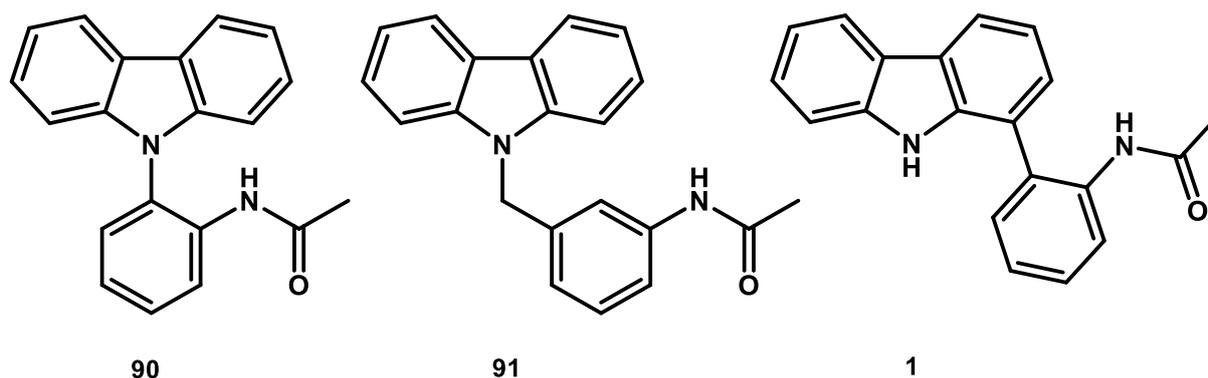


Abbildung 59: Verbindungen aus der Bachelorarbeit von Britta Hettich, die auf ihre Aktivität an PARP14MD2 getestet wurden; daneben die Leitstruktur **1**

Verbindung **90** unterscheidet sich von der Leitstruktur durch die fehlende freie NH-Funktion am Grundkörper und durch eine relativ starke Veränderung der Lage der Amidgruppe. Aus dem 3D-Modell von Verbindung **63** mit der Macrodomain ist bekannt, dass beide Elemente in einer definierten relativen Anordnung für die Wechselwirkung mit dem Protein relevant sind. Somit lässt sich die fehlende Aktivität von Verbindung **90** erklären.

Verbindung **91** kann sich theoretisch so ausrichten, dass die Lage der Acetamid-Gruppe annähernd der in der Leitstruktur **1** entspricht. Dennoch steht aber auch hier keine freie NH-Funktion für Wechselwirkung mit dem Protein zur Verfügung. Das ist eine mögliche Erklärung, warum auch Verbindung **91** keine Aktivität an der zweiten Macrodomain von PARP14 aufweist.

Zusammenfassend zeigen die hier diskutierten Testergebnisse, dass das Substitutionsmuster der Leitstruktur mit dem Acetamidophenylsubstituenten an Position 1 des Carbazols für die Aktivität der Verbindung essenziell ist. Veränderungen der Lage des Substituenten oder seiner Polarität werden nicht toleriert. Bei der Synthese weiterer Verbindungen sollten deshalb andere Bereiche der Leitstruktur **1** variiert werden.

3.3 Variationen an Ring A der Leitstruktur 1

In dem aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit der zweiten Macrodomain von PARP14 gewonnen dreidimensionalen Model war zu erkennen, dass Ring A des Carbazolgrundkörpers den im Protein zur Verfügung stehenden Raum exakt ausfüllt (vgl. Abb. 60). Da also extrem wenig Platz für weitere Reste vorhanden ist, sollten Analoga der Leitstruktur **1** mit zusätzlichen funktionellen Gruppen an Ring A keine Verbesserung der Bindung des Liganden an das Protein bewirken. Aus diesem Grund wurde auf die Darstellung derartiger Verbindungen verzichtet.

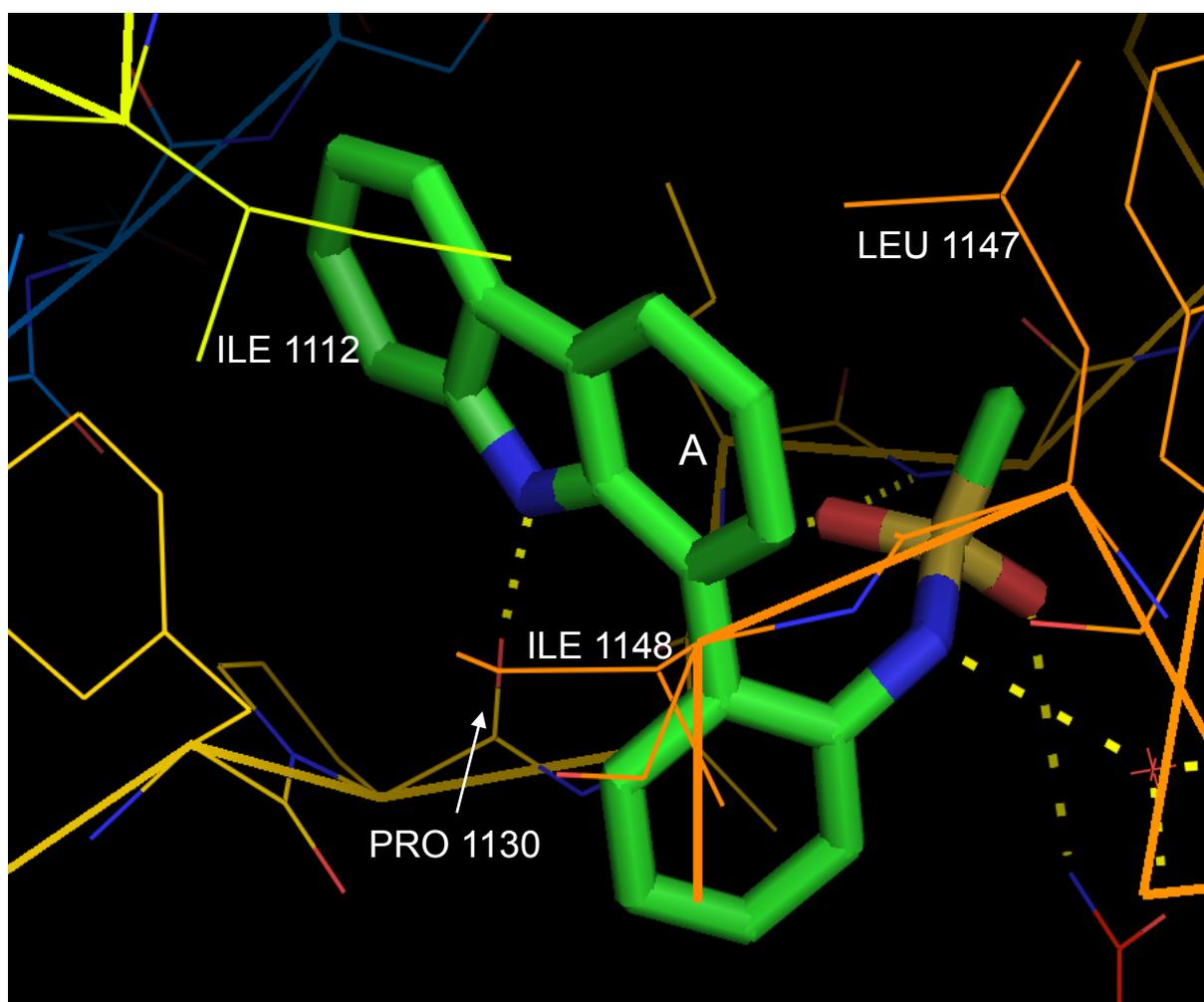


Abbildung 60: Umfeld von Ring A im Protein

3.3.1 β -Carbolin-Analoga

Eine Möglichkeit, Ring A ohne zusätzlichen Platzbedarf zu variieren, bietet die Darstellung von Bioisosteren (vgl. Kap. 3.2.1). Zum Beispiel beim Austausch von Kohlenstoffatomen durch Heteroatome entstehen Verbindungen mit ähnlichen sterischen Eigenschaften und idealerweise einer vergleichbaren oder sogar verbesserten biologischen Aktivität. Die Co-Kristallstruktur zeigt, dass Ring A direkt von den Seitenketten von Isoleucin 1112, Leucin 1147 und Isoleucin 1148 umgeben ist. Dabei handelt es sich um drei apolare Aminosäuren, die möglicherweise die Bindung des Inhibitors an das Protein durch hydrophobe Wechselwirkungen mit dem apolaren Carbocyclus des Grundkörpers stabilisieren. Auf Grund der aus dem 3D-Modell gewonnenen Informationen bestand also die Vermutung, dass Heteroatome in Ring A die Affinität der Verbindung an seine Zielstruktur eher beeinträchtigen als verbessern könnten.

In einem Projekt unseres Arbeitskreises von Tremmel, das parallel zu meinen Arbeiten durchgeführt wurde, entstand eine Reihe von 1-substituierten β -Carbolinen. Im Zuge dieses Projekts stellte Tremmel auch Verbindung **27** dar (vgl. Abb. 61), die als Aza-Analogon der Leitstruktur **1** ideal geeignet war, erste Erkenntnisse zu Verbindungen mit Modifikationen in Ring A zu gewinnen.

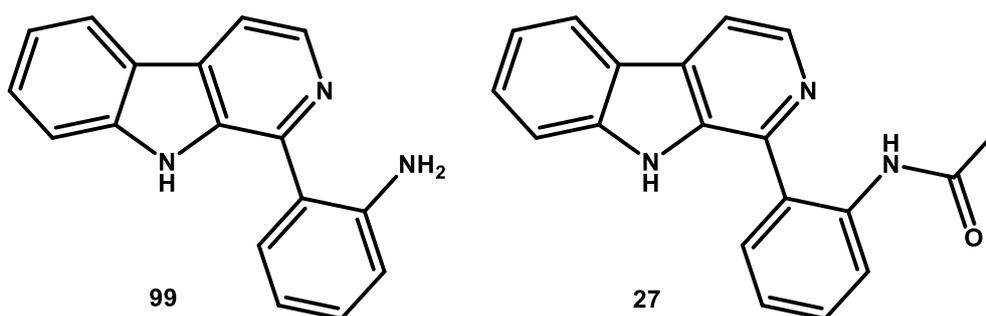


Abbildung 61: Das β -Carbolin-Analogon **27** und dessen Synthesevorstufe **99**

3.3.2 Testergebnisse und Diskussion

Die Aktivität von Verbindung **27** und von dessen Synthesevorstufe **99** wurde mittels ALPHA-Screen bestimmt. Das β -Carbolin **27** zeigte, wie auf Basis der Informationen aus dem Co-Kristall erwartet, eine etwa um den Faktor 30 verringerte Aktivität an der zweiten Macrodomain von PARP14 im Vergleich zur Leitstruktur **1**. Die Synthesevorstufe **99** mit der freien Anilinfunktion anstelle des Acetamides war völlig inaktiv. Auch dieses Ergebnis war zu erwarten, da bereits zuvor mit mehreren Verbindung gezeigt werden konnte, dass die Amidfunktion essenziell für die Aktivität der Substanzen am Protein ist.

Da die Annahme, dass das Einführen von Heteroatomen in Ring A die Aktivität der Verbindungen negativ beeinflusst, bestätigt werden konnte, sollte der Carbocyclus der Leitstruktur **1** in diesem Teil des Grundkörpers bei den folgenden Verbindungen beibehalten werden.

3.4 Variationen des Pyrrol-Rings (Ring B) der Leitstruktur 1

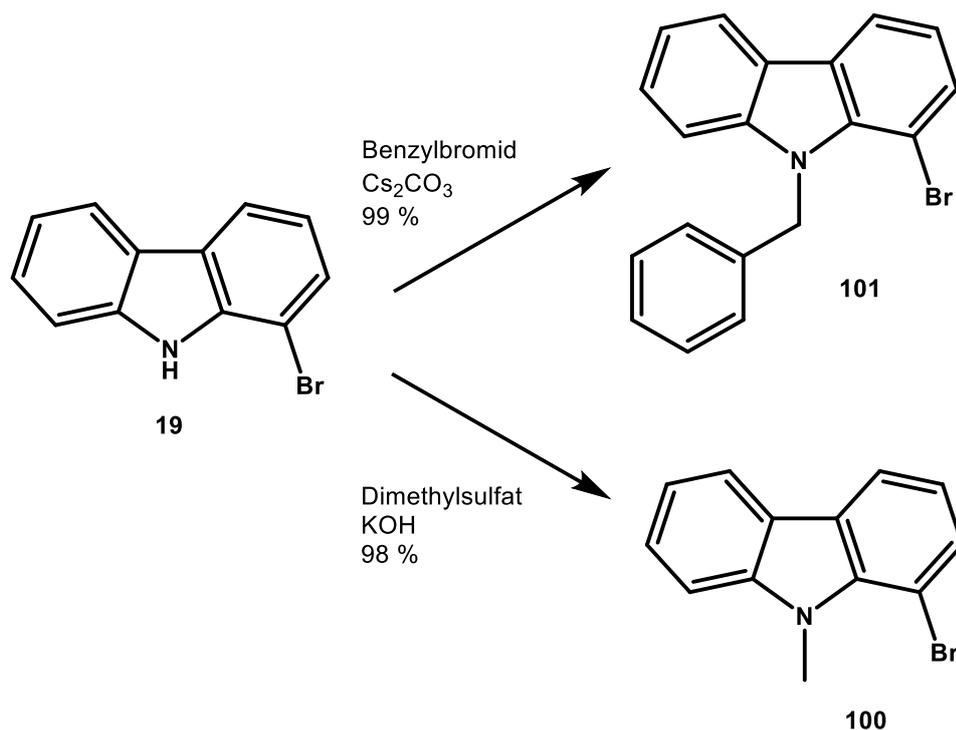
Die Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 zeigte, dass die Pyrrol-NH-Funktion als Donor für eine Wasserstoffbrückenbindung zu Prolin 1130 fungiert. Um herauszufinden, in wie weit diese Wasserstoffbrücke relevant für die Affinität des Inhibitors zur Macrodomein ist, sollten neue Verbindungen synthetisiert werden, die statt der NH-Gruppe andere Wasserstoffbrückendonatoren oder auch Wasserstoffbrückenakzeptoren tragen.

Außerdem waren Verbindungen geplant, die abweichend vom Carbazol-Grundkörper der Leitstruktur **1** ähnliche Tricyclen mit etwas veränderter Geometrie enthalten, wie etwa ein Acridon. Zudem sollte eine weitere Verbindung dargestellt werden, bei der der rigide Grundkörper aufgebrochen ist, eine sogenannte Seco-Verbindung. Die Intention dabei war, dass diese Verbindung in der gleichen räumlichen Anordnung vorliegen kann wie die Leitstruktur **1**, sich jedoch möglicherweise durch ihre Flexibilität in eine für die Bindung zum Protein noch bessere Konformation ausrichten kann.

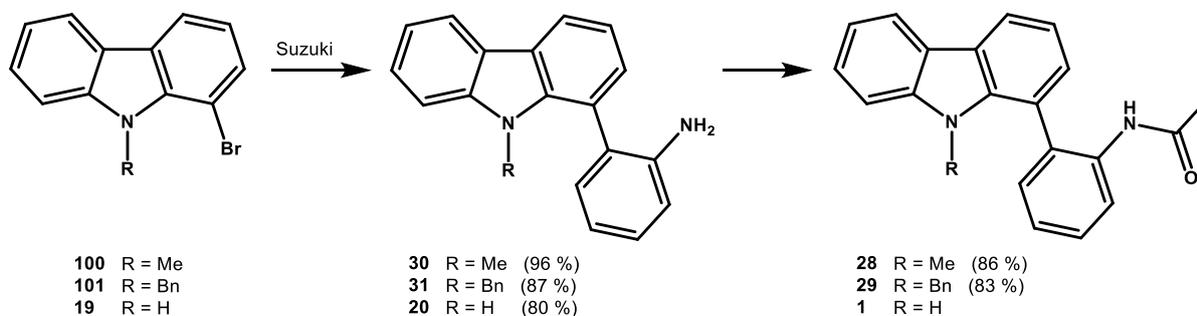
3.4.1 *N*-substituierte Carbazole

Um zu zeigen in welchem Ausmaß die Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaft der Pyrrol-NH-Funktion für die Affinität von Bedeutung ist, sollten durch *N*-Alkylierung des Grundkörpers verschiedene Derivate der Leitstruktur **1** hergestellt werden, die die Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130 nicht mehr ausbilden können. Hierfür konnte auf das Syntheschema der Leitstruktur zurückgegriffen werden, jedoch mit einem zusätzlichen Alkylierungsschritt am Grundkörper (vgl. Abb. 62).

Für erste Testungen sollten das *N*-Methyl- sowie das *N*-Benzyl-Derivat der Leitstruktur **1** aus den entsprechenden Vorstufen (**100** bzw. **101**) dargestellt werden. Für die Methylierung des Pyrrol-Stickstoffs wurde in Anlehnung an eine Vorschrift von Romero-Ale^[49] Dimethylsulfat als Alkylanz gewählt. Bei der *N*-Benzylisierung von **19** wurde Benzylbromid, angelehnt an eine Methode von Milen^[50], eingesetzt (vgl. Abb. 62).

Abbildung 62: Darstellung der *N*-substituierten Verbindungen **100** und **101**

Im Anschluss an den Alkylierungsschritt konnten die erhaltenen Zwischenstufen **100** und **101** jeweils über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung mit dem gewünschten Substituenten an Position 1 versehen werden. In diesem Fall wurden die Kupplungen mit 2-Aminophenylboronsäure (**23**) durchgeführt und die Zwischenstufen **30** und **31** erst nachträglich mit Acetylchlorid zu den Acetamiden derivatisiert (vgl. Abb. 63). Durch diesen zusätzlichen Reaktionsschritt waren auch die beiden Anilin-Vorstufen für die Testung verfügbar.

Abbildung 63: Darstellung der Verbindungen **28** und **29** über die jeweilige Anilin-Zwischenstufe

Auf gleiche Weise wurde auch die zentrale Vorstufe **20** für die Amid-Derivate dargestellt (vgl. Kap. 3.1). So standen zusätzlich drei Verbindungen für die Testung zur Verfügung, die statt der Acetamid-Gruppe eine Anilin-Funktion tragen (vgl. Abb. 63).

3.4.2 Bachelorarbeit Carina Glas

Im Rahmen der von mir betreuten Bachelorarbeit von Carina Glas wurden zwei Verbindungen hergestellt, die als Grundkörper ein Fluorenol bzw. Fluorenol anstelle des Carbazols besitzen. Die beiden Verbindungen konnten über einen gemeinsamen Syntheseweg aufeinander aufbauend hergestellt werden. Als Ausgangspunkt der Synthese wurde Biphenyl-2-carbonsäure (**47**) gewählt. Mit der Carbonsäure als dirigierender Gruppe gelang eine *ortho*-Metallierung mit *sec*-Butyllithium nach einer Vorschrift von Tilly^[58]. Die Reaktion der metallierten Spezies mit elementarem Iod führte zu der in Position 3 iodierten Verbindung **48**. Die auf diese Weise erhaltene 3-Iod-[1,1'-biphenyl]-2-carbonsäure (**48**) kann dann mit Methansulfonsäure zu 1-Iod-9*H*-fluoren-9-on (**49**) cyclisiert werden^[58] (vgl. Abb. 64).

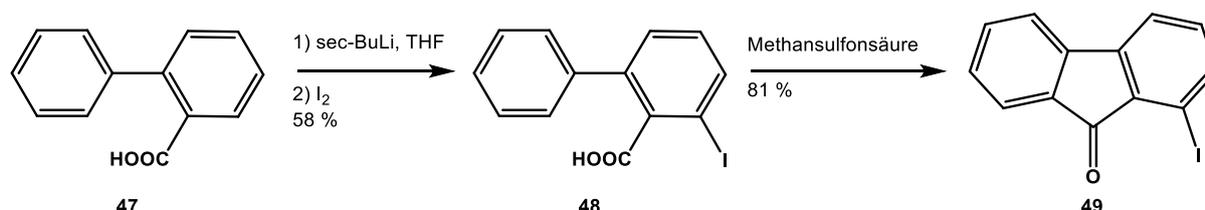


Abbildung 64: Darstellung von 1-Iod-9*H*-Fluoren-9-on (**49**) nach einer Methode von Tilly^[58]

Verbindung **49** konnte als zentraler Baustein für die beiden anvisierten Analoga der Leitstruktur **1** verwendet werden. Die Fluorenonverbindung **45** konnte über eine Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] des Iodfluorenons **49** mit der kommerziell erhältlichen 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) dargestellt werden. Das gewünschte Fluorenol-Analogon **46** konnte durch eine Reduktion des zentralen Bausteins **49** (mit komplexen Hydriden in Anlehnung an Fomina^[59]) und anschließende Kreuzkupplung mit der Boronsäure **24** dargestellt werden, alternativ auch durch Reduktion der Arylfluorenonverbindung **45** mit Natriumborhydrid (vgl. Abb. 65). Bei Durchführung der

Reduktion nach der Suzuki-Miyaura-Kupplung ergibt sich eine Gesamtausbeute von 34 % über beide Stufen, wird zuerst reduziert und die Kreuzkupplung erfolgt im zweiten Schritt, ergibt sich eine Ausbeute von 10 % über beide Stufen.

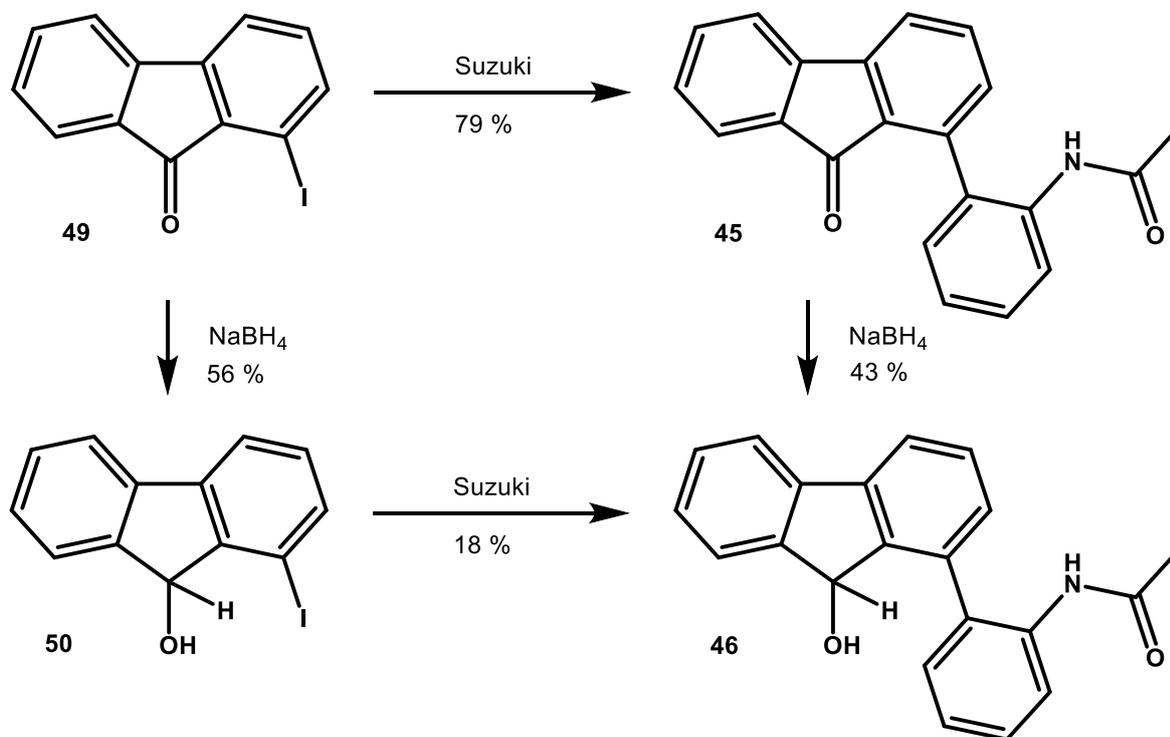


Abbildung 65: Flexible Darstellung des Fluorenol-Analogons **46** und des Fluorenon-Analogons **45**

Das Fluorenol **46** besitzt wie die Leitstruktur **1** eine funktionelle Gruppe mit Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften, allerdings etwas außerhalb des Grundkörpers. Es könnte ebenfalls die aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 ersichtliche Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130 ausbilden. Das Fluorenon **45** weist im Vergleich zur Leitstruktur **1** eine funktionelle Gruppe mit Wasserstoffbrückenakzeptor-Eigenschaften auf. Diese Verbindung sollte die Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130 nicht aufbauen können. Trotzdem sind andere Interaktionen mit dem Protein denkbar.

3.4.3 Bioisostere

Neben den Verbindungen aus der Bachelorarbeit von Carina Glas, sollten noch weitere Verbindungen dargestellt werden, bei denen die Pyrrol-NH-Funktion mit Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften durch Heteroatome mit Akzeptor-Eigenschaften ersetzt sind. Hierfür waren Dibenzofuran und Dibenzothiophen als neue Grundkörper geeignet.

Für die Darstellung des Oxa-Analogons der Leitstruktur **1** konnte das kommerziell verfügbare 4-Bromdibenzofuran (**32**) genutzt werden. Mit Hilfe einer Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] mit der Boronsäure **24** konnte der Acetamidophenyl-Substituent an Position 4, analog zum Substitutionsmuster der Leitstruktur **1**, eingeführt werden (vgl. Abb. 66).

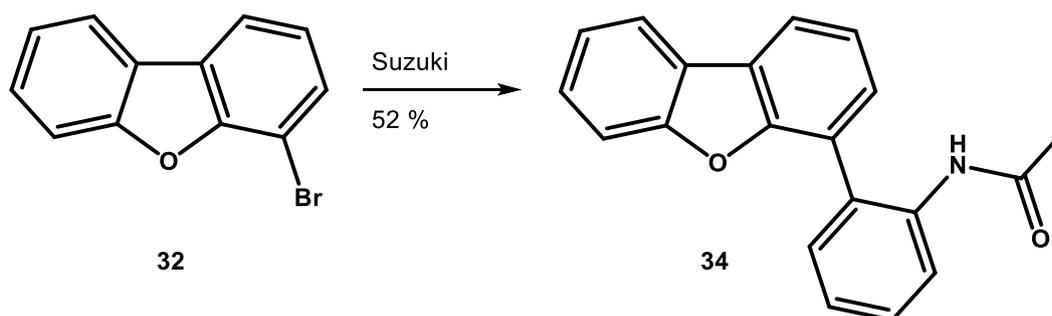


Abbildung 66: Palladium-katalysierte Kreuzkupplung an 4-Bromdibenzofuran (**32**)

Der halogenierte Grundkörper für das Thia-Analogon stand nicht kommerziell zur Verfügung, konnte aber in Anlehnung an eine Vorschrift von Jung^[51] hergestellt werden. Dazu wurde Dibenzothiophen (**36**) mit *n*-Butyllithium an Position 4 lithiiert und das metallierte Intermediat mit 1,2-Diodethan weiter zu 4-Ioddibenzothiophen (**33**) umgesetzt (vgl. Abb. 67).

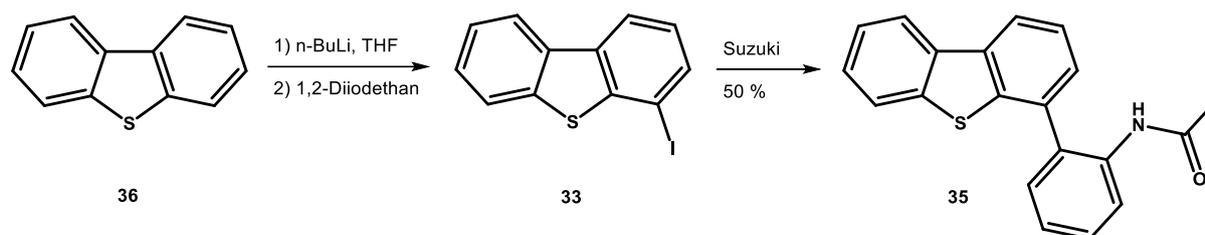
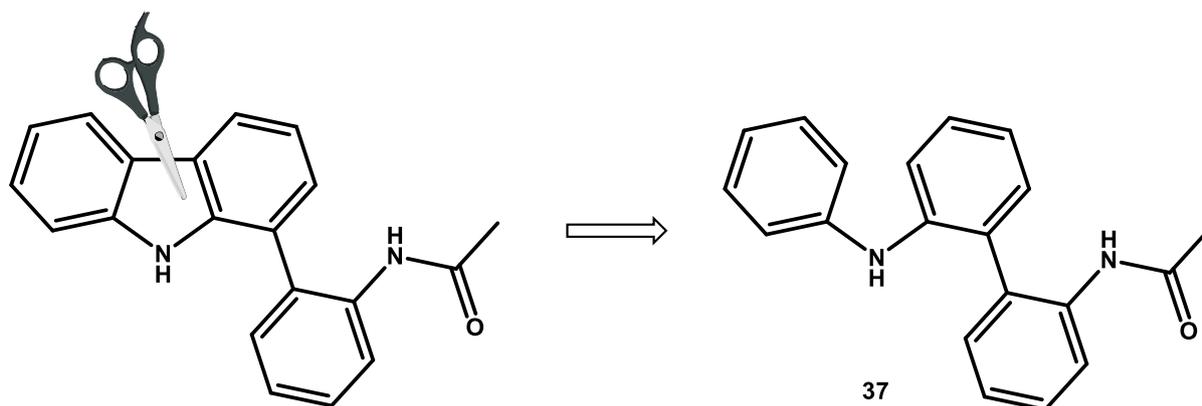


Abbildung 67: Darstellung des Thia-Analogons **35** aus Dibenzothiophen

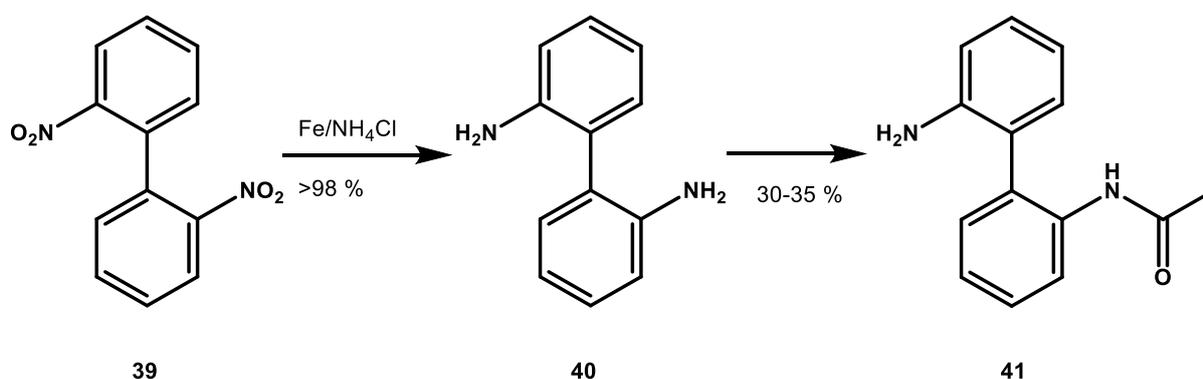
Verbindung **33** konnte dann, analog der Darstellung des Oxa-Analogons **34**, über eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung^[42] mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) zum gewünschten Produkt **35** umgesetzt werden.

3.4.4 Seco-Verbindung und Acridon-Analogon

Eine Möglichkeit, die Leitstruktur **1** zu verändern, dabei jedoch alle funktionellen Gruppen zu erhalten, bot die Darstellung einer sogenannten Seco-Verbindung (lat. *secare* für schneiden). Der Gedanke dabei war es, eine Verbindung zu schaffen, die alle Interaktionen mit dem Protein eingehen kann, zu denen auch die Leitstruktur **1** in der Lage ist, die sich jedoch auf Grund ihrer wesentlich flexibleren Struktur noch besser an der Bindungsstelle im Protein positionieren kann. Da es sich um einen allosterischen Bindungstyp handelt, ergibt sich die finale Form der Bindungsstelle erst mit Anlagerung des Liganden. Ein flexibler Inhibitor könnte dabei möglicherweise besser mit dem Protein interagieren als die starrere Leitstruktur **1**. Um diese flexible Struktur zu ermöglichen, sollte der rigide Tricyclus des Grundkörpers aufgebrochen werden (vgl. Abb. 68).

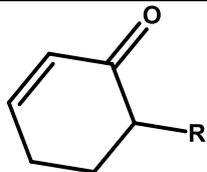
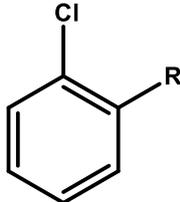
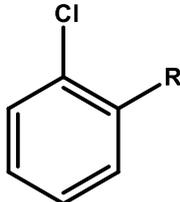
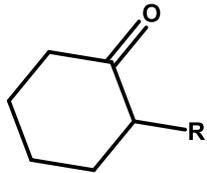
Abbildung 68: Die flexible Seco-Verbindung **37**

Um eine derartige Verbindung mit einer unsymmetrischen Biaryl- und einer unsymmetrischen Diarylamin-Partialstruktur darzustellen, konnte nicht auf bisher verwendete Syntheschemata zurückgegriffen werden. Als Ausgangspunkt für die Synthese der Seco-Verbindung **37** wurde die symmetrische Verbindung 2,2'-Dinitrobiphenyl (**39**) gewählt. Die beiden Nitrogruppen konnten in Anlehnung an eine Vorschrift von Meyer^[84] mit Eisen/Ammoniumchlorid in annähernd quantitativer Ausbeute zu primären Aminogruppen reduziert werden. Wang^[52] beschreibt eine Methode zur Mono-Acetylierung einer Verbindung, die zwei Anilin-Gruppen trägt, mit Acetylchlorid im essigsauren Milieu. Angelehnt daran erfolgte eine Desymmetrisierung von Verbindung **40** (vgl. Abb. 69). Die Darstellung von Verbindung **41** gelang mit einer Ausbeute von 30-35 %. Als Nebenprodukt entsteht zu etwa einem Drittel die diacetylierte Spezies und es kann etwa ein Drittel des Eduktes **40** zurückgewonnen werden.

Abbildung 69: Reduktion von 2,2'-Dinitrobiphenyl (**39**) und anschließende Desymmetrisierung

Die nun unsymmetrische Verbindung **41** besitzt bereits den Strukturteil, der dem Acetamidophenyl-Substituenten der Leitstruktur **1** entspricht. Aus der zweiten, noch freien Anilin-Funktion musste nun noch ein Diarylamin aufgebaut werden, um zu der gewünschten Seco-Verbindung **37** zu gelangen. Dazu wurden verschiedene Methoden getestet (vgl. Tab. 2).

Grundsätzlich boten sich zum Aufbau eines unsymmetrischen Phenyl-Aryl-Amins drei Strategien an, die Palladium-katalysierte Buchwald-Hartwig-Aminierung mit Iodbenzol, eine Ullmann-artige Arylierung mit einem Halogenbenzol unter Kupfer-Katalyse, sowie eine Kondensation mit einem Cyclohexanon bzw. Cyclohexenon, gefolgt von einer Dehydrierung zum Phenylring.

Reaktionspartner	weitere Reagenzien	Mechanismus	Problem / Ergebnis	Literatur
	Iod, p-Toluol-sulfonsäure	Kondensation, Oxidation	Geringe Ausbeute, Produkt nicht isolierbar	Barros ^[53]
	CuSO ₄ , K ₂ CO ₃	Ullmann-Kondensation	Keine Umsetzung	Martin ^[89]
	Brett-Phos, Brett-Phos-Pre-Kat., LHMDS	Buchwald-Kupplung	Keine Umsetzung	Maiti ^[90]
	1) p-Toluol-sulfonsäure 2) TiCl ₄ , Et ₃ N	1) Säure-katalysierte Kondensation 2) Oxidation	Keine Umsetzung (Schritt 1)	Maruyama ^[91] Srinivas ^[55]

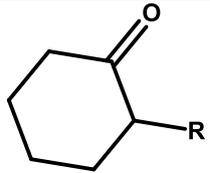
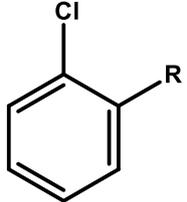
	Pd(OAc) ₂ , Bu ₄ NBr, O ₂	Kondensation, Pd-katalysierte Oxidation	Keine Umsetzung	Hajra ^[92]
	KOH, Cu ₂ Cl ₂ , NaHCO ₃	Ullmann- Kondensation	Keine Umsetzung	Markovich ^[93]

Tabelle 2: Methoden und Reaktionsbedingungen die zur Einführung des Phenylsubstituenten getestet wurden (R = H bzw. COOMe bei Versuchen zur Darstellung einer Vorstufe des Acridons)

Zum Erfolg führte schließlich die Buchwald-Hartwig-Aminierung von Iodbenzol angelehnt an eine Methode von MacNeil^[56]. Dabei wurde Verbindung **41** mit Iodbenzol, dem Katalysator Tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) und dem Liganden BINAP (2,2'-Bis(diphenylphosphin)-1,1'-binaphthyl) umgesetzt (vgl. Abb. 70). Um das gewünschte Produkt vollständig aufzureinigen zu können, wurde das Acetamid in ethanolischer Kalilauge gespalten, das erhaltene Anilin isoliert und anschließend das Amid durch Umsetzung des Anilins mit Acetylchlorid in Gegenwart von Pyridin erneut dargestellt. Das gewünschte Produkt **37** entstand mit einer Ausbeute von 31 %.

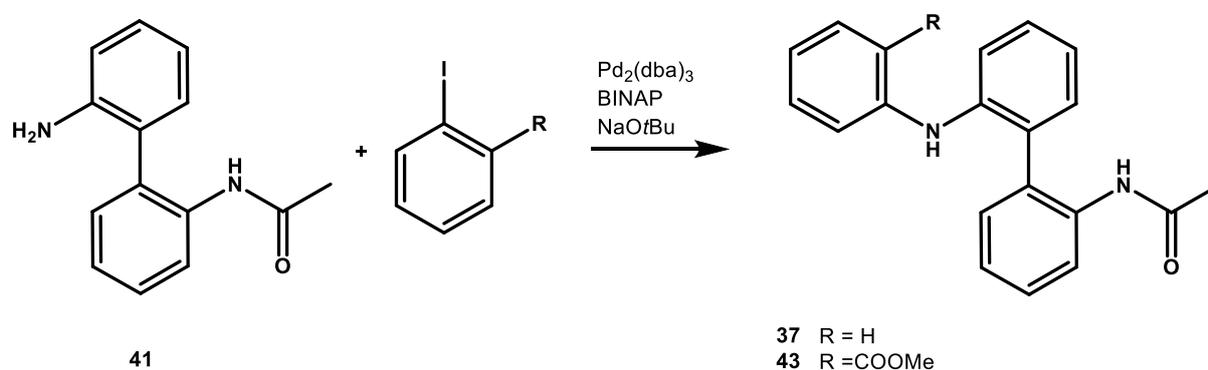


Abbildung 70: Darstellung der Seco-Verbindung **37** über eine Hartwig-Buchwald-Aminierung

Nach dem gleichen Syntheschema konnte Verbindung **43** als geeignete Zwischenstufe für das Acridon **38** gewonnen werden (vgl. Abb. 70). Der Acridon-Grundkörper besitzt drei anellierte Sechsringe. Der mittlere Ring ist ein Pyridin-4-on, während beim Carbazol der Leitstruktur **1** der mittlere Ring ein Pyrrol ist. Das Acridon **38** verfügt somit verglichen mit der Leitstruktur **1** über eine leicht veränderte Geometrie des starren Grundkörpers. Die neu eingebrachte Carbonylfunktion im Acridon könnte jedoch weitere Wechselwirkungen zum Protein ermöglichen, beispielsweise mit Methionin 1108 (vgl. Kap. 3.4.5).

Die Zwischenstufe **43** konnte nach oben beschriebenem Schema über eine Hartwig-Buchwald-Aminierung von 2-Iodbenzoesäuremethylester mit Verbindung **41** in einer Ausbeute von 14 % erhalten werden (vgl. Abb. 70). Aus dem Methylester **43** konnte durch Reaktion mit Lithiumhydroxid die freie Carbonsäure **44** dargestellt werden. Diese konnte anschließend ohne vorherige Aufreinigung mit Polyphosphorsäure, in Anlehnung an eine Vorschrift von Watterson^[57], zum Acridon **38** cyclisiert werden. Die Ausbeute über beide Stufen betrug 56 % (vgl. Abb. 71).

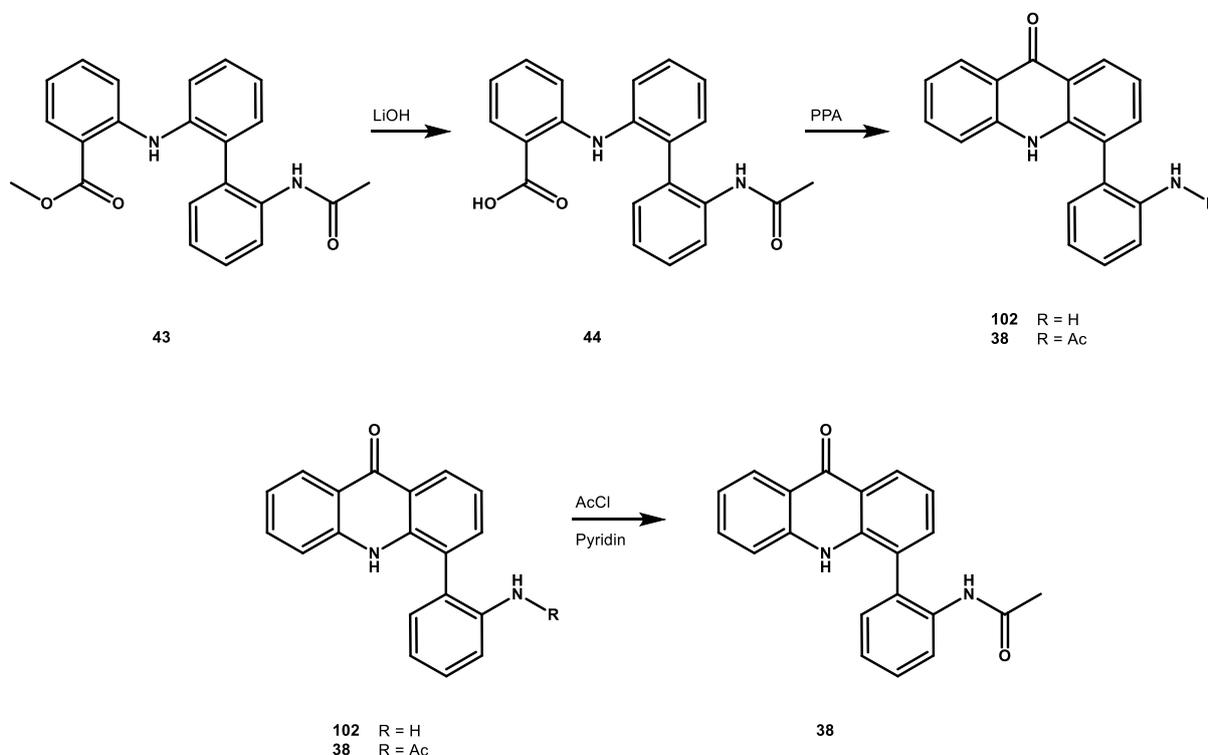


Abbildung 71: Darstellung des Acridons **38** aus der Vorstufe **43**

Unter den Bedingungen dieser Cyclisierung war die Amidbindung nur begrenzt stabil. Es entstand ein Gemisch aus dem gewünschten Acetamid **38** und dem freien Anilin **102**, deshalb wurde das rohe Reaktionsprodukt nach erfolgter Aufarbeitung (Isolierung der organischen Bestandteile, Lösen in Dichlormethan) in Gegenwart der Hilfsbase Pyridin mit Acetylchlorid^[43] umgesetzt.

3.4.5 Ergebnisse der biologischen Testung der Verbindungen mit Variationen an Ring B und Diskussion

Die beiden *N*-alkylierten Verbindungen **28** und **29** wurden im ersten ALPHA-Screen dose-response-Experiment unseres Kooperationspartners getestet und zeigten dort, im Vergleich zur Leitstruktur **1**, keine nennenswerte Inhibition der Macrodomain PARP14MD2. Deshalb wurde auch kein exakter IC₅₀-Wert von beiden Verbindungen bestimmt. Aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit der Macrodomain war ersichtlich, dass die Pyrrol-NH-Funktion des Grundkörpers eine Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130 ausbildet, mit einem Substituenten am Stickstoff ist dies nicht mehr möglich. Diese Annahme konnte mit den Testergebnissen der beiden Verbindungen bestätigt werden. Ferner zeigte die Testung der beiden Anilin-Vorstufen **30** und **31** der *N*-substituierten Verbindungen **28** und **29**, sowie des Anilin-Derivats **20** der Leitstruktur **1** (vgl. Abb. 72), dass ein Fehlen der Acetamid-Gruppe zu einem vollständigen Verlust der Aktivität führt.

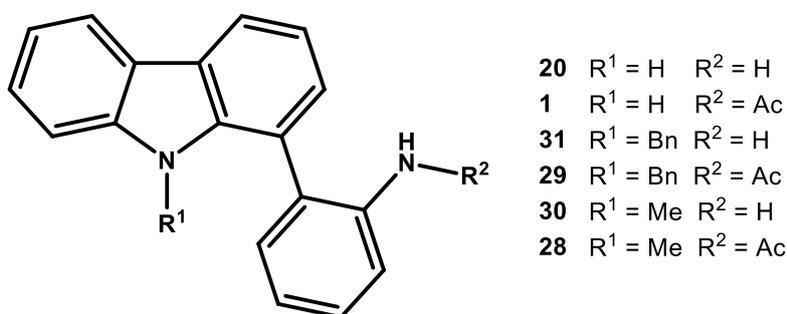


Abbildung 72: Getestete Anilin-Vorstufen und deren Acetamid-Derivate

Aus der von mir betreuten Bachelorarbeit von Carina Glas standen zwei Verbindungen für die biologische Testung zur Verfügung, die anstelle der Pyrrol-NH-Funktion, die als Wasserstoffbrückendonator fungiert, über eine Carbonylgruppe bzw. einen sekundären Alkohol verfügen. Obwohl Verbindung **46** mit der Alkohol-Gruppe (vgl. Abb. 73) eine Funktion trägt, die sowohl als Wasserstoffbrückenakzeptor (über das Sauerstoffatom) als auch als Wasserstoffbrückendonator (über das Wasserstoffatom) fungieren kann, zeigte sie keine Aktivität an der zweiten Macrodomain von PARP14. Auch Verbindung **45**, deren Carbonylfunktion des Fluorenon-Grundkörpers nur als Wasserstoffbrückenakzeptor zur Verfügung steht, zeigte keine Aktivität im ALPHA-Screen.

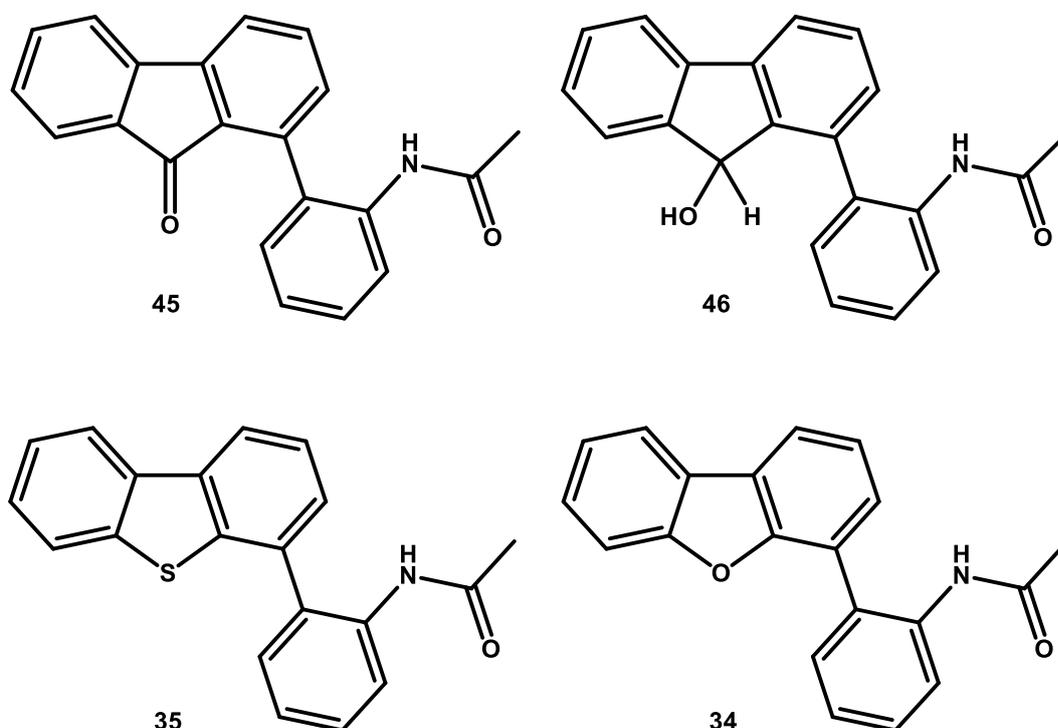


Abbildung 73: Das Fluorenol **46** und das Fluorenon **45** aus der Bachelorarbeit von Carina Glas, sowie das Thia-Analogon **35** und das Oxa-Analogon **34**

Die beiden Bioisostere **34** und **35** der Leitstruktur **1** lieferten trotz ihrer Ähnlichkeit zueinander konträre Ergebnisse bei der biologischen Testung (vgl. Abb. 73). Das Dibenzothiophen-Analogon **35** zeigte mit einem IC_{50} -Wert von $2.5 \mu M$ eine nur etwas geringere Aktivität als die Leitstruktur **1** selbst, obwohl es die Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130 nicht ausbilden kann. Leider sind die bisherigen Versuche unseres

Kooperationspartners, diese Verbindung mit der Macrodomain zu co-kristallisieren fehlgeschlagen. Über das dreidimensionale Modell könnte gezeigt werden, ob bzw. welche andere Bindung die Substanz mit dem Protein eingeht. Das Oxa-Analogon **34** zeigte trotz einer großen Ähnlichkeit zur Thia-Verbindung **35** keinerlei Aktivität an PARP14MD2.

Die Seco-Verbindung **37** ist im Vergleich zur Leitstruktur **1** sehr viel flexibler im Bereich des Grundkörpers (vgl. Abb. 74). Dennoch kann diese Verbindung in einer Konformation vorliegen, die weitgehend der der Leitstruktur **1** entspricht. Eine völlig koplanare Ausrichtung könnte durch die beiden sterisch anspruchsvollen Aromaten an der Aminfunktion verhindert werden. Ein Unterschied zwischen Verbindung **37** und der Leitstruktur **1** liegt im C-N-C-Bindungswinkel (vgl. Abb. 74). Während der Winkel im Carbazol etwa 108° ^[94] misst, beträgt der entsprechende Winkel in der Diphenylamin-Partialstruktur von Verbindung **37** etwa 129° ^[95].

Die Testung zeigte, dass Verbindung **37** keine inhibitorische Aktivität an PARP14MD2 aufweist. Die bevorzugte Konformation der Verbindung entspricht offenbar nicht der Konformation, die für eine Interaktion an der Bindungsstelle im Protein optimal wäre. Vermutlich ist die zu überwindende Energiebarriere, um Verbindung **37** in eine geeignete Konformation zu drehen so hoch, dass keine für eine Inhibition ausreichend starke Bindung an das Protein möglich ist. Ein weiterer Grund für die fehlende Aktivität könnte sein, dass die koplanare Ausrichtung des Ringsystems (wie in der Leitstruktur **1**) optimal für die Bindung ist, diese Anordnung ist jedoch in Verbindung **37** sterisch ungünstig.

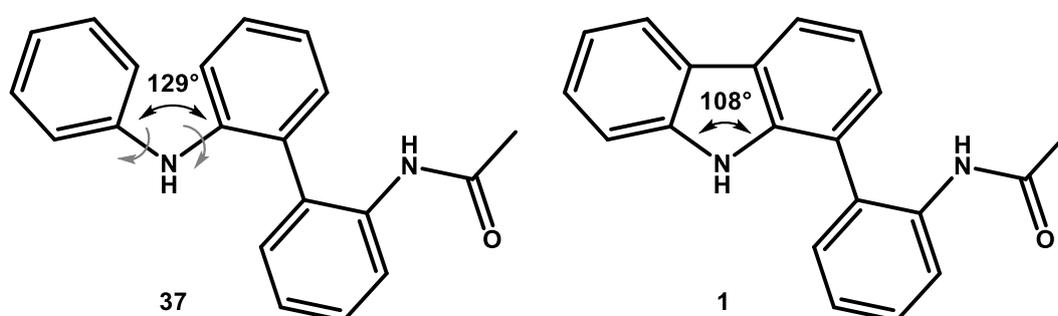


Abbildung 74: Die flexible Seco-Verbindung **37** im Vergleich zur Leitstruktur **1** mit dem rigiden Carbazol-Grundkörper

Verbindung **38** unterscheidet sich von der Leitstruktur **1** zum einen durch die Bindungswinkel innerhalb des mittleren Rings des Grundkörpers: Im Sechsring des Acridons **38** liegen die Bindungswinkel bei ca. $117-123^{\circ}$ ^[96], während die Winkel im Fünfring des Carbazols **1** bei ca. $106-108^{\circ}$ ^[94] liegen. Dadurch ist die gesamte Geometrie des Grundkörpers etwas anders. Zum anderen unterscheidet sich Verbindung **38** von der Leitstruktur **1** in der Basizität des jeweils im Ring enthaltenen Stickstoffs. Der pKa-Wert des Pyrrol-Stickstoffs im Carbazol **1** liegt bei ca. 20, der pKa-Wert des Stickstoffs im Pyridin-4-on-Ring des Acridons **38** liegt bei ca. 15^[97]. Der Stickstoff in der Leitstruktur **1** ist also basischer als der Stickstoff des phenylogenen Amids in Verbindung **38**. Das Acridon **38**, sollte mit der zusätzlichen Carbonyl-Funktion eine weitere funktionelle Gruppe tragen, die Interaktionen mit dem Protein ermöglichen könnte. Denkbar wäre z.B., dass über ein Wassermolekül (ähnlich wie bei einer der Bindungen, die von der Amid-Funktion ausgehen, vgl. Abb. 75) eine Bindung zu Methionin 1108 im direkten Umfeld ausgebildet werden kann. Das Wassermolekül könnte über seine beiden Wasserstoffatome als Donor jeweils eine Wasserstoffbrücke zur Carbonylfunktion des Acridon **38** und zum Schwefelatom aus Methionin 1108 als Akzeptoren ausbilden.

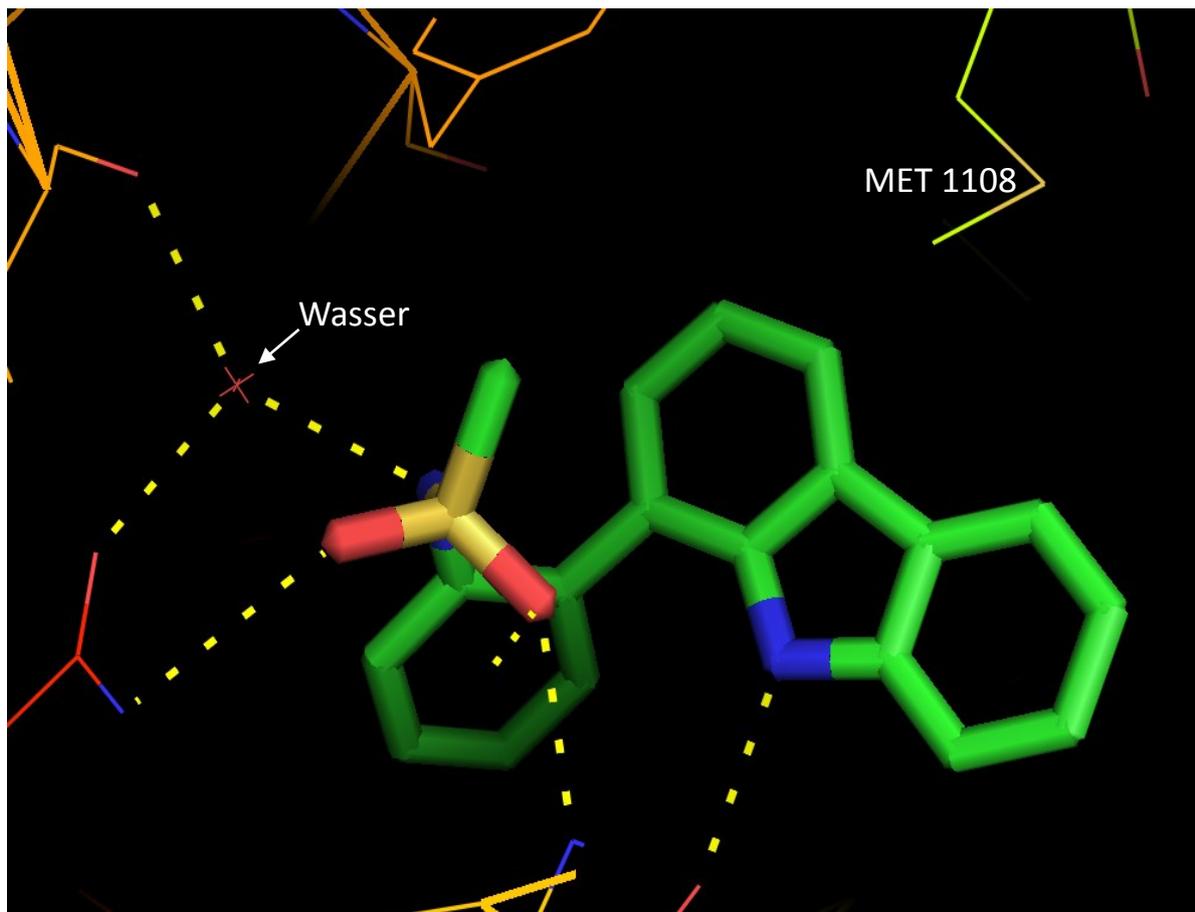


Abbildung 75: Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2

Die biologische Testung zeigte jedoch, dass diese Veränderung des Grundkörpers zu einem kompletten Verlust der inhibitorischen Aktivität an der Macrodomain führt.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass keine der Variationen von Ring B zu einer Verbesserung der Aktivität im Vergleich zur Leitstruktur **1** geführt hat. Lediglich das Thia-Analogen **35** zeigt eine gute Inhibition von PARP14MD2, allerdings auch geringfügig unter dem Niveau der Leitstruktur **1**. Aus diesem Grund, sollte bei den folgenden Synthesen der Pyrrol-Ring mit seiner freien NH-Funktion als mittlerer Ring des Grundkörpers beibehalten werden.

3.5 Variationen an Ring C der Leitstruktur 1

Die Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit der zweiten Macrodomain von PARP14 ließ vermuten, dass im Umfeld von Ring C noch Platz für kleinere Substituenten zur Verfügung stehen sollte (vgl. Abb. 76).

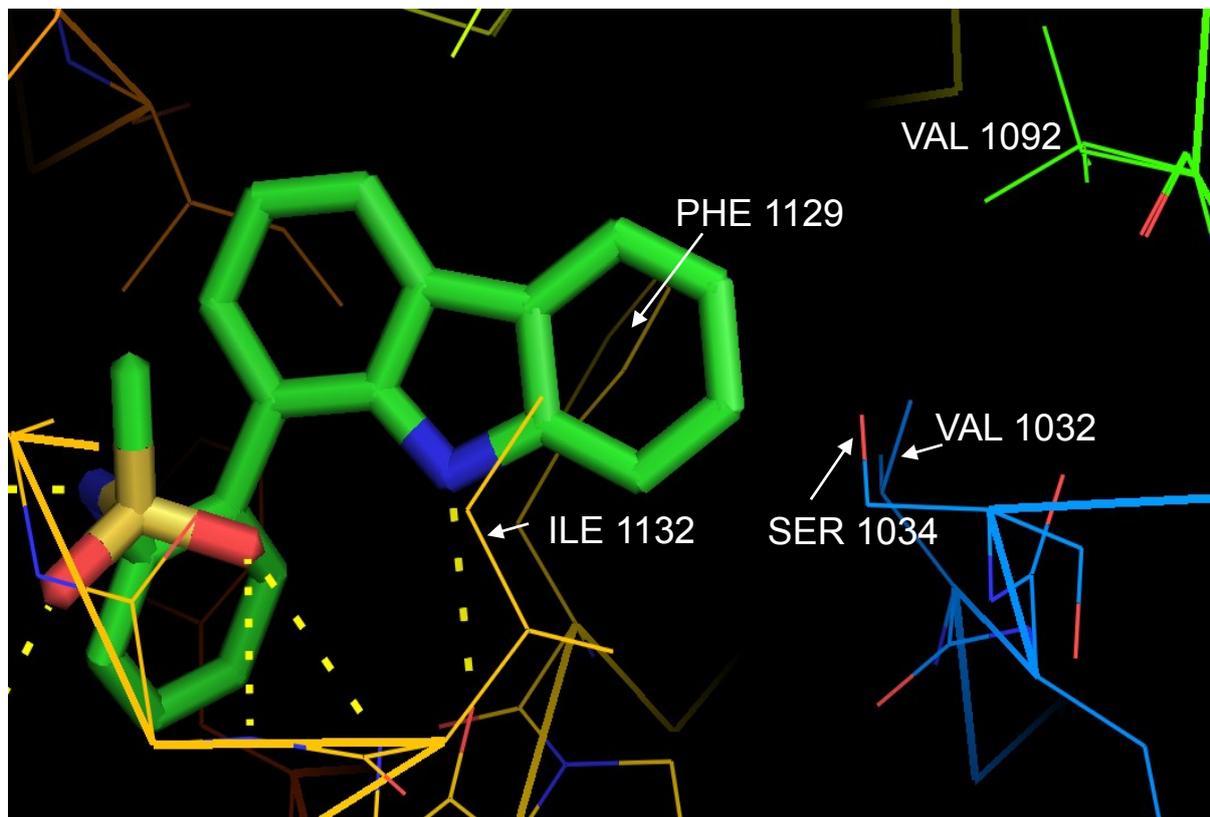


Abbildung 76: Ausschnitt aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2

In den Ebenen über bzw. unter dem Benzenring C des Grundkörpers liegen die Reste der beiden apolaren Aminosäuren Phenylalanin 1129 bzw. Isoleucin 1132. Sie könnten hydrophobe Wechselwirkungen mit dem Benzenring des Grundkörpers eingehen und auf diese Weise die Bindung zwischen der Substanz und dem Protein festigen. Diese Theorie lässt sich mit der Testung von Verbindungen überprüfen, die z.B. Heteroatome im Ringsystem tragen, welche den Ring C weniger hydrophob machen. Als Modellverbindung sollte ein α -Carbolin dargestellt werden (vgl. Abb. 77, links oben), welches in Position 8 (entspricht C-1 der Leitstruktur **1**) einen Acetamidophenylsubstituenten trägt. Erweist sich die Theorie als zutreffend, sollte das α -Carbolin-Analogon **103** eine geringere Aktivität zeigen als die Leitstruktur **1**.

Eine weitere Möglichkeit Ring C zu variieren, aber dennoch die hydrophoben Eigenschaften dieses Rings zu erhalten, stellt ein 5,6,7,8-Tetrahydrocarbazol-Analogon der Leitstruktur **1** dar (vgl. Abb. 77, links unten). Dieses verfügt über eine ähnliche Ladungsverteilung, jedoch durch die sp^3 -Hybridisierung von vier der sechs Kohlenstoffatome des Rings C über eine unterschiedliche Geometrie, verglichen mit dem planaren aromatischen System aus der Leitstruktur **1**, an dem alle Kohlenstoffatome sp^2 -hybridisiert sind.

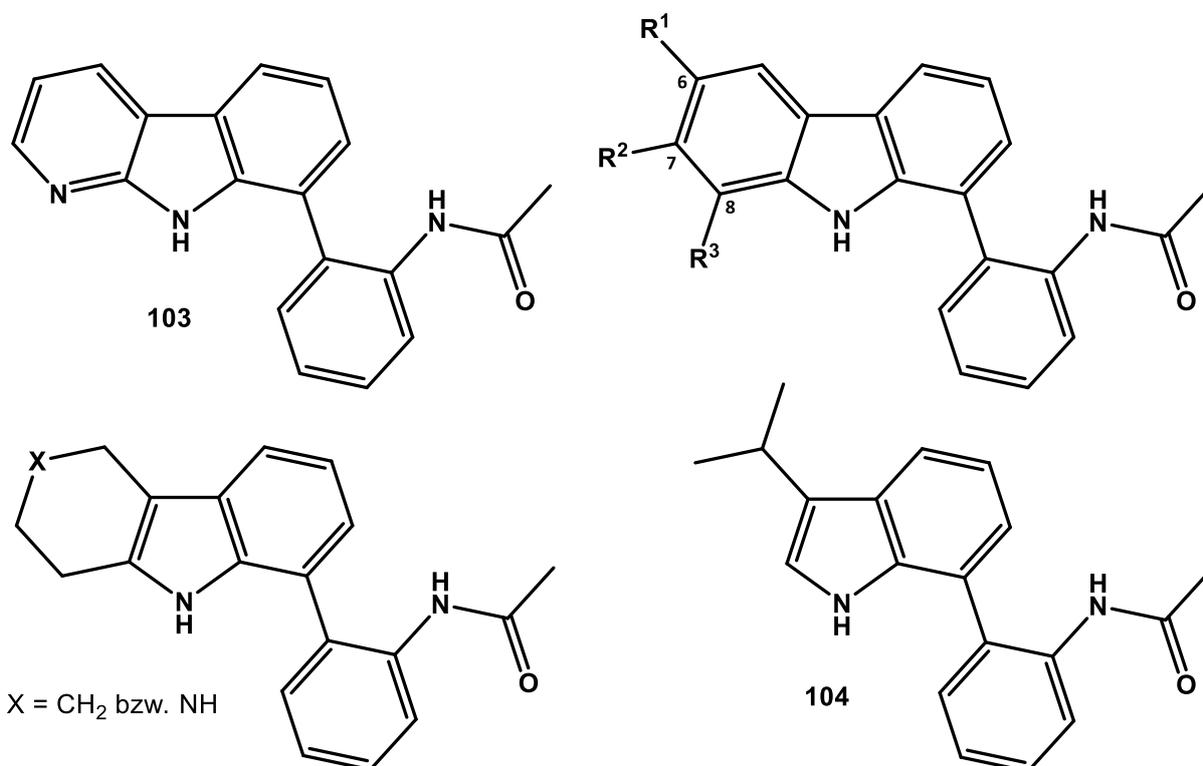


Abbildung 77: Geplante Variationen an Ring C

Außerdem sollten Verbindungen hergestellt werden, die unterschiedliche Reste an Ring C tragen. Zum Beispiel sollten an Position 6 des Carbazol-Grundkörpers kleine polare oder apolare Gruppen eingeführt werden (vgl. Abb. 77, rechts oben). Eine polare Gruppe an dieser Position könnte z.B. über eine Wasserstoffbrücke zu Serin 1034 die Bindung des Inhibitors an die Macrodomain positiv beeinflussen. Wahrscheinlich wäre auch eine polare Gruppe an Position 7 für eine Interaktion mit Serin 1034 geeignet. Da aber bei der Synthese eines Grundkörpers mit einem Rest an C-7 mit Schwierigkeiten durch die Bildung von Regioisomeren zu rechnen ist, sollten

derartige Verbindungen erst hergestellt werden, wenn die Testung von Verbindungen mit Substituent an Position 6 vielversprechend ausfällt.

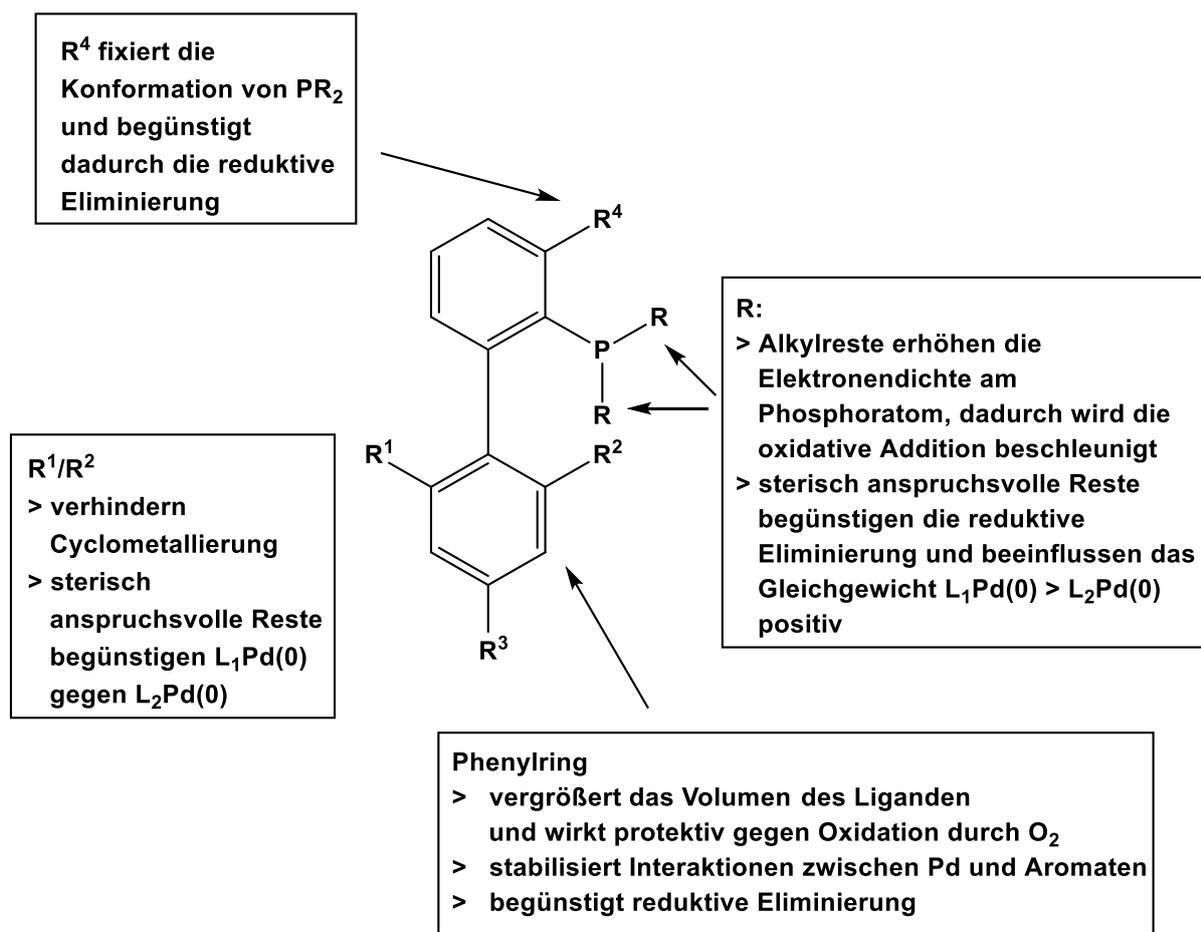
Denkbar wäre aber auch, dass eine apolare Gruppe an Position 6 über hydrophobe Wechselwirkungen zu Valin 1092 und/oder Valin 1032 die Affinität des Inhibitors steigern kann.

Zusätzlich sollte ein Analogon der Leitstruktur **1** hergestellt werden, das eine 7,8-Dichlorcarbazol-Partialstruktur aufweist (vgl. Abb. 77, rechts oben). Dieses Substitutionsmuster hat in Vorarbeiten aus der Arbeitsgruppe bei Kinase-Inhibitoren vom β -Carbolin-Typ zu einer Steigerung der Affinität der Substanzen geführt. Dieser Effekt konnte auf Basis von Co-Kristallstrukturen auf die Ausbildung von Chlorbrücken mit den Peptidgruppen in der Hinge-Region verschiedener Kinasen zurückgeführt werden^[98]. Da die Leitstruktur einer Substanzbibliothek entstammt, die ursprünglich zur Entdeckung neuer Kinase-Inhibitoren designt worden war, sollten die Testergebnisse einer Verbindung, die dieses charakteristische 7,8-Dichlorcarbazol-Muster trägt, auch erste Hinweise liefern, ob mit einer Kreuzreaktivität der Macrodomein-Inhibitoren auf Kinasen zu rechnen ist.

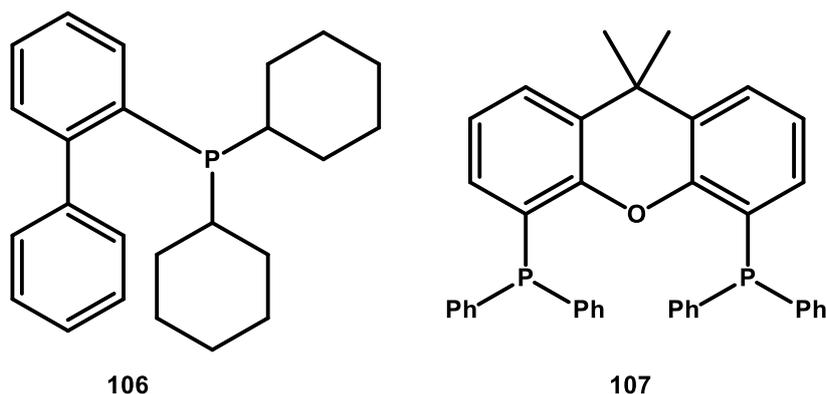
Da aus der Co-Kristallstruktur von PARP14MD2 mit Verbindung **63** keine direkten Wechselwirkungen zwischen Ring C und dem Protein erkennbar sind, sollte außerdem mit Indol-Analoga (vgl. Abb. 77, rechts unten) der Leitstruktur **1** gezeigt werden, ob es möglich ist, auf Ring C (teilweise oder ganz) zu verzichten.

3.5.1 Exkurs: Buchwald-Liganden in Palladium-katalysierten Kreuzkupplungen

Die seit 1998 etablierte Familie der Dialkylbiarylphosphin-Liganden (vgl. Abb. 78) spielt bei Palladium-katalysierten Kreuzkupplungen neben Trialkylphosphinen und NHCs (N-heterocyclische Carbene) eine wichtige Rolle. Die in der Arbeitsgruppe von Prof. Stephen Buchwald entwickelten Liganden werden bei den unterschiedlichsten Problemstellungen im Bereich der C-C-, C-N- und C-O-Bindungsknüpfung verwendet. Die Eigenschaften des jeweiligen Liganden sind abhängig von seinem Aufbau (vgl. Abb. 78).

Abbildung 78: Dialkylbiarylphosphinliganden und ihre Eigenschaften nach Buchwald^[99]

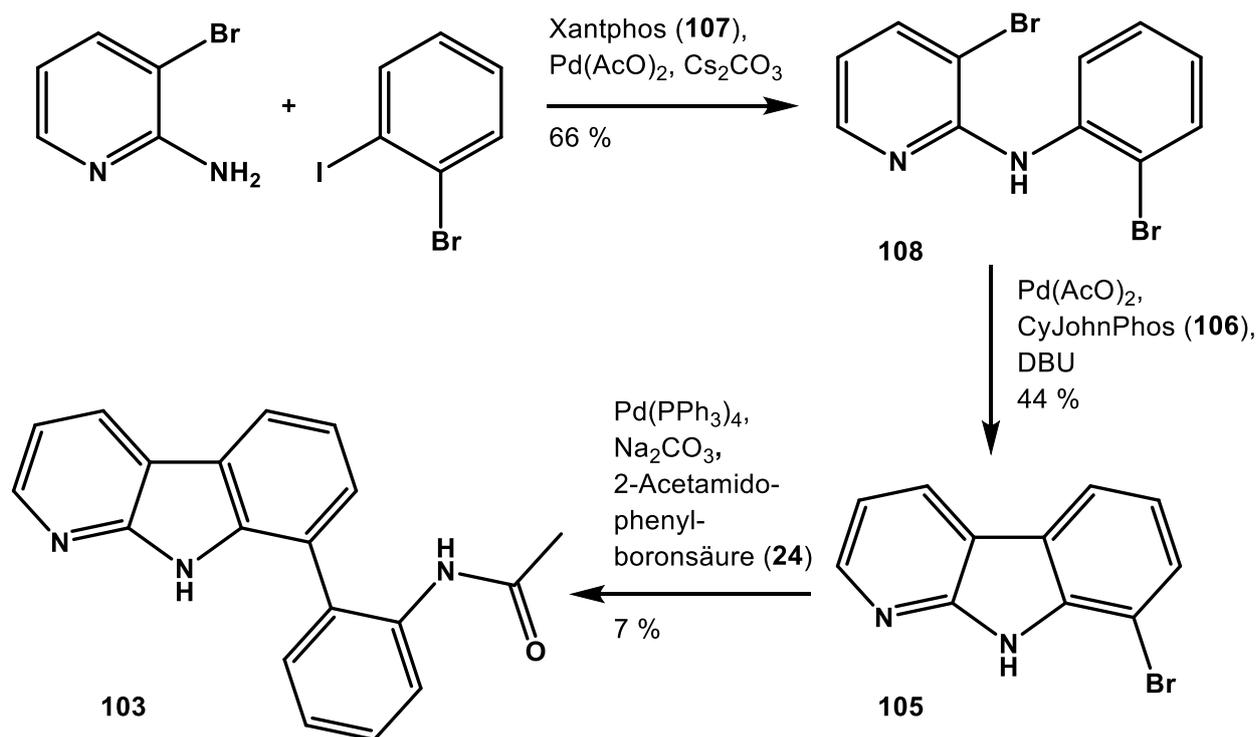
Durch die Wahl eines geeigneten Liganden lassen sich viele Reaktionen optimieren oder gar überhaupt erst realisieren. Beispielsweise konnte mit dem Liganden CyJohnPhos (vgl. Abb. 79) aus dieser Familie selektiv der Ringschluss zu Verbindung **105** (siehe Folgekapitel, Abb. 80) realisiert werden. Eine Weiterentwicklung dieser Verbindungsklasse stellen zweizählige Liganden, wie etwa Xantphos, dar (vgl. Abb. 79). Sie begünstigen durch Chelatisierung von Palladium^[100] bestimmte Reaktionen, wie etwa verschiedene Buchwald-Hartwig-Aminierungen^[101]. Diese Eigenschaft konnte ebenfalls bei der Darstellung von Verbindung **105** (siehe Folgekapitel, Abb. 80) genutzt werden.

Abbildung 79: CyJohnPhos **106** und Xantphos **107**

Durch den Einsatz verschiedener Liganden lassen sich Reaktionen steuern bzw. Reaktionsfolgen gezielt nacheinander umsetzen. Im folgenden Kapitel ist ein Beispiel dafür beschrieben.

3.5.2 α -Carbolin-Analogen

Für die Darstellung der α -Carbolin-Verbindung **103** musste der tricyclische Grundkörper neu aufgebaut werden. Die bisher bevorzugt gewählte Methode der Fischer-Borsche-Reaktion mit nachfolgender Dehydrierung zum aromatischen Grundkörper konnte hier nicht in analoger Weise angewendet werden. Daher sollte hier, angelehnt an Arbeiten von Mineno^{[102], [103]}, der bromierte α -Carbolin-Grundkörper **105** durch eine Reihe aufeinanderfolgender Palladium-katalysierter Kreuzkupplungen aufgebaut werden (vgl. Abb. 80).

Abbildung 80: Darstellung des α -Carbolin-Analogons **103**

Für das Gelingen dieser Abfolge von Kreuzkupplungen war unter anderem die unterschiedliche Reaktivität der (Pseudo)Halogen-Substituenten ($\text{I} \gg \text{Br} > \text{OTf} \gg \text{Cl}$)^[104] ausschlaggebend. Durch die deutlich höhere Reaktivität von Iod im Vergleich zu Brom gelang im ersten Schritt unter Verwendung eines spezifischen Systems aus Katalysator, Base und dem Liganden Xantphos (vgl. Kap. 3.5.1) eine selektive Aminierung von 1-Brom-2-iodbenzol mit 3-Brompyridin-2-amin zu Verbindung **108** (vgl. Abb. 80). Im Anschluss konnte durch Wahl eines für die gewünschte C-C-Kupplung geeigneten Systems aus Palladium-Katalysator, Ligand (hier CyJohnPhos, vgl. Kap. 3.5.1) und DBU als Base der Ringschluss zum α -Carbolin **105** unter Erhalt des Brom-Substituenten am Phenylring erfolgen. Der Brom-Substituent wurde im letzten Schritt, ebenfalls Palladium-katalysiert (hier unter Verwendung von Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) als Katalysator-Ligand-System) mittels einer Suzuki-Miyaura-Reaktion^[42] gegen den gewünschten Acetamidophenyl-Substituenten ausgetauscht, um die Zielverbindung **103** zu erhalten. Die Ausbeute war im letzten Schritt mit 7 % relativ niedrig, möglicherweise chelatisieren die beiden Stickstoffatome des α -Carbolins den Palladium-Katalysator. Damit stand eine flexible Methode zur Verfügung, die die Option eröffnete, zusätzlich zu dem neu eingeführten Stickstoff-Atom durch Wahl geeigneter Edukte auch noch weitere Substituenten an Ring C

einzuführen (vgl. Abb. 81; denkbar wäre auch das Einführen von Substituenten an Ring A, jedoch steht hier kein Platz im Protein zur Verfügung, vgl. Kap. 3.3). Da der Wechsel vom Carbazol- zum α -Carbolin-Ringsystem jedoch zu einem massiven Aktivitätsverlust führte (siehe Kap. 3.5.7), wurden keine weiteren Verbindungen mit α -Carbolin-Grundkörper dargestellt und auch keine Anstrengungen unternommen, die Ausbeute von **103** zu steigern.

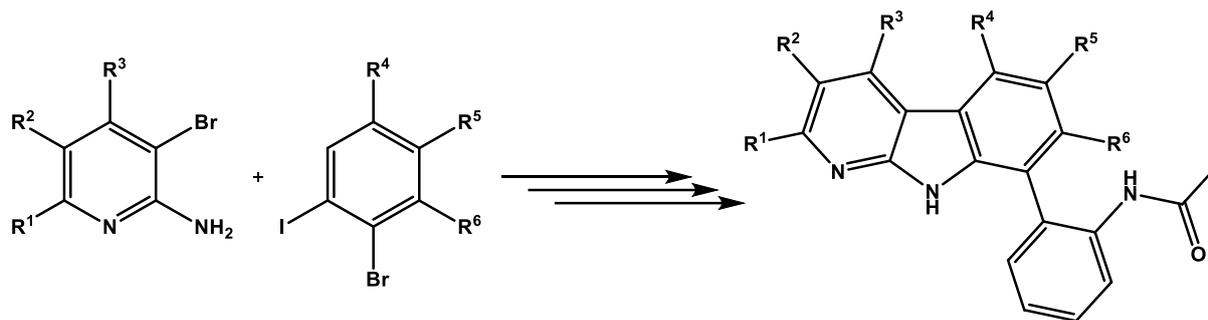


Abbildung 81: Die für die Darstellung von Verbindung **103** gewählte Methode bietet prinzipiell auch die Möglichkeit, α -Carboline mit weiteren Resten darzustellen

3.5.3 Tetrahydrocarbazol-Analogen der Leitstruktur 1

Für die Darstellung einer Verbindung, die einen teilweise gesättigten Ring C besitzt, konnte, mit einer kleinen Abwandlung, die für die Synthese der Leitstruktur etablierte Syntheseroute verwendet werden. Zuerst wurde der Grundkörper über eine Fischer-Borsche-Synthese^{[39], [40]} aufgebaut (vgl. Abb. 82).

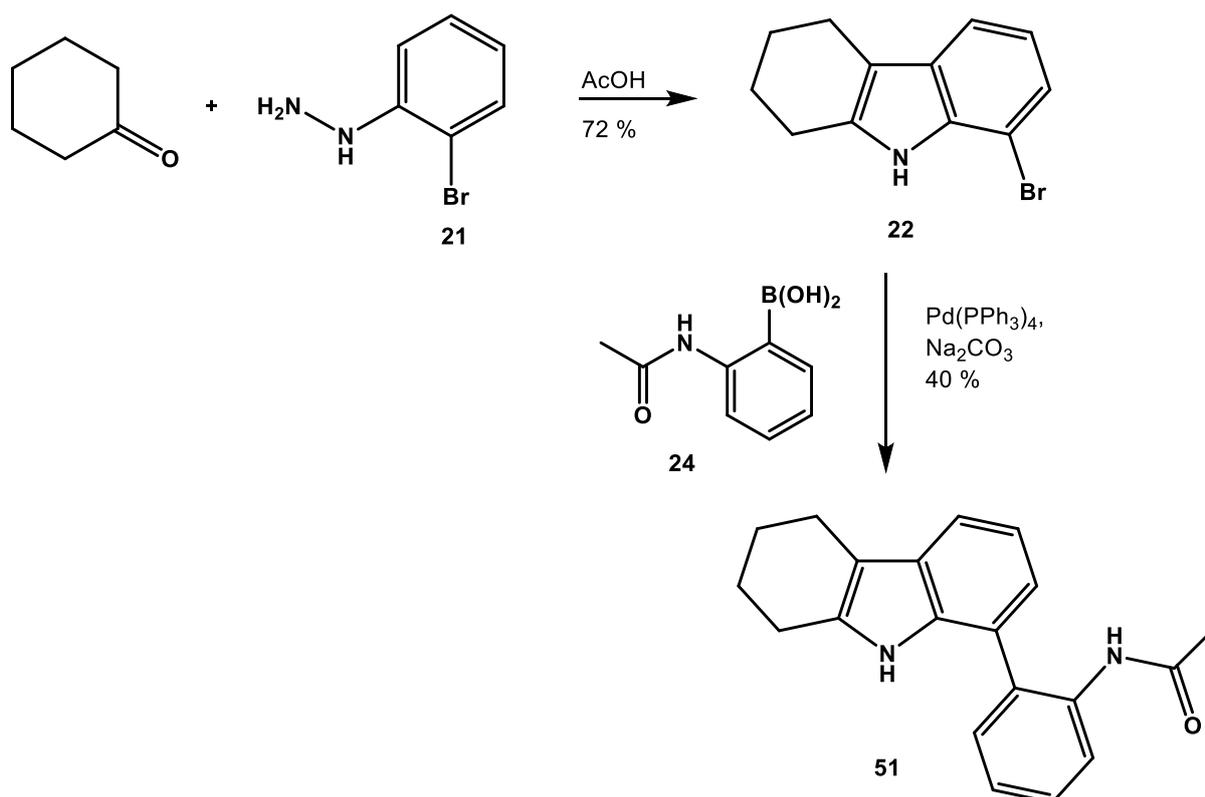


Abbildung 82: Darstellung des Grundkörpers über eine Fischer-Borsche-Synthese und anschließende Suzuki-Miyaura-Kupplung zur Zielverbindung **51**

Aus Cyclohexanon und 2-Bromphenylhydrazin (**21**) konnte im essigsauren Milieu durch Kondensation und anschließende Cyclisierung Verbindung **22** dargestellt werden. Auf den bei der Darstellung des Grundkörpers der Leitstruktur **1** nun folgenden Oxidationsschritt mit Chloranil wurde verzichtet, da hier das Tetrahydrocarbazol-Strukturelement in der Zielverbindung erhalten bleiben sollte. Die Zwischenstufe **22** konnte, in Anlehnung an die Synthese der Leitstruktur **1**, in einer Suzuki-Miyaura-Reaktion^[42] mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) zur Zielverbindung **51** umgesetzt werden.

3.5.4 Aza-Analogon des Tetrahydrocarbazols **51**

Neben Verbindung **51**, die im Vergleich zur Leitstruktur **1** lediglich eine veränderte Geometrie des apolaren Rings C aufweist, sollte eine weitere Verbindung synthetisiert werden, die im teilweise gesättigten Ring C zusätzlich eine polare Funktion trägt. Dazu sollte ein Kohlenstoffatom des Rings C durch ein Stickstoffatom ersetzt werden (vgl.

Abb. 83). Zum einen sollte die Verbindung durch den unter physiologischen Bedingungen (bzw. in den wässrigen Puffersystemen der biologischen Testung) protoniert vorliegenden Stickstoff eine verbesserte Löslichkeit aufweisen. Zum anderen könnte die neu eingeführte Aminogruppe zusätzliche Interaktionen mit dem Protein eingehen und so die Aktivität der Verbindung steigern.

Für die Synthese von Verbindung **109** wurde eine ähnliche Strategie genutzt, die schon bei der Darstellung des Tetrahydrocarbazols **51** Anwendung fand (vgl. Abb. 83). Der Grundkörper **110** konnte im salzsauren Milieu aus 2-Bromphenylhydrazin (**21**) und Piperidin-4-on über eine Fischer-Cyclisierung^[105] aufgebaut werden. Im Anschluss wurde das sekundäre aliphatische Amin für die folgende Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] geschützt, da dies oft zu einer Verbesserung der Ausbeute in der Kreuzkupplungsreaktion führt. Es wurde die klassische Amin-Schutzgruppe Boc (*tert*-Butyloxycarbonyl) verwendet, da diese unter den basischen Bedingungen der Suzuki-Miyaura-Reaktion ausreichend stabil ist und im Anschluss an die Reaktion im Sauren leicht wieder abgespalten werden kann.

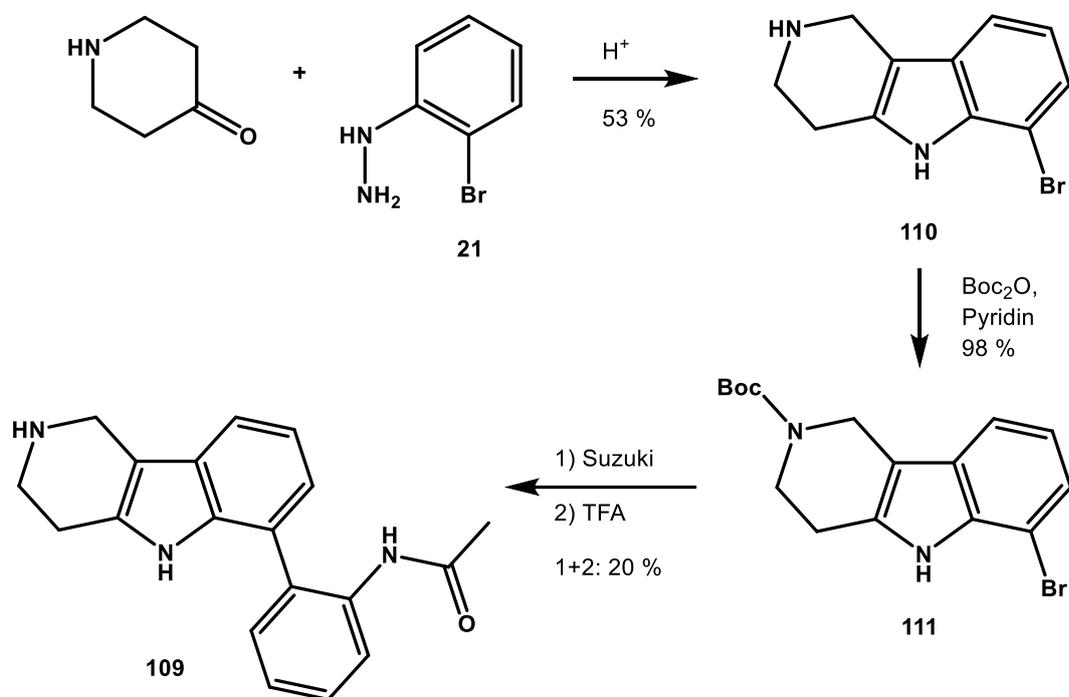


Abbildung 83: Darstellung von Verbindung **109**

Die Umsetzung der Verbindung **110** mit Di-*tert*-butyldicarbonat in Gegenwart der Hilfsbase Pyridin lieferte die *N*-geschützte Verbindung **111** in sehr guter Ausbeute. Mittels einer Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] von Verbindung **111** mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und anschließender Entschützung mit Trifluoressigsäure konnte Verbindung **109**, das Aza-Analogon des Tetrahydrocarbazols **51**, dargestellt werden.

3.5.5 Flexible Einführung von Substituenten an Ring C

Um Grundkörper mit verschiedenen Substituenten an Ring C aufzubauen, wäre die für die Darstellung des α -Carbolin-Analogons **103** genutzte Synthesestrategie über sequentielle Kreuzkupplungen^[102] (vgl. Kap. 3.5.1 bzw. 3.5.2) denkbar gewesen. Da aber unter anderem Verbindungen mit zusätzlichen Halogensubstituenten an Ring C geplant waren, war dies nicht die Methode der Wahl.

Ritter^[106] und Gehring^[36] aus unserem Arbeitskreis konnten bereits zeigen, dass unterschiedlich substituierte Tetrahydrocarbazol-1-one aus kommerziell erhältlichen Anilinen über eine Synthesestrategie von Abramovitch^{[60], [61]} gut zugänglich sind (vgl. Abb. 84). Dabei wird das entsprechende Anilin zuerst in saurer Lösung mit Natriumnitrit in der Kälte diazotiert. Dann wird das entstandene Diazoniumsalz mit einer Lösung von zuvor verseiftem 2-Oxocyclohexansäureethylester versetzt, wobei in einer Japp-Klingemann-Reaktion unter Decarboxylierung das entsprechende Hydrazone entsteht. Dieses Hydrazone lässt sich über eine Fischer-Reaktion im Säuren zum entsprechenden Tetrahydrocarbazol-1-on cyclisieren. Auf diese Weise wurden Tetrahydrocarbazol-1-one mit einer Methoxy- bzw. einer Nitro-Gruppe (Verbindung **112** bzw. **113**) an Position 6 dargestellt. Zusätzlich standen bereits einige weitere Verbindungen mit unterschiedlichen Substitutionsmustern aus den Arbeiten von Gehring zur Verfügung (vgl. Abb. 86).

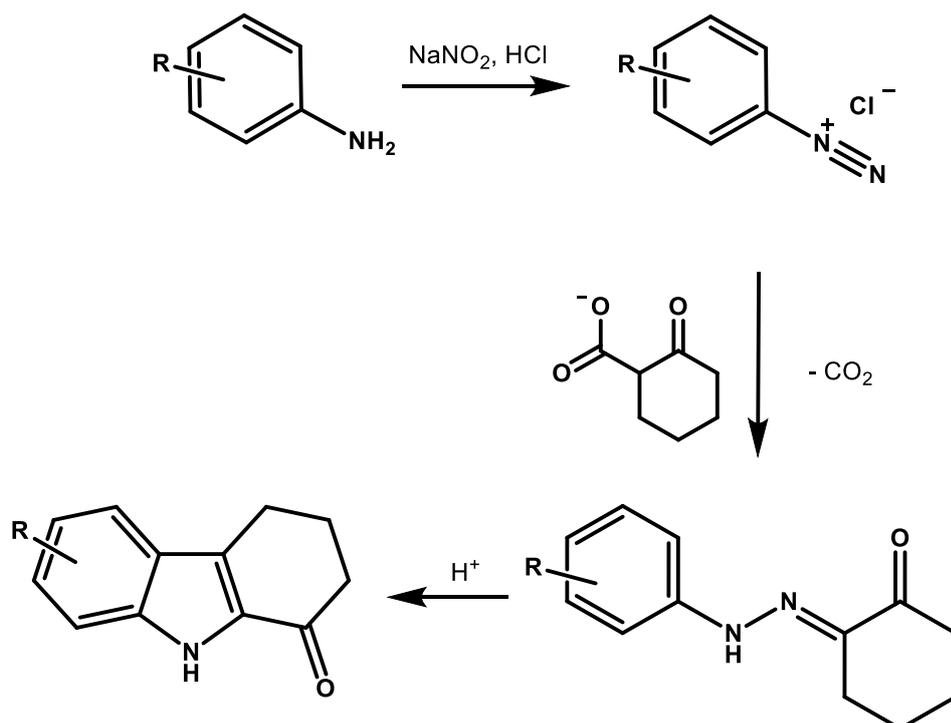
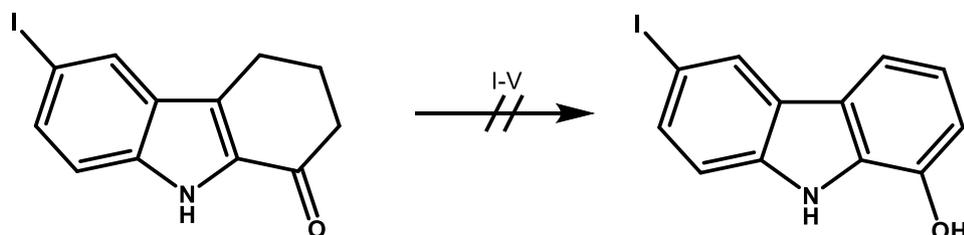


Abbildung 84: Synthese unterschiedlich substituierter Tetrahydrocarbazol-1-one

Aus den dadurch zugänglichen Tetrahydrocarbazol-1-onen sollten z.B. durch Oxidation die entsprechenden Carbazol-1-ole zugänglich sein. Aus den resultierenden Phenolen sollten sich dann z.B. Triflate als gute Abgangsgruppen für Übergangsmetall-katalysierte Kreuzkupplungen darstellen lassen.

Bereits Gering beschrieb in seiner Dissertation^[36] verschiedene Methoden um Tetrahydrocarbazol-1-one zu Carbazol-1-olen zu oxidieren, jedoch gelang keine davon in zufriedenstellenden Ausbeuten (vgl. Abb. 85).



(I) Pd/C, Xylol; (II) Pd/C, p-Cymol; (III) Pd/C, PhOPh; (IV) Cer(IV)sulfat; (V) KMnO₄

Abbildung 85: Versuche von Gehring zur Oxidation von Tetrahydrocarbazol-1-onen^[36]

In einer Arbeit von Miller^[107] wird eine Reaktionsfolge beschrieben, bei der Tetrahydrocarbazol-1-one zuerst mit Kupfer(II)bromid in ortho-Position zur Carbonylfunktion bromiert werden (vgl. Abb. 86). Im Anschluss erfolgt eine Dehydrobromierung mit einer Mischung aus Lithiumbromid und Lithiumcarbonat zu den entsprechenden aromatischen Carbazol-1-olen. Angelehnt an diese Methode konnten unterschiedlich substituierte Carbazol-1-ole dargestellt werden (vgl. Abb. 86).

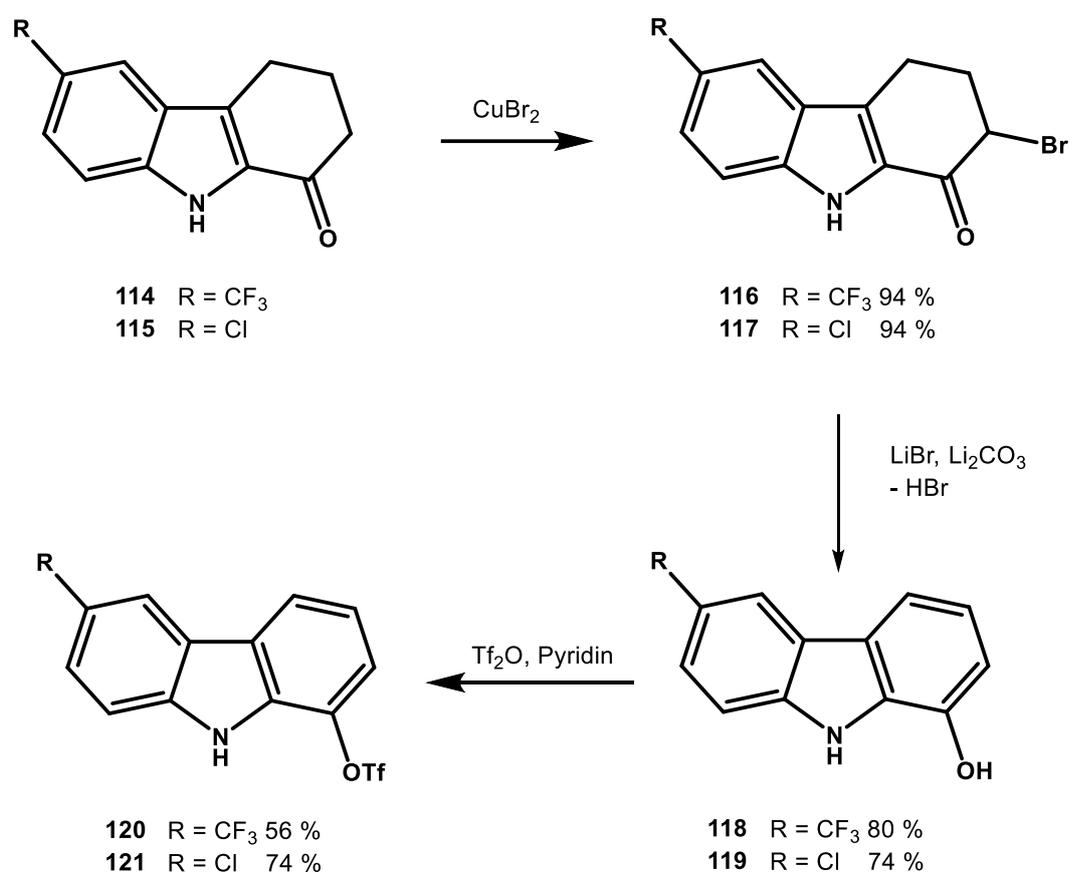


Abbildung 86: Darstellung von substituierten Carbazol-1-olen aus den entsprechenden Tetrahydrocarbazol-1-onen und nachfolgende Umsetzung zu entsprechenden Aryltriflaten

Die erhaltenen Carbazol-1-ole konnten dann in Gegenwart der Hilfsbase Pyridin mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid zu den Triflaten umgesetzt werden (vgl. Abb. 86). Mittels Suzuki-Miyaura-Kupplungen mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) sollte der dem Substitutionsmuster der Leitstruktur **1** entsprechende Rest eingeführt werden. Da die bisher häufig genutzte Methode nach de Koning^[42] nicht zum Ziel führte, sollte in Anlehnung an eine Vorschrift von Choshi^[108], mit einem alternativen System aus Katalysator, Ligand und Base der gewünschte Substituent eingeführt werden. Da auch

3. Synthesen

diese Reaktion trotz Variation der Parameter (wie Temperatur (70 – 120 °C), Reaktionsdauer (12 – 48 Stunden)) nicht zum Ziel führte, musste ein anderer Syntheseweg gefunden werden.

Eine Veröffentlichung von Bracher^[109] beschreibt die Darstellung von 1-Chlor-β-carbolin (**122**) aus 2,3,4,9-Tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-1-on (**123**) (vgl. Abb. 87).

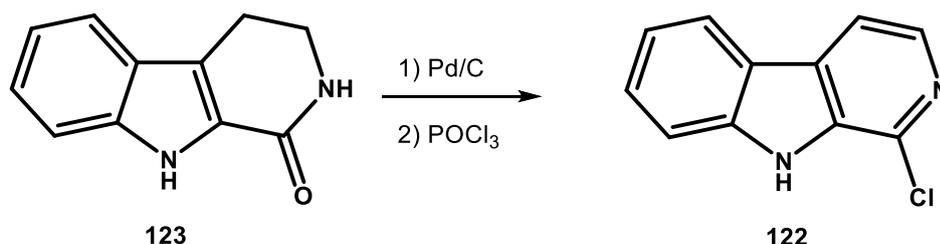


Abbildung 87: Synthese von 1-Chlor-β-carbolin (**122**) nach Bracher^[109]

Diese Methode zur Dehydrierung/Halogenierung konnte auf Tetrahydrocarbazol-1-one übertragen werden. Als Reagenz wurde Phosphoroxybromid gewählt, da bromierte Aromaten in der geplanten Folgereaktion in der Regel höhere Ausbeuten liefern als chlorierte (vgl. Abb. 88). Phosphoroxybromid dient hier sowohl als Oxidationsmittel als auch als Bromierungsreagenz, somit konnte auf den Dehydrierungsschritt mit Palladium/Kohle (der bereits Gehring Schwierigkeiten bereitet hatte, vgl. Abb. 85) verzichtet werden.

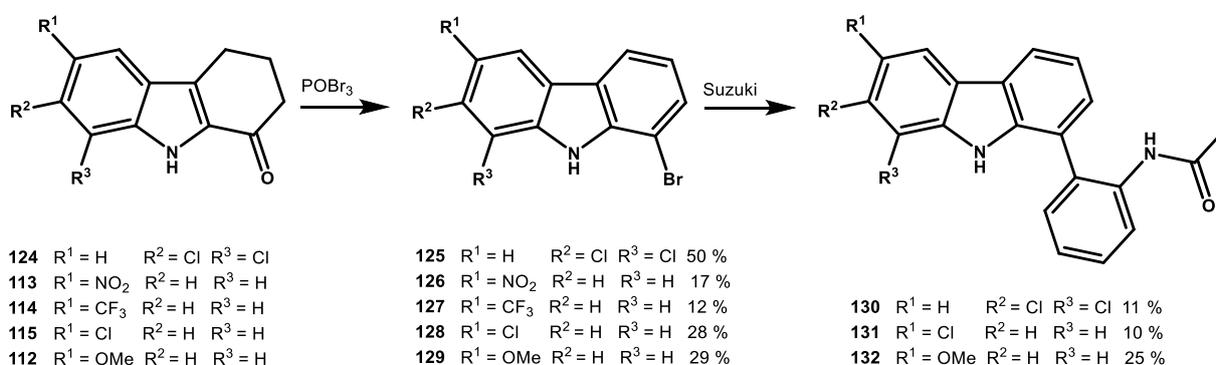


Abbildung 88: Darstellung von substituierten 1-Bromcarbazolen und anschließende Suzuki-Miyaura-Kupplung

Mit der beschriebenen Methode konnten beispielhaft fünf Bromcarbazole mit unterschiedlichen Substitutionsmustern an Ring C in Ausbeuten zwischen 12 und 50 % dargestellt werden (vgl. Abb. 88). Dabei war zu beobachten, dass die Ausbeuten bei der Umsetzung von Edukten mit elektronenreicheren Aromaten höher sind als bei elektronenärmeren Systemen. Die erhaltenen in Position 1 bromierten Carbazole konnten anschließend mittels Suzuki-Miyaura-Kupplung^[42] mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) zu den an Ring C variierten Analoga der Leitstruktur **1** umgesetzt werden (vgl. Abb. 88). Die Verknüpfung der elektronenreicheren Grundkörper mit der Boronsäure **24** erfolgte mit Ausbeuten zwischen 10 und 25 %. Die elektronenärmeren Grundkörper (mit Nitro- bzw. Trifluormethyl-Substituenten an C-6) ließen sich unter den gewählten Bedingungen nicht zu den gewünschten Produkten umsetzen. Die drei dargestellten Zielverbindungen **130**, **131** und **132** weisen eine äußerst geringe Löslichkeit in verschiedensten Lösungsmitteln auf. Da für die biologische Testung und insbesondere für die späteren Anwendungsmöglichkeiten eines Wirkstoffs die Löslichkeit von entscheidender Bedeutung ist, wurde auf eine Optimierung der Methode bezüglich der Umsetzung elektronenärmerer Edukte verzichtet (vgl. Kap. 3.5.7).

3.5.6 Indol-Derivate

Um festzustellen, ob Ring C der Leitstruktur an der Bindung zur Macrodomain überhaupt maßgeblich beteiligt ist, sollte als weitere Modifikation der Leitstruktur **1** eine Verbindung mit Indol-Grundkörper und lediglich einem kleinen apolaren Rest anstelle des aromatischen Rings C dargestellt werden (vgl. Abb. 89). Indole mit Resten an Position 2 oder 3 lassen sich, ähnlich der Darstellung des Grundkörpers der Leitstruktur, unter Verwendung einer geeigneten Carbonyl-Komponente über eine Fischer-Indol-Synthese^{[39], [40]} herstellen. Auf Basis von Dockingstudien wurde von unseren Kooperationspartnern am SCG in Oxford ein Indol mit einem Isopropylrest an C-3 vorgeschlagen. Durch Umsetzung von 2-Bromphenylhydrazin (**21**) mit 3-Methylbutyraldehyd im Sauren wurde 7-Brom-3-isopropyl-1*H*-indol (**133**) als Grundkörper hergestellt. Dieser konnte anschließend mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) in einer Suzuki-Miyaura-Reaktion^[42] gekuppelt werden um die Zielverbindung **104** zu erhalten (vgl. Abb. 89).

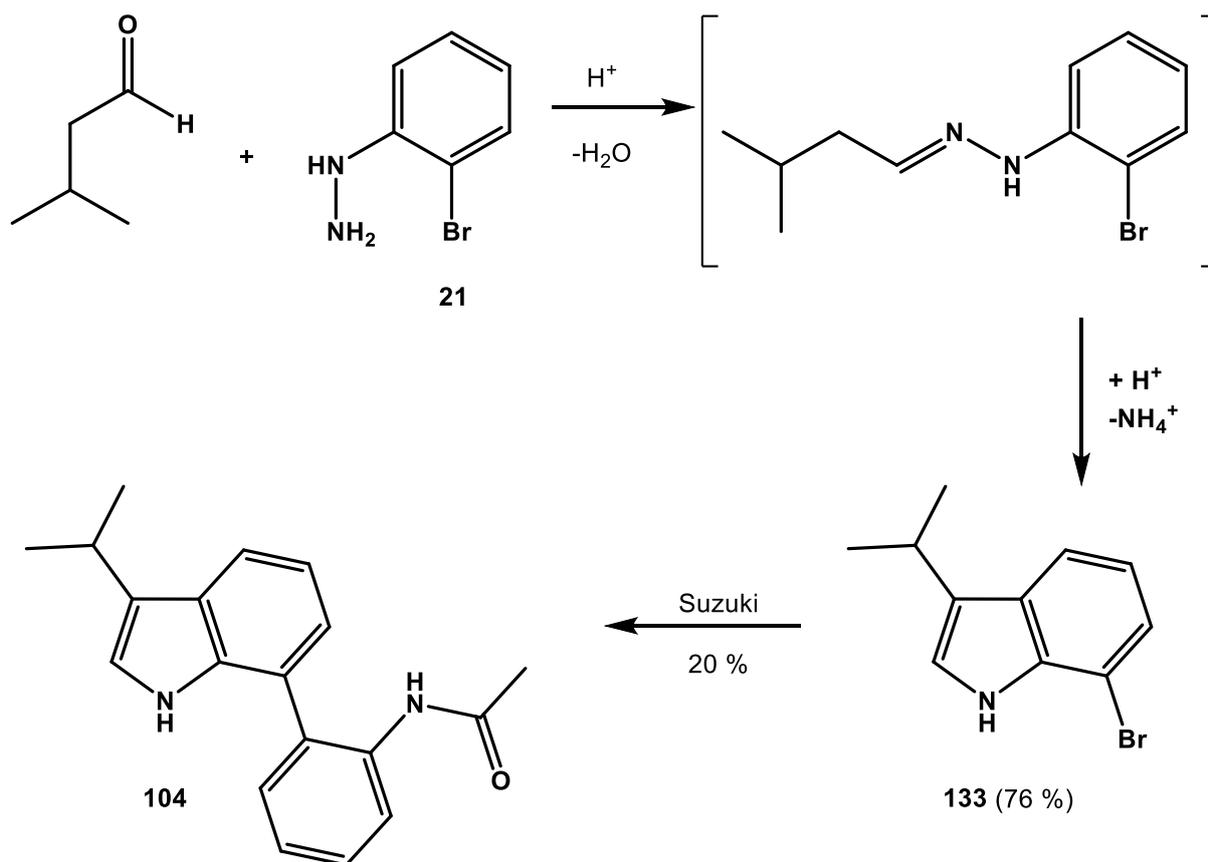


Abbildung 89: Darstellung des Indol-Grundkörpers **133** und anschließende Suzuki-Miyaura-Kupplung zur Zielverbindung **104**

Da die biologische Testung des Indols **104** verglichen mit der Leitstruktur eine ca. um den Faktor 20 niedrigere Aktivität am Protein ergab, wurden keine weiteren „reduzierten“ Analoga mit Indol-Grundkörpern hergestellt.

3.5.7 Ergebnisse der biologischen Testung und Diskussion

Das α -Carbolin-Analogon **103** zeigte im ALPHA-Screen keine Aktivität an der zweiten Macrodomein von PARP14. In der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 ist zu sehen, dass Ring C von den apolaren Resten von Phenylalanin 1129 und Isoleucin 1132 umgeben ist (vgl. Abb. 90).

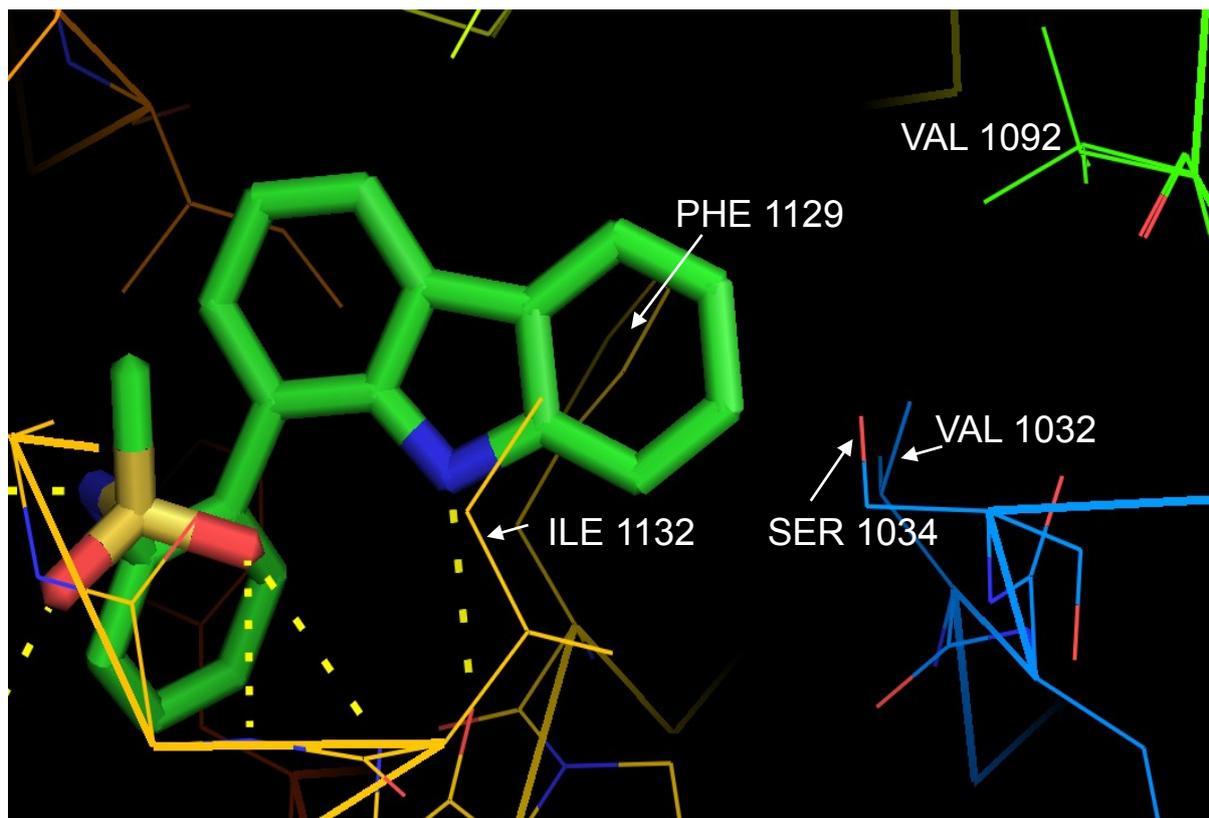


Abbildung 90: Ausschnitt aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 mit Fokus auf Ring C des Grundkörpers

Vermutlich stabilisieren hydrophobe Wechselwirkungen zwischen diesen Resten und Ring C die Bindung des Inhibitors an das Protein. Bei der im Vergleich zu **63** polarerer Verbindung **103** ist dies offenbar nicht bzw. nur in stark abgeschwächten Ausmaß möglich.

Die Aktivität des Tetrahydrocarbazols **51** wurde ebenfalls mittels ALPHA-Screen bestimmt. Mit einem IC_{50} -Wert von $1.1 \mu\text{M}$ zeigt die Verbindung eine relativ gute inhibitorische Aktivität an der zweiten Macrodomain von PARP14 (IC_{50} von **1**: $0.7 \mu\text{M}$). Die im Vergleich zur Leitstruktur **1** leicht veränderte Geometrie des ebenfalls apolaren Rings C wird an der Bindungsstelle offenbar gut toleriert. Allerdings war durch diese Strukturmodifikation auch kein Zugewinn an Aktivität zu erreichen, der weitergehende (und von der Synthese her wegen daraus resultierender Einführung von Asymmetriezentren anspruchsvolle) Strukturvariationen gerechtfertigt hätte.

Das von Verbindung **51** abgeleitete Aza-Analogon **109** (vgl. Abb. 91) wurde mittels ITC- und BLI-Messungen auf seine Affinität zur Macrodomain getestet. Trotz der Ähnlichkeit der beiden Verbindungen zueinander zeigte Substanz **109** keine messbare

Affinität zu PARP14MD2. Dieses Testergebnis ist im Einklang mit den Erkenntnissen aus der Testung der α -Carbolin-Verbindung **103**, auch hier hat der Austausch eines Kohlenstoffatoms gegen ein Stickstoffatom in Ring C zu einem vollständigen Verlust der Aktivität geführt.

Offensichtlich führt jegliche Steigerung der Polarität des Rings C zu einem Verlust an Affinität zur zweiten Macrodomain von PARP14.

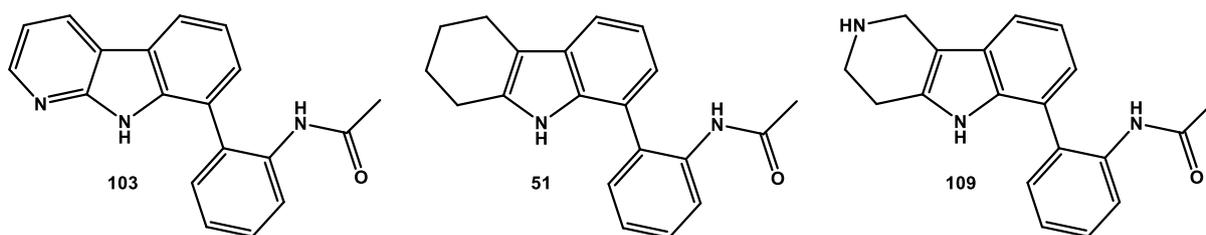


Abbildung 91: Das α -Carbolin **103**, das Tetrahydrocarbazon **51** und dessen Aza-Analogon **109**

Verbindung **132**, mit einem Methoxy-Substituenten in Position 6 (vgl. Abb. 92), zeigte im ITC-Experiment keine Affinität zur zweiten Macrodomain von PARP14. Zusammen mit den Testergebnissen von den Verbindungen **109** und **103** lässt sich ableiten, dass auch polare Funktionen am Ring C zu einem starken Verlust an Affinität führen.

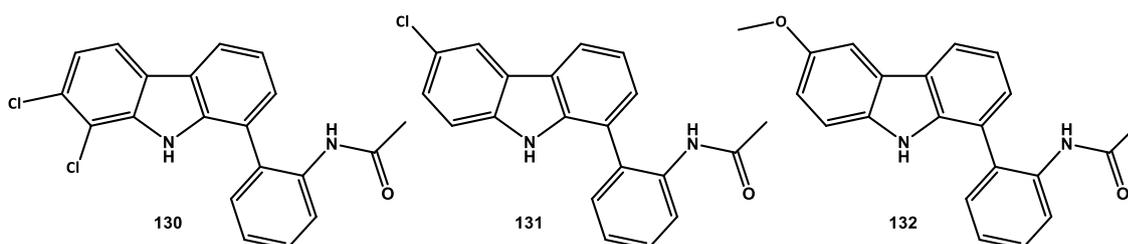


Abbildung 92: Verbindungen mit Substituenten an Ring C

Die beiden Verbindungen **130** und **131** mit Chlor-Substituenten an verschiedenen Positionen des Rings C zeigten mit 1.9 bzw. 2.8 μM IC_{50} -Werte im ALPHA-Screen in der Größenordnung der Leitstruktur **1** (0.7 μM). Allerdings sind die absoluten Zahlen hier kritisch zu bewerten, da alle Verbindungen mit Substituenten an Ring C (vgl. Abb. 92) eine sehr schlechte Löslichkeit in den Pufferlösungen der Messsysteme

aufweisen. Möglicherweise liegen die realen IC_{50} -Werte also niedriger, da davon auszugehen ist, dass die Verbindungen während der Testung nicht vollständig gelöst vorlagen. Die Ergebnisse für Verbindung **131** sollten über ITC-Messungen bestätigt werden: Auf Grund der schlechten Löslichkeit ergaben sich schwankende K_D -Werte zwischen 0.6 und 1.3 μM . Die Leitstruktur **1** liegt mit einem K_D -Wert von 1 μM etwa in der Mitte der bestimmten Werte. Denkbar ist, dass die zusätzlichen Chloratome hydrophobe Wechselwirkungen zu Valin 1092 und/oder Valin 1032 ausbilden und daraus die erhöhte Aktivität bzw. Affinität im Vergleich zur Leitstruktur **1** resultiert. Die gute Aktivität von Verbindung **130** ist zumindest ambivalent zu sehen, da dieses Substitutionsmuster auch bei Kinase-Inhibitoren zu finden ist.^[98] Die Leitstruktur **1** zeigte bei Testungen gegenüber 40 verschiedenen Kinasen keinerlei Aktivität (vgl. Abb 93). Dennoch sind zusätzliche Testungen durch unseren Kooperationspartner in Arbeit, die eine Kreuzreaktivität der Verbindungen gegenüber Kinasen (falls vorhanden) aufzeigen können. Bisher stehen leider noch keine Daten aus diesen Testungen zur Verfügung.

Da die Verbindungen mit den besten IC_{50} - bzw. K_D -Werten im nächsten Schritt in einem zellulären Testsystem untersucht werden sollten (vgl. Kap. 5.2 und 5.3) und dafür Verbindungen mit guten Löslichkeitseigenschaften in wässrigen gepufferten Systemen benötigt wurden, wurden Strukturvariationen in dieser Substanzgruppe mit Substituenten an Ring C nicht weiter verfolgt, obwohl hier vermutlich ein Inhibitor vorliegt, der eine höhere Aktivität als die Leitstruktur besitzt. Auch für die spätere Entwicklung eines Arzneistoffs ist eine gute Löslichkeit in physiologischen Medien essenziell.

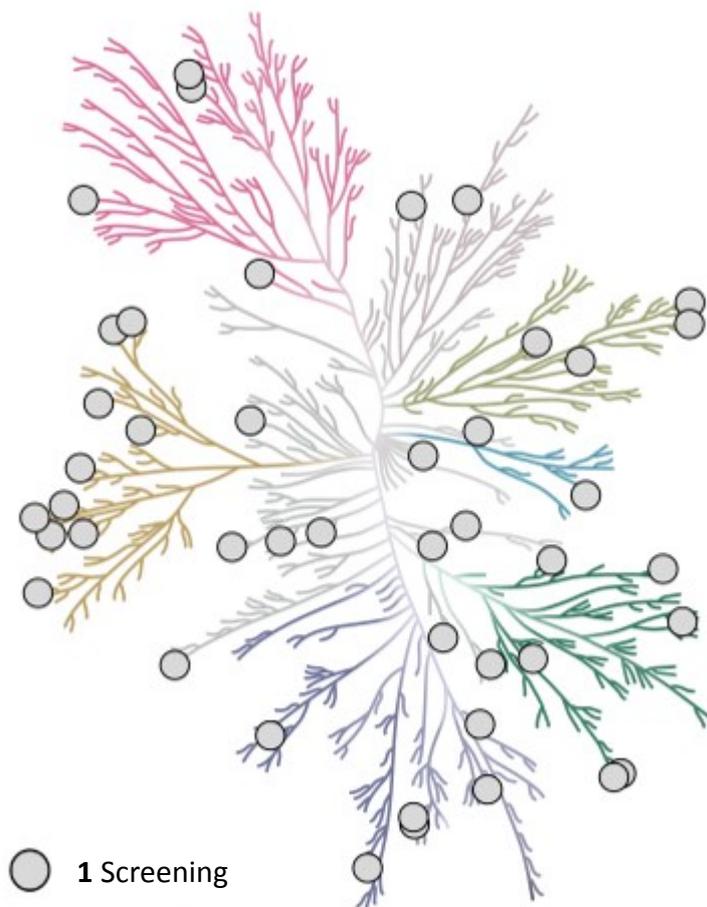


Abbildung 93: Phylogenetischer Kinase-Stammbaum (markiert sind alle Kinasen an denen **1** auf seine Aktivität getestet wurde)

Als Beispielverbindung, um den Effekt eines fehlenden Ringes C auf die Aktivität der Substanz an der zweiten Macrodomain von PARP14 zu überprüfen, diente ein 3-Isopropylindol mit dem Acetamidophenyl-Substituenten an Position 7 (entsprechend C-1 in der Leitstruktur **1**). Die Aktivität der Verbindung **104** wurde mittels ITC bestimmt, das Ergebnis konnte über BLI bestätigt werden. Der K_D -Wert von **104** liegt bei 18 μM . Die Leitstruktur **1** besitzt mit einem K_D -Wert von ca. 1 μM eine etwa 20fach höhere Aktivität. Das Ersetzen des aromatischen Rings C der Leitstruktur durch kleinere apolare Reste führte also nicht zu der erhofften Erhöhung der Affinität zum Protein.

4. Biologische Testung

Die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten Zielverbindungen wurden in verschiedenen Testsystemen auf ihre biologischen Aktivitäten untersucht. Bei unserem Kooperationspartner, dem SGC in Oxford, wurden IC_{50} -Werte sowie K_D -Werte der Verbindungen an der humanen Macrodomein 2 von PARP14 bestimmt. In unserem Arbeitskreis wurden routinemäßig Agar-Diffusions-Tests und MTT-Assays von Frau Martina Stadler durchgeführt. Die Testmethoden und deren Ergebnisse sind im Folgenden beschrieben.

4.1 Methoden

4.1.1 ALPHA-Screen

Die Abkürzung „ALPHA“ steht für: amplified luminescent proximity homogeneous assay technology.

Bei dieser Technik werden zwei verschiedene Arten von Latex-Kügelchen, sogenannte „beads“ verwendet, die jeweils mit einem der beiden interagierenden Proteine (oder Teilen davon) beladen werden. Man bezeichnet sie als Donor- und Akzeptor-Beads. Die Donor-Beads sind mit dem Photosensitizer Phthalocyanin beschichtet und können bei einer definierten Wellenlänge angeregt werden, woraufhin Singulett-Sauerstoff erzeugt wird. Dieser kann innerhalb einer Reichweite von 200 nm auf ein Akzeptor-Bead übertragen werden, das mit Thioxen-Derivaten beschichtet ist, welche durch die Anregung Licht definierter Wellenlänge emittieren (vgl. Abb. 94). Ist die Interaktion zwischen den beiden Proteinen hinreichend stark, liegen die Donor- und Akzeptor-Beads nahe beieinander und die Übertragung kann stattfinden. Dabei verhält sich die Menge an erzeugtem Licht proportional zur Menge aneinander gebundener Donor- und Akzeptor-Beads. Auf diese Art kann also die Interaktion zwischen Proteinen quantifiziert werden. Dieser „Blindwert“ dient als Referenzwert für Messungen, bei denen die Protein-Protein-Wechselwirkung, wie hier mit einem Inhibitor, modifiziert werden soll.^{[32], [33], [34], [35]}

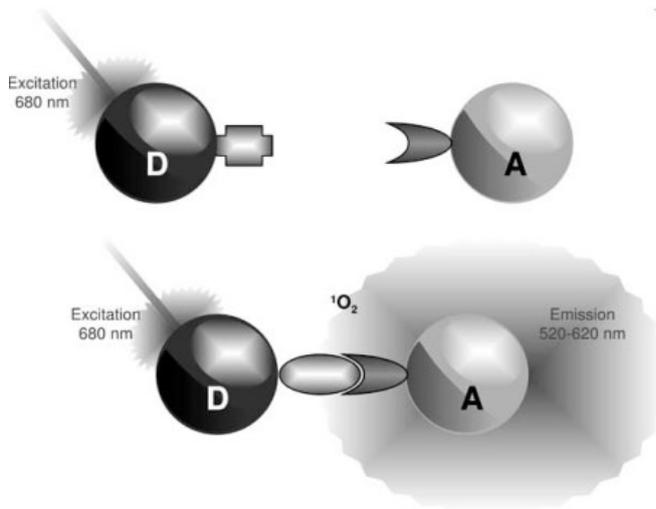


Abbildung 94: Funktionsprinzip ALPHA-Screen [34]

Fügt man dem bestehenden System eine niedermolekulare Verbindung hinzu, die die Protein-Protein-Interaktion beeinflusst, so kann man durch Vergleich des daraufhin ermittelten Werts mit dem Referenzwert Rückschlüsse auf die Aktivität der zugesetzten Verbindung ziehen. Ebenso lässt sich beurteilen, ob es sich um einen Inhibitor oder einen Enhancer handelt.

4.1.2 ITC (Isotherme Titrationskalorimetrie)

Bei der Isothermal Titration Calorimetry (ITC) wird eine Messzelle und eine Referenzzelle verwendet (vgl. Abb. 95). Die Referenzzelle ist mit Pufferlösung (oder Wasser) gefüllt und liefert einen zweiten Messwert, dieser dient als Vergleichswert zur Messzelle. Die Messzelle wird mit Protein in Pufferlösung beschickt. Anschließend wird eine Spritze eingeführt, die mit dem zu testenden Liganden befüllt ist. Während langsam Ligand in die Protein-Lösung titriert wird, entsteht Wärme (durch die Bindung selbst, die Verdünnung von Ligand und Protein und durch das Rühren im System). Beide Zellen werden durch Heizen bzw. Kühlen auf gleicher Temperatur gehalten (isotherm). In der Referenzzelle bleiben die Bedingungen konstant und somit auch die erforderliche Leistung. In der Messzelle verändern sich die Bedingungen bei jeder Zugabe von Ligand und die Leistung muss entsprechend angepasst werden. Je nachdem ob die Reaktion in der Zelle exotherm oder endotherm abläuft, ist mehr oder

weniger Leistung als in der Referenzzelle erforderlich. Die Leistungsdifferenz zwischen den Zellen dient als Messgröße.^[110]

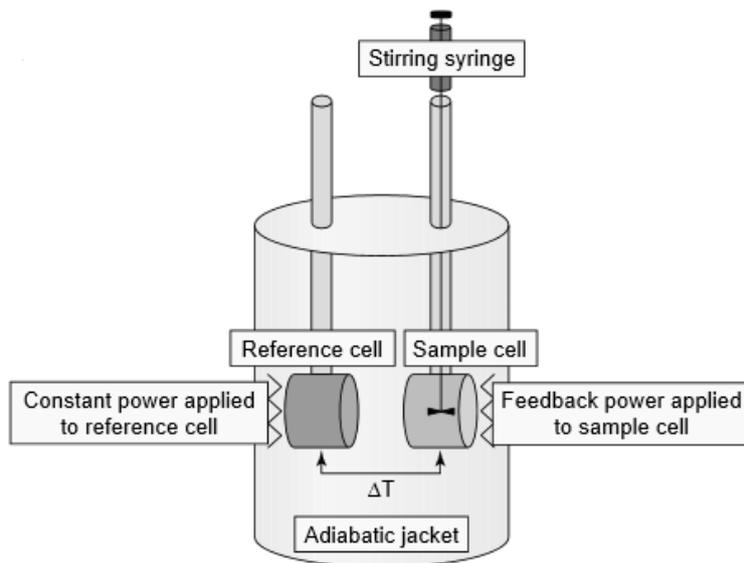


Abbildung 95: Schematischer Aufbau einer ITC-Apparatur ^[110]

4.1.3 BLI (Bio-Layer Interferometrie)

Die Bio-Layer Interferometry (BLI) ist eine optische Messmethode für Protein-Ligand-Wechselwirkungen. Es handelt sich um eine labelfreie Analyse, die auf der Bestimmung des Brechungsindex und der Interferenzmuster im System beruht (vgl. Abb. 96). Dazu werden optische Sensor-Stäbchen mit Protein beladen bis sich ein Gleichgewicht einstellt (Sättigung). Anschließend werden die beladenen Sensoren in Ligand-Lösung getaucht (Assoziation). Nach der Gleichgewichtseinstellung werden die Sensoren in Puffer-Lösung getaucht (Dissoziation). Aus den Änderungen von Brechungsindex bzw. Interferenzmustern während dieser Vorgänge werden die Assoziations- und Dissoziationsgeschwindigkeitskonstanten der Ligand-Protein-Interaktion ermittelt, aus welchen der K_D -Wert für den Liganden errechnet werden kann.^{[111], [112], [113]}

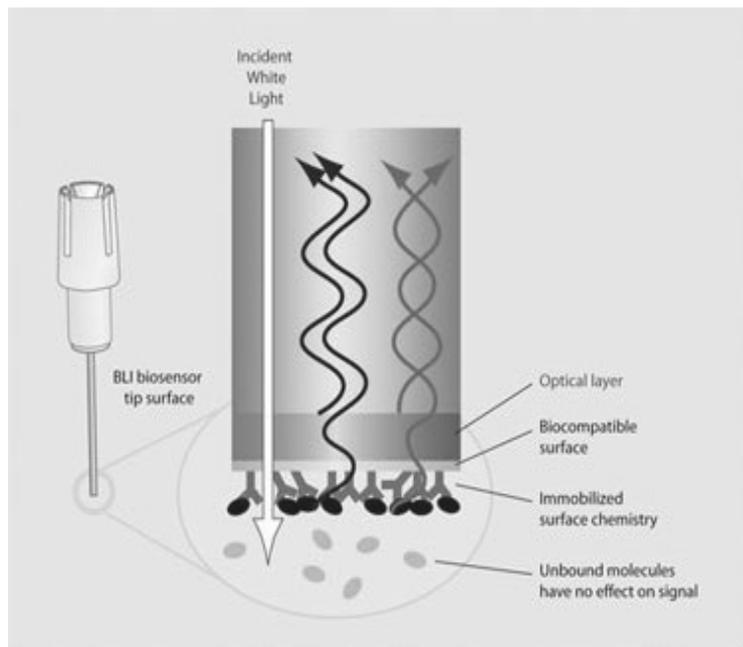


Abbildung 96: Vorgänge an den BLI-Sensor-Stäbchen^[114]

4.2 Hochdurchsatz-Screening vor Beginn dieser Arbeit

Während eines Projekts unseres Kooperationspartners (SGC) in Oxford wurde ein Assay für Inhibitoren verschiedener Macrodomains entwickelt. Gängige Methoden für die Testung mittlerer bis großer Substanzbibliotheken als Inhibitoren von Protein-Protein-Wechselwirkungen sind die DSF und der ALPHA-Screen. Im Falle der Macrodomains stellte sich heraus, dass der ALPHA-Screen der geeignetere Assay ist. Nach der Etablierung des Testsystems folgte ein Screening von mehr als 1000 niedermolekularen Verbindungen gegen vier verschiedene Macrodomains (MacroD1, MacroD2, LOC221443 und PARP14MD2). Dabei war die Leitstruktur **1**, die in unserer Arbeitsgruppe von Gehring^[36] synthetisiert worden war, die einzige Verbindung, die die Erkennung von ADP-Ribose durch PARP14MD2 effektiv inhibieren konnte, obwohl eine ganze Reihe ähnlich aufgebauter Substanzen ebenfalls getestet wurde. Eine Übersicht dieser Verbindungen befindet sich in den Abbildungen 9 und 10 in Kapitel 2.1.2. Der Vergleich der Verbindungen mit der Leitstruktur **1** ließ bereits vermuten, dass die Acetamid-Funktion eine wichtige Rolle für die inhibitorischen Eigenschaften an der zweiten Macrodomain von PARP14 spielt (vgl. Kap. 2.1).

PARP14 ist an verschiedenen Vorgängen in der Zelle beteiligt. Unter anderem ist PARP14 in der Regulierung von fokalen Adhäsionskomplexen^[25], in der Regulierung des Aktin-Cytoskeletts^[25] und in zellulären Reparaturmechanismen nach DNA-Schäden^[27] involviert. Die genauen Mechanismen sind bisher weitgehend unbekannt. PARP14-Inhibitoren könnten als Wirkverstärker bei Therapien mit Zytostatika, die zu einer Schädigung der DNA von sich schnell teilenden Zellen führen, eingesetzt werden, da sie DNA-Reparatur durch homologe Rekombination nach Doppelstrangbrüchen verhindern und insbesondere sich schnell teilende Zellen gegen DNA-Schäden hypersensibilisieren.^[27]

Die Verbindung **1** ist der erste bekannte Inhibitor für die zweite Macrodomain von PARP14, sie hat einen IC₅₀-Wert von 0.4 µM. Damit eröffnete sich die Möglichkeit, in weiterführenden zellulären Tests zu zeigen, ob die Inhibition von PARP14MD2 geeignet ist, Tumorzellen gegen bestimmte Chemotherapeutika zu sensibilisieren. Dafür sollte ein potenter und möglichst selektiver Inhibitor, abgeleitet von **1**, entwickelt werden.

4.3 Testergebnisse zu den Verbindungen aus dieser Arbeit

Die Aktivität der ersten Generation von Analoga der Leitstruktur **1** wurde über ein dose-response-Experiment in einem ALPHA-Screen im Vergleich zu **1** bestimmt. Dabei wurde bei sechs verschiedenen Konzentrationen der Grad der Inhibition der Interaktion zwischen PARP14MD2 und einem ADP-ribosylierten Peptid bestimmt (vgl. Tab. 3).

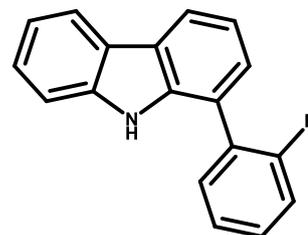
4. Biologische Testung

Konzentration	250 µM	125 µM	62.5 µM	31.25 µM	18.75 µM	6.25 µM
Verbindung	Inhibition in %					
1	45*	100	100	100	100	67*
55	100	100	45*	100	100	100
63	100	100	100	100	96*	100
61	100	100	100	98	100	92
60	100	99	75*	100	99	67
71	98	100	100	100	95	46
69	100	93	100	94	84	40
57	93	91	90	89	54	31
20	100	85	63	83	59	14
67	98	95	90	64	38	10
29	94	70	54	36	27	11
62	77	31	7	1	20	24
28	49	36	21	7	1	-7
30	7	3	21	-4	-8	-6
31	-2	3	0	-2	-6	-15

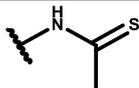
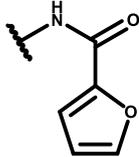
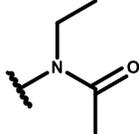
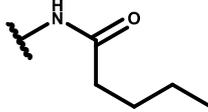
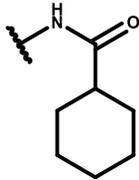
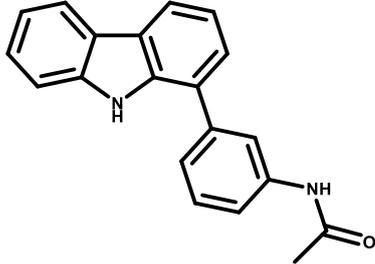
Tabelle 3: Auswertung des dose-response-Experiments der ersten Reihe von Analoga von 1
(* Ausreißer)

Um die Testergebnisse zu bestätigen wurden von den sechs besten Verbindungen aus dem dose-response-Experiment, sowie von den meisten später dargestellten Verbindungen, IC₅₀-Werte mittels ALPHA-Screen bestimmt. Einige Verbindungen wurden mittels ITC/BLI untersucht. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Verbindung	IC ₅₀ [μM]	R
1	0.4	
63	0.9	
53	1.0	
54	1.0	
55	1.0	
64	1.2	
58	1.2	
61	2.2	
65	2.9	
66	3.3	
71	5.3	
69	8.3	

Tabelle 4: IC₅₀-Werte an PARP14MD2 der Verbindungen mit Variationen der Amidgruppe

4. Biologische Testung

Verbindung	IC ₅₀ [μM]	R
77	10.5	
60	>50	
73	>50	
56	>50	
72	>50	
59	>50	
76	>50	

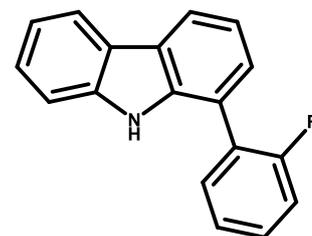
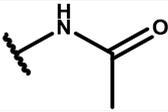
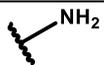


Tabelle 4: Fortsetzung

Verbindung	IC ₅₀ [μM]	R
1	0.4	s.o.
27	30	
99	>50	

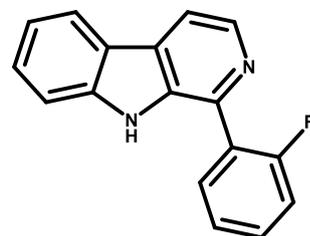


Tabelle 5: IC₅₀-Werte an der zweiten Macrodomein von PARP14 der β-Carbolin-Analoga

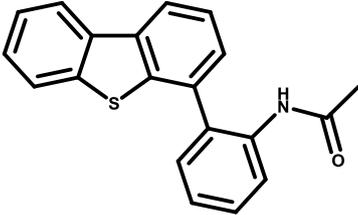
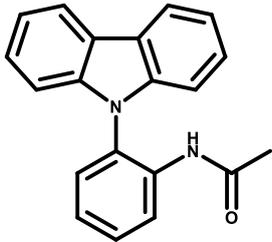
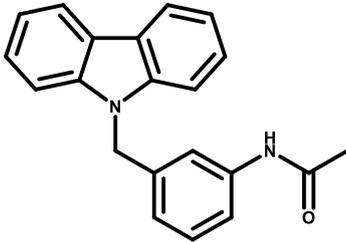
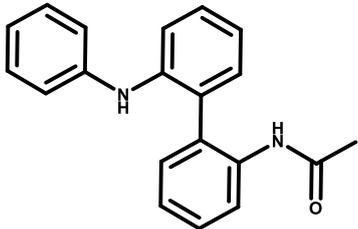
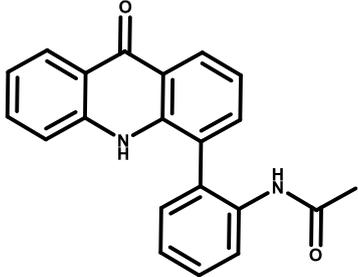
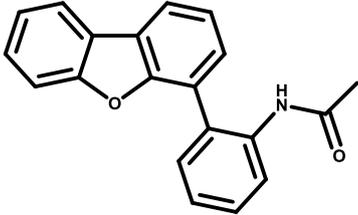
Verbindung	IC ₅₀ [μM]	Struktur
1	0.4	s.o.
35	2.5	
90	>50	
91	>50	
37	>50	
38	>50	
34	>50	

Tabelle 6: IC₅₀-Werte der Verbindungen mit Variationen im/am Ring-B

4. Biologische Testung

Verbindung	IC ₅₀ [μM]	Struktur
45	>50	
46	>50	

Tabelle 6: Fortsetzung

Verbindung	IC ₅₀ [μM]	Struktur
1	0.4	S.O.
51	1.1	
130	1.9	
131	2.8	
103	>50	

Tabelle 7: IC₅₀-Werte der Verbindungen mit Variationen im/am Ring-C

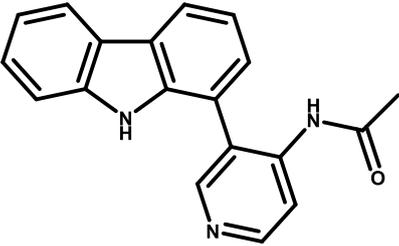
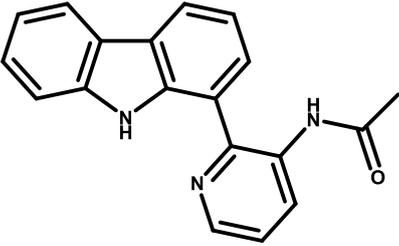
Verbindung	IC ₅₀ [μM]	Struktur
1	0.4	s.o.
87	>50	
88	>50	

Tabelle 8: IC₅₀-Werte der Pyridin-Analoga

Die Affinitäten einiger weiterer Verbindungen wurden mittels ITC bestimmt. Bei dieser Technik wird der K_D -Wert der Verbindung ermittelt (nicht der IC₅₀-Wert, wie bei der ALPHA-Screen-Technik). Der K_D -Wert kann dann mit dem der Leitstruktur in Relation gesetzt werden. Die Messergebnisse wurden mit BLI-Experimenten bestätigt (vgl. Tab. 9).

4. Biologische Testung

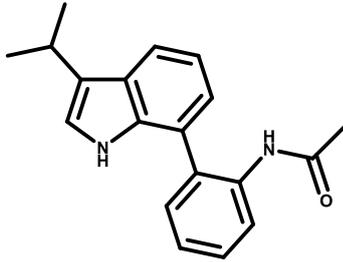
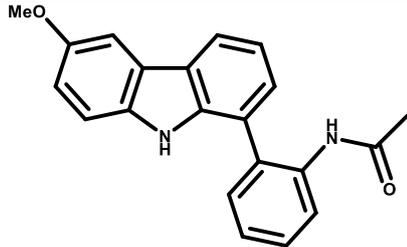
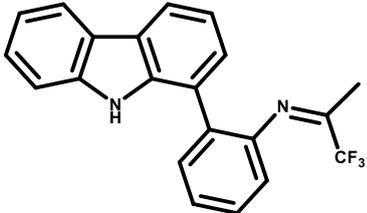
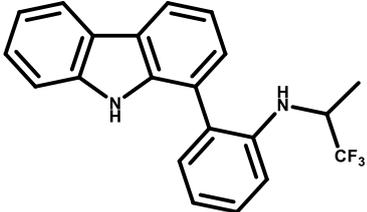
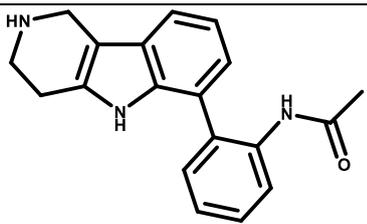
Substanz-Nr.	K _D -Wert (ITC)	K _D -Wert (BLI)	Verbindung
1	1.2 μM	3.1 μM	s.o.
104	17.9 μM	18.0 μM	
132	>50 μM	> 50 μM	
79	>40 μM	>100 μM	
80	>25 μM	>100 μM	
109	>50 μM	>50 μM	

Tabelle 9: Ergebnisse aus ITC- und BLI-Experimenten

Neben dem IC₅₀-Wert ist auch die Selektivität einer Verbindung gegenüber den anderen Macrodomains von PARP14, bzw. gegenüber Macrodomains aus anderen Proteinen in späteren zellulären Assays ausschlaggebend. Um Rückschlüsse auf die Selektivität ziehen zu können, wurden eine Reihe von Verbindungen auf deren Aktivität gegenüber weiteren Macrodomains getestet (vgl. Tab. 10 und Abb. 97).

	1	63	130	131
PARP14MD2	0.7	2.1	1.9	2.8
PARP14MD3	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
PARP9MD2	111*	361*	k. l.	k. l.
MACROD1	235*	23	k. l.	k. l.
MACROD2	151*	84*	k. l.	90*
LOC221443	k. l.	37	k. l.	k. l.

Tabelle 10: IC₅₀-Werte [µM] ausgewählter Verbindungen an fünf verschiedenen Macrodomains (* max. Konzentration im Assay 50 µM → rechnerische Näherung; k.l. = keine Inhibition)

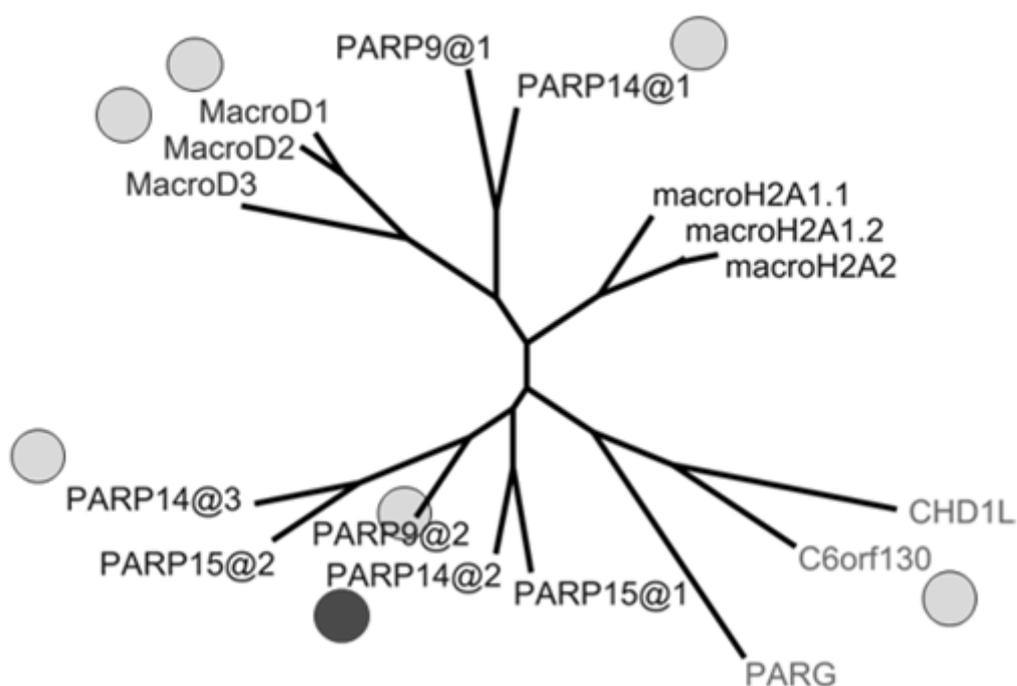


Abbildung 97: Ergebnis des Selektivitäts-Screening mit der Leitstruktur 1 (● keine Aktivität, ● Aktivität, keine Markierung: bisher keine Testergebnisse)

Zusätzlich zur Bestimmung der Aktivität der dargestellten Analoga der Leitstruktur ist es unserem Kooperationspartner gelungen, Verbindung **63** (vgl. Abb. 98) mit der zweiten Macrodomain von PARP14 zu co-kristallisieren. Das dreidimensionale Bild (vgl. Abb. 99), das sich aus den Messdaten ergab, brachte neue Erkenntnisse z.B. bezüglich des Bindungsmodus und der Platzverhältnisse an der Bindungsstelle. Die daraus gewonnenen Informationen ermöglichten eine Planung der nachfolgenden Synthesen auf einer rationalen Basis (vgl. Kapitel 3.1.5).

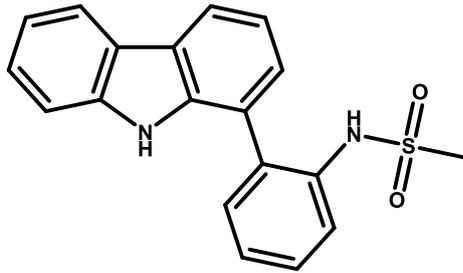


Abbildung 98: Verbindung **63** konnte mit PARP14MD2 co-kristallisiert werden

Das Bild des Co-Kristalls zeigt, dass von der Sulfonamid-Gruppe des Liganden mehrere Wechselwirkungen zum Protein ausgehen (vgl. Abb. 99). Eines der beiden Sauerstoffatome der Sulfonamidgruppe bildet zwei Wasserstoffbrücken zu Isoleucin 1132 und zu Glycin 1133. Das andere Sauerstoffatom bildet eine Wasserstoffbrücke zu Asparagin 1178. Asparagin 1178 dient gleichzeitig als Akzeptor einer Wasserstoffbrücke zu einem Wassermolekül. Dieses Wassermolekül bildet noch zwei weitere Wasserstoffbrücken zu Lysin 1141 und zur NH-Funktion des Sulfonamids. Außerdem ist die NH-Funktion des Pyrrolrings im Carbazol-Grundkörper über eine Wasserstoffbrücke mit Prolin 1130 verbunden. Diese Erkenntnisse lassen vermuten, dass insbesondere die Amid-Funktion, aber auch die Wasserstoffbrücken-Donor-Eigenschaft des Grundkörpers für die Aktivität des Inhibitors von Bedeutung sind.

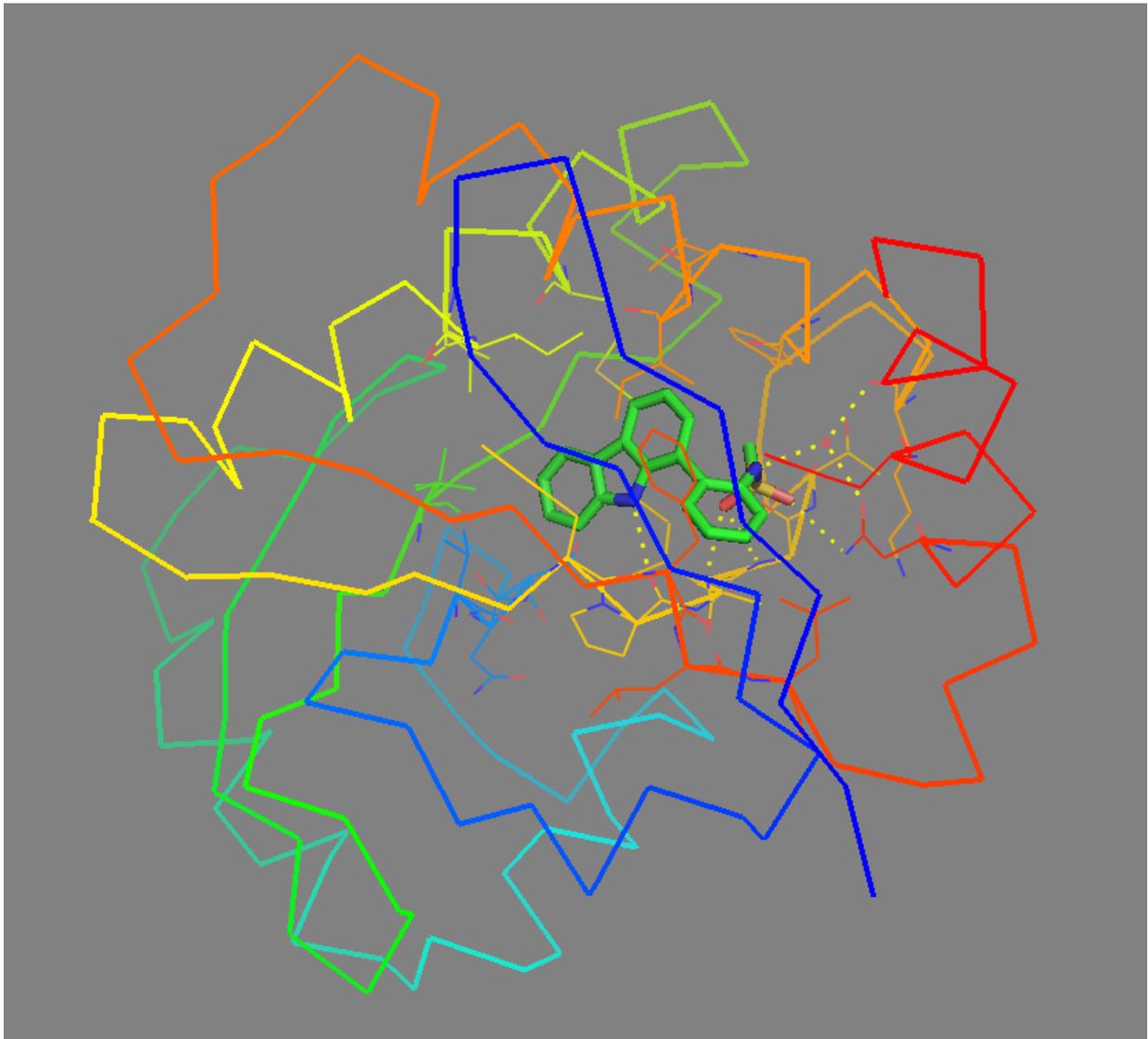


Abbildung 99: Co-Kristallstruktur von **63** mit PARP14MD2. Das gebundene Wassermolekül ist als rotes „x“ dargestellt.

4.4 Diskussion der Testergebnisse

Bei der Testung der ersten von mir hergestellten Substanzbibliothek (vgl. Tab. 3) konnten über ein dose-response-ALPHA-Screen-Experiment erste Erkenntnisse zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen gewonnen werden. Mit einer Reihe verschiedener Variationen der Acetamid-Gruppe konnte gezeigt werden, dass Reste an der Amidfunktion, die etwas größer als der Methylrest in der Leitstruktur sind, noch gut toleriert werden, zu großvolumige Reste aber zu einem starken Aktivitätsverlust führen. Diese Beobachtung konnte später mit der Kristallstruktur erklärt werden: Da der Ligand im Inneren des Proteins liegt, steht nur sehr begrenzt Platz für die Amidgruppe zur Verfügung (vgl. Abb. 99).

Außerdem zeigte sich in diesem dose-response-Experiment, dass eine Substitution des Pyrrolstickstoffs im Carbazol mit einer Methyl- oder Benzylgruppe eine deutliche Aktivitätsminderung zur Folge hat. Auch diese Beobachtung konnte über die Kristallstruktur erklärt werden: Die NH-Funktion des Pyrrols bildet eine Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130, diese Wechselwirkung ist bei den *N*-substituierten Verbindungen nicht mehr möglich (vgl. Kapitel 3.1.5, Abb. 48).

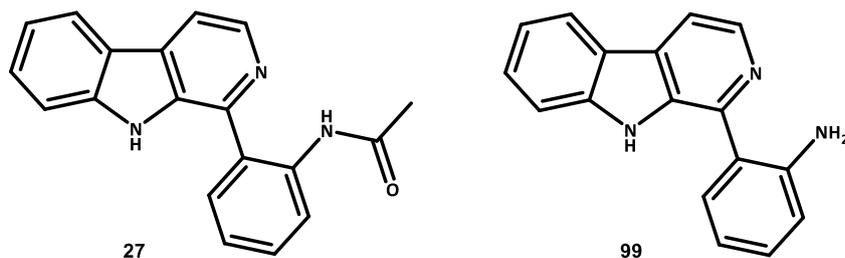
Weiterhin wurden drei Analoga (**20**, **30**, **31**) der Leitstruktur **1** getestet (vgl. Tab. 3), die statt dem Acetamid nur eine Aminofunktion am Phenylring tragen. Auch hier war ein massiver Verlust an Aktivität zu beobachten, insbesondere bei den Verbindungen **30** und **31**, bei denen im Vergleich zu **20** zusätzlich der Grundkörper am Stickstoff substituiert ist. Im Co-Kristall mit der Macrodomain ist zu sehen, dass von der Amidfunktion mehrere Wechselwirkungen zum Protein ausgehen. Fehlen diese, ist von einer schwächeren Bindung des Liganden an das Protein auszugehen, was die IC₅₀-Werte der drei Verbindungen bestätigen.

Im Anschluss an das dose-response-Experiment, das eine erste Übersicht zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen lieferte, wurden von den drei besten Verbindungen, sowie von den meisten weiteren Variationen der Leitstruktur **1**, IC₅₀-Werte mittels ALPHA-Screen bestimmt. Die Testung einiger weiterer Substanzen erfolgte mittels ITC/BLI.

Die getesteten Amid-Analoga beinhalten zwei homologe Reihen (Carbonsäureamide und Sulfonsäureamide), bei beiden sinkt die Aktivität mit zunehmender Länge der Alkylkette ab (vgl. Tab. 4). In beiden Reihen zeigen die Verbindungen bis zu einer Kettenlänge von vier Kohlenstoffatomen gute Aktivitäten im einstelligen mikromolaren Bereich, jedoch konnte die Aktivität der Leitverbindung **1** (IC₅₀ ≈ 700 nM) von keiner der neuen Verbindungen ganz erreicht werden.

Ebenfalls gute Aktivitäten zeigten das Benzamid **61** und das Cyclopropancarboxamid **58**, die IC₅₀-Werte lagen allerdings auch hier geringfügig über dem der Leitstruktur **1** (vgl. Tab. 4).

Im Arbeitskreis standen von Tremmel zwei Analoga der Leitstruktur **1** mit einem β-Carbolingrundkörper zur Verfügung (vgl. Abb. 100).

Abbildung 100: β -Carbolin-Analogen der Leitstruktur **1** und dessen Synthesevorstufe

Die Testergebnisse von **99** bestätigten auch hier, dass die Amid-Gruppe essenziell für die inhibitorische Funktion ist (vgl. Tab. 5). Verbindung **27** zeigte im Vergleich zur Leitstruktur eine signifikante Verschlechterung der Aktivität um den Faktor 40, das primäre Amin **99** hingegen war inaktiv. Eine mögliche Erklärung für die deutlich geringere Aktivität von **27** könnte sein, dass der neu eingeführte Stickstoff im Ring A des β -Carbolins eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zur Amid-NH-Funktion ausbildet (Energieinhalt ca. 20 kJ/mol^[115]) und der Phenylring so in einer bestimmten, ungünstigen räumlichen Lage relativ zum Grundkörper vorliegt. In der Kristallstruktur ist zu sehen, dass sich der Phenylring an der Bindungsstelle relativ zum Grundkörper so ausrichtet, dass die Amidgruppe optimal mit dem Protein wechselwirken kann (beide Ringsysteme sind in einem Winkel von ca. 45° zueinander ausgerichtet, vgl. Abb. 101). Wird diese Ausrichtung durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke behindert, so könnte daraus eine schwächere Bindung zum Protein resultieren.

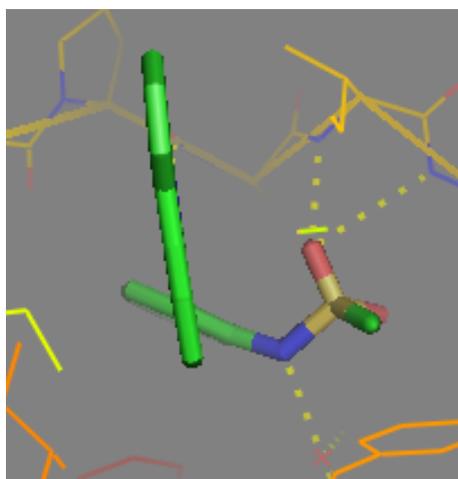


Abbildung 101: Ausrichtung des Phenylsubstituenten relativ zum Grundkörper an der Bindungsstelle

In der Reihe von Verbindungen mit Variationen an Ring B (vgl. Tab. 6) wurden mit dem Dibenzofuran **34** und dem Dibenzothiophen **35** zwei Bioisostere der Leitstruktur **1** getestet. Die beiden Analoga tragen mit dem Sauerstoff- bzw. Schwefelatom jedoch Wasserstoffbrückenakzeptoren an Stelle der NH-Gruppe, die laut Kristallstruktur als Wasserstoffbrückendonator fungiert. Trotzdem besitzt das Dibenzothiophen **35** im Vergleich zu **1** eine nur mäßig abgeschwächte Aktivität. Das Oxa-Analogon **34** jedoch zeigt einen massiven Verlust an Aktivität. Als weitere Modifikationen von Ring B wurden das Acridon **38** und das Seco-Analogon **37** getestet. Obwohl das Seco-Analogon **37** aufgrund seiner Flexibilität unter anderem in der gleichen räumlichen Ausrichtung vorliegen kann wie die Leitstruktur **1**, zeigten beide Verbindungen einen massiven Verlust an Aktivität. Offenbar ist die fixierte koplanare Molekülstruktur von **1** optimal für die Wechselwirkung mit dem Protein. Um die flexible Seco-Verbindung **37** entsprechend auszurichten wird Energie benötigt, was zu einem Affinitätsverlust führt.

Im Rahmen zweier von mir betreuter Bachelorarbeiten entstanden weitere Verbindungen, die verschiedene Reste am Carbazolstickstoff tragen bzw. bei denen die Carbazol-NH-Funktion durch eine Carbonyl- oder Hydroxylgruppe ersetzt ist. In der Arbeit von Britta Hettich^[116] entstanden zwei Verbindungen bei denen der Phenylacetamid-Substituent innerhalb des Moleküls im Vergleich zu **1** verschoben ist (vgl. Abb. 102).

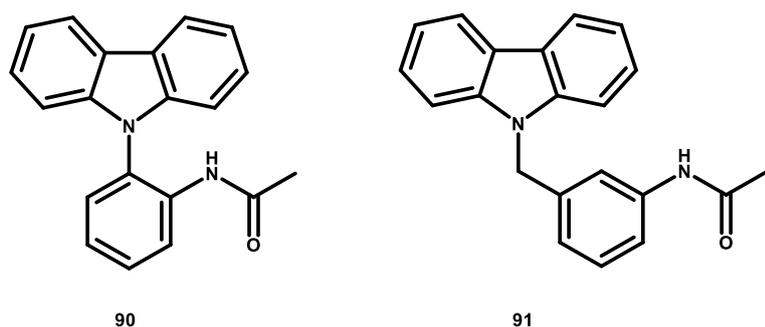


Abbildung 102: Substanzen aus der Bachelorarbeit von Britta Hettich

Beide Substanzen zeigten keine Aktivität am Protein. Dies bestätigte erneut die Erkenntnis, dass die freie Carbazol-NH-Funktion für eine gute Aktivität erforderlich ist. In der Bachelorarbeit von Carina Glas^[117] entstanden zwei Analoga der Leitstruktur, bei denen ebenfalls die NH-Funktion im Grundkörper variiert wurde (vgl. Abb. 103).

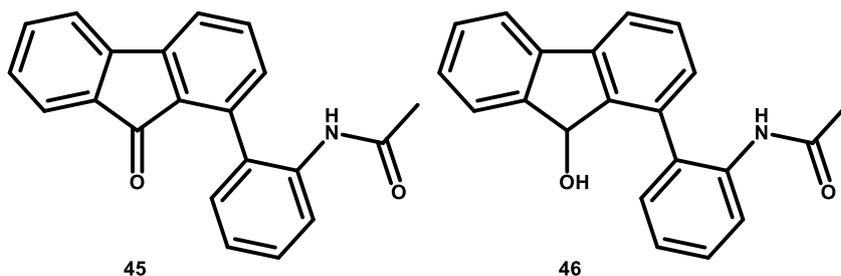


Abbildung 103: Verbindungen aus der Bachelorarbeit von Carina Glas

Verbindung **45** trägt eine Carbonyl-Funktion, also einen Wasserstoffbrücken-Akzeptor. Die aus dem Co-Kristallisationsexperiment gewonnenen Daten ließen bereits vermuten, dass die Verbindung im Vergleich zur Leitstruktur **1** weniger Aktivität zeigen sollte, da sie die Wasserstoffbrücke zu Prolin 1130 nicht ausbilden kann. Die Testergebnisse bestätigten diese Annahme. Die Hydroxylgruppe von Verbindung **46** könnte, wie auch die NH-Funktion aus dem Grundkörper der Leitstruktur, als Wasserstoffbrücken-Donor fungieren. Trotzdem zeigte Verbindung **46** keine Aktivität am Protein.

Das dreidimensionale Bild aus dem Co-Kristallisationsexperiment lässt vermuten, dass um Ring C noch etwas Platz zur Verfügung steht, deshalb wurden hier Variationen mit kleinen Resten dargestellt. Die Verbindungen **130** mit einer 7'',8''-Dichlor-Partialstruktur und **131** mit einem Chlorsubstituenten an Position 6'' zeigten Aktivitäten, die mit denen der Leitstruktur vergleichbar sind (vgl. Tab. 7). Allerdings gab es auf Grund der sehr schlechten Löslichkeit dieser beiden Verbindungen im Assay-Puffer große Schwankungen der Messwerte. Da die Löslichkeit der Verbindungen ein entscheidender Faktor für die späteren zellulären Testungen darstellt, wurde dieses Variationsmuster nicht weiter verfolgt.

Das Tetrahydrocarbazol **51** zeigte ebenfalls gute Aktivität. Abgeleitet von **51** sollte bei Verbindung **109** durch Einführen eines protonierbaren Stickstoffatoms in Ring C die Löslichkeit verbessert werden. Diese Strukturvariation führte allerdings zu einem kompletten Verlust der Aktivität an die Macrodomain (vgl. Tab. 9).

Der Phenylring aus der Leitstruktur wurde in weiteren Variationen durch einen Heteroaromaten mit einem Stickstoffatom an verschiedenen Positionen relativ zum Amidrest ersetzt. Die Testung dieser Pyridin-Analoga zeigte eine extreme Verschlechterung der Aktivität (vgl. Tab. 8). Möglicherweise ist auch hier eine

intramolekulare Wasserstoffbrücke eine Ursache. Der neu eingeführte Stickstoff in Verbindung **88** könnte eine Wasserstoffbrücke zur NH-Funktion des Pyrrols im Grundkörper aufbauen und so die optimale Ausrichtung des Pyridinrings (und damit der Amidfunktion) zum Protein verhindern.

Die mit Verbindung **63** und PARP14MD2 erhaltene Co-Kristallstruktur zeigte, dass die vorliegende Inhibitor-Familie nicht an der gleichen Position im Protein bindet wie der natürliche Ligand ADP-Ribose. Außerdem führt die Bindung des Inhibitors zu einer Konformationsänderung im Protein. Es handelt sich also um einen allosterischen Bindungstyp.

Allosterische (griechisch: anderer Ort) Inhibitoren bieten den Vorteil, dass sie oft sehr selektiv ein bestimmtes Protein innerhalb einer Gruppe ähnlicher Proteine hemmen, da sie sich nicht an einer (meist hoch konservierten) Bindungstasche wie dem aktiven Zentrum anlagern, sondern an einem anderen Teil des Proteins^[118]. Da sie bei ihrer Bindung an das Protein aber dessen Konformation verändern, ist es sehr schwierig vorherzusagen, ob eine kleine Veränderung eines bekannten Inhibitors zu einer Verbesserung der inhibitorischen Eigenschaften oder aber zu einem Aktivitätsverlust führt.^[119]

Es ist gelungen, in dieser Arbeit Verbindungen herzustellen, die ähnlich gute Hemmeigenschaften wie die Leitstruktur **1** zeigen. Es konnte jedoch kein Inhibitor gefunden werden, der einen IC₅₀-Wert im gewünschten niedrigen nanomolaren Bereich aufweist. Mit dem Co-Kristall (vgl. Abb. 99) konnten die Bindungsverhältnisse von **63** an PARP14MD2 aufgeklärt werden. Außerdem konnte anhand einer Reihe von Analoga die sehr hohe Selektivität der vorhandenen Verbindungen gegenüber anderen Macrodomains belegt werden (vgl. Tab. 10).

4.5 Agar-Diffusions-Test

4.5.1 Beschreibung der Testung

Der Agar-Diffusions-Test ist ein Standardverfahren zur Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität von chemischen Verbindungen. Dazu werden verschiedene Modellkeime (vgl. Tab. 11) in Gegenwart der zu untersuchenden Substanz auf Agar-haltigen Nährböden angezüchtet.

Mikroorganismus	DSMZ-Nummer	Art des Keims
<i>Escherichia coli</i>	426	gramnegative Bakterien
<i>Pseudomonas marginalis</i>	13124	
<i>Staphylococcus equorum</i>	20675	grampositive Bakterien
<i>Streptococcus entericus</i>	14446	
<i>Yarrowia lipolytica</i>	1345	Hefen
<i>Candida glabrata</i>	11226	
<i>Aspergillus niger</i>	1988	Schimmelpilz
<i>Hyphopichia burtonii</i>	70663	Dermatophyt

Tabelle 11: Modellkeime im Agar-Diffusions-Test

Besitzt eine Substanz die Fähigkeit das Keimwachstum zu hemmen oder vollständig zu inhibieren, so entstehen Hemmhöfe in der Kolonie. Die Durchmesser der Hemmhöfe werden vermessen. Vergleicht man die Daten verschiedener Verbindungen mit denen einer Referenzsubstanz, so ergibt sich ein semiquantitativer Überblick über die antimikrobiellen Eigenschaften. Als Referenzsubstanzen dienen für den antibiotischen Effekt Tetracyclin (**134**) sowie Clotrimazol (**135**) als Antimykotikum (vgl. Abb. 104).

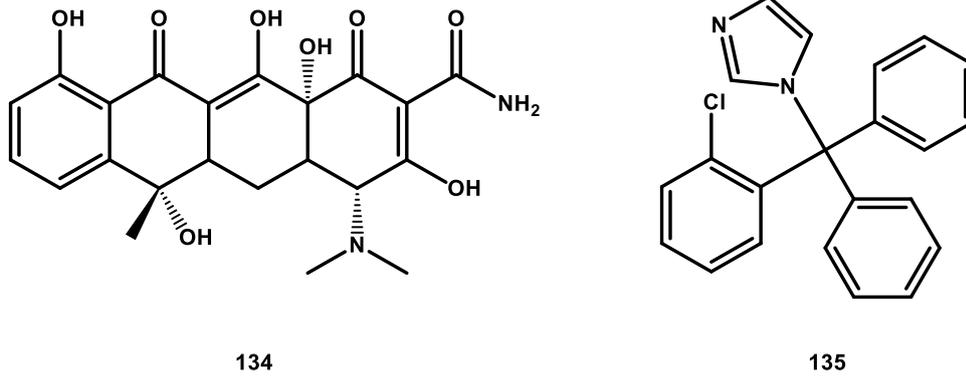


Abbildung 104 : Referenzsubstanzen Tetracyclin (**134**) und Clotrimazol (**135**)

Die Diffusion im wasserhaltigen Nährmedium beeinflusst neben verschiedenen anderen Effekten die Testung entscheidend, deshalb müssen zur exakten Quantifizierung von Verbindungen, die hier Aktivität gegen die Mikroorganismen gezeigt haben, weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Erläuterungen zur praktischen Durchführung des Agar-Diffusions-Tests finden sich in Kapitel 6.3 (Arbeitsmethoden biologische Testung).

4.5.2 Testergebnisse und Diskussion

Bei keiner der in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen konnte eine erwähnenswerte Aktivität gegen die getesteten Modellkeime nachgewiesen werden. Dies war eine wichtige Voraussetzung für die Übertragung der Substanzen in die angestrebten zellulären Assays und um Nebenwirkungen zu vermeiden, sollte diese Strukturfamilie später als Wirkstoff in Erwägung gezogen werden.

4.6 MTT-Test

4.6.1 Beschreibung der Testung

Zur Bestimmung der zytotoxischen Aktivität der in dieser Arbeit dargestellten Verbindungen wurde der MTT-Test nach Mosmann^[120] durchgeführt. Dieser Test bedient sich der Umsetzung des hellgelben 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) (**136**) in Anwesenheit metabolisch aktiver Zellen zum dunkelblauen, schwerlöslichen Formazan **137** (vgl. Abb. 105).

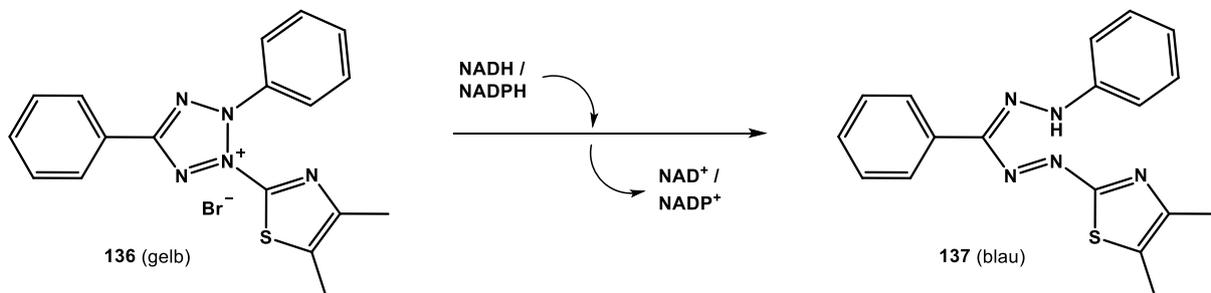


Abbildung 105: Reduktion des Tetrazoliumsalzes **136** zum Formazan **137** in Gegenwart lebender Zellen

Die Reduktion wird durch Enzyme des endoplasmatischen Retikulums katalysiert. Hierbei dienen NADH/H⁺ bzw. NADPH/H⁺ als Reduktionsäquivalente.^[121] Die Quantifizierung des entstandenen Formazans **137** erfolgt photometrisch. Aus den Ergebnissen kann auf die Viabilität der mit der zu bestimmenden Substanz behandelten Zellen geschlossen werden. Für die Testung wurden humane Leukämiezellen der Linie HL-60 verwendet. Als Positivkontrolle diente das nichtionische Detergens Triton[®] X-100 und als Referenzsubstanz das Zytostatikum Cisplatin. Substanzen mit einem IC₅₀-Wert ≤ 5 µM werden als nennenswert zytotoxisch eingestuft. Um aber detaillierte Aussagen über den zugrunde liegenden Wirkmechanismus der getesteten Verbindung oder die Art des ausgelösten Zelltodes (apoptotisch oder nekrotisch) ziehen zu können, sind weitergehende Untersuchungen nötig.

Weitere Angaben zur praktischen Durchführung des MTT-Tests sind Kapitel 6.3 (Arbeitsmethoden biologische Testung) zu entnehmen.

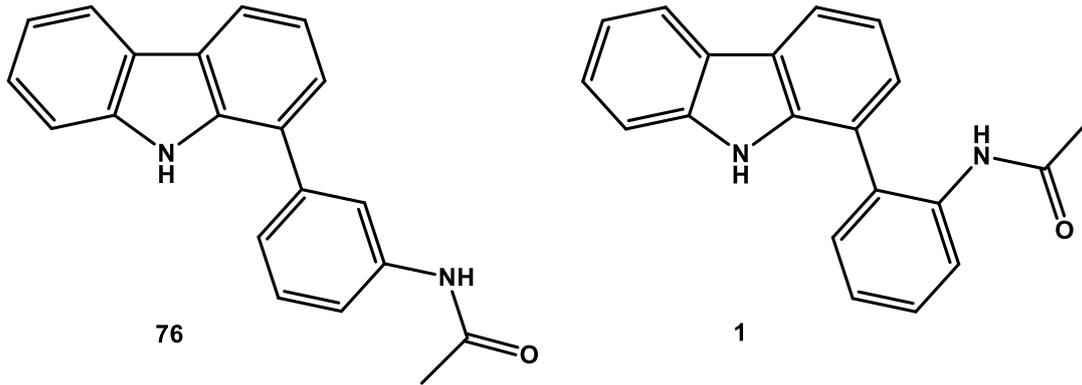
4.6.2 Testergebnisse und Diskussion

Die IC₅₀-Werte aller getesteten Verbindungen sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst. Die Berechnung erfolgte mit der Prism[®]4 Software.

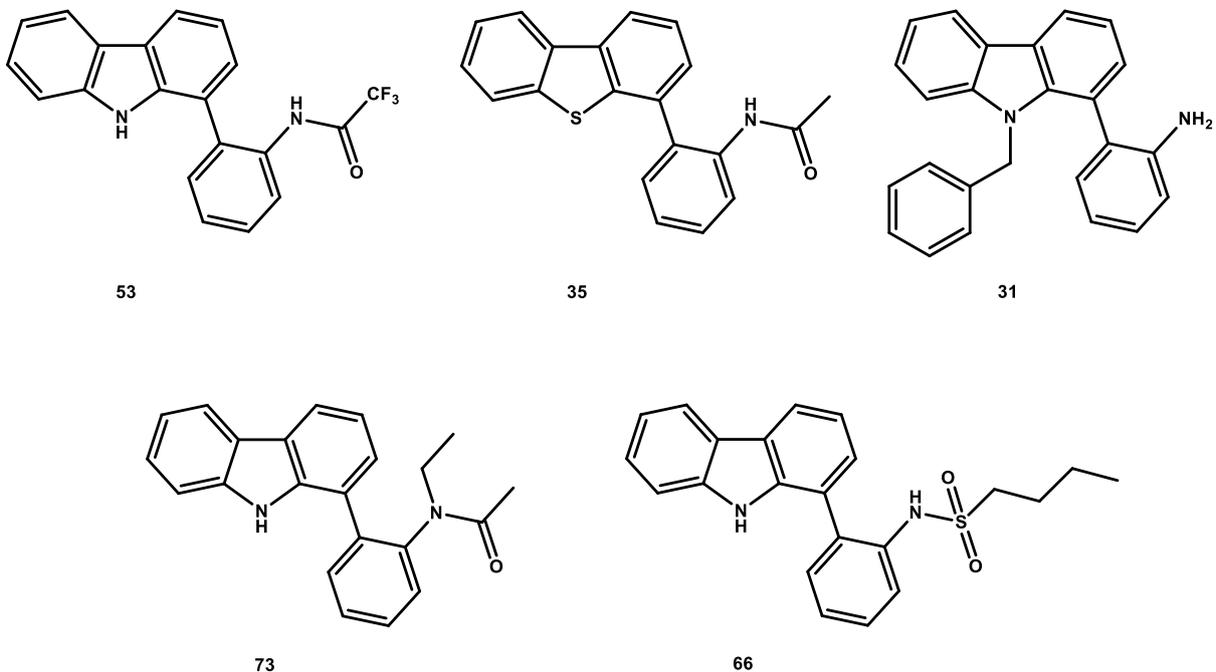
Verbindung	IC ₅₀ [µM]	Verbindung	IC ₅₀ [µM]	Verbindung	IC ₅₀ [µM]
Amid-Analoga		59	>50	C-Ring-Variationen	
63	>50	20	>50	51	>50
53	17.1	57	>50	130	>50
55	>50	62	>50	131	43.6
54	39.8	67	35.9	103	>50
64	35.2	79	>50	132	>50
58	31.4	80	33.2	109	>50
61	>50	B-Ring-Variationen		104	>50
65	37.5	35	10.6	Pyridin-Analoga	
66	17.0	90	>50	87	>50
71	>50	91	>50	88	>50
69	>50	37	>50	weitere Verbindungen	
77	28.8	38	>50	31	17.2
76	1.5	34	>50	30	33.7
60	>50	45	>50	1	>50
73	10.0	46	>50		
56	>50	29	30.1		
72	27.5	28	37.4		

Tabelle 12: Testergebnisse des MTT-Assays

Auf den ersten Blick ist zu erkennen, dass die meisten Verbindungen keine signifikante Zytotoxizität aufweisen. Auch die Leitstruktur **1** zeigt keine Zytotoxizität.^[36] Auffällig ist Verbindung **76**, die mit einem IC₅₀-Wert von 1.5 µM toxischer ist als die Referenzsubstanz Cisplatin (IC₅₀-Wert ca. 5 µM). Bemerkenswert ist hier, dass Verbindung **76** als Konstitutionsisomer der Leitstruktur **1** relativ ähnlich ist (vgl. Abb. 106).

Abbildung 106: Vergleich der zytotoxischen Verbindung **76** mit der für Zellen ungiftigen Leitstruktur **1**

Außerdem zeigen einige Verbindungen ein geringes zytotoxisches Potential mit IC_{50} -Werten zwischen 5 und 20 μM (vgl. Abb. 107). Drei dieser Verbindungen zeigten gleichzeitig eine gute Aktivität an PARP14MD2 (**53** [0.9 μM], **35** [2.5 μM] und **66** [3.3 μM]). Wenn diese Substanzen in zellulären Assays Verwendung finden, müssen deren (wenn auch geringe) zytotoxische Eigenschaften beachtet werden.

Abbildung 107: Mäßig zytotoxische Verbindungen **53**, **35**, **31**, **73**, **66**

Darüber hinaus lassen sich keine Muster bezüglich zytotoxischer Eigenschaften, z.B. innerhalb der homologen Reihen, ableiten. Es ist zu berücksichtigen, dass die dargestellten Werte in Einzelbestimmungen ermittelt sind.

5. Zusammenfassung und Ausblick

5.1 Synthesen

Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit war die Aufklärung von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen von Inhibitoren an der zweiten Macrodomain von PARP14. Dazu sollten verschiedenste Analoga des bis dahin einzigen bekannten Inhibitors, der Leitstruktur **1** (vgl. Abb. 108), dargestellt werden. PARP14 spielt u. a. eine Rolle bei der Regulation des Aktin-Cytoskeletts, bei Mechanismen während der Zellantwort auf DNA-Schäden und wird außerdem bei verschiedenen Krebsarten überexprimiert.^{[11], [13], [19]} Ein potenter sowie selektiver Inhibitor für die zweite Macrodomain von PARP14, die der Erkennung von mADP-Ribose-markierten Proteinen dient, soll Untersuchungen ermöglichen, die z.B. zeigen sollen, welchen Phänotyp normale bzw. Tumorzellen zeigen, die mit dem Inhibitor behandelt wurden und in welche Kaskaden und Vorgänge PARP14 im Detail in der Zelle eingreift.

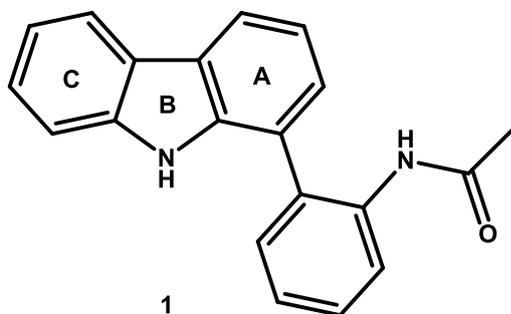


Abbildung 108: Leitstruktur **1**

Ausgehend von der Leitstruktur **1** sollten durch Variation der Amid-Gruppe, des Phenylrings sowie der drei Ringe des Carbazol-Grundkörpers (A-C) neue Verbindungen dargestellt werden, die dann am Structural Genomics Consortium in Oxford durch unseren Kooperationspartner auf ihre Aktivität an PARP14MD2 getestet werden sollten.

Variationen der Amid-Gruppe

Die Acetamidfunktion der Leitstruktur **1** bot die Möglichkeit, durch Einführen verschiedener anderer Reste anstelle der Acetylgruppe, eine Vielzahl neuer, der Leitstruktur sehr ähnlicher Verbindungen herzustellen. Dafür wurde aus 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) und 2-Aminophenylboronsäure (**23**) in einer Suzuki-Miyaura-Kupplung Verbindung **20** als zentrale Zwischenstufe hergestellt (vgl. Abb. 109).

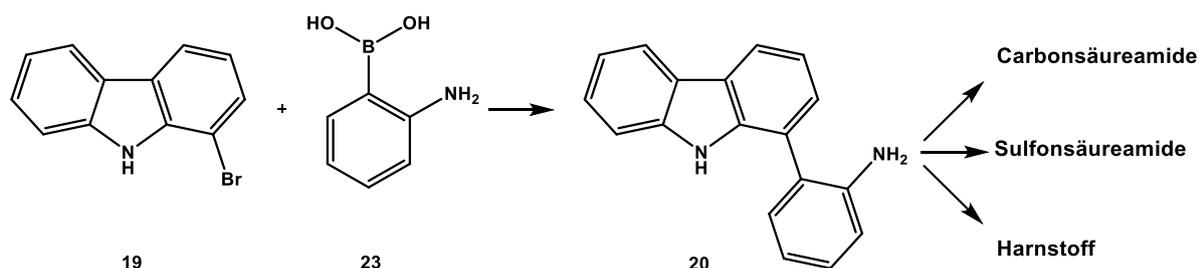
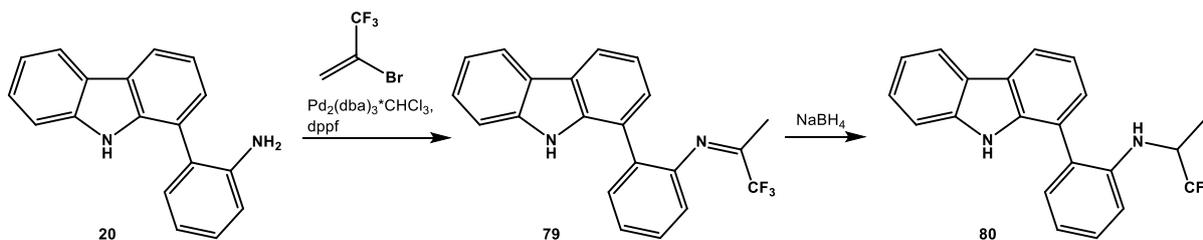


Abbildung 109: Variable Umsetzungen der zentralen Zwischenstufe **20**

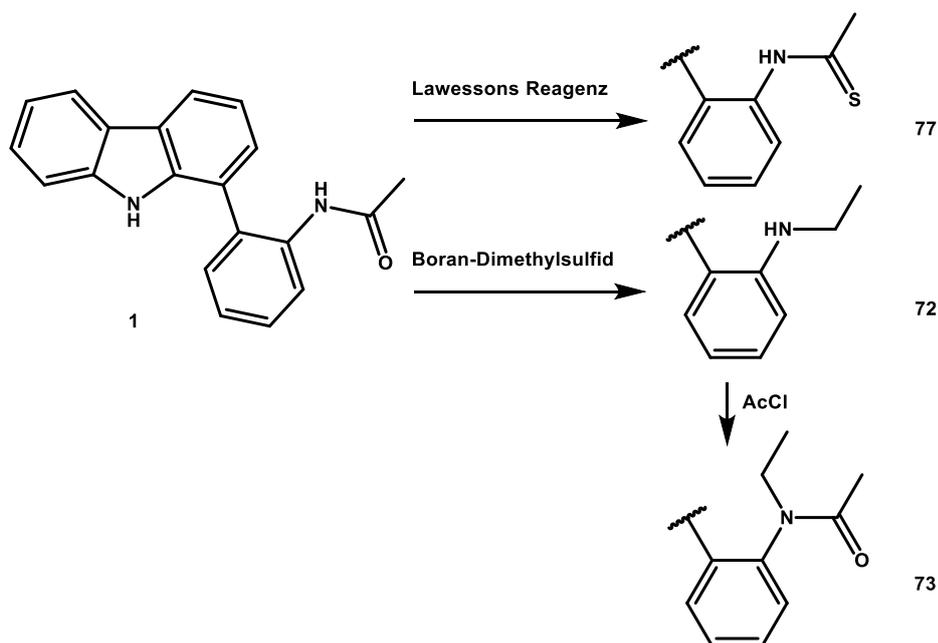
Das Anilin **20** wurde mit unterschiedlichen Carbonsäure- und Sulfonsäurechloriden zu den entsprechenden Amiden umgesetzt (vgl. Abb. 109), so dass jeweils eine homologe Reihe an Verbindungen für die biologische Testung zur Verfügung stand. Außerdem wurde Verbindung **20** mit *tert*-Butylisocyanat zu dem entsprechenden Harnstoff **69** umgesetzt.

Ähnlich der Darstellung der zentralen Zwischenstufe **20** wurde 1-Brom-9*H*-carbazol (**19**) mit 3-Aminophenylboronsäure (**74**) in einer Suzuki-Miyaura-Reaktion zu Verbindung **75** verknüpft und diese anschließend mit Acetylchlorid in Gegenwart von Pyridin zum Acetamid **76** umgesetzt (vgl. Kapitel 3.1.4). So entstand ein Analogon der Leitstruktur **1**, das den Acetamid-Rest meta- anstatt orthoständig zum Grundkörper trägt.

Verbindung **20** konnte des Weiteren in einer Palladium-katalysierten Reaktion mit 2-Brom-3,3,3-trifluor-1-propen gekuppelt und das gebildete Imin **79** anschließend zum *N*-(1,1,1-Trifluorpropan-2-yl)anilin **80** reduziert werden, um ein Bioisoster der Leitstruktur **1** zu erhalten (vgl. Abb. 110).

Abbildung 110: Darstellung des Bioisosters **80**

Die Leitstruktur **1** selbst diente ebenfalls als Ausgangspunkt für verschiedene Modifikationen der Amidgruppe. Zum einen konnte aus **1** durch Reaktion mit Lawessons Reagenz das Thioacetamid **77** hergestellt werden. Zum anderen konnte das Amid **1** mit Boran-Dimethylsulfid zum sekundären Amin **72** reduziert werden, das weiter mit Acetylchlorid zum tertiären Amid **73** umgesetzt werden konnte (vgl. Abb. 111).

Abbildung 111: Verbindungen, die aus der Leitstruktur **1** dargestellt werden konnten

Unter Einsatz der beschriebenen Methoden wurden insgesamt 22 Verbindungen mit Variationen der Amidgruppe der Leitstruktur **1** dargestellt, die unserem Kooperationspartner für die biologische Testung zur Verfügung gestellt werden konnten.

Mit einigen Verbindungen aus dieser Gruppe von Analoga wurden bei unserem Kooperationspartner Co-Kristallisationsexperimente durchgeführt. Das Methansulfonamid **63** (vgl. Kap. 3.1.3, Abb. 35) konnte erfolgreich mit PARP14MD2 co-kristallisiert werden. Dies ermöglichte eine dreidimensionale Darstellung des an das Protein gebundenen Liganden (vgl. Abb. 112). Das dreidimensionale Bild erlaubte eine strukturbasierte Planung der nachfolgenden Variationen, da nun einerseits der zur Verfügung stehende Platz für weitere Substituenten abgeschätzt sowie andererseits mögliche funktionelle Gruppen am Protein für zusätzliche Interaktionen mit dem Liganden identifiziert werden konnten.

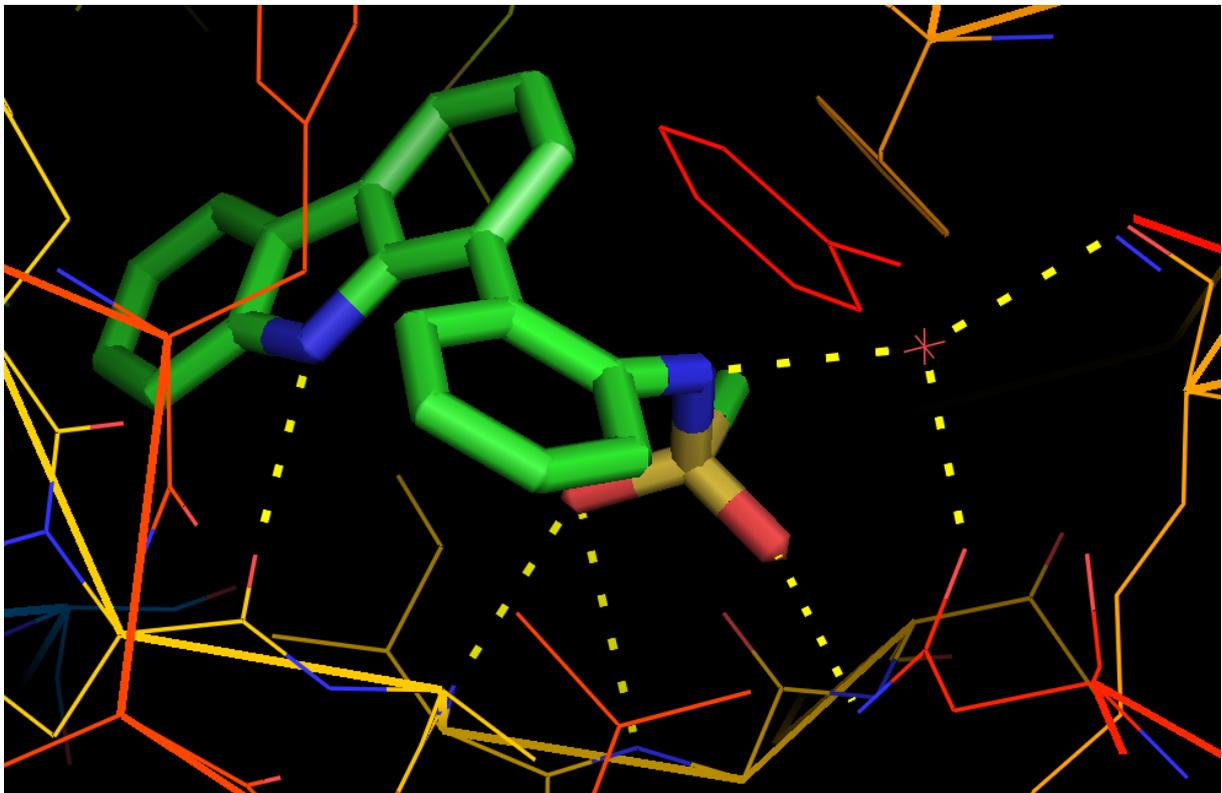


Abbildung 112: Interaktionen der Verbindung **63** mit PARP14MD2. Der rote Stern stellt ein Wassermolekül dar.

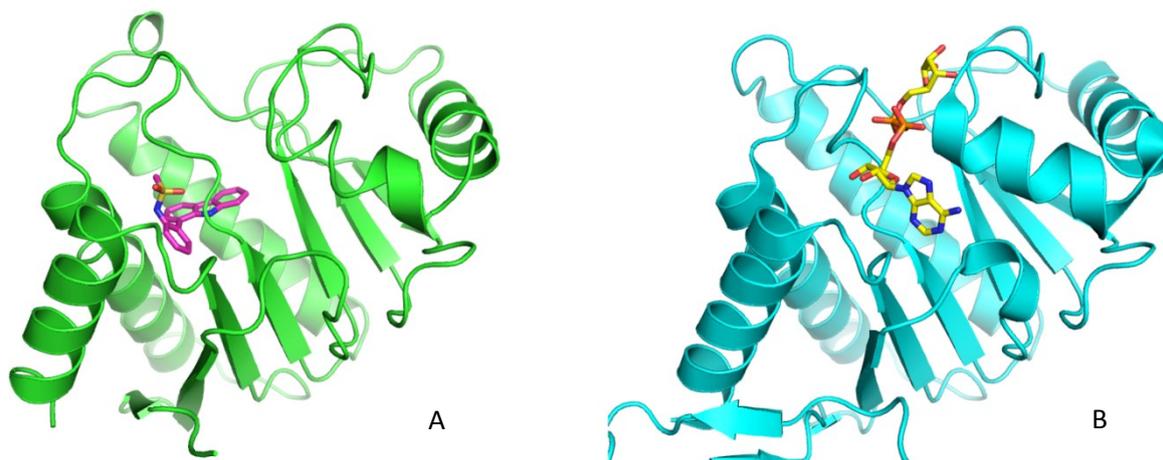


Abbildung 113: Vergleich der Lage von Verbindung **63** (A) mit der Lage des natürlichen Liganden ADP-Ribose^[76] (B) an PARP14MD2

Abbildung 113 zeigt die erhaltene Co-Kristallstruktur (A) im Vergleich zu der bekannten Kristallstruktur von PARP14MD2 mit seinem natürlichen Liganden ADP-Ribose (B). Es ist eindeutig zu erkennen, dass der Inhibitor nicht an der gleichen Position an das Protein bindet wie der natürliche Ligand. ADP-Ribose liegt im gebundenen Zustand in einer Bindungstasche an der Oberfläche des Proteins. Verbindung **63** hingegen bedient eine Bindungsstelle im Proteininneren. Bei genauerer Betrachtung ist zu erkennen, dass mehrere Bereiche des Proteins durch Bindung des Inhibitors einer konformativen Änderung unterliegen, insbesondere auch die Bindungstasche für den natürlichen Liganden ADP-Ribose. Es handelt sich also um einen allosterischen Bindungstyp. Da der Inhibitor das Protein durch seine Bindung daran verändert und seine Bindungsstelle somit selbst moduliert, ist es nur bedingt möglich, vorherzusagen, ob neue Verbindungen mit anderen Strukturvariationen genauso gut oder sogar besser mit dem Protein interagieren können. Dennoch diente die Co-Kristallstruktur als Anhaltspunkt für die folgenden Strukturvariationen.

Variationen des Phenylrings

Unter Einbeziehung der Erkenntnisse aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 erschien es aus sterischen Gründen nicht erfolgversprechend, zusätzliche Substituenten an den Phenylring anzubringen. Der Fokus lag hier auf Bioisosteren zur Leitstruktur **1** sowie auf Verbindungen, bei denen der

Phenylacetamid-Rest an einer anderen Position mit dem Grundkörper verknüpft ist als in der Leitstruktur **1**.

Es konnte eine neue Methode etabliert werden, die es ermöglicht, den Carbazol-Grundkörper an C-1 flexibel mit unterschiedlichen Substituenten zu verknüpfen. Dazu wurde SEM-geschütztes 1-Brom-9*H*-carbazol (**25**) zum entsprechenden Boronsäurepinacolester **26** umgesetzt (vgl. Abb. 114). Dieser Ester konnte ohne weitere Aufarbeitung unter Palladium-Katalyse mit Halogenpyridinaminen zu verschiedenen Aminopyridinyl-Carbazolen umgesetzt werden. Nach *N*-Acetylierung und Entschützung mit Tetrabutylammoniumfluorid standen die zwei Pyridin-Analoga **87** und **88** der Leitstruktur **1** für die Testung an PARP14MD2 zur Verfügung.

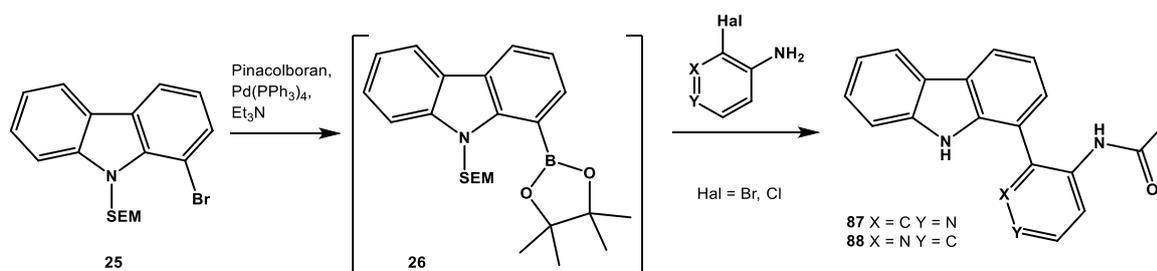


Abbildung 114: Der an N-9 SEM-geschützte Carbazol-1-boronsäurepinacolester **26** ermöglicht es, flexibel Substituenten an C-1 einzuführen

Zusätzlich zu diesen Bioisosteren wurden in einer von mir betreuten Bachelorarbeit Verbindungen dargestellt, die den Acetamidophenyl-Substituenten nicht an C-1, sondern an Position 9 des Carbazol-Grundkörpers tragen. Durch die Wahl verschiedener Brücken zwischen Substituent und Grundkörper wurden Analoga der Leitstruktur **1** erhalten, die sich insbesondere in den zur Verfügung stehenden Freiheitsgraden voneinander unterscheiden (vgl. Abb. 115). Verbindung **90** wurde über die *N*-Arylierung von Carbazol (**92**) mit 1-Fluor-2-nitrobenzol, anschließende Reduktion der Nitrogruppe und *N*-Acetylierung erhalten (vgl. Abb. 115). Verbindung **91** konnte durch *N*-Benzylierung von Carbazol mit 3-Nitrobenzylchlorid, anschließende Reduktion und *N*-Acetylierung dargestellt werden. Während bei **90** der Acetamidophenyl-Rest eine deutlich andere Position einnimmt als in der Leitstruktur, könnte er bei **91** durch Rotation um Einfachbindungen eine sehr ähnliche relative Lage zum Carbazolgrundkörper einnehmen wie in der Leitstruktur **1**.

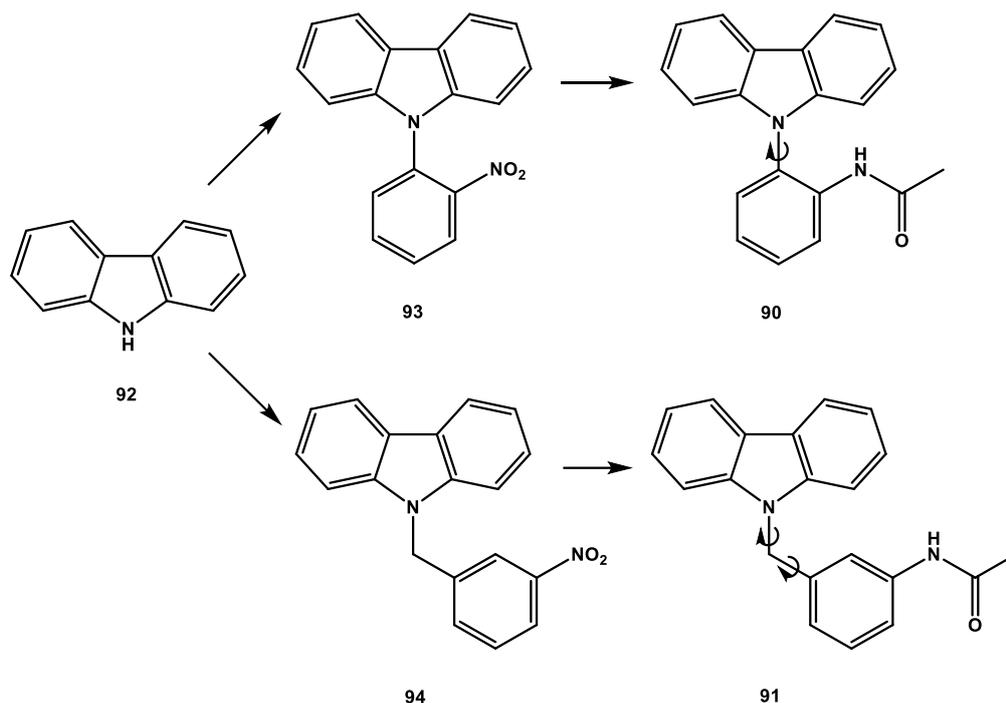


Abbildung 115: Darstellung der Verbindungen **90** und **91** aus der Bachelorarbeit von Britta Hettich

Variationen an Ring A des Grundkörpers

Aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 war ersichtlich, dass das Protein den Liganden im Umfeld von Ring A so eng umschließt, dass für zusätzliche Reste kein Platz zur Verfügung steht. Ebenfalls war in dem dreidimensionalen Modell zu erkennen, dass Ring A der Leitstruktur von den Resten dreier apolarer Aminosäuren (Isoleucin 1112, Leucin 1147 und Isoleucin 1148) umgeben ist, was die Vermutung nahelegt, dass das Einführen von Heteroatomen die Affinität einer dadurch polareren Verbindung zur Macrodomain beeinträchtigen könnte. Im Arbeitskreis stand aus einem parallel zu meinen Arbeiten durchgeführten Projekt von Tremmel das β -Carbolin-Analogon **27** und dessen Synthesestufe **99** für die Überprüfung dieser Annahme zur Verfügung. Nachdem sich diese bei der Testung als inaktiv erwiesen hatten, wurden von mir keine weiteren Variationen an Ring A vorgenommen.

Variationen an Ring B des Grundkörpers

Erste einfache Variationen am Pyrrolring des Grundkörpers konnten durch *N*-Methylierung bzw. *N*-Benzylierung erhalten werden. Außerdem konnten durch Suzuki-Miyaura-Kupplungen von 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) mit dem kommerziell verfügbaren 4-Bromdibenzofuran (**32**) bzw. dem über *ortho*-Metallierung von Dibenzothiophen (**36**) zugänglichen 4-Ioddibenzothiophen (**33**) zwei Verbindungen mit Dibenzothiophen- bzw. Dibenzofuran-Grundkörper dargestellt werden, die als Bioisostere der Leitstruktur **1** designt worden waren (vgl. Abb. 116). In einer weiteren von mir betreuten Bachelorarbeit wurden zwei Verbindungen dargestellt, die mit einem Fluorenol-Grundkörper einen Wasserstoffbrückenakzeptor bzw. mit einem Fluorenol-Grundkörper sowohl Akzeptor als auch Donator anstelle des Wasserstoffbrückendonators (NH-Funktion) aus der Leitstruktur **1** aufweisen. Beide Zielverbindungen konnten aufeinander aufbauend aus Biphenyl-2-carbonsäure (**47**) dargestellt werden (vgl. Abb. 116). Durch *ortho*-Metallierung neben der Carbonsäurefunktion als dirigierender Gruppe und Iodierung konnte der später für die Suzuki-Miyaura-Kupplung erforderliche Halogen-Substituent eingeführt werden. Das halogenierte Biphenyl **48** konnte mit Methansulfonsäure zum Fluorenol **49** cyclisiert werden. Das erhaltene 1-Iod-9*H*-fluorenol **49** konnte Palladium-katalysiert mit dem gewünschten Acetamidophenyl-Substituenten verknüpft werden. Die anschließende Reduktion der Ketogruppe lieferte das Fluorenol **46**.

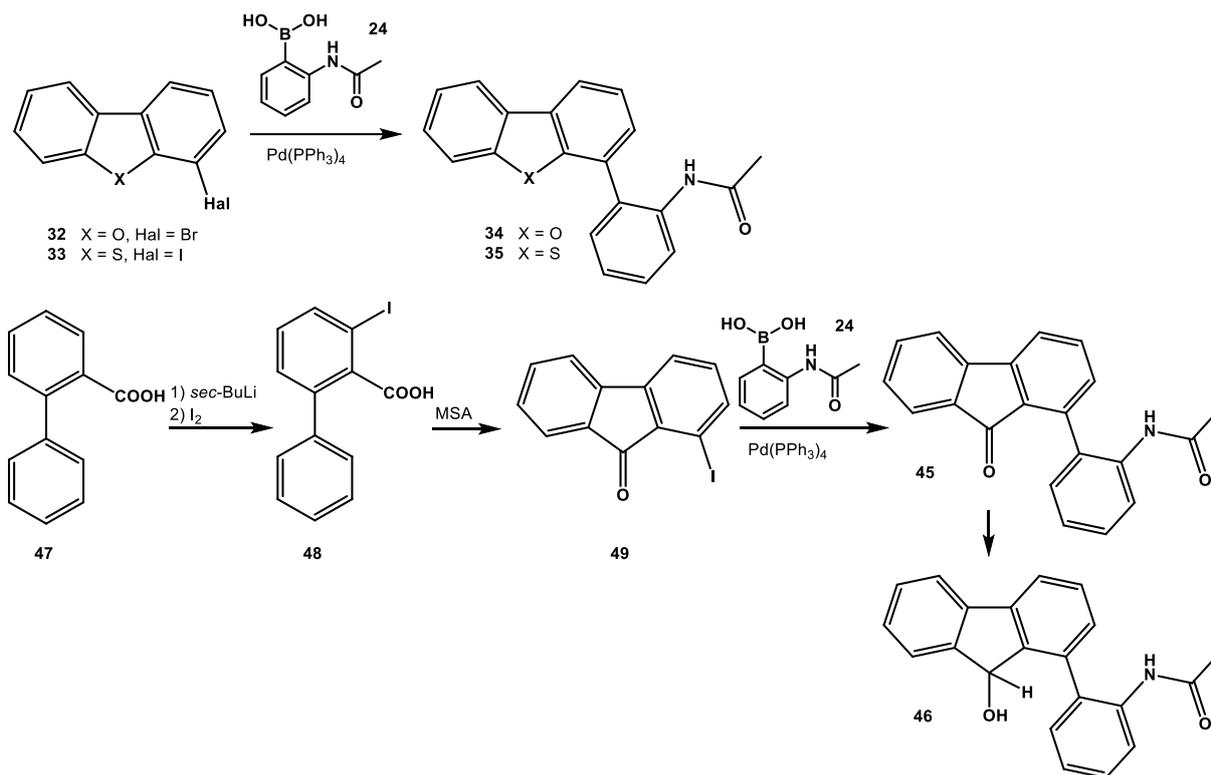
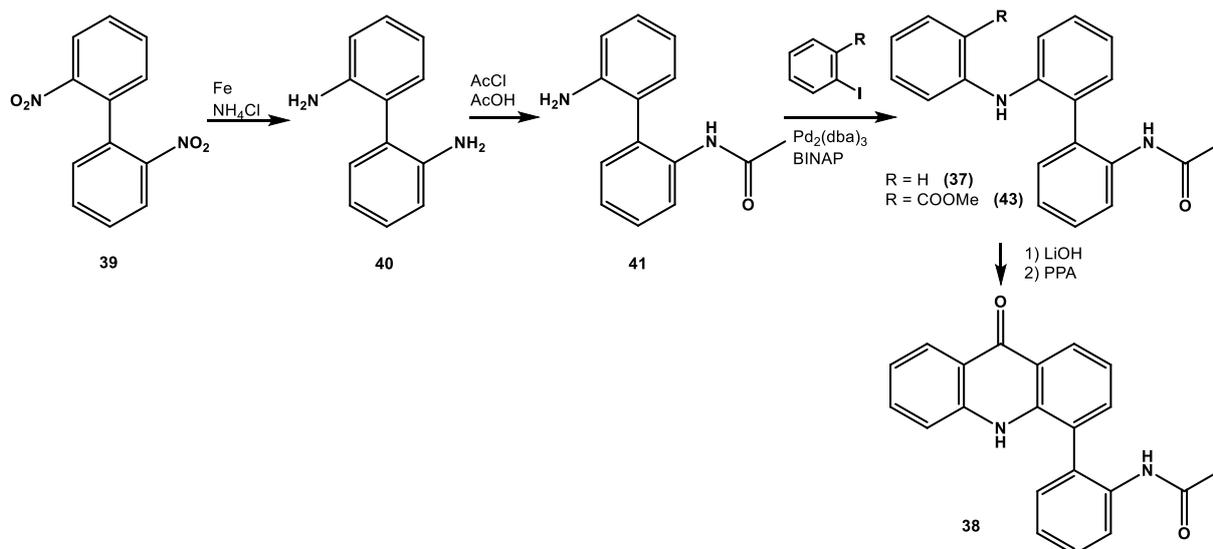


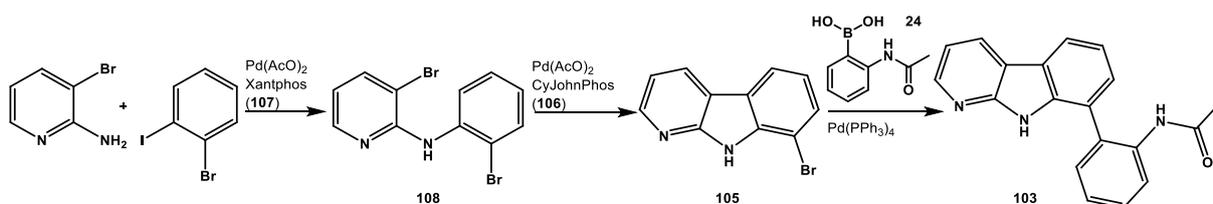
Abbildung 116: Bioisostere mit Dibenzothiophen- bzw. Dibenzofuran-Grundkörper und Verbindungen mit Fluoren-Grundkörper aus der Bachelorarbeit von Carina Glas

Außerdem konnten aus der symmetrischen Verbindung 2,2'-Dinitrobiphenyl (**39**) ein Seco-Derivat **37** der Leitstruktur **1** sowie ein Analogon mit Acridon-Grundkörper **38** dargestellt werden (vgl. Abb. 117). Dazu wurden zuerst beide Nitrogruppen reduziert. Im Anschluss konnte die Verbindung durch Reaktion mit Acetylchlorid im essigsauren Milieu desymmetrisiert werden. Die noch freie Aminofunktion konnte in einer Buchwald-Hartwig-Kupplung mit Iodbenzol zum Seco-Analogon **37** bzw. mit Methyl-2-iodbenzoat zur Vorstufe **43** des Acridons **38** aryliert werden. Um das Acridon **38** zu erhalten, wurde aus dem Methylester **43** die freie Säure dargestellt und anschließend mit Polyphosphorsäure cyclisiert.

Abbildung 117: Darstellung des Seco-Analogons **37** bzw. des Acridon-Analogons **38** der Leitstruktur **1**

Variationen an Ring C des Grundkörpers

Auch bei den Variationen von Ring C spielte das Bioisosterie-Prinzip eine Rolle. Über eine Abfolge Palladium-katalysierter Kupplungsreaktionen konnte als erste Variation von Ring C ein α -Carbolin-Analogon der Leitstruktur **1** dargestellt werden (vgl. Abb. 118). Dafür wurde 3-Brompyridin-2-amin mit 1-Brom-2-iodbenzol in einer Buchwald-Hartwig-Aminierung in Gegenwart des zweizähligen Phosphinliganden Xantphos verknüpft. Im Anschluss konnte durch Einsatz eines einzähligen Phosphin-Liganden (CyJohnPhos) unter C-C-Knüpfung der Ringschluss zum α -Carbolin **105** erfolgen. Abschließend wurde Verbindung **105** in einer Suzuki-Miyaura-Reaktion (mit Triphenylphosphin als Ligand) mit dem gewünschten Acetamidophenyl-Substituenten verknüpft.

Abbildung 118: Darstellung des α -Carbolins **103**

Außerdem ist es gelungen, über Fischer-Synthesen von 2-Bromphenylhydrazin (**21**) mit Cyclohexanon, 4-Piperidon bzw. Isovaleraldehyd die Grundkörper für eine Tetrahydro-Variante der Leistruktur **1**, ein Aza-Analogon dieser sowie für eine der Leistruktur **1** verwandte Verbindung mit Indol-Grundkörper darzustellen (vgl. Abb. 119). Die erhaltenen Grundkörper konnten anschließend mittels Suzuki-Miyaura-Kupplungen mit 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) mit dem gewünschten Substituenten versehen werden.

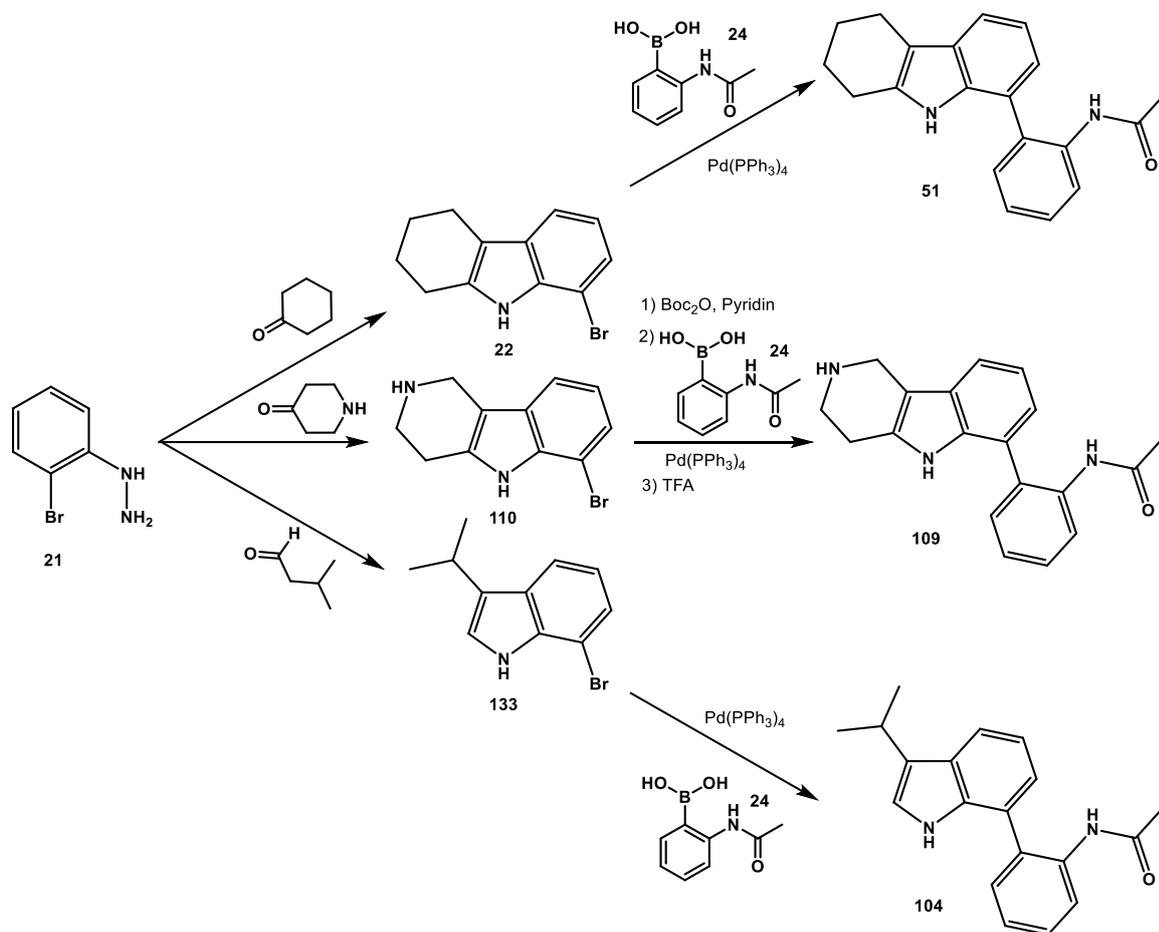


Abbildung 119: Darstellung verschiedener neuer Grundkörper mittels Fischer-Reaktionen und jeweils anschließende Suzuki-Miyaura-Kupplung mit 2-Acetamidophenylboronsäure **24**

Die Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 zeigte, dass im Umfeld von Ring C noch Platz für kleinere Substituenten zur Verfügung stehen sollte. Aus diesem Grund wurden Verbindungen mit verschiedenen Resten an Ring C synthetisiert. Es gelang, dafür eine neuartige Methode zu etablieren, mit der gut zugängliche, unterschiedlich substituierte Tetrahydrocarbazol-1-one mit

Phosphoroxobromid in einem Schritt oxidiert und bromiert werden (vgl. Abb. 120). Die dadurch erhaltenen 1-Bromcarbazole mit unterschiedlichen Substituenten an Ring C konnten dann mittels Suzuki-Miyaura-Reaktionen zu den gewünschten Analoga der Leitstruktur **1** umgesetzt werden.

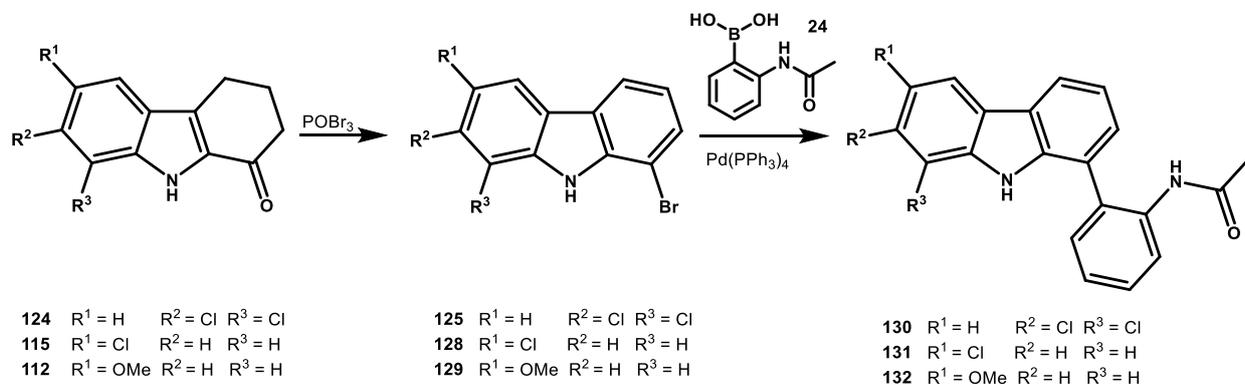


Abbildung 120: Darstellung verschiedener Analoga von **1** mit Substituenten an Ring C

5.2 Biologische Testung

Alle in dieser Arbeit dargestellten Zielverbindungen wurden von unserem Kooperationspartner in Oxford auf deren Aktivität bzw. Affinität gegenüber PARP14MD2 getestet. Dazu wurden verschiedene Methoden verwendet: ITC, BLI oder ALPHA-Screen. Diese Methoden sind in Kapitel 4.1 ausführlich beschrieben.

Die Testung der homologen Reihen der Carbonsäureamide bzw. Sulfonsäureamide zeigte, dass die Aktivität der Verbindungen mit zunehmender Größe des Rests an der Amidfunktion sinkt. Verbindungen mit einer Kettenlänge von bis zu vier Kohlenstoffatomen weisen sowohl in der Reihe der Carbonsäureamide als auch in der Reihe der Sulfonsäureamide Aktivitäten im einstelligen mikromolaren Bereich auf, längere Reste führen zu einer drastischen Abnahme der Aktivität. Kleinere und mittelgroße cyclische Reste, wie ein Cyclopropanring oder ein Phenylring werden gut toleriert. Sterisch anspruchsvollere Reste, wie beispielsweise eine 3,5-Dichlorphenyl-Gruppe, führen jedoch zu einem starken Absinken der Aktivität. Die Testung des sekundärenamins **72** und des tertiären Amids **73** konnte die Annahme, dass sowohl die Carbonylfunktion als auch die NH-Gruppe des sekundären Amids essenziell für die Bindung zum Protein sind, bestätigen. Weder das sekundäre Amin **72** noch das tertiäre Amid **73** zeigten Aktivität an PARP14MD2. Diese Erkenntnis wird zusätzlich durch die Testergebnisse verschiedener Anilin-Derivate (z.B. die Synthesestufe von **1**) gestützt. Ein Verschieben der Acetamid-Gruppe von der ortho- in die meta-Position relativ zum Grundkörper führt ebenfalls zu einem vollständigen Verlust an Aktivität. Außerdem zeigte diese isomere Verbindung **76** stark zytotoxische Eigenschaften, was ihre Eignung als Leitstruktur für weitere Optimierungen ohnehin beeinträchtigt hätte (vgl. Abb. 121).

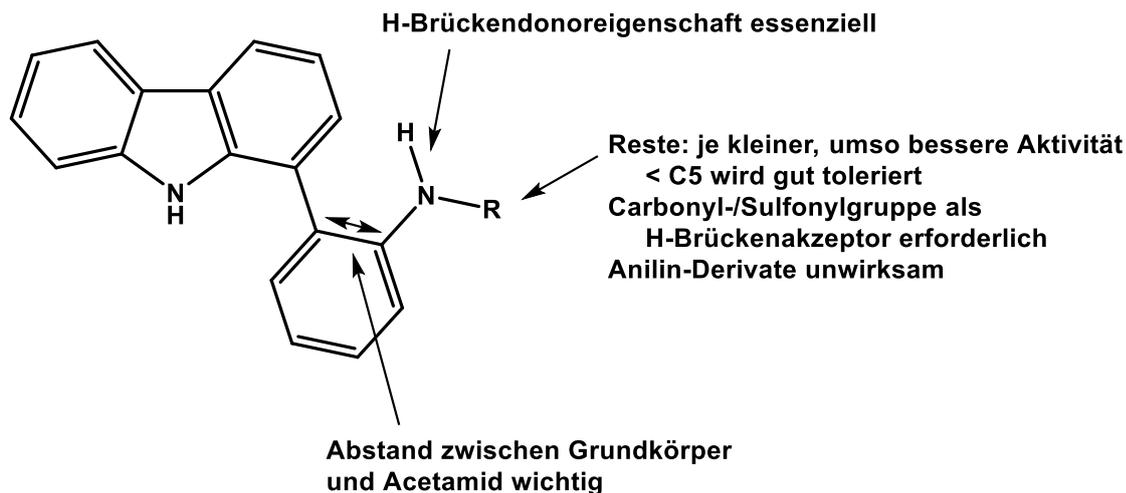


Abbildung 121: Struktur-Aktivitäts-Beziehungen abgeleitet aus Verbindungen mit Variationen der Amidgruppe

Die als Bioisostere geplanten Pyridin-Analoga der Leitstruktur **1** zeigten in der biologischen Testung keinerlei Aktivität an PARP14MD2. Ein im Vergleich zum Phenylring der Leitstruktur **1** polarerer Heterocyclus an C-1 des Carbazols wird also an der Bindungsstelle nicht toleriert (vgl. Abb. 122). Als Grund wäre denkbar, dass über die zusätzlich eingeführten Stickstoffatome Wasserstoffbrücken (intramolekular oder zum Protein) ausgebildet werden, die die relative Lage des Aromaten (und dadurch auch die Lage der für die Bindung essenziellen Acetamidfunktion) zum Grundkörper verändern, so dass die Verbindungen nicht mehr ausreichend mit der Bindungsstelle interagieren können.

Die beiden Verbindungen aus der Bachelorarbeit von Britta Hettich, die den Acetamidophenyl-Substituenten an N-9 an Stelle von C-1 am Grundkörper tragen, zeigten in der biologischen Testung keine Aktivität an PARP14MD2. Dies bestätigte erneut die Erkenntnis, dass die Position der Acetamid-Funktion derjenigen von Leitstruktur **1** entsprechen muss, um Aktivität an der Macrodomain zu gewährleisten.

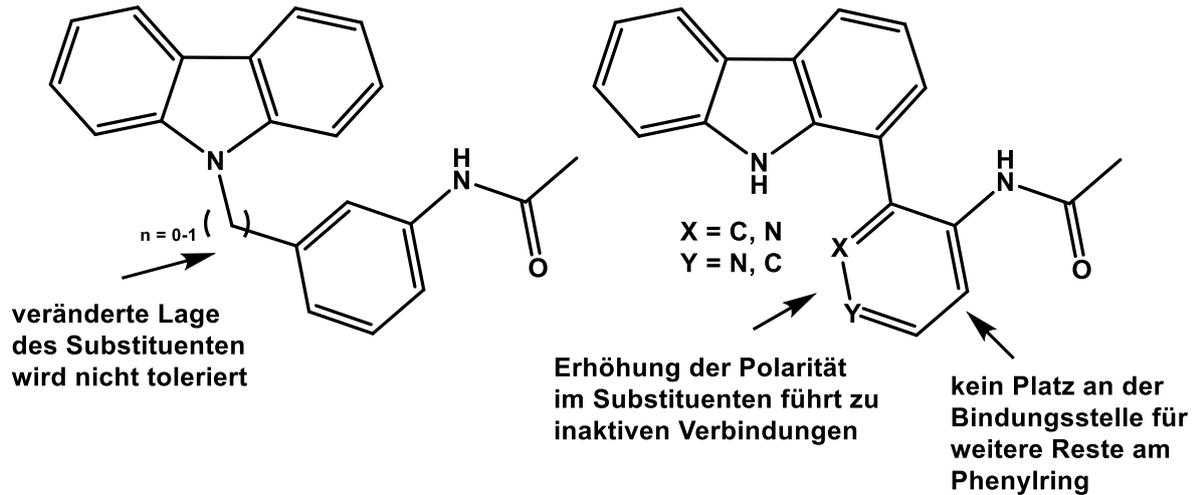


Abbildung 122: Durch Verbindungen mit Variationen des Phenyl-Substituenten aufgeklärte Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Ring A bot wenig Möglichkeiten für Variationen. Aus der Co-Kristallstruktur war ersichtlich, dass kein Raum für zusätzliche Reste an diesem Ring zur Verfügung steht. Die Testung einer Verbindung mit β -Carboline-Grundkörper (vgl. Abb. 123) bestätigte die Annahme, dass sich die Affinität zum Protein mit zunehmender Polarität verschlechtert. Denkbar wäre auch, dass das hier zusätzlich eingeführte Stickstoffatom eine Wasserstoffbrücke zur Amid-NH-Funktion ausbildet und so eine koplanare Orientierung der beiden Ringsysteme zueinander begünstigt. Aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2 ist ersichtlich, dass die Amid-Funktion nur dann ihre Interaktionen mit dem Protein ausbilden kann, wenn der Phenylring etwa in einem Winkel von 45° zum Grundkörper orientiert ist.

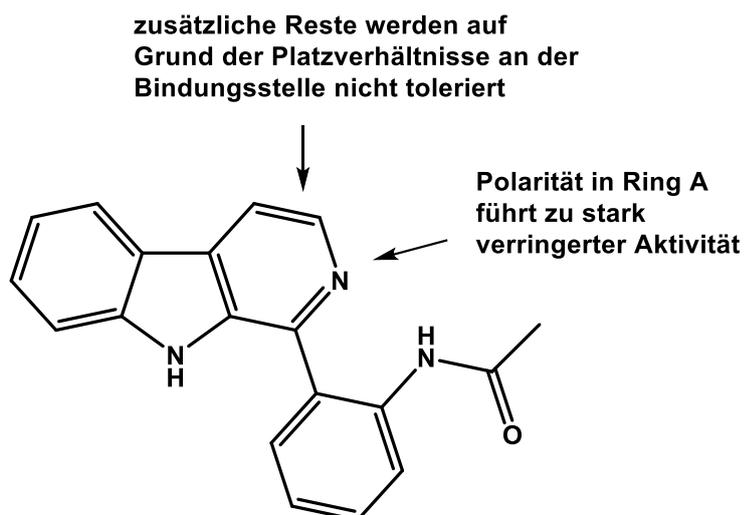


Abbildung 123: Struktur-Aktivitäts-Beziehungen abgeleitet aus den Testergebnissen des β -Carbolins **27** und aus der Co-Kristallstruktur von Verbindung **63** mit PARP14MD2

Die Testung N-9-substituierter Verbindungen (**28** und **29**) bestätigte die auf Basis der Co-Kristallstruktur aufgestellte Vermutung, dass die Wasserstoffbrücke ausgehend von der freien Pyrrol-NH-Funktion zu Prolin 1130 für die Bindung essenziell ist. Andere Wasserstoffbrückendonatoren an dieser Position, wie im Fluorenol **46** (das gleichzeitig auch ein Akzeptor ist), oder Wasserstoffbrückenakzeptoren, wie im Fluorenon **45**, führten zu einem vollständigen Verlust der Aktivität. Das Einführen einer zusätzlichen Carbonylgruppe bei der Acridon-Verbindung **38** führte nicht zu den erhofften zusätzlichen Interaktionen mit dem Protein. Die Verbindung war, möglicherweise unter anderem auch auf Grund der veränderten Geometrie des Grundkörpers, inaktiv. Die flexible Seco-Verbindung **37** zeigte ebenfalls keine Aktivität und passt sich offenbar nicht, wie beabsichtigt, besser an die Bindungsstelle an. Mögliche Gründe dafür könnten der stark veränderte C-N-C-Bindungswinkel (vgl. Abb. 124) und/oder die sterisch bedingte deutliche Abweichung von der Koplanarität des Carbazolgrundkörpers sein. Der planare Grundkörper ist offenbar für die Interaktion mit dem Protein optimal. Das Dibenzothiophen **35** zeigte, im Gegensatz zu dem sehr ähnlichen Dibenzofuran **34**, eine nur geringfügig niedrigere Aktivität als die Leitstruktur **1**. Aktuell laufen Co-Kristallisations-Versuche bei unserem Kooperationspartner, die die Gründe dafür aufklären sollen.

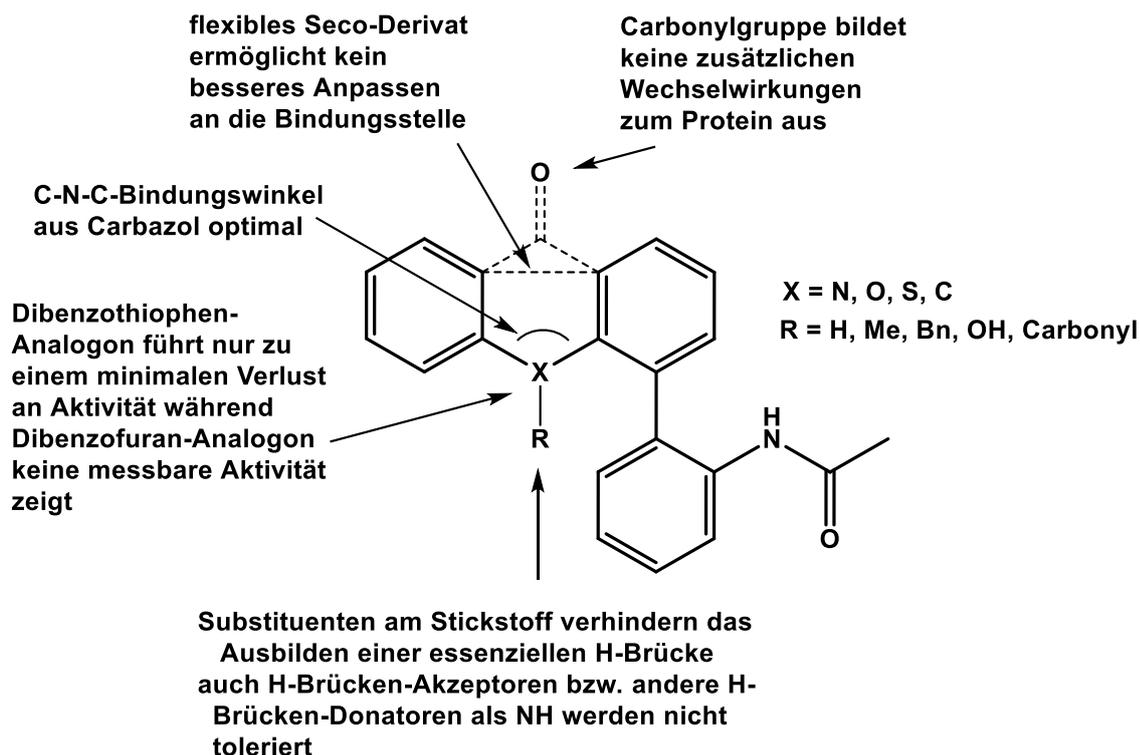


Abbildung 124: Durch Variationen im Bereich von Ring B abgeleitete Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Die verschiedenen Analoga mit Variationen an Ring C ergaben in der biologischen Testung ein stimmiges Bild. Eine Erhöhung der Polarität im Ring C, z. B. bei den Aza-Analoga **103** und **109**, führt zu einem Verlust der Aktivität gegen PARP14MD2. Auch das Einführen polarer Reste, wie in Verbindung **132**, führte zu einem vollständigen Verlust der Aktivität. Das Tetrahydrocarbazol **51** zeigte gute Aktivität in der Größenordnung der Leitstruktur **1** (vgl. Abb. 125). Verbindungen mit apolaren Halogenresten (**130** und **131**) zeigten ebenfalls gute Aktivitäten. Auf Grund der schlechten Löslichkeit dieser Verbindungen in den Medien der biologischen Testung konnte jedoch nicht abschließend geklärt werden, ob die Aktivitäten dieser Verbindungen auf ähnlichem Niveau wie die der Leitstruktur **1** oder sogar noch darüber liegen. Da alle Verbindungen mit apolaren Substituenten an Ring C zwar gute Aktivität zeigen, jedoch eine so schlechte Löslichkeit aufweisen, dass sie nicht für spätere zelluläre Testungen oder als Wirkstoff geeignet sind, wurde diese Substanzfamilie nicht weiter optimiert.

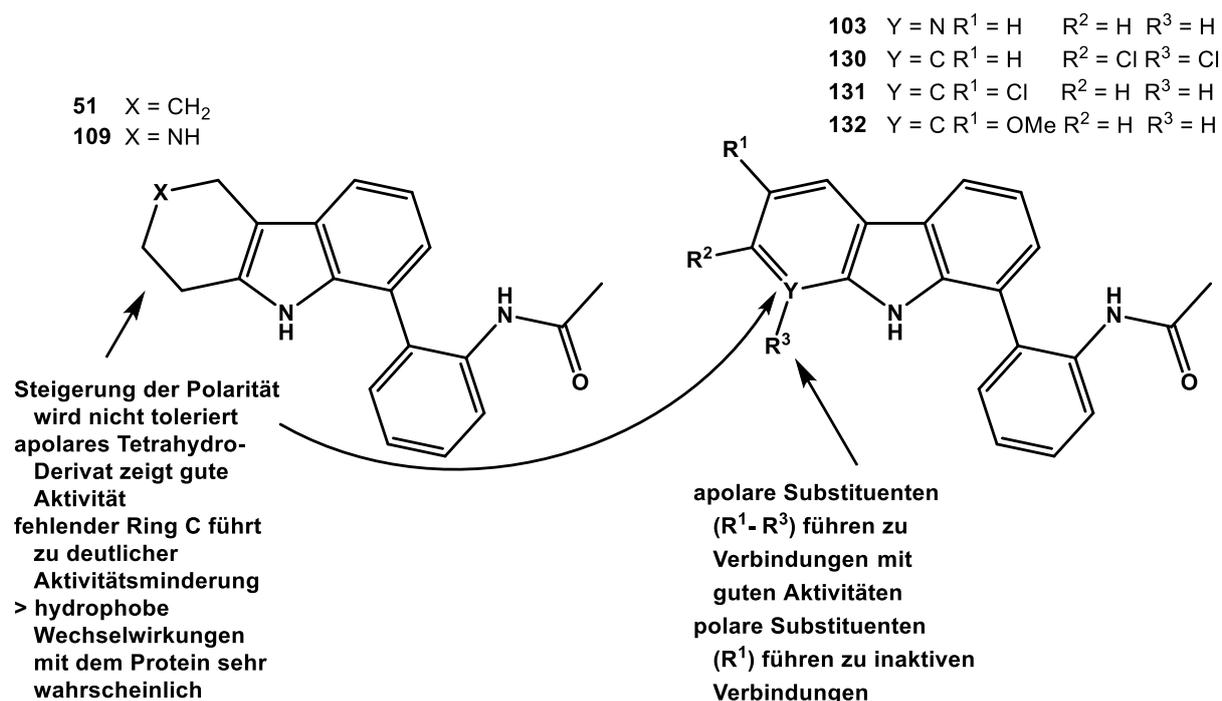


Abbildung 125: Über Veränderungen an Ring C aufgeklärte Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

In weiteren Untersuchungen unserer Kooperationspartner stellte sich heraus, dass die bearbeitete Substanzklasse sehr hohe Selektivität für die zweite Macrodomain von PARP14 zeigt und keine Kreuzreaktivität gegenüber diversen anderen Macrodomains vorliegt.

Durch die systematische Darstellung einer großen Anzahl von Variationen der Leitstruktur **1** und deren biologischer Testung durch unsere Kooperationspartner konnten umfassende Erkenntnisse zu Struktur-Aktivitäts-Beziehungen der ersten bekannten Inhibitor-Familie für die zweite Macrodomain von PARP14 gewonnen werden.

Basierend auf dem ersten Datensatz aus der Testung von zahlreichen 1-(Hetero)Arylcabazolen aus der Dissertation von Gehring (aus der **1** als einzige aktive Verbindung hervorgegangen war) und meinen hier beschriebenen umfangreichen und systematischen Strukturvariationen, lässt sich folgende Erkenntnis ableiten: Die Verbindung **1** und einige mit ihr eng verwandte Analoga sind die ersten hochselektiven allosterischen Inhibitoren der PARP14MD2. Ihr spezieller Bindungsmodus hat zur Folge, dass Strukturvariationen nur in einem sehr engen Rahmen erfolgen dürfen, andernfalls kommt es zu einem drastischen Verlust an

Affinität. Mit den hier entwickelten Verbindungen stehen hochattraktive molekulare Werkzeuge zur Verfügung, die es nun ermöglichen, die biologischen Funktionen von PARP14 im Detail zu untersuchen.

5.3 Ausblick

In einer weiteren von mir betreuten Bachelorarbeit soll ein Derivat der Leitstruktur **1** synthetisiert werden, das über einen PEG-Linker mit einer „klickbaren“ funktionellen Gruppe versehen ist. Diese Substanz soll unserem Kooperationspartner Pulldown-Experimente ermöglichen. Damit kann in zellulären Assays gezeigt werden, mit welchen weiteren Proteinen PARP14 in der Zelle interagiert.

Zusätzlich sollen Verbindungen aus der nun zur Verfügung stehenden Substanzklasse in weiteren Experimenten eingesetzt werden, die zeigen sollen, wie genau PARP14 (insbesondere auch dessen zweite Macrodomain) in Vorgänge in Zellen eingreift, an denen das Protein beteiligt ist (z.B. DNA-damage-response oder Zellmigration).

6. Experimenteller Teil

6.1 Geräte und Parameter

Ausbeuten

Die jeweiligen Ausbeuten beziehen sich auf die mittels Säulenchromatografie gereinigten Substanzen.

Chemikalien und Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel wurden in kommerziell verfügbarer p. a. Qualität benutzt. Lösungsmittel mit geringerer Qualität wurden durch Destillation gereinigt. Tetrahydrofuran wurde über Natrium-Benzophenon-Ketyl unter Rückfluss erhitzt und abdestilliert. Für die analytische HPLC wurden Lösungsmittel in HPLC Qualität verwendet, sowie bidest. Wasser. Die Chemikalien und Materialien wurden von Acros, Sigma Aldrich, TCI, VWR, Fisher Scientific, abcr, Th. Geyer und Alfa Aesar bezogen und ohne weitere Aufreinigung verwendet.

Schmelzpunkte

Die Bestimmung der Schmelzpunkte erfolgte mittels eines Büchi B-540 Apparates (Büchi, Flawil, Schweiz). Die Werte wurden nicht korrigiert.

Dünnschichtchromatographie

Als stationäre Phase wurden DC-Fertigfolien Polygram® SIL G/UV254nm von Macherey-Nagel (Düren, Deutschland) verwendet (Schichtdicke 0.2 mm, Format 40 × 80 mm). Die Detektion erfolgte unter UV-Licht bei 254 nm und 366 nm.

Flash-Säulen-Chromatographie

Bei allen säulenchromatographischen Aufreinigungen wurde Kieselgel 60, Korngröße 0.040 - 0.063 mm, der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) als stationäre Phase

verwendet. Außerdem wurden alle Säulen unter leichtem Überdruck durchgeführt. Die jeweilige Zusammensetzung des Elutionsmittels ist in Volumenteilen angegeben und bei der Beschreibung der Verbindungen zu finden.

NMR-Spektren

Die NMR-Spektren wurden mit folgenden Spektrometern aufgenommen: Jeol JNMR GX 400 (400 MHz), Jeol JNMR GX 500 (500 MHz) (beide von Jeol, Peabody, USA), Avance III HD 400 MHz Bruker Biospin und Avance III HD 500 MHz Bruker Biospin (beide von Bruker, Billerica, USA). Bei NMR-Spektren in CDCl_3 , CD_2Cl_2 , DMSO-d_6 , Aceton- d_6 und MeOD-d_4 diente TMS als interner Standard.

IR-Spektren

Es wurde das IR-Spektrometer Perkin-Elmer FT-IR Paragon 1000 Spektrometer (PerkinElmer, Waltham, USA) oder Jasco FT/IR-410 (Jasco Inc., Easton, USA) genutzt. Feststoffe wurden mit Hilfe eines KBr-Presslings, ölige Substanzen als Film zwischen zwei Natriumchlorid-Platten vermessen. Weitere Vermessungen mit ATR-Einheit erfolgten am IR-Gerät Jasco FT/IR-4100 mit ATR PRO450-S (Jasco Germany GmbH). Die ATR-Spektren wurden als KBr-Spektren korrigiert.

Massenspektren

Die hochauflösenden Massenspektren (HRMS) wurden durch Elektronenstoß-Ionisation (EI) bei 70 eV Anregungsenergie oder mittels Elektrospray-Ionisation (ESI) bestimmt. Hierbei wurden folgende Spektrometer eingesetzt: Jeol JMS-GCmate II (EI) (Jeol, Peabody, USA), Finnigan MAT 95 (EI) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) und Thermo Finnigan LTQ FT (ESI) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA).

GC-MS-Analytik

Die Reaktionskontrolle erfolgte mit einem Shimadzu GC 17 -A System mit GCMS OP-5000 (Shimadzu, Kyoto, Japan).

HPLC-Reinheit

Die HPLC-Reinheit wurde an einer HP Agilent 1100 HPLC mit Dioden Array Detektor (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) und einer Agilent Poroshell Säule (120 EC-C18; 3.0 x 100 mm; 2.7 Micron) bestimmt.

Mobile Phase: Acetonitril/Wasser/THF/1M NaOH (80:20:2%:0.2%).

Flussrate: 0.9 mL/min.

Temperatur: 50 °C, konstant.

Wellenlängen: 210 nm und 254 nm (mit einer Bandbreite von 4 nm)

Injektionsvolumen: 10 µL einer Lösung von 100µg/mL (Probe in mobiler Phase)

Mikrowellen-unterstützte Synthesen

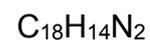
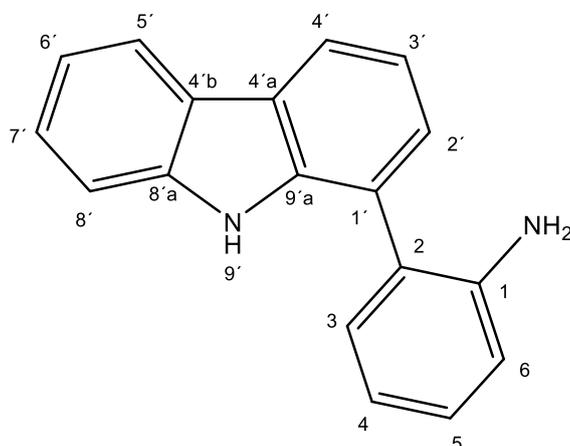
Die Synthesen wurden in den single-mode Mikrowellenreaktoren CEM Discover S-Class Plus SP (Matthews, USA) oder CEM Discover S-1856 (Matthews, USA) durchgeführt.

Software

Als Software wurden Microsoft Office 2013 (Microsoft, Redmond, USA), MestReNova 9.1.0 (Mestrelab, Santiago de Compostela, Spanien) und ChemBioDraw Ultra 14.0 (CambridgeSoft, Cambridge, UK) verwendet.

6.2 Beschreibung der Substanzen

2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**)

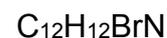
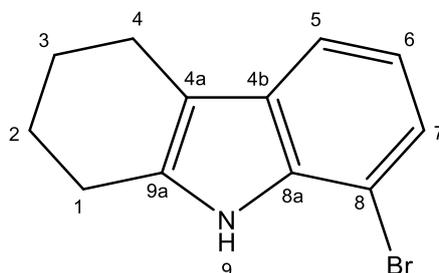


710 mg (2.89 mmol) 1-Brom-9H-carbazol (**19**) wurden zusammen mit 500 mg (2.88 mmol) 2-Aminophenylboronsäure (**23**) und 333 mg (0.288 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 30 mL 1,2-Dimethoxyethan und 20 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 11 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend über 12 Stunden bei 90 °C statt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 100 mL Wasser aufgenommen und das Gemisch viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 7:3) aufgereinigt.

Ausbeute: 598 mg (2.31 mmol/80 %) hellgelber Feststoff

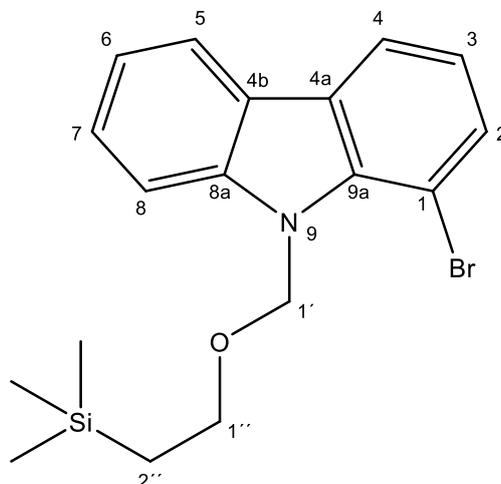
Schmelzpunkt: 173 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.41 (bs, 1H, 9'-H), 8.13 – 8.09 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.46 – 7.40 (m, 3H, 2'-H, 7'-H, 8'-H), 7.34 (t, J = 7.6 Hz, 1H, 6'-H), 7.31 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H, 3-H), 7.29 – 7.22 (m, 2H, 5-H, 3'-H), 6.96 – 6.86 (m, 2H, 4-H, 6-H), 3.77 (s, 2H, 1-NH ₂)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 144.49 (C-1), 140.29 (C-8'a), 138.20 (C-9'a), 131.68 (C-3), 129.53 (C-3'), 127.36 (C-7'), 126.51 (C-2'), 124.54 (C-2), 124.06 (C-4'a), 123.94 (C-4'b), 122.74 (C-1'), 120.83 (C-5'), 120.37 (C-6'), 120.03 (C-5), 119.97 (C-4'), 119.33 (C-4), 116.34 (C-6), 111.40 (C-8')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3438 (s), 3347 (s), 1609 (m), 1451 (m), 1420 (m), 1320 (m), 1242 (m), 750 (s), 619 (m), 487 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 259 (100) (M + H) ⁺
HR-MS (ESI):	m/z = 259.1233 (berechnet für C ₁₈ H ₁₅ N ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 259.1235)
HPLC-Reinheit:	98 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

8-Brom-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol (22)

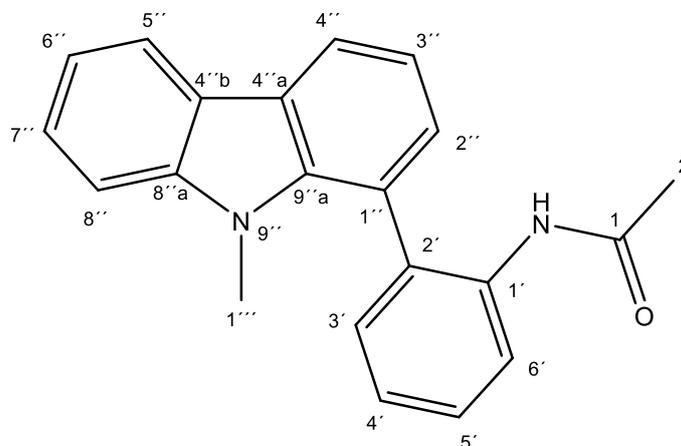
1.0 g (4.5 mmol) 2-Bromphenylhydrazin-Hydrochlorid (**21**) und 0.69 mL (6.7 mmol) Cyclohexanon wurden in einer Mischung aus 20 mL Ethanol und 1 mL Eisessig gelöst. Das Gemisch wurde 4 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch filtriert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute:	0.81 g (3.2 mmol/72 %)	hellgelbes Öl
¹H-NMR (400 MHz, CD ₂ Cl ₂):	δ (ppm) = 8.01 (bs, 1H, 9-H), 7.38 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H, 5-H), 7.23 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H, 7-H), 6.93 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H, 6-H), 2.81 – 2.72 (m, 2H, 4-H), 2.72 – 2.63 (m, 2H, 1-H), 1.96 – 1.80 (m, 4H, 2-H, 3-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD ₂ Cl ₂):	δ (ppm) = 135.79 (C-9a), 134.74 (C-8a), 129.71 (C-4b), 123.53 (C-7), 120.64 (C-6), 117.42 (C-5), 111.85 (C-4a), 104.30 (C-8), 23.66 (C-2), 23.64 (C-3), 23.57 (C-1), 21.53 (C-4)	
IR (KBr):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3397 (s), 3341 (s), 2933 (s), 2852 (m), 1693 (s), 1613 (m), 1487 (m), 1462 (m), 1442 (m), 1321 (s), 772 (s), 735 (s)	
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 248 (100) (M - H) ⁻ , 250 (95) (M - H) ⁻	
HR-MS (ESI):	m/z = 248.0084 (berechnet für C ₁₂ H ₁₁ BrN ⁻ [M - H] ⁻ : 248.0075)	
HPLC-Reinheit:	93 % (λ = 210 nm) 90 % (λ = 254 nm)	

1-Brom-9-[[2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl]-9H-carbazol (25) $C_{18}H_{22}BrNOSi$ $M_r = 376.37 \text{ g/mol}$

500 mg (2.03 mmol) 1-Brom-9H-carbazol (**19**) wurden unter Stickstoffatmosphäre in 12 mL trockenem Tetrahydrofuran gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Die Lösung wurde anschließend einem 120 mg (3.00 mmol) NaH-Dispersion (60 % in Mineralöl) enthaltenden Kolben zugespritzt, der ebenfalls zuvor auf 0 °C gekühlt wurde. Das Gemisch wurde 30 Minuten bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 530 µL (2.99 mmol) 2-(Trimethylsilyl)-ethoxymethylchlorid (SEM-Cl) zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 2 Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 50 mL Wasser versetzt und anschließend dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden nacheinander mit 20 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 20 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute:	690 mg (1.83 mmol/>99 %)	gelbes Öl
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.07 (ddd, J = 7.8, 1.2, 0.7 Hz, 1H, 4-H), 8.06 (dd, J = 7.7, 1.1 Hz, 1H, 5-H), 7.63 (dd, J = 7.8, 1.1 Hz, 1H, 7-H), 7.60 (d, J = 8.3 Hz, 1H, 8-H), 7.51 (ddd, J = 8.4, 7.1, 1.2 Hz, 1H, 2-H), 7.30 (ddd, J = 7.9, 7.1, 1.0 Hz, 1H, 3-H), 7.13 (t, J = 7.7 Hz, 1H, 6-H), 6.14 (s, 2H, 1'-H), 3.63 – 3.58 (m, 2H, 1''-H), 0.91 – 0.85 (m, 2H, 2''-H), -0.09 (s, 9H, Si(CH ₃) ₃)	
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 142.50 (C-9a), 137.45 (C-8a), 132.00 (C-7), 127.56 (C-4b), 127.29 (C-2), 123.33 (C-4a), 121.60 (C-6), 121.23 (C-3), 120.63 (C-5), 119.92 (C-4), 110.79 (C-8), 104.04 (C-1), 72.91 (C-1'), 66.04 (C-1''), 18.51 (C-2''), -1.26 (Si(CH ₃) ₃)	
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3384 (w), 2951 (m), 2895 (m), 1482 (m), 1456 (m), 1417 (m), 1319 (m), 1248 (m), 1221 (m), 1199 (m), 1070 (s), 1041 (m), 858 (s), 835 (s), 743 (s)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 377 (40) [M ⁺], 375 (40) [M ⁺], 317 (60), 319 (55), 258 (100), 260 (95), 222 (45), 179 (85)	
HR-MS (EI):	m/z = 375.0651 (berechnet für C ₁₈ H ₂₂ BrNOSi: 375.0654)	

***N*-[2-(9-Methyl-9*H*-carbazol-1-yl)phenyl]acetamid (**28**)**

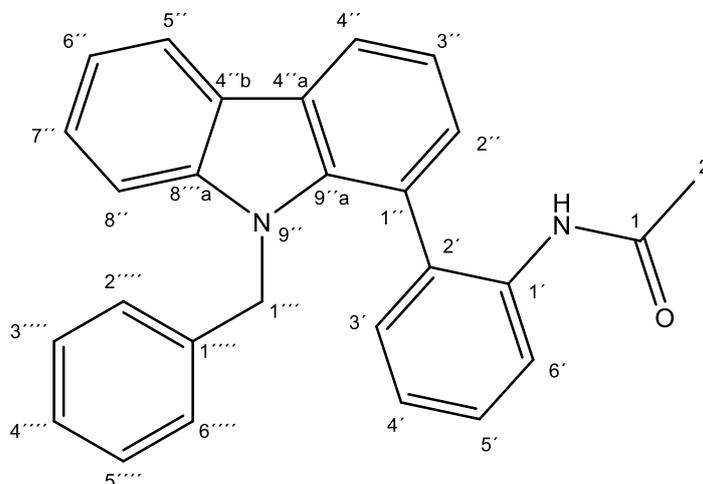
Eine Lösung von 100 mg (0.367 mmol) 2-(9-Methyl-9*H*-carbazol-1-yl)anilin (**30**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 33 µL (0.41 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 28 µL (0.39 mmol) Acetylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 102 mg (0.324 mmol/86 %) rosa Feststoff

Schmelzpunkt: 75 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, 6'-H), 8.20 (dd, *J* = 7.5, 1.5 Hz, 1H, 4''-H), 8.15 (ddd, *J* = 7.8, 1.3, 0.7 Hz, 1H, 5''-H), 7.52 – 7.43 (m, 2H, 5'-H, 7''-H), 7.41 – 7.35 (m, 2H, 3'-H, 8''-H), 7.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, 3''-H), 7.29 – 7.25 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 7.22 (td, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 1H, 4'-H), 6.90 (bs, 1H, 1-NH), 3.30 (s, 3H, 1'''-H), 1.74 (s, 3H, 2-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 161.95 (C-1), 142.64 (C-8''a), 138.93 (C-9''a), 137.27 (C-1'), 131.59 (C-3'), 130.19 (C-2'), 129.25 (C-2''), 129.11 (C-5'), 126.75 (C-7''), 124.76 (C-4''a), 124.04 (C-4'), 123.06 (C-4''b), 121.12 (C-6'), 120.96 (C-4''), 120.65 (C-1''), 120.56 (C-5''), 119.89 (C-6''-), 119.70 (C-3''), 109.55 (C-8''), 31.79 (C-1'''), 24.85 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3405 (m), 1676 (m), 1579 (m), 1517 (s), 1463 (m), 1439 (s), 1404 (m), 1297 (m), 1230 (m), 1131 (m), 749 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 313 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 313.1351 (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}^-$ [M - H] ⁻ : 313.1341)
HPLC-Reinheit:	97 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9-Benzyl-9*H*-carbazol-1-yl)phenyl]acetamide (**29**)**C₂₇H₂₂N₂OM_r = 390.49 g/mol

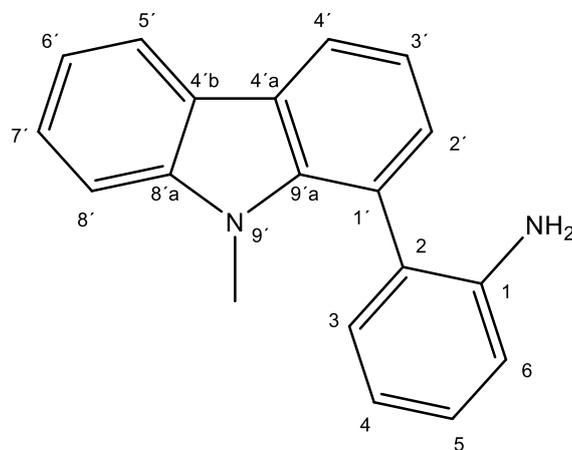
Eine Lösung von 100 mg (0.287 mmol) 2-(9-Benzyl-9*H*-carbazol-1-yl)anilin (**31**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 27 μ L (0.33 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 23 μ L (0.32 mmol) Acetylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 90 mg (0.23 mmol/83 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 75 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.25 (dd, J = 7.8, 1.3 Hz, 1H, 4''-H), 8.22 (ddd, J = 7.8, 1.3, 0.8 Hz, 2H, 6'-H, 5''-H), 7.46 (ddd, J = 8.3, 7.1, 1.3 Hz, 1H, 7''-H), 7.40 – 7.28 (m, 4H, 5'-H, 3''-H, 6''-H, 8''-H), 7.18 (dd, J = 7.3, 1.3 Hz, 1H, 2''-H), 7.13 – 7.07 (m, 2H, 3'-H, 4''''-H), 7.07 – 6.98 (m, 3H, 4'-H, 3''''-H, 5''''-H), 6.48 (s, 1H, 1-NH), 6.42 – 6.36 (m, 2H, 2''''-H, 6''''-H), 5.19 – 5.03 (m, 2H, 1'''-H), 1.62 (s, 3H, 2-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 168.22 (C-1), 142.57 (C-8''a), 138.26 (C-1'''''), 138.22 (C-9''a), 137.21 (C-1'), 131.49 (C-3'), 129.47 (C-2'), 129.46 (C-2''), 129.23 (C-5'), 128.76 (C-3''''', C-5'''''), 127.52 (C-4'''''), 126.98 (C-7''), 125.99 (2''''', C-6'''''), 125.48 (C-4''a), 123.69 (C-4'), 123.34 (C-4''b), 121.09 (C-6'), 121.02 (C-4''), 121.00 (C-1''), 120.74 (C-5''), 120.35 (C-3''), 120.13 (C-6''), 110.07 (C-8''), 47.89 (C-1'''), 24.81 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3411 (s), 1695 (m), 1582 (m), 1518 (s), 1494 (m), 1444 (s), 1410 (m), 1300 (m), 1203 (m), 752 (s), 731 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 389 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 389.1665 (berechnet für $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}^-$ [M - H] ⁻ : 389.1654)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

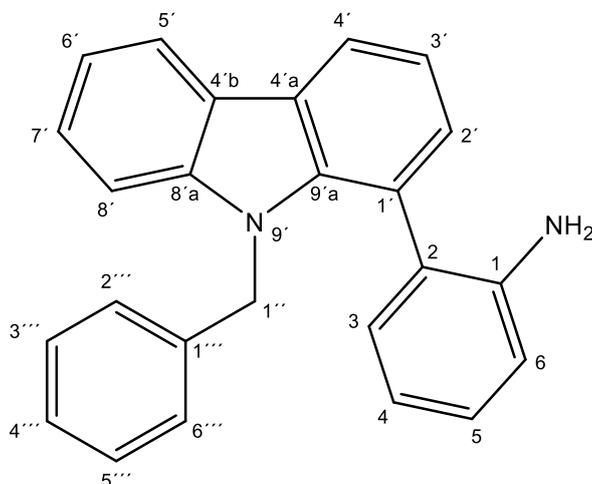
2-(9-Methyl-9H-carbazol-1-yl)anilin (30)

500 mg (1.92 mmol) 1-Brom-9-methylcarbazol (**100**) wurden zusammen mit 462 mg (2.66 mmol) 2-Aminophenylboronsäure (**23**) und 228 mg (0.197 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einem Mikrowellenvial eingewogen und unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurden 6 mL Dioxan zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 5 mL einer 2M Kaliumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend unter Mikrowellenbedingungen bei 120 °C, 100 Watt Leistung und einem zulässigen Maximaldruck von 17 bar über 15 Minuten statt. Das Reaktionsgemisch wurde in 50 mL Wasser aufgenommen und das Gemisch dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:1 – 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 496 mg (1.82 mmol/96 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 52 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.21 – 8.11 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.50 (ddd, J = 8.3, 7.1, 1.2 Hz, 1H, 7'-H), 7.39 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 8'-H), 7.34 – 7.22 (m, 5H, 3-H, 5-H, 2'-H, 3'-H, 6'-H), 6.87 (td, J = 7.4, 1.2 Hz, 1H, 4-H), 6.81 (dd, J = 8.0, 1.1 Hz, 1H, 6-H), 3.59 (bs, 2H, 1-NH ₂), 3.47 (s, 3H, CH ₃)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 145.82 (C-1), 142.46 (C-8'a), 139.09 (C-9'a), 131.72 (C-3), 129.47 (C-5), 129.21 (C-2'), 126.41 (C-7'), 125.96 (C-2), 124.34 (C-4'a), 123.13 (C-4'b), 122.63 (C-1'), 120.46 (C-5'), 120.17 (C-4'), 119.60 (C-6'), 119.55 (C-3'), 118.33 (C-4), 115.08 (C-6), 109.37 (C-8'), 31.13 (CH ₃)
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3463 (m), 3376 (m), 3050 (w), 1613 (s), 1501 (m), 1486 (m), 1464 (s), 1449 (m), 1438 (s), 1404 (s), 1337 (m), 1298 (m), 1230 (m), 1128 (m), 874 (w), 797 (w)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 273 (100) (M + H) ⁺
HR-MS (ESI):	m/z = 273.1390 (berechnet für C ₁₉ H ₁₇ N ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 273.1392)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

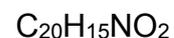
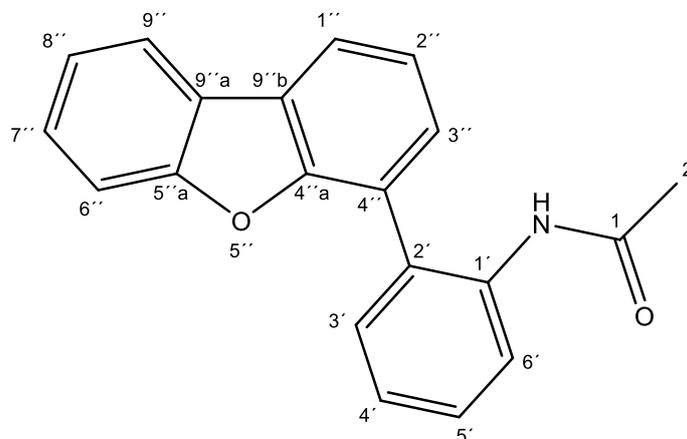
2-(9-Benzyl-9H-carbazol-1-yl)anilin (31)

500 mg (1.49 mmol) 9-Benzyl-1-brom-9H-carbazol (**101**) wurden zusammen mit 368 mg (2.12 mmol) 2-Aminophenylboronsäure (**23**) und 175 mg (0.149 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einem Mikrowellenvial eingewogen und unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurden 6 mL Dioxan zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 5 mL einer 2M Kaliumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend unter Mikrowellenbedingungen bei 120 °C, 100 Watt Leistung und einem zulässigen Maximaldruck von 17 bar über 15 Minuten statt. Das Reaktionsgemisch wurde in 50 mL Wasser aufgenommen und das Gemisch dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:1 – 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 453 mg (1.30 mmol/87 %) oranger Feststoff

Schmelzpunkt: 62 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.24 – 8.19 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.47 – 7.38 (m, 2H, 7'-H, 4'''-H), 7.36 – 7.29 (m, 3H, 3'-H, 6'-H, 8'-H), 7.25 (dd, J = 7.3, 1.3 Hz, 1H, 2'-H), 7.19 (td, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H, 5-H), 7.11 – 7.05 (m, 2H, 3'''-H, 5'''-H), 6.96 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz, 1H, 3-H), 6.69 (dd, J = 8.0, 0.8 Hz, 1H, 6-H), 6.65 (td, J = 7.4, 1.2 Hz, 1H, 4-H), 6.58 (d, J = 6.9 Hz, 2H, 2'''-H, 6'''-H), 5.27 (s, 2H, 1''-H), 3.38 (bs, 2H, 1-NH ₂)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 145.71 (C-1), 142.27(C-8'a), 138.79 (C-1'''), 138.36 (C-9'a), 131.56 (C-3), 129.76 (C-2'), 129.45 (C-5), 128.87 (C-4'''), 128.60 (C-3''', C-5'''), 127.27 (C-3'), 126.61 (C-7'), 126.31 (C-2''', C-6'''), 125.32 (C-2), 124.94 (C-4'a), 123.54 (C-4'b), 122.82 (C-1'), 120.61 (C-5'), 120.30 (C-4'), 120.04 (C 6'), 118.29 (C-4), 115.29 (C-6), 110.11 (C-8'), 47.65 (C-1'')
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3374 (m), 1612 (s), 1501 (m), 1450 (s), 1410 (m), 1337 (m), 1307 (m), 1204 (m), 1127 (s), 1070 (m), 748 (s), 730 (m), 694 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 349 (100) (M + H) ⁺ , 258 (8)
HR-MS (ESI):	m/z = 349.1704 (berechnet für C ₂₅ H ₂₁ N ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 349.1705)
HPLC-Reinheit:	99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

N-[2-(Dibenzofuran-4-yl)phenyl]acetamid (34)

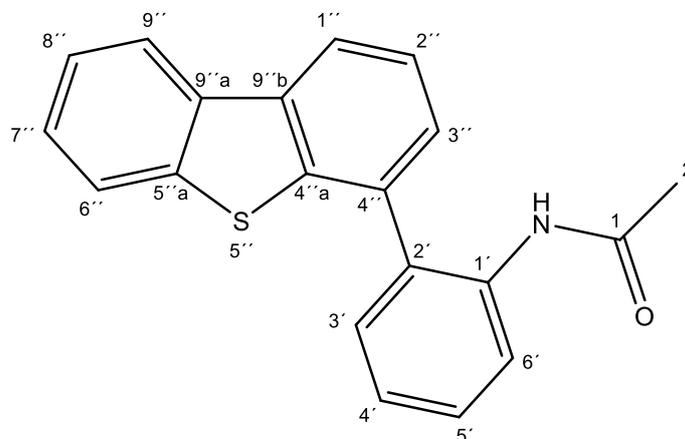
M_r = 301.35 g/mol

200 mg (0.809 mmol) 4-Bromdibenzofuran (**32**) wurden zusammen mit 145 mg (0.810 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 94 mg (0.081 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 10 mL 1,2-Dimethoxyethan und 5 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 4 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über 15 Stunden statt. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 mL Wasser aufgenommen und dann viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde aus Pentan rekristallisiert.

Ausbeute: 126 mg (0.418 mmol/52 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 78 °C

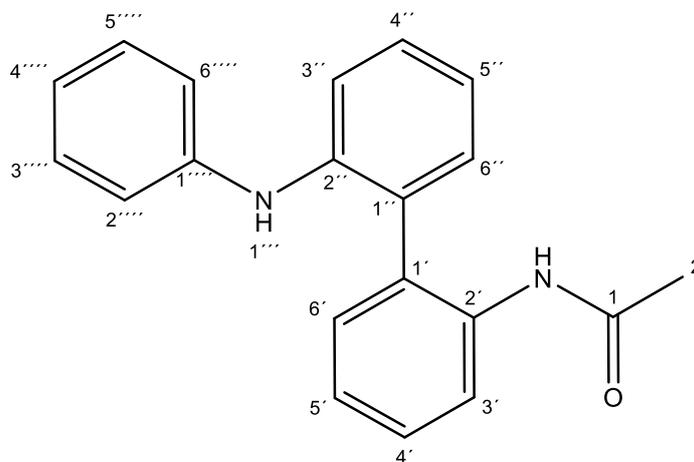
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.18 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 6'-H), 8.10 – 8.00 (m, 2H, 1''-H, 9''-H), 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6''-H), 7.54 – 7.44 (m, 5H, 3'-H, 5'-H, 2''-H, 3''-H, 7''-H), 7.41 (td, J = 7.5, 1.1 Hz, 1H, 8''-H), 7.29 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 4'-H), 7.22 (bs, 1H, 1-NH), 1.82 (s, 3H, 2-H)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 168.76 (C-1), 156.64 (C-5''a), 153.81 (C-4''a), 136.27 (C-1'), 131.53 (C-3'), 129.40 (C-2''), 129.23 (C-3''), 128.39 (C-2'), 128.26 (C-7''), 125.40 (C-4''), 125.16 (C-4'), 124.60 (C-9''a), 124.15 (C-5'), 123.76 (C-8''), 123.51 (C-6'), 122.92 (C-9''b), 121.46 (C-1''), 121.28 (C-9'), 112.27 (C-6''), 24.70 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3260 (m), 1660 (s), 1527 (m), 1447 (s), 1407 (m), 1289 (m), 1197 (s), 847 (m), 750 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 301 (50) [M ⁺], 283 (20), 259 (100), 230 (20), 204 (15)
HR-MS (EI):	m/z = 301.1099 (berechnet für C ₂₀ H ₁₅ NO ₂ : 301.1103)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

N-[2-(Dibenzothiophen-4-yl)phenyl]acetamid (35)C₂₀H₁₅NOSM_r = 317.41 g/mol

462 mg (1.49 mmol) 4-Iododibenzothiophen (**33**) wurden zusammen mit 322 mg (1.80 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 173 mg (0.150 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 15 mL 1,2-Dimethoxyethan und 8 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde 10 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über 16 Stunden statt. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 mL Wasser aufgenommen und dann viermal mit je 60 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/Ethylacetat 9:1 – 1:9) aufgereinigt. Das Produkt wurde aus Pentan rekristallisiert.

Ausbeute: 238 mg (0.750 mmol/50 %) hellbrauner Feststoff
Schmelzpunkt: 79 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.31 (d, J = 8.3 Hz, 1H, 9''-H), 8.30 – 8.21 (m, 2H, 1''-H, 6'-H), 7.86 – 7.82 (m, 1H, 7''-H), 7.63 (dd, J = 7.9, 7.3 Hz, 1H, 2''-H), 7.53 – 7.49 (m, 2H, 5'-H, 6''-H), 7.48 – 7.45 (m, 1H, 8''-H), 7.43 (dd, J = 7.4, 1.2 Hz, 2H, 3'-H, 3''-H), 7.26 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 4'-H), 6.99 (bs, 1H, 1-NH), 1.83 (s, 3H, 2-H)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 168.69 (C-1), 140.61 (C-4''a), 140.04 (C-1'), 136.90 (C-4''), 136.23 (C-5''a), 135.90 (C-9''a), 133.18 (C-9''b), 130.85 (C-2'), 130.46 (C-5'), 129.69 (C-3'), 128.44 (C-3''), 127.70 (C-6''), 125.83 (C-2''), 125.22 (C-9'), 124.82 (C-4'), 123.38 (C-7''), 122.44 (C-6', C-8''), 121.93 (C-1''), 24.91 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3415 (s), 1670 (s), 1637 (m), 1583 (m), 1519 (s), 1438 (s), 1385 (m), 1300 (m), 752 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 317 (40) [M ⁺], 275 (100), 184 (25)
HR-MS (EI):	m/z = 317.0873 (berechnet für C ₂₀ H ₁₅ NOS: 317.0874)
HPLC-Reinheit:	90 % (λ = 210 nm) 97 % (λ = 254 nm)

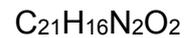
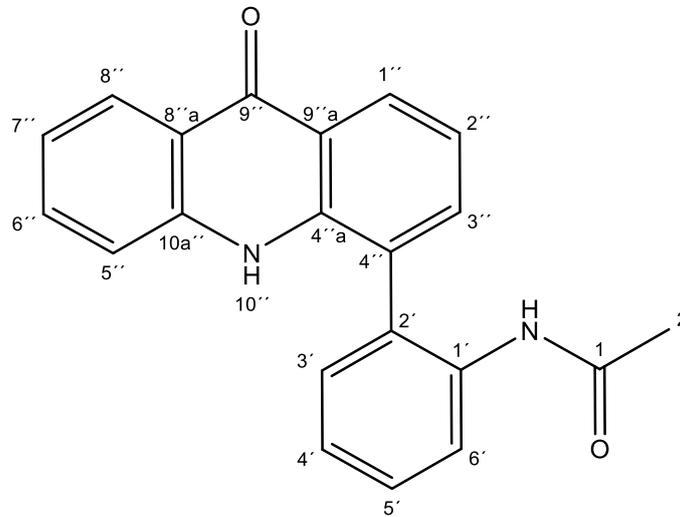
***N*-[2'-(Phenylamino)-(1,1'-biphenyl)-2-yl]acetamid (37)**

$$M_r = 302.38 \text{ g/mol}$$

200 mg (0.884 mmol) *N*-(2'-Amino-[1,1'-biphenyl]-2-yl)acetamid (**41**), 100 μL (0.897 mmol) Iodbenzol, 2 mg (0.002 mmol) Tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0), 4 mg (0.006 mmol) BINAP (2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl) und 119 mg (1.06 mmol) Kalium-*tert*-butanolat wurden in 2 mL Toluol suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde 12 Stunden bei 110°C gerührt. Anschließend wurden 5 mL gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung zugesetzt und viermal mit je 30 mL Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, zweimal mit 20 mL Wasser und einmal mit 20 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt. Das erhaltene Produkt wurde zur weiteren Aufreinigung in 5 mL Ethanol gelöst, mit 500 mg Natriumhydroxid versetzt und 4 Stunden bei 90 °C gerührt. Die Lösung wurde mit 6N Salzsäure neutralisiert und dreimal mit je 30 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:1) aufgereinigt. Das erhaltene primäre Amin wurde in 5 mL Dichlormethan gelöst und mit 100 μL (1.23 mmol) Pyridin versetzt. Die Mischung wurde im Eisbad auf 0 °C gekühlt und dann mit 80 μL (0.85 mmol) Acetanhydrid versetzt. Anschließend wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurde die organische Phase mit 10 mL Wasser, 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische

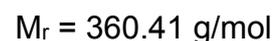
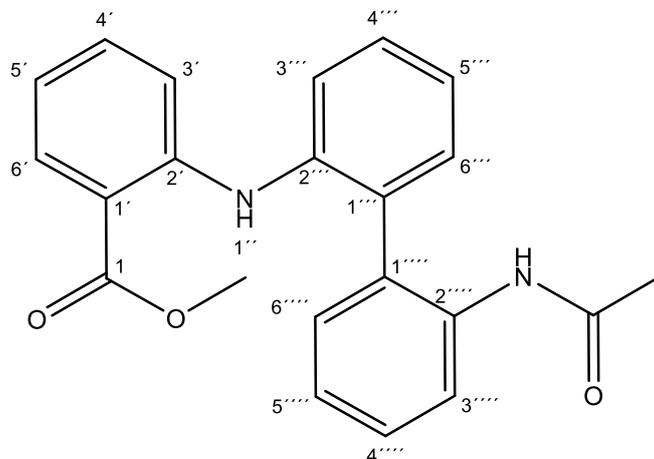
Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute:	82 mg (0.27 mmol/31 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	52 °C	
¹H-NMR (500 MHz, Methanol-d₄):	δ (ppm) = 7.58 (dt, <i>J</i> = 8.0, 0.9 Hz, 1H, 3'-H), 7.41 – 7.33 (m, 2H, 4'-H, 3''-H), 7.31 – 7.25 (m, 3H, 5'-H, 6'-H, 4''-H), 7.20 – 7.12 (m, 3H, 6''-H, 5''''-H, 3''''-H), 7.01 (td, <i>J</i> = 7.5, 1.2 Hz, 1H, 5''-H), 6.99 – 6.94 (m, 2H, 2''''-H, 6''''-H), 6.82 (tt, <i>J</i> = 7.5, 1.1 Hz, 1H, 4''''-H), 1.81 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, Methanol-d₄):	δ (ppm) = 172.44 (C-1), 145.12 (C-1'''''), 142.28 (C-2''), 136.46 (C-1'), 135.57 (C-2'), 132.73 (C-6''), 132.63 (C-4''), 130.67 (C-1''), 130.12 (C-3''''', C-5'''''), 129.61 (C-6'), 129.24 (C-4'), 127.52 (C-5'), 127.30 (C-3'), 122.38 (C-5''), 121.46 (C-4'''''), 119.67 (C-3''), 118.37 (C-2''''', C-6'''''), 22.99 (C-2)	
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3407 (m), 3289 (m), 3045 (m), 3011 (m), 1674 (s), 1593 (s), 1573 (s), 1518 (s), 1498 (s), 1472 (m), 1443 (s), 1306 (s), 1368 (m), 749 (s)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 302 (65) [M ⁺], 243 (100), 167 (55)	
HR-MS (EI):	m/z = 302.1438 (berechnet für C ₂₀ H ₁₈ N ₂ O: 302.1419)	
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)	

N-[2-(9-Oxo-9,10-dihydroacridin-4-yl)phenyl]acetamid (38)

178 mg (0.494 mmol) 2-((2'-Acetamido-[1,1'-biphenyl]-2-yl)amino)benzoesäuremethylester (**43**) und 63 mg (1.5 mmol) Lithiumhydroxid Monohydrat wurden in einer Mischung aus 2 mL Methanol, 2 mL Tetrahydrofuran und 1 mL Wasser gelöst. Das Gemisch wurde 3 Stunden zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 10 mL Wasser versetzt und mit 6N Salzsäure angesäuert. Der entstehende Niederschlag wurde durch Filtration abgetrennt und getrocknet. Zum erhaltenen Rückstand wurde 3 g Polyphosphorsäure gegeben und das Gemisch unter Rühren auf 165 °C erwärmt. Nach 2 Stunden wurden Eis und Natriumhydroxid zugesetzt bis das Gemisch einen pH-Wert von 3-4 erreichte. Das Gemisch wurde dreimal mit je 40 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 3 mL Dichlormethan gelöst, mit 120 µL (1.49 mmol) Pyridin versetzt und auf 0 °C gekühlt. Der Lösung wurden 100 µL (1.06 mmol) Acetanhydrid zugesetzt und anschließend 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde mit 10 mL Wasser, 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute:	91 mg (0.28 mmol/56 %)	hellgelber Feststoff
Schmelzpunkt:	313 °C	
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 9.91 (bs, 1H, 10''-H), 9.15 (bs, 1H, 1-NH), 8.31 (dd, J = 8.0, 1.6 Hz, 1H, 1''-H), 8.23 (dd, J = 8.1, 1.6 Hz, 1H, 8''-H), 7.76 – 7.68 (m, 2H, 3'-H, 5''-H), 7.65 (ddd, J = 8.5, 6.8, 1.6 Hz, 1H, 6''-H), 7.50 (ddd, J = 8.2, 6.4, 2.4 Hz, 1H, 5'-H), 7.45 (dd, J = 7.2, 1.6 Hz, 1H, 3''-H), 7.40 – 7.34 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 7.32 (dd, J = 8.0, 7.2 Hz, 1H, 2''-H), 7.24 (ddd, J = 8.1, 6.8, 1.2 Hz, 1H, 7''-H), 1.69 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 177.00 (C-9''), 168.84 (C-1), 140.92 (C-10''a), 138.71 (C-4''a), 136.46 (C-2'), 135.03 (C-3''), 133.10 (C-6''), 131.41 (C-6'), 131.21 (C-1'), 128.74 (C-5'), 127.53 (C-9''a), 126.56 (C-3'), 125.77 (C-1'', C-8''), 125.62 (C-4'), 121.28 (C-4''), 121.21 (C-7''), 120.80 (C-2''), 120.22 (C-8''a), 118.38 (C-5''), 22.91 (C-2)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3274 (m), 2412 (m), 1688 (s), 1628 (s), 1618 (s), 1608 (s), 1596 (s), 1584 (s), 1525 (m), 1435 (m), 1388 (m), 1288 (m), 755 (s)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 328 (15) [M ⁺], 286 (100), 268 (40), 162 (25)	
HR-MS (EI):	m/z = 328.1220 (berechnet für C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₂ : 328.1212)	
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 96 % (λ = 254 nm)	

2-[(2'-Acetamido-[1,1'-biphenyl]-2-yl)amino]benzoesäuremethylester (**43**)

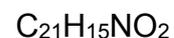
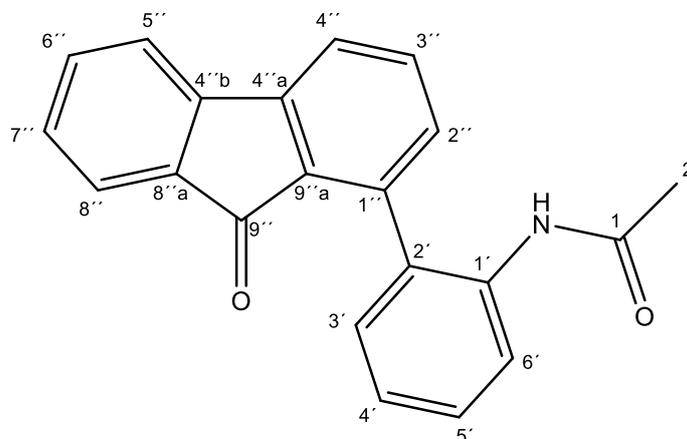
400 mg (1.77 mmol) *N*-(2'-Amino-[1,1'-biphenyl]-2-yl)acetamid (**41**), 265 μ L (1.80 mmol) 2-Iodbenzoesäuremethylester, 3.5 mg (0.0038 mmol) Tris(dibenzylidenaceton)dipalladium(0), 6.6 mg (0.011 mmol) BINAP (2,2'-Bis(diphenylphosphin)-1,1'-binaphthyl) und 242 mg (2.16 mmol) Kalium-*tert*-butanolat wurden in 4 mL Toluol unter Stickstoffatmosphäre suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde 12 Stunden bei 110 °C gerührt. Das Gemisch wurde dann in 20 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung aufgenommen und das Gemisch dreimal mit je 50 mL Diethylether und zweimal mit je 40 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 89 mg (0.25 mmol/14 %) hellorangener Feststoff

Schmelzpunkt: 71 °C

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.96 (bs, 1H, 2''''-NH), 8.20 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 3''''-H), 7.90 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 7.55 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, 6'''-H), 7.43 – 7.34 (m, 2H, 5'''-H, 4''''-H), 7.34 – 7.28 (m, 3H, 3'-H, 4'-H, 6''''-H), 7.25 – 7.17 (m, 3H, 3'''-H, 4'''-H, 5''''-H), 7.09 (bs, 1H, 1''-H), 6.78 – 6.73 (m, 1H, 5'-H), 3.73 (s, 3H, O-CH₃), 1.81 (s, 3H, C-CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CDCl_3):	δ (ppm) = 168.24 (C-1), 168.22 (C- <u>C</u> H ₃), 146.72 (C-2'), 139.10 (C-2'''), 135.56 (C-1'''), 133.95 (C-4'), 132.18 (C-6', C-6'''), 131.16 (C-2''), 130.85 (C-3'''), 129.20 (C-1''), 129.17 (C-4'''), 128.92 (C-5'''), 124.67 (C-5'''), 124.03 (C-4''), 121.95 (C-6''), 121.64 (C-3'''), 118.24 (C-5'), 113.88 (C-3'), 113.60 (C-1'), 51.93 (O-CH ₃), 24.55 (C- <u>C</u> H ₃)
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3054 (s), 2987 (m), 2306(m), 1692 (s), 1583 (m), 1520 (s), 1444 (s), 1264 (s), 1085 (m), 896 (m), 750 (s), 705 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 360 (100) [M ⁺], 301 (45), 285 (60), 167 (50)
HR-MS (EI):	m/z = 360.1466 (berechnet für C ₂₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ : 360.1474)

N-[2-(9-Oxo-9H-fluoren-1-yl)phenyl]acetamid (45)

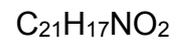
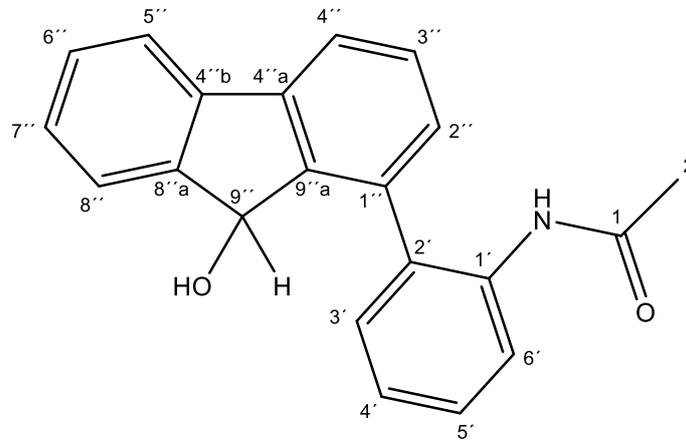
102 mg (0.334 mmol) 1-Iod-9H-fluoren-9-on (**49**) wurden zusammen mit 60 mg (0.33 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 40 mg (0.035 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in 3 mL 1,2-Dimethoxyethan und 2 mL Ethanol gelöst. Das Gemisch wurde 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt und anschließend mit 1 mL 2 M Natriumcarbonat-Lösung versetzt. Das Gemisch wurde weitere 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt und anschließend 12 Stunden bei 70 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 50 mL Wasser zugesetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 40 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 3:7) aufgereinigt.

Ausbeute: 83 mg (0.26 mmol/79 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 176 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 7.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 7.65 – 7.60 (m, 2H, 4''-H, 6''-H), 7.56 (ddd, *J* = 17.2, 8.4, 6.9 Hz, 3H, 3''-H, 5''-H, 8''-H), 7.43 (dt, *J* = 8.6, 4.7 Hz, 1H, 5'-H), 7.38 – 7.30 (m, 1H, 7''-H), 7.24 (d, *J* = 4.5 Hz, 2H, 4'-H, 3'-H), 7.15 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, 2''-H), 7.00 (bs, 1H, 1-NH), 1.86 (s, 3H, 2-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 193.7 (C-9''), 168.7 (C-1), 145.9 (C-4''a), 144.2 (C-4''b), 137.8 (C-8''a), 136.1 (C-1'), 135.4 (C-3''), 135.4 (C-5''), 134.5 (C-2'), 132.6 (C-2''), 131.2 (C-9''a), 131.1 (C-1''), 130.6 (C-3'), 129.9 (C-7''), 129.3 (C-5'), 125.1 (C-4'), 124.6 (C-8''), 123.8 (C-6'), 120.9 (C-6''), 120.8 (C-4''), 24.5 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3358 (s), 1710 (s), 1681 (s), 1608 (m), 1589 (m), 1530 (m), 1298 (m), 1287 (m), 917 (m), 751 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 313 (24) [M^+], 254 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 313.1099 (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{NO}_2$: 313.1103)
HPLC-Reinheit:	>99 % ($\lambda = 210$ nm) 99 % ($\lambda = 254$ nm)

***N*-[2-(9-Hydroxy-9*H*-fluoren-1-yl)phenyl]acetamid (**46**)**

Variante A:

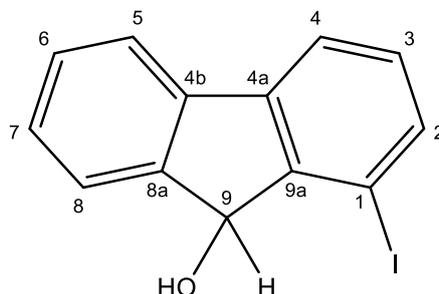
54 mg (0.17 mmol) *N*-(2-(9-Oxo-9*H*-fluoren-1-yl)phenyl)acetamid (**45**) wurden in 1 mL Tetrahydrofuran gelöst und anschließend 36 mg (0.94 mmol) Natriumborhydrid zugegeben. Das Gemisch wurde 3 Stunden bei 75 °C gerührt. Dann wurde 1 mL Wasser zugegeben. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 15 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde nicht weiter aufgereinigt, dass die Reaktion das gewünschte Produkt lieferte, konnte mittels GC-MS nachgewiesen werden.

Variante B:

156 mg (0.508 mmol) 1-Iod-9*H*-fluoren-9-ol (**50**) wurden zusammen mit 92 mg (0.51 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 60 mg (0.052 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in 6 mL 1,2-Dimethoxyethan und 3 mL Ethanol gelöst. Das Gemisch wurde 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt und anschließend mit 2 mL 2M Natriumcarbonat-Lösung versetzt. Die Mischung wurde weitere 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt und dann 12 Stunden bei 70 °C gerührt. Dann wurden 70 mL Wasser zugegeben. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 40 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen

wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 3:7) aufgereinigt.

Ausbeute:	28 mg (0.089 mmol/18 %)	weißer Feststoff
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.27 (bs, 1H, 1-NH), 7.81 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, 4'-H), 7.72 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 2H, 2''-H, 6'-H), 7.53 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1H, 8''-H), 7.49 – 7.35 (m, 4H, 4''-H, 6''-H, 5'-H, 3'-H), 7.32 (td, <i>J</i> = 7.4 Hz, 1.1 Hz, 2H, 5''-H, 7''-H), 7.09 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H, 3''-H), 5.67 (s, 1H, 9''-H), 3.19 (bs, 1H, 9''-OH), 1.82 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 169.0 (C-1), 146.6 (C-8''a), 144.5 (C-1'), 141.7 (C-4''a), 140.2 (C-4''b), 137.0 (C-1''), 135.8 (C-9''a), 134.5 (C-2'), 129.9 (C-6''), 129.8 (C-4''), 129.5 (C-3''), 129.2 (C-5'), 129.1 (C-2''), 128.6 (C-7''), 126.1 (C-3'), 125.6 (C-8''), 124.7 (C-4'), 120.6 (C-5''), 120.2 (C-6'), 74.3 (C-9''), 24.2 (C-2)	
IR (KBr):	ν̃ (cm ⁻¹) = 3424 (s), 1655 (m), 1637 (m), 1522 (m), 1443 (m), 1368 (m), 1235 (m), 1024 (m), 759 (s)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 315 (20) [M ⁺], 272 (30), 254 (100)	
HR-MS (EI):	m/z = 315.1246 (berechnet für C ₂₁ H ₁₇ NO ₂ : 315.1259)	
HPLC-Reinheit:	99 % (λ = 210 nm) 98 % (λ = 254 nm)	

1-Iod-9*H*-fluoren-9-ol (50)C₁₃H₉IM_r = 308.12 g/mol

236 mg (0.769 mmol) 1-Iod-9*H*-fluoren-9-on (**49**) wurden in 5 mL Tetrahydrofuran gelöst und anschließend mit 160 mg (4.21 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Das Gemisch wurde 2 Stunden bei 75 °C gerührt. Anschließend wurden 5 mL Wasser zugegeben. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 15 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:9) aufgereinigt.

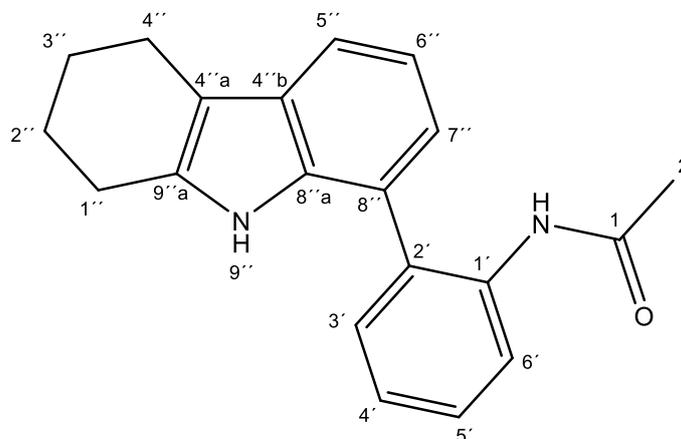
Ausbeute:	133 mg (0.432 mmol/56 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	115 °C	
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 7.70 – 7.65 (m, 3H, 4-H, 5-H, 8-H), 7.65 – 7.63 (m, 1H, 2-H), 7.43 (td, J = 7.5 Hz, 1.3 Hz, 1H, 6-H), 7.37 (td, J = 7.4 Hz, 1.2 Hz, 1H, 7-H), 7.13 (t, J = 7.7 Hz, 1H, 3-H), 5.52 (d, J = 6.7 Hz, 1H 9-H), 2.66 (d, J = 6.8 Hz, 1H, 9-OH)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 148.4 (C-9a), 145.2 (C-8a), 142.8 (C-4b), 139.7 (C-4a), 137.7 (C-4), 131.4 (C-3), 129.8 (C-5), 129.0 (C-7), 125.9 (C-2), 120.8 (C-8), 120.4 (C-6), 93.6 (C-1), 77.8 (C-9)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3423 (s), 3290 (m), 2363 (m), 1636 (m), 1560 (m), 1438 (m), 1307 (m), 1192 (m), 1172 (m), 1028 (s), 755 (s)	

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 308 (49) [M⁺], 181 (100), 152 (44)

HR-MS (EI): m/z = 307.9688 (berechnet für C₁₃H₉O: 307.9698)

HPLC-Reinheit: 98 % (λ = 210 nm)

88 % (λ = 254 nm)

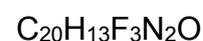
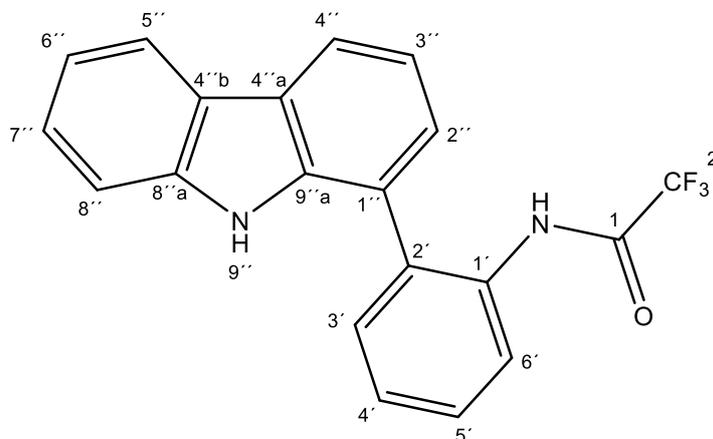
N-[2-(5,6,7,8-Tetrahydro-9H-carbazol-1-yl)phenyl]acetamid (51)

143 mg (0.572 mmol) 8-Brom-1,2,3,4-tetrahydro-1*H*-carbazol (**22**) wurden zusammen mit 102 mg (0.570 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 66 mg (0.057 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einem Mikrowellenvial eingewogen und unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 6 mL 1,2-Dimethoxyethan und 4 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2.5 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend unter Mikrowellenbedingungen bei 80 °C, 150 Watt Leistung und einem zulässigen Maximaldruck von 10 bar über 15 Minuten statt. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 mL Wasser aufgenommen und dann dreimal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 70 mg (0.23 mmol/40 %) hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 185 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.29 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 7.74 (bs, 1H, 1-NH), 7.50 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 5''-H), 7.44 – 7.35 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.23 (td, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H, 4'-H), 7.20 – 7.13 (m, 2H, 6''-H, 9''-H), 7.03 (dd, J = 7.3, 1.1 Hz, 1H, 7''-H), 2.72 (t, J = 4.9 Hz, 2H, 3''-H), 2.66 (t, J = 5.5 Hz, 2H, 2''-H), 1.94 – 1.85 (m, 4H, 4''-H, 1''-H), 1.85 (s, 3H, 2-H)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 169.12 (C-1), 136.24 (C-1'), 135.71 (C-9''a), 134.41 (C-8''a), 130.88 (C-3'), 129.55 (C-2'), 129.01 (C-4''b), 128.94 (C-5'), 124.89 (C-4'), 122.34 (C-6'), 122.04 (C-7''), 120.51 (C-8''), 119.95 (C-6''), 118.30 (C-5''), 110.93 (C-4''a), 24.83 (C-2), 23.79 (C-4''), 23.66 (C-1''), 23.59 (C-2''), 21.46 (C-3'')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3403 (m), 3313 (m), 2931 (m), 2850 (m), 1686 (s), 1583 (m), 1522 (s), 1445 (s), 1366 (m), 1304 (s), 791 (m), 756 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 304 (100) [M ⁺], 261 (51), 234 (67), 219 (18), 43 (19)
HR-MS (EI):	m/z = 304.1564 (berechnet für C ₂₀ H ₂₀ N ₂ O: 304.1576)
HPLC-Reinheit:	95 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]-2,2,2-trifluoracetamid (53)**

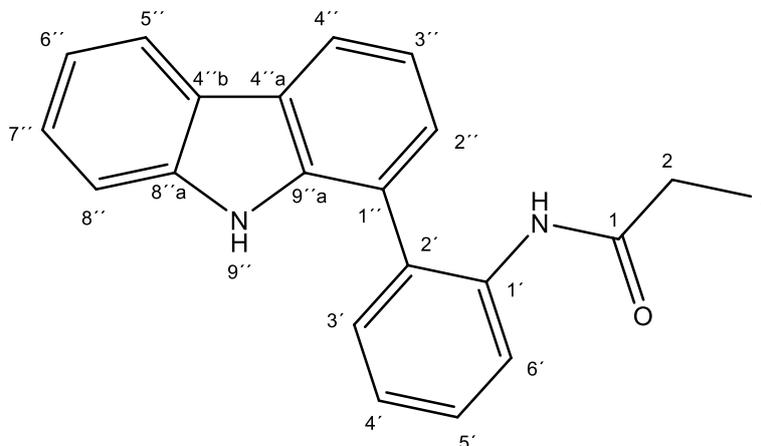
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 35 µL (0.43 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 56 µL (0.40 mmol) Trifluoressigsäureanhydrid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 15 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 90 mg (0.25 mmol/66 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 162 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.35 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 6'-H), 8.20 (ddd, *J* = 7.0, 2.0, 0.7 Hz, 1H, 4''-H), 8.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5''-H), 8.06 (bs, 1H, 1-NH), 8.02 (bs, 1H, 9''-H), 7.60 – 7.55 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.48 – 7.35 (m, 5H, 4'-H, 2''-H, 3''-H, 7''-H, 8''-H), 7.28 (ddd, *J* = 8.0, 6.6, 1.5 Hz, 1H, 6''-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 155.24 (q, $J = 37.3$ Hz, C-1), 140.16 (C-8''a), 138.25 (C-9''a), 133.50 (C-2'), 131.22 (C-3'), 130.07 (C-1'), 129.81 (C-5'), 127.25 (C-4'), 127.04 (C-7''), 126.74 (C-2''), 124.78 (C-4''a), 123.69 (C-4''b), 122.53 (C-6'), 121.45 (C-4''), 121.03 (C-5''), 120.56 (C-3''), 120.50 (C-6''), 119.35 (C-1''), 114.58 (C-2), 111.41 (C-8'')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3381 (s), 1720 (s), 1585 (m), 1544 (m), 1457 (m), 1418 (m), 1320 (m), 1274 (m), 1234 (m), 1201 (m), 1160 (s), 754 (s), 736 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 355 (22) [M^+], 354 (100) [M^+], 285 (25), 284 (11), 257 (16), 256 (34), 255 (22)
HR-MS (EI):	$m/z = 354.0965$ (berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$: 354.0980)
HPLC-Reinheit:	>99 % ($\lambda = 210$ nm) >99 % ($\lambda = 254$ nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]propionsäureamid (54)

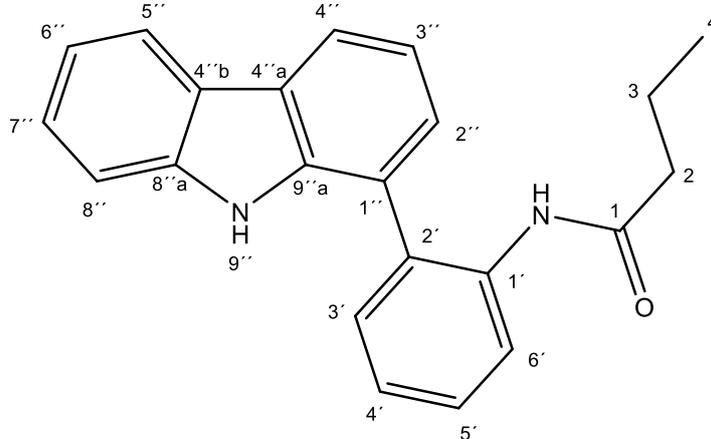
Eine Lösung von 50 mg (0.19 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 18 µL (0.22 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 18 µL (0.21 mmol) Propionylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde zweimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natrihydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 46 mg (0.15 mmol/76 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 166 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.38 (bs, 1H, 9''-H), 8.28 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 3'-H), 8.16 (ddd, *J* = 6.8, 2.2, 0.7 Hz, 1H, 4''-H), 8.13 (dd, *J* = 7.8, 0.8 Hz, 1H, 5''-H), 7.48 – 7.43 (m, 2H, 4'-H, 7''-H), 7.43 – 7.39 (m, 2H, 6'-H, 8''-H), 7.39 – 7.34 (m, 2H, 2''-H, 3''-H), 7.29 (td, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 1H, 5'-H), 7.26 (ddd, *J* = 8.0, 5.7, 2.4 Hz, 1H, 6''-H), 7.11 (bs, 1H, 1-NH), 2.06 – 1.88 (m, 2H, 2-H), 0.81 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H, 3-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 173.02 (C-1), 140.19 (C-8''a), 138.29 (C-9''a), 136.19 (C-2'), 131.16 (C-4'), 129.59 (C-1'), 129.33 (C-6'), 127.21 (C-2''), 126.76 (C-7''), 125.27 (C-5'), 124.17 (C-4''a), 123.65 (C-4''b), 123.01 (C-3'), 121.03 (C-1''), 120.88 (C-5''), 120.79 (C-4''), 120.32 (C-3''), 120.14 (C-6''), 111.40 (C-8''), 30.98 (C-2), 9.56 (C-3)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3405 (m), 3288 (m), 1682 (s), 1581 (m), 1519 (s), 1496 (m), 1454 (s), 1446 (s), 1319 (m), 1235 (m), 753 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 314 (70) [M^+], 258 (100), 129 (20)
HR-MS (EI):	m/z = 314.1424 (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$: 314.1419)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) 96 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]butansäureamid (55)M_r = 328.42 g/mol

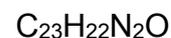
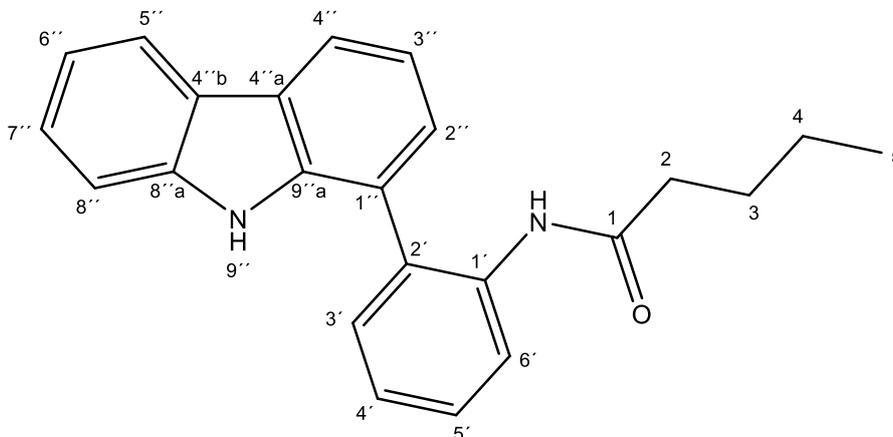
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 µL (0.446 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 43 µL (0.416 mmol) Butansäurechlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 67 mg (0.20 mmol/51 %) hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 145 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, 6'-H), 8.25 (bs, 1H, 9-H), 8.16 (dd, *J* = 6.1, 2.8 Hz, 1H, 4''-H), 8.13 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5''-H), 7.51 – 7.43 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 – 7.38 (m, 2H, 7''-H, 8''-H), 7.38 – 7.33 (m, 2H, 2''-H, 3''-H), 7.29 (t, *J* = 9.2, 7.4 Hz, 1H, 4'-H), 7.24 (dd, *J* = 6.4, 1.5 Hz, 1H, 6''-H), 7.07 (bs, 1H, 1-NH), 2.03 – 1.85 (m, 2H, 2-H), 1.41 – 1.30 (m, 2H, 3-H), 0.69 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 4-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 172.24 (C-1), 140.21 (C-8''a), 138.39 (C-9''-a), 136.30 (C-1'), 131.15 (C-3'), 129.64 (C-2'), 129.38 (C-5'), 127.17 (C-2''), 126.80 (C-7''), 125.31 (C-4'), 124.26 (C-4''a), 123.73 (C-4''b), 123.14 (C-6'), 121.10 (C-1''), 120.91 (C-5''), 120.83 (C-4''), 120.38 (C-3''), 120.21 (C-6''), 111.43 (C-8''), 39.86 (C-2), 19.22 (C-3), 13.76 (C-4)
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3409 (m), 3009 (m), 1681 (m), 1519 (s), 1497 (m), 1455 (m), 1447 (s), 1418 (m), 1320 (m), 1237 (m), 1216 (s), 1052 (m), 1028 (m), 752 (s), 666 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 329 (100) (M + H) ⁺ , 259 (90)
HR-MS (ESI):	m/z = 329.1654 (berechnet für C ₂₂ H ₂₁ N ₂ O ⁺ [M + H] ⁺ : 329.1654)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]pentansäureamid (56)**

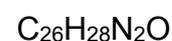
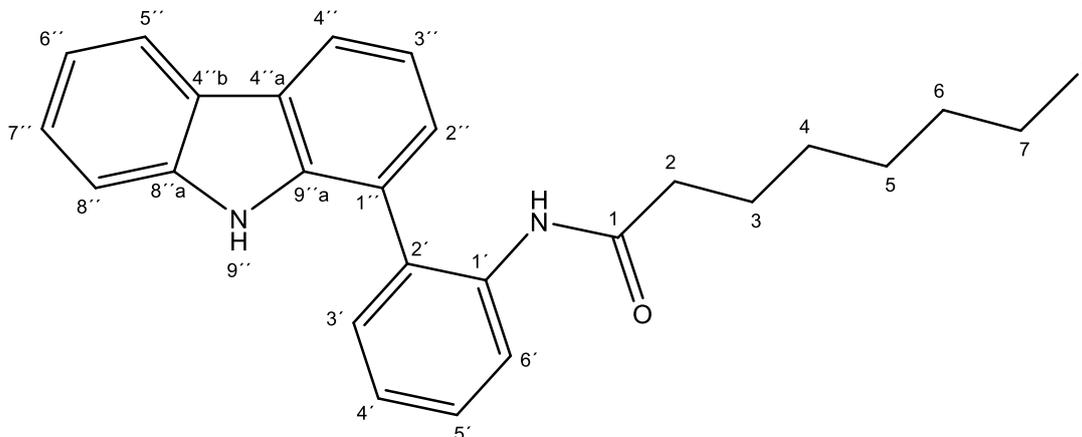
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 34 µL (0.42 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 49 µL (0.40 mmol) Valeriansäurechlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 15 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 109 mg (0.32 mmol/82 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 156 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.57 (bs, 1H, 9''-H), 8.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 8.17 (dd, *J* = 5.9, 3.1 Hz, 1H, 4''-H), 8.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5''-H), 7.48 – 7.34 (m, 6H, 3'-H, 5'-H, 2''-H, 3''-H, 7''-H, 8''-H), 7.31 – 7.24 (m, 2H, 4'-H, 6''-H), 7.15 (bs, 1H, 1-NH), 1.99 – 1.85 (m, 2H, 2-H), 1.30 – 1.09 (m, 2H, 3-H), 1.01 (h, *J* = 7.5 Hz, 2H, 4-H), 0.60 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, 5-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 172.41 (C-1), 140.29 (C-8''a), 138.29 (C-9''a), 136.25 (C-1'), 131.18 (C-3'), 129.64 (C-2'), 129.28 (C-5'), 127.24 (C-2''), 126.73 (C-7''), 125.22 (C-4'), 124.18 (C-4''a), 123.66 (C-4''b), 122.90 (C-6'), 121.07 (C-1''), 120.85 (C-5''), 120.78 (C-4''), 120.28 (C-3''), 120.10 (C-6''), 111.50 (C-8''), 37.73 (C-2), 27.83 (C-3), 22.56 (C-4), 13.83 (C-5)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3395 (m), 3285 (s), 2955 (m), 1687 (s), 1677 (s), 1581 (s), 1518 (s), 1498 (m), 1445 (s), 1420 (m), 1407 (m), 1321 (m), 1299 (m), 1241 (m), 1219 (m), 755 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 342 (55) [M ⁺], 258 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 342.1734 (berechnet für C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O: 342.1732)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]octansäureamid (57)

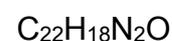
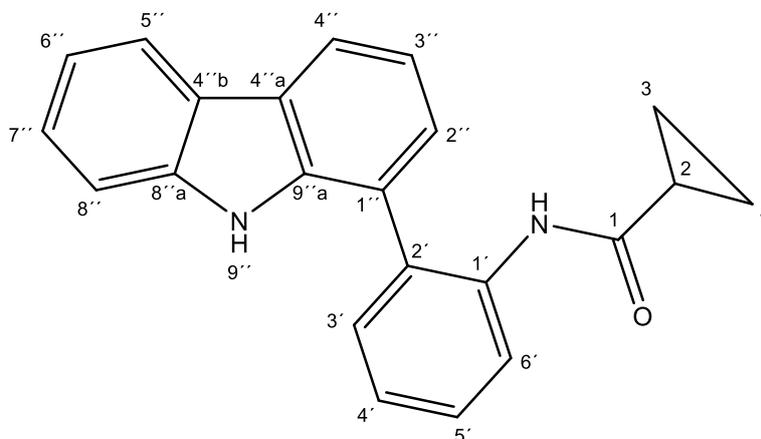
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (20) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 μ L (0.45 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 72 μ L (0.42 mmol) Octanoylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 122 mg (0.317 mmol/79 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 102 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.32 – 8.22 (m, 2H, 6'-H, 9''-H), 8.16 (dd, *J* = 6.1, 2.9 Hz, 1H, 4''-H), 8.12 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, 5''-H), 7.51 – 7.42 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.42 – 7.33 (m, 4H, 2''-H, 3''-H, 7''-H, 8''-H), 7.30 (td, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 1H, 4'-H), 7.25 (ddd, *J* = 8.0, 6.3, 1.9 Hz, 1H, 6''-H), 7.07 (bs, 1H, 1-NH), 2.05 – 1.85 (m, 2H, 2-H), 1.32 – 1.19 (m, 2H, 3-H), 1.19 – 1.10 (m, 2H, 7-H), 1.07 – 0.91 (m, 6H, 4-H, 5-H, 6-H), 0.81 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H, 8-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 172.46 (C-1), 140.22 (C-8''a), 138.37 (C-9''a), 136.28 (C-1'), 131.16 (C-3'), 129.74 (C-2'), 129.37 (C-5'), 127.16 (C-2''), 126.82 (C-7''), 125.34 (C-4'), 124.24 (C-4''a), 123.73 (C-4''b), 123.20 (C-6'), 121.13 (C-1''), 120.91 (C-5''), 120.82 (C-4''), 120.36 (C-3''), 120.23 (C-6''), 111.45 (C-8''), 38.13 (C-2), 32.01 (C-6), 29.46 (C-5), 29.34 (C-4), 25.88 (C-3), 23.10 (C-7), 14.35 (C-8)
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3407 (m), 3300 (m), 2926 (s), 2855 (m), 2360 (m), 2341 (m), 1677 (m), 1581 (m), 1520 (s), 1454 (s), 1446 (s), 1319 (m), 1236 (m), 752 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 385 (100) ($\text{M} + \text{H}$) ⁺ , 259 (35)
HR-MS (ESI):	m/z = 385.2281 (berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}^+$ [$\text{M} + \text{H}$] ⁺ : 385.2280)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]cyclopropancarboxamid (58)M_r = 326.40 g/mol

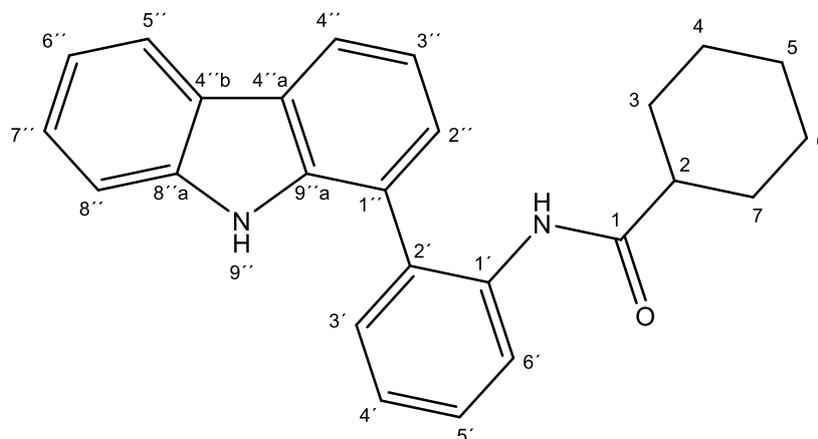
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 µL (0.45 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 38 µL (0.42 mmol) Cyclopropancarbonsäurechlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde zweimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 118 mg (0.362 mmol/93 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 155 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.33 (bs, 1H, 9''-H), 8.24 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, 6'-H), 8.16 (dt, *J* = 7.5, 0.9 Hz, 1H, 4''-H), 8.13 (dd, *J* = 7.9, 0.7 Hz, 1H, 5''-H), 7.47 – 7.43 (m, 2H, 5'-H, 7''-H), 7.43 – 7.39 (m, 3H, 3'-H, 2''-H, 8''-H), 7.37 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, 3''-H), 7.33 (bs, 1H, 1-NH), 7.29 (td, *J* = 7.4, 1.2 Hz, 1H, 4'-H), 7.26 (ddd, *J* = 8.0, 6.6, 1.5 Hz, 1H, 6''-H), 1.13 – 0.95 (m, 1H, 2-H), 0.96 – 0.43 (m, 4H, 3-H, 4-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 173.09 (C-1), 140.19 (C-8''a), 138.38 (C-9''a), 136.31 (C-1'), 131.20 (C-5'), 129.59 (C-2'), 129.33 (C-3'), 127.21 (C-2''), 126.74 (C-7''), 125.27 (C-4'), 124.19 (C-4''a), 123.65 (C-4''b), 123.29 (C-6'), 121.15 (C-1''), 120.85 (C-4''), 120.75 (C-5''), 120.34 (C-3''), 120.11 (C-6''), 111.40 (C-8''), 15.86 (C-2), 8.15 (C-3, C-4)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3398 (m), 3389 (m), 3289 (m), 1676 (s), 1582 (m), 1522 (s), 1497 (m), 1443 (s), 1419 (m), 1319 (m), 1300 (m), 1237 (m), 956 (m), 755 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 326 (80) [M^+], 258 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 326.1427 (berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$: 326.1419)
HPLC-Reinheit:	96 % ($\lambda = 210$ nm) 96 % ($\lambda = 254$ nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]cyclohexancarboxamid (59)M_r = 368.48 g/mol

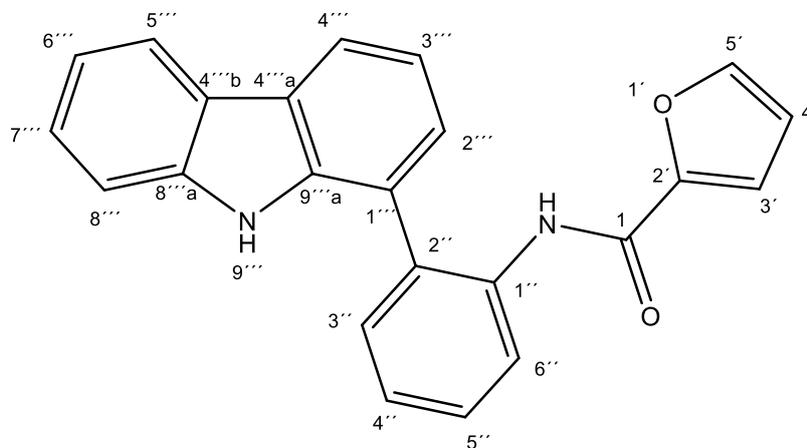
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 34 μ L (0.42 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 54 μ L (0.40 mmol) Cyclohexancarbonsäurechlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 15 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 113 mg (0.307 mmol/79 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 150 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.50 (bs, 1H, 9''-H), 8.26 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 8.17 (dd, J = 6.1, 2.8 Hz, 1H, 4''-H), 8.14 (d, J = 7.9 Hz, 1H, 5''-H), 7.51 – 7.32 (m, 6H, 3'-H, 5'-H, 2''-H, 3''-H, 7''-H, 8''-H), 7.34 – 7.21 (m, 2H, 4'-H, 6''-H), 7.20 (bs, 1H, 1-NH), 1.81 (tt, J = 11.5, 3.5 Hz, 1H, 2-H), 1.65 – 1.29 (m, 5H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H), 1.18 – 0.88 (m, 5H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 7-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 175.25 (C-1), 140.21 (C-8''a), 138.28 (C-9''a), 136.25 (C-1'), 131.12 (C-3'), 129.94 (C-2'), 129.27 (C-5'), 127.20 (C-2''), 126.71 (C-7''), 125.29 (C-4'), 124.16 (C-4''a), 123.61 (C-4''b), 123.28 (C-6'), 121.11 (C-1''), 120.84 (C-5''), 120.75 (C-4''), 120.23 (C-3''), 120.06 (C-6''), 111.46 (C-8''), 46.30 (C-2), 29.66 (C-3), 29.64 (C-7), 25.99 (C-5), 25.87 (C-4), 25.82 (C-6)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3401 (s), 3278 (m), 2928 (m), 1629 (s), 1517 (m), 1446 (m), 1414 (m), 1319 (m), 1232 (m), 1232 (m), 747 (s), 735 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 368 (50) [M^+], 258 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 368.1866 (berechnet für $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$: 368.1889)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]furan-2-carboxamid (60)**C₂₃H₁₆N₂O₂M_r = 352.39 g/mol

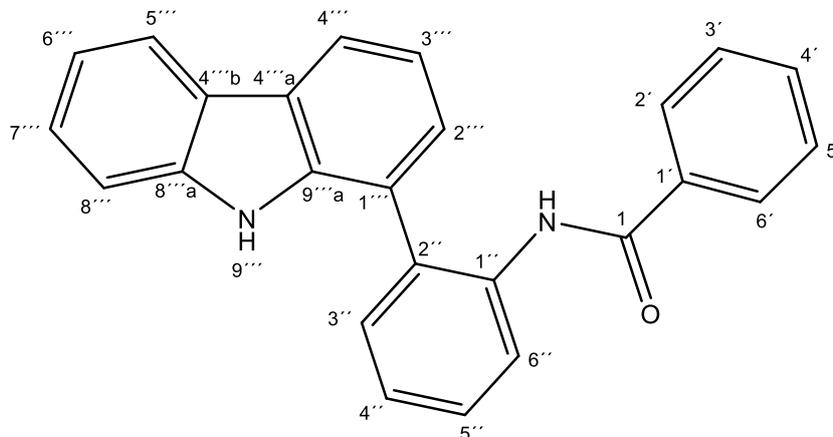
Eine Lösung von 50 mg (0.19 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 18 µL (0.22 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 21 µL (0.21 mmol) 2-Furoylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 45 mg (0.13 mmol/64 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 173 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.53 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, 6''-H), 8.25 (bs, 1H, 1-NH), 8.21 – 8.16 (m, 2H, 4'''-H, 9'''-NH), 8.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5'''-H), 7.54 – 7.47 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.45 – 7.35 (m, 4H, 2'''-H, 3'''-H, 7'''-H, 8'''-H), 7.32 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, 4''-H), 7.25 (ddd, *J* = 8.1, 6.5, 1.7 Hz, 1H, 6'''-H), 7.12 (dd, *J* = 1.7, 0.8 Hz, 1H, 5'-H), 6.97 (dd, *J* = 3.5, 0.8 Hz, 1H, 3'-H), 6.36 (dd, *J* = 3.5, 1.8 Hz, 1H, 4'-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 156.60 (C-1), 148.19 (C-2'), 144.96 (C-5'), 140.18 (C-8'''a), 138.45 (C-9'''a), 135.94 (C-1''), 131.00 (C-3''), 129.54 (C-5''), 129.04 (C-2''), 127.11 (C-2'''), 126.76 (C-7'''), 125.22 (C-4'), 124.46 (C-4'''a), 123.72 (C-4'''b), 121.98 (C-6''), 120.97 (C-4'''), 120.91 (C-5'''), 120.59 (C-1'''), 120.40 (C-3'''), 120.18 (C-6'''), 115.21 (C-3'), 112.65 (C-4'), 111.37 (C-8''')
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3386 (m), 1672 (m), 1583 (s), 1528 (s), 1449 (s), 1318 (m), 1109 (m), 751 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 353 (100) (M + H) ⁺
HR-MS (ESI):	m/z = 353.1291 (berechnet für C ₂₃ H ₁₇ N ₂ O ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 353.1290)
HPLC-Reinheit:	94 % (λ = 210 nm) 97 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]benzamid (61)C₂₅H₁₈N₂OM_r = 362.43 g/mol

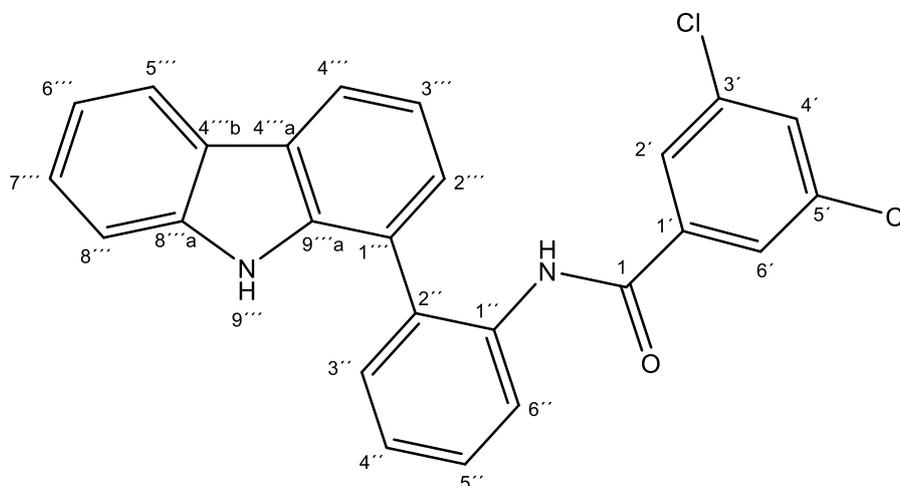
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 µL (0.45 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 48 µL (0.42 mmol) Benzoylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 82 mg (0.23 mmol/57 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 210 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.55 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, 6''-H), 8.31 (bs, 1H, 9'''-H), 8.19 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, 4'''-H), 8.13 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5'''-H), 7.95 (bs, 1H, 1-NH), 7.57 – 7.49 (m, 2H, 3''-H, 5''-H), 7.45 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, 2''-H), 7.43 – 7.35 (m, 4H, 4'-H, 3'''-H, 7'''-H, 8'''-H), 7.35 – 7.29 (m, 3H, 2'-H, 6'-H, 4''-H), 7.25 (ddd, *J* = 7.9, 6.0, 2.0 Hz, 1H, 6'''-H), 7.19 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, 3'-H, 5'-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 165.97 (C-1), 140.22 (C-8'''a), 138.38 (C-9'''a), 136.44 (C-1''), 135.15 (C-1'), 132.20 (C-4'), 131.03 (C-5''), 129.62 (C-3''), 129.46 (C-2''), 129.10 (C-3', C-5'), 127.15 (C-2', C-6', C-2'''), 126.90 (C-7'''), 125.40 (C-4'), 124.49 (C-4'''a), 123.72 (C-4'''b), 122.41 (C-6''), 121.08 (C-4'''), 120.98 (C-5'''), 120.86 (C-1'''), 120.52 (C-3'''), 120.31 (C-6'''), 111.41 (C-8''')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3405 (m), 3277 (s), 1662 (s), 1583 (m), 1528 (s), 1498 (m), 1450 (s), 1418 (m), 1314 (m), 1241 (m), 759 (s), 753 (s), 682 (m), 583 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 361 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 361.1347 (berechnet für C ₂₅ H ₁₇ N ₂ O ⁻ [M - H] ⁻ : 361.1341)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) 98 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]-3,5-dichlorbenzamid (62)C₂₅H₁₆Cl₂N₂OM_r = 431.32 g/mol

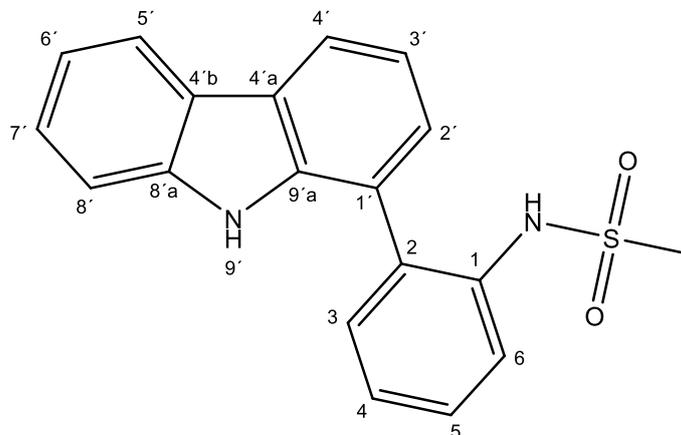
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 μ L (0.45 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 60 μ L (0.42 mmol) 3,5-Dichlorbenzoylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 59 mg (0.14 mmol/41 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 265 °C

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 10.85 (bs, 1H, 9'''-H), 9.89 (bs, 1H, 1-NH), 8.14 – 8.06 (m, 2H, 4'''-H, 5'''-H), 7.79 – 7.67 (m, 2H, 5''-H, 6''-H), 7.61 (dd, *J* = 7.5, 1.8 Hz, 1H, 3''-H), 7.56 – 7.43 (m, 5H, 2'-H, 4'-H, 6'-H, 4''-H, 8'''-H), 7.36 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, 7'''-H), 7.29 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, 2'''-H), 7.20 – 7.12 (m, 2H, 3'''-H, 6'''-H)

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 163.09 (C-1), 140.15 (C-8'''a), 137.89 (C-9'''a), 137.46 (C-1'), 135.19 (C-1''), 134.36 (C-2''), 134.11 (C-3', C-5'), 130.76 (C-3'''), 130.65 (C-6''), 128.08 (C-4''), 127.12 (C-5''), 126.71 (C-2'''), 126.15 (C-2', C-4', C-6'), 125.59 (C-7'''), 123.25 (C-4'''a), 122.46 (C-4'''b), 121.86 (C-1'''), 120.05 (C-5'''), 119.48 (C-4'''), 118.65 (C-3'''), 118.45 (C-6'''), 111.36 (C-8''')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3418 (s), 3303 (s), 1670 (s), 1583 (m), 1565 (m), 1529 (s), 1450 (m), 1416 (m), 1318 (m), 1239 (m), 799 (m), 759 (m), 748 (m), 734 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 429 (100) (M - H) ⁻ , 431 (65) (M - H) ⁻ , 432 (15) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 429.0571 (berechnet für C ₂₅ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ⁻ [M - H] ⁻ : 429.0561)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]methansulfonsäureamid (63)**

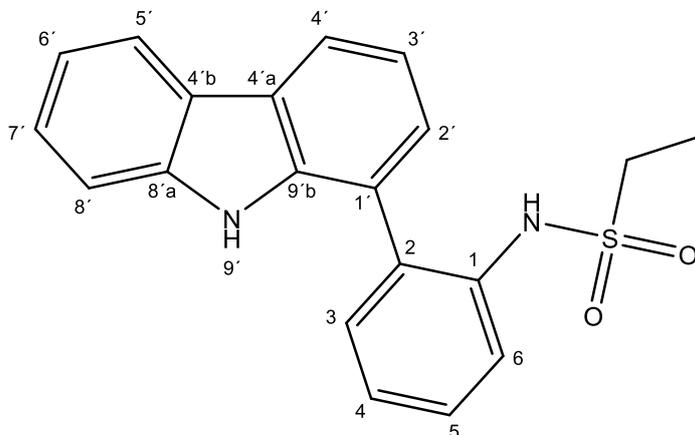
Eine Lösung von 40 mg (0.15 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 μ L (0.45 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 15 μ L (0.19 mmol) Methansulfonsäurechlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 15 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 49 mg (0.15 mmol/94 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 135 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.17 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, 4'-H), 8.13 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5'-H), 8.07 (bs, 1H, 9'-H), 7.74 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, 6-H), 7.53 (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H, 5-H), 7.49 (dd, *J* = 7.6, 1.7 Hz, 1H, 2'-H), 7.46 – 7.40 (m, 2H, 3-H, 8'-H), 7.40 – 7.31 (m, 3H, 4-H, 3'-H, 7'-H), 7.28 (ddd, *J* = 8.0, 6.2, 1.9 Hz, 1H, 6'-H), 6.43 (bs, 1H, 1-NH), 2.81 (s, 3H, CH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 140.24 (C-8'a), 138.33 (C-9'a), 135.62 (C-1), 131.74 (C-2'), 130.12 (C-5), 129.89 (C-2), 126.98 (C-3), 126.88 (C-7'), 125.88 (C-4), 124.70 (C-4'a), 123.87 (C-4'b), 121.27 (C-4'), 121.21 (C-5'), 121.05 (C-6), 120.71 (C-3'), 120.51 (C-6'), 120.23 (C-1'), 111.54 (C-8'), 40.39 (CH_3)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3421 (s), 1624 (m), 1602 (m), 1455 (m), 1419 (m), 1320 (s), 1233 (m), 1153 (s), 970 (m), 755 (s), 523 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 335 (100) (M - H) ⁻ , 257 (22)
HR-MS (ESI):	m/z = 335.0860 (berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}^-$ [M - H] ⁻ : 335.0854)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]ethansulfonsäureamid (64)

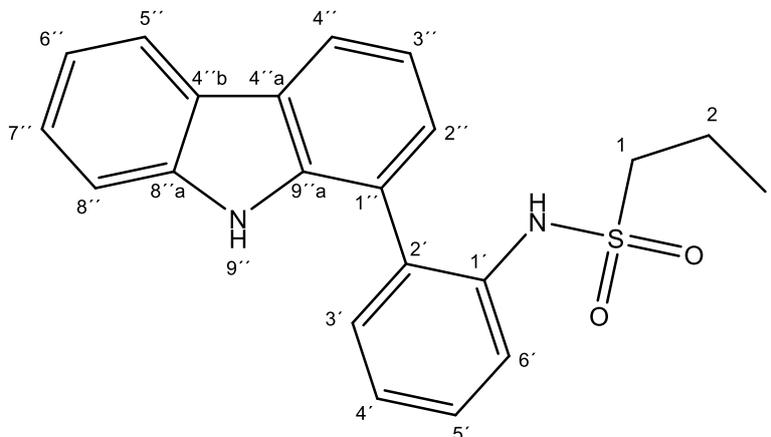
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 34 μL (0.42 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 38 μL (0.40 mmol) Ethansulfonylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 105 mg (0.362 mmol/74 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 157 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) = 8.17 (dd, $J = 7.4, 1.5$ Hz, 1H, 4'-H), 8.14 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, 5'-H), 8.09 (bs, 1H, 9'-H), 7.74 (dd, $J = 8.3, 1.2$ Hz, 1H, 3-H), 7.50 (td, $J = 7.9, 1.7$ Hz, 1H, 4-H), 7.48 – 7.40 (m, 3H, 6-H, 7'-H, 8'-H), 7.38 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H, 3'-H), 7.36 – 7.30 (m, 2H, 5-H, 2'-H), 7.28 (ddd, $J = 8.0, 6.4, 1.7$ Hz, 1H, 6'-H), 6.38 (bs, 1H, 1-NH), 2.95 (qd, $J = 7.4, 2.2$ Hz, 2H, CH_2), 0.99 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H, CH_3)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 140.23 (C-8'a), 138.31 (C-9'a), 135.69 (C-2), 131.72 (C-6), 130.03 (C-7'), 129.62 (C-1), 126.96 (C-2'), 126.88 (C-4), 125.62 (C-5), 124.66 (C-4'a), 123.85 (C-4'b), 121.25 (C-4'), 121.04 (C-5'), 120.96 (C-3), 120.71 (C-3'), 120.48 (C-6'), 120.29 (C-1'), 111.53 (C-8'), 46.99 (CH ₂), 8.22 (CH ₃)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3379 (s), 3249 (s), 1505 (m), 1482 (m), 1455 (m), 1408 (m), 1333 (s), 1317 (m), 1234 (m), 1165 (s), 1157 (s), 914 (m), 751 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 349 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 349.1016 (berechnet für C ₂₀ H ₁₇ N ₂ O ₂ S ⁻ [M - H] ⁻ : 349.1011)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]propan-1-sulfonsäureamid (65)

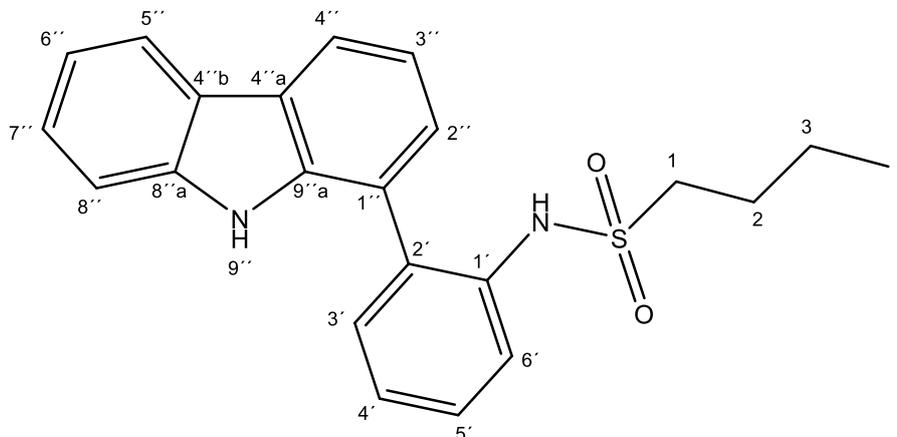
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 34 μ L (0.42 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 44 μ L (0.39 mmol) Propansulfonylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 116 mg (0.318 mmol/82 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 160 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.18 (ddd, J = 7.4, 1.5, 0.6 Hz, 1H, 4''-H), 8.17 (bs, 1H, 9''-H), 8.14 (ddd, J = 7.9, 1.0 Hz, 1H, 5''-H), 7.74 (dd, J = 8.2, 1.1 Hz, 1H, 6'-H), 7.53 – 7.49 (m, 1H, 5'-H), 7.47 (ddd, J = 7.6, 1.7, 0.5 Hz, 1H, 3'-H), 7.43 (dd, J = 6.6, 1.2 Hz, 1H, 7''-H), 7.42 – 7.39 (m, 1H, 8''-H), 7.39 – 7.34 (m, 2H, 4'-H, 3''-H), 7.34 – 7.31 (m, 1H, 2''-H), 7.28 (ddd, J = 8.1, 6.6, 1.6 Hz, 1H, 6''-H), 6.41 (bs, 1H, 1'-NH), 2.88 – 2.81 (m, 2H, 1-H), 1.50 – 1.36 (m, 2H, 2-H), 0.76 (t, J = 7.4 Hz, 3H, 3-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 140.29 (C-8''a), 138.35 (C-9''a), 135.70 (C-1'), 131.71 (C-3'), 129.99 (C-5'), 129.95 (C-2'), 126.96 (C-2''), 126.85 (C-7''), 125.72 (C-4'), 124.69 (C-4''a), 123.88 (C-4''b), 121.44 (C-6'), 121.21 (C-4''), 121.03 (C-5''), 120.67 (C-6''), 120.47 (C-3''), 120.45 (C-1''), 111.55 (C-8''), 54.43 (C-1), 17.55 (C-2), 12.94 (C-3)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3370 (s), 3240 (s), 1600 (m), 1579 (m), 1506 (s), 1489 (s), 1483 (s), 1454 (s), 1410 (s), 1331 (s), 1240 (m), 1156 (s), 928 (m), 754 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 364 (20) [M^+], 257 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 364.1218 (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: 364.1246)
HPLC-Reinheit:	96 % ($\lambda = 210$ nm) 95 % ($\lambda = 254$ nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]butansulfonsäureamid (66)

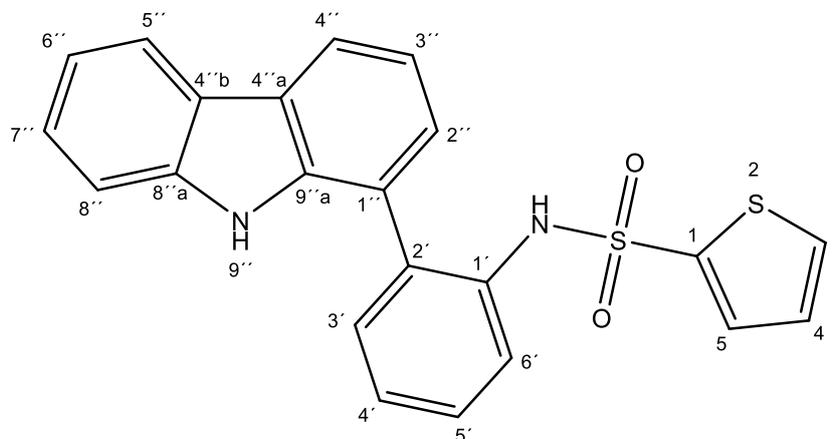
Eine Lösung von 100 mg (0.387 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 34 μ L (0.42 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 52 μ L (0.40 mmol) Butansulfonylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 111 mg (0.293 mmol/76 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 75 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.18 (ddd, J = 7.6, 1.4, 0.7 Hz, 1H, 4''-H), 8.13 (dd, J = 7.8, 1.0 Hz, 1H, 5''-H), 8.10 (bs, 1H, 9''-H), 7.75 (dd, J = 8.2, 1.2 Hz, 1H, 3'-H), 7.50 (ddd, J = 8.2, 7.4, 1.7 Hz, 1H, 4'-H), 7.47 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H, 6'-H), 7.43 (dd, J = 6.7, 1.2 Hz, 1H, 2''-H), 7.42 – 7.40 (m, 1H, 8''-H), 7.38 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 3''-H), 7.36 – 7.32 (m, 2H, 5'-H, 7''-H), 7.28 (ddd, J = 8.0, 6.6, 1.5 Hz, 1H, 6''-H), 6.40 (bs, 1H, 1-NH), 2.88 – 2.83 (m, 2H, 1-H), 1.41 – 1.25 (m, 2H, 2-H), 1.23 – 1.02 (m, 2H, 3-H), 0.67 (t, J = 7.3 Hz, 3H, 4-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 140.22 (C-8''a), 138.29 (C-9''a), 135.64 (C-2'), 131.66 (C-6'), 130.01 (C-4'), 129.85 (C-1'), 126.97 (C-7''), 126.81 (C-2''), 125.74 (C-5'), 124.67 (C-4''a), 123.86 (C-4''b), 121.47 (C-3'), 121.22 (C-4''), 121.03 (C-5''), 120.70 (C-3''), 120.49 (C-6''), 120.39 (C-1''), 111.51 (C-8''), 52.40 (C-4), 25.74 (C-3), 21.79 (C-2), 13.63 (C-1)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3348 (s), 1504 (m), 1482 (m), 1455 (s), 1418 (m), 1398 (m), 1330 (s), 1320 (s), 1235 (m), 1147 (s), 925 (m), 755 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 378 (40) [M^+], 257 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 378.1411 (berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$: 378.1402)
HPLC-Reinheit:	96 % ($\lambda = 210$ nm) 95 % ($\lambda = 254$ nm)

N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]thiophen-2-sulfonsäureamid (67)

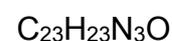
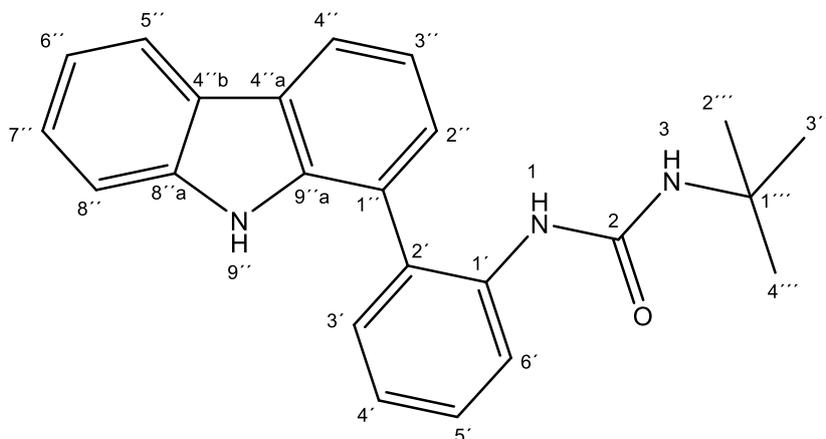
Eine Lösung von 40 mg (0.15 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 36 µL (0.45 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 36 mg (0.20 mmol) 2-Thiophensulfonylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 43 mg (0.11 mmol/55 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 106 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.14 – 8.10 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.87 (ddd, *J* = 8.2, 1.1, 0.4 Hz, 1H, 6'-H), 7.65 (bs, 1H, 9''-H), 7.51 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 2.0 Hz, 1H, 5'-H), 7.44 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 1.2 Hz, 1H, 7''-H), 7.39 – 7.30 (m, 4H, 4-H, 3'-H, 4'-H, 8''-H), 7.30 – 7.23 (m, 2H, 3''-H, 6''-H), 7.17 (dd, *J* = 3.8, 1.4 Hz, 1H, 3-H), 6.91 (dd, *J* = 7.3, 1.1 Hz, 1H, 2''-H), 6.82 (dd, *J* = 5.0, 3.7 Hz, 1H, 5-H), 6.75 (bs, 1H, 1'-NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 140.17 (C-8''a), 139.59 (C-1), 138.35 (C-9''a), 134.90 (C-1'), 133.14 (C-3), 133.08 (C-4), 131.30 (C-4'), 130.76 (C-2'), 129.90 (C-5'), 127.82 (C-5), 126.89 (C-7''), 126.45 (C-3'), 126.41 (C-2''), 124.50 (C-4''a), 123.78 (C-4''b), 122.92 (C-6'), 121.12 (C-5''), 121.03 (C-4''), 120.53 (C-3''), 120.41 (C-6''), 119.81 (C-1''), 111.53 (C-8'')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3409 (s), 1455 (m), 1418 (m), 1401 (s), 1339 (s), 1320 (m), 1230 (m), 1160 (s), 1017 (m), 755 (s), 591 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 403 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 403.0576 (berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2^-$ [M - H] ⁻ : 403.0575)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

1-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]-3-(*tert*-butyl)harnstoff (69)

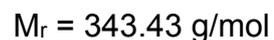
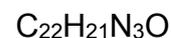
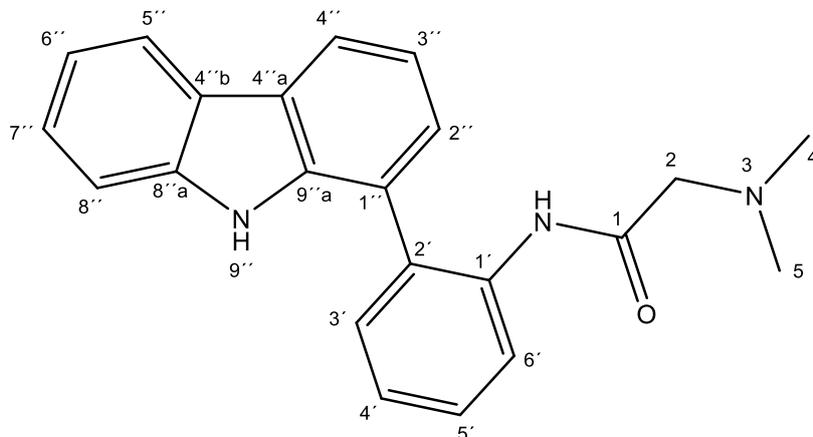
Unter Stickstoffatmosphäre wurden 1.5 mL Dimethylsulfoxid und 8 mg (0.2 mmol) Natriumhydrid (Suspension 60 %) unter Eiskühlung vorgelegt. Nach 10 Minuten wurden 50 mg (0.19 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) zugegeben und das Gemisch bei Raumtemperatur gerührt bis eine Rotfärbung auftrat. Anschließend wurden 23 µL (0.20 mmol) *tert*Butylisocyanat zugetropft. Dann wurde 12 Stunden bei 55 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 10 mL Wasser versetzt und anschließend dreimal mit je 20 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 22 mg (0.062 mmol/32 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 162 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.42 (bs, 1H, 9''-H), 8.14 – 8.09 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.92 (dd, *J* = 8.2, 1.2 Hz, 1H, 6'-H), 7.43 – 7.31 (m, 5H, 3'-H, 5'-H, 2''-H, 3''-H, 7''-H, 8''-H), 7.24 (ddd, *J* = 8.0, 6.4, 1.7 Hz, 1H, 6''-H), 7.21 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, 4'-H), 5.96 (bs, 1H, 1-H), 4.31 (bs, 1H, 2-H), 1.15 (s, 9H, 2'''-H, 3'''-H, 4'''-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 155.42 (C-2), 140.24 (C-8''a), 138.46 (C-9''a), 137.41 (C-1'), 131.38 (C-3'), 130.05 (C-2'), 129.27 (C-5'), 127.30 (C-7''), 126.60 (C-2''), 124.30 (C-4'), 124.06 (C-4''a), 123.69 (C-4''b), 123.66 (C-6'), 121.91 (C-1''), 120.77 (C-4''), 120.49 (C-5''), 120.29 (C-3''), 120.01 (C-6''), 111.57 (C-8''), 51.08 (C-1'''), 29.36 (C-2''', C-3''', C-4''')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3405 (s), 2962 (m), 2925 (m), 1647 (s), 1551 (s), 1521 (s), 1454 (s), 1417 (m), 1320 (m), 1275 (m), 1234 (m), 1207 (s), 751 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 356 (55) (M - H) $^-$, 257 (100)
HR-MS (ESI):	m/z = 356.1769 (berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}^-$ [M - H] $^-$: 356.1763)
HPLC-Reinheit:	87 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

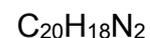
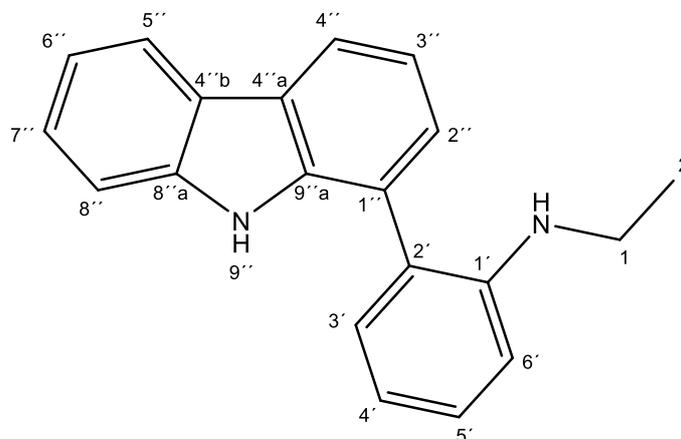
***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]-2-(dimethylamino)acetamid (71)**

17 µL (0.20 mmol) Bromacetyl bromid wurden bei 0 °C in eine Mischung aus 34 mg (0.13 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**20**), 19 µL (0.14 mmol) Triethylamin und 5 mL Dichlormethan eingetrofft. Die Lösung wurde 30 Minuten bei 0 °C gerührt und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach Zugabe von weiteren 10 mL Dichlormethan wurde dreimal mit je 15 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum bei Raumtemperatur entfernt. Der Rückstand wurden in einer Mischung aus 4 mL Tetrahydrofuran und 8 mL Acetonitril gelöst und anschließend mit 138 mg (1.00 mmol) Kaliumcarbonat und 127 µL (1.13 mmol) Dimethylamin-Lösung (40 %ig, wässrig) versetzt. Die Lösung wurde eine Stunde bei 95 °C gerührt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat unter Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in 20 mL Dichlormethan aufgenommen und diese Lösung zweimal mit je 15 mL Wasser und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat) aufgereinigt.

Ausbeute: 39 mg (0.11 mmol/87 %) helloranger Feststoff

Schmelzpunkt: 198 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 9.36 (bs, 1H, 1-NH), 8.45 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 8.21 (bs, 1H, 9''-H), 8.15 (dd, J = 6.1, 2.8 Hz, 1H, 4''-H), 8.12 (d, J = 7.7 Hz, 1H, 5''-H), 7.53 – 7.44 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 – 7.38 (m, 2H, 7''-H, 8''-H), 7.38 – 7.32 (m, 2H, 2''-H, 3''-H), 7.31 – 7.19 (m, 2H, 4'-H, 6''-H), 2.85 – 2.59 (m, 2H, 2-H), 1.65 (s, 6H, 4-H, 5-H)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 169.62 (C-1), 140.19 (C-8''a), 138.38 (C-9''a), 136.50 (C-1'), 130.89 (C-3'), 129.45 (C-5'), 128.92 (C-2'), 127.27 (C-2''), 126.64 (C-7''), 124.73 (C-4'), 124.05 (C-4''a), 123.82 (C-4''b), 121.28 (C-6', C-1''), 120.86 (C-5''), 120.56 (C-4''), 120.21 (C-3''), 120.07 (C-6''), 111.31 (C-8''), 63.66 (C-2), 45.38 (C-4, C-5)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3292 (m), 1676 (s), 1580 (m), 1529 (s), 1453 (s), 1412 (m), 1320 (m), 1239 (m), 1043 (m), 766 (m), 752 (m), 735 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 343 (13) [M ⁺], 284 (6), 256 (5), 58 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 343.1680 (berechnet für C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O: 343.1685)
HPLC-Reinheit:	91 % (λ = 210 nm) 96 % (λ = 254 nm)

2-(9*H*-Carbazol-1-yl)-*N*-ethylanilin (72)

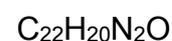
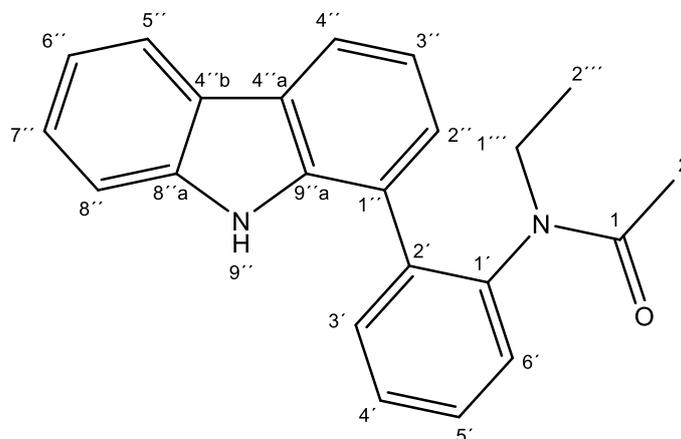
100 mg (0.333 mmol) *N*-(2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl)acetamid (**1**) wurden in 2 mL Toluol suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Es wurden 200 µL (0.400 mmol) Boran-Dimethylsulfid-Komplex-Lösung (2M in Tetrahydrofuran) zugespritzt. Die nun klare Lösung wurde 15 Minuten bei 0 °C gerührt und dann 4 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 6 mL Natriumcarbonat-Lösung (10%) versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 92 mg (0.32 mmol/96 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 130 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.30 (bs, 1H, 9''-H), 8.12 (dd, *J* = 7.8, 0.9 Hz, 1H, 4''-H), 8.11 (ddd, *J* = 7.8, 0.7 Hz, 1H, 5''-H), 7.44 – 7.39 (m, 3H, 2''-H, 7''-H, 8''-H), 7.36 – 7.32 (m, 2H, 5'-H, 6''-H), 7.28 – 7.22 (m, 2H, 3'-H, 3''-H), 6.87 – 6.81 (m, 2H, 4'-H, 6'-H), 3.68 (bs, 1H, 1-NH), 3.27 – 3.01 (m, 2H, 1-H), 1.08 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, 2-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 146.13 (C-1'), 140.15 (C-9''a), 138.34 (C-8''a), 131.43 (C-3'), 129.73 (C-5'), 127.50 (C-2''), 126.48 (C-7''), 124.29 (C-2'), 124.01 (C-4''a), 123.92 (C-4''b), 122.61 (C-1''), 120.81 (C-4''), 120.40 (C-6''), 120.00 (C-5''), 119.94 (C-3''), 117.59 (C-6'), 111.36 (C-8''), 111.32 (C-4'), 38.92 (C-1), 15.03 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3393 (s), 1597 (m), 1576 (m), 1511 (s), 1493 (m), 1453 (s), 1415 (m), 1317 (s), 1234 (m), 760 (s), 747 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 286 (100) [M^+], 271 (90), 136 (40)
HR-MS (EI):	m/z = 286.1469 (berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_2$: 286.1470)
HPLC-Reinheit:	96 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]-*N*-ethylacetamid (**73**)**M_r = 328.42 g/mol

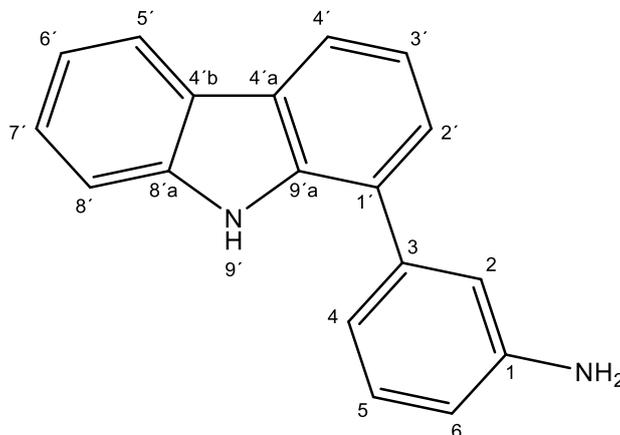
Eine Lösung von 100 mg (0.349 mmol) 2-(9*H*-Carbazol-1-yl)-*N*-ethylanilin (**72**) in 2 mL Dichlormethan wurde mit 32 µL (0.40 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 33 µL (0.35 mmol) Acetanhydrid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 82 mg (0.25 mmol/72 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 227 °C

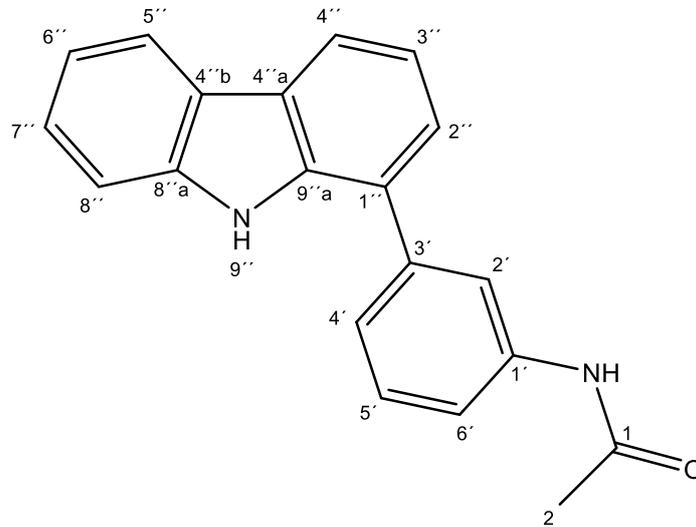
¹H-NMR (400 MHz, MeOD-*d*₄): δ (ppm) = 8.09 – 8.04 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.68 – 7.63 (m, 1H, 3'-H), 7.62 – 7.51 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.44 – 7.38 (m, 2H, 6'-H, 8''-H), 7.34 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 1.2 Hz, 1H, 7''-H), 7.21 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, 3''-H), 7.19 – 7.13 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 3.74 (dq, *J* = 14.0, 7.0 Hz, 1H, 1'''-H), 2.69 (dq, *J* = 13.9, 7.0 Hz, 1H, 1'''-H), 1.90 (s, 3H, 2-H), 0.96 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, 2'''-H) (Messtemperatur: 50 °C)

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, MeOD-d_4):	δ (ppm) = 172.85 (C-1), 142.59 (C-1'), 141.82 (C-8''a), 139.51 (C-9''a), 138.10 (C-2'), 133.35 (C-3'), 131.31 (C-6'), 130.10 (C-4'), 130.01 (C-5'), 126.83 (C-7''), 126.45 (C-2''), 125.32 (C-4''a), 124.43 (C-4''b), 122.76 (C-1''), 120.98 (C-4'''), 120.73 (C-5'''), 120.13 (C-6'''), 119.81 (C-3'''), 112.12 (C-8'''), 45.05 (C-1'''), 22.92 (C-2), 12.89 (C-2''') (Messtemperatur: 50 °C)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3140 (m) 3078 (m), 2978 (m), 2899 (m), 1621 (s), 1600 (m), 1454 (m), 1413 (m), 1317 (m), 752 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 328 (100) [M^+], 271 (85), 131 (55)
HR-MS (EI):	m/z = 328.1576 (berechnet für $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$: 328.1576)
HPLC-Reinheit:	95 % (λ = 210 nm) 94 % (λ = 254 nm)

3-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (75)

100 mg (0.406 mmol) 1-Brom-9H-carbazol (**19**) wurden zusammen mit 153 mg (0.823 mmol) 3-Aminophenylboronsäure Hemisulfat (**74**) und 47 mg (0.041 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 6 mL 1,2-Dimethoxyethan und 3 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde 16 Stunden zum Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 100 mL Wasser zugesetzt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase dann dreimal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Dichlormethan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute:	92 mg (0.36 mmol/88 %)	farbloses Öl
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.63 (bs, 1H, 9'-H), 8.11 (ddd, J = 7.8, 0.8 Hz, 1H, 5'-H), 8.06 (ddd, J = 7.8, 1.2, 0.7 Hz, 1H, 4'-H), 7.46 – 7.39 (m, 3H, 2'-H, 7'-H, 8'-H), 7.33 (ddd, J = 8.0, 7.5, 0.5 Hz, 1H, 5-H), 7.30 (dd, J = 7.8, 7.3 Hz, 1H, 3'-H), 7.24 (ddd, J = 8.1, 6.4, 1.8 Hz, 1H, 6'-H), 7.06 (ddd, J = 7.5, 1.7, 1.0 Hz, 1H, 4-H), 7.00 (ddd, J = 2.2, 1.6, 0.5 Hz, 1H, 2-H), 6.75 (ddd, J = 8.0, 2.4, 1.0 Hz, 1H, 6-H), 3.90 (bs, 2H, NH ₂)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 148.17 (C-1), 140.55 (C-3), 140.09 (C-8'a), 137.78 (C-9'a), 130.66 (C-5), 126.40 (C-7'), 125.96 (C-2'), 125.88 (C-1'), 124.00 (C-4'a), 123.89 (C-4'b), 120.81 (C-5'), 120.25 (C-3'), 119.90 (C-6'), 119.77 (C-4'), 118.70 (C-4), 115.10 (C-2), 114.60 (C-6), 111.27 (C-8')	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3428 (m), 3337 (m), 3219 (m), 3056 (m), 1603 (s), 1587 (s), 1456 (s), 1414 (s), 1321 (s), 1238 (s), 1025 (m), 756 (s)	
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 257 (100) (M - H) ⁻	
HR-MS (ESI):	m/z = 257.1088 (berechnet für C ₁₈ H ₁₃ N ₂ ⁻ [M - H] ⁻ : 257.1079)	
HPLC-Reinheit:	98 % (λ = 210 nm) 98 % (λ = 254 nm)	

***N*-[3-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]acetamid (76)**

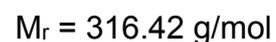
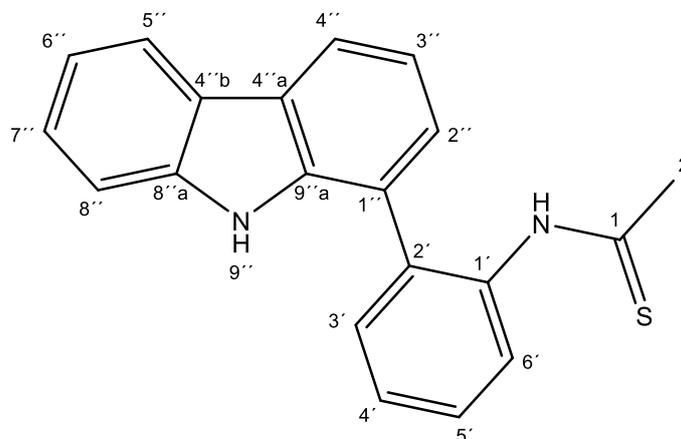
Eine Lösung von 50 mg (0.19 mmol) 3-(9*H*-Carbazol-1-yl)anilin (**75**) in 1 mL Dichlormethan wurde mit 18 µL (0.22 mmol) Pyridin versetzt und anschließend unter Rühren auf 0 °C gekühlt. Nach der Zugabe von 15 µL (0.21 mmol) Acetylchlorid wurde das Eisbad entfernt und das Gemisch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde dreimal mit je 10 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/Dichlormethan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 54 mg (0.18 mmol/93 %) hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 220 °C

¹H-NMR (500 MHz, Aceton-d₆): δ (ppm) = 10.38 (bs, 1H, 1-NH), 9.32 (bs, 1H, 9''-H), 8.17 – 8.12 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.94 (t, *J* = 1.9 Hz, 1H, 2'-H), 7.79 (ddd, *J* = 8.1, 2.2, 1.2 Hz, 1H, 4'-H), 7.55 (dt, *J* = 8.1, 0.9 Hz, 1H, 8''-H), 7.45 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5'-H), 7.44 – 7.35 (m, 3H, 6'-H, 2''-H, 7''-H), 7.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, 3''-H), 7.20 (ddd, *J* = 8.0, 7.1, 1.0 Hz, 1H, 6''-H), 2.12 (s, 3H, 2-H)

¹³C-NMR (126 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 169.02 (C-1), 141.21 (C-8''a), 140.97 (C-1'), 140.42 (C-3'), 138.30 (C-9''a), 130.19 (C-5'), 126.53 (C-7''), 126.19 (C-2''), 125.89 (C-4''b), 124.61 (C-1''), 124.05 (C-6'), 123.99 (C-4''a), 120.90 (C-5''), 120.21 (C-3''), 120.19 (C-4''), 119.97 (C-6''), 119.84 (C-2'), 118.91 (C-4'), 112.06 (C-8''), 24.28 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3373 (m), 3261 (m), 1663 (s), 1604 (m), 1532 (m), 1485 (m), 1395 (m), 1309 (m), 1232 (m), 785 (m), 751 (m), 739 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 299 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 299.1188 (berechnet für C ₂₀ H ₁₅ N ₂ O ⁻ [M - H] ⁻ : 299.1184)
HPLC-Reinheit:	98 % (λ = 210 nm) 98 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl]thioacetamid (77)**

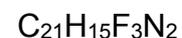
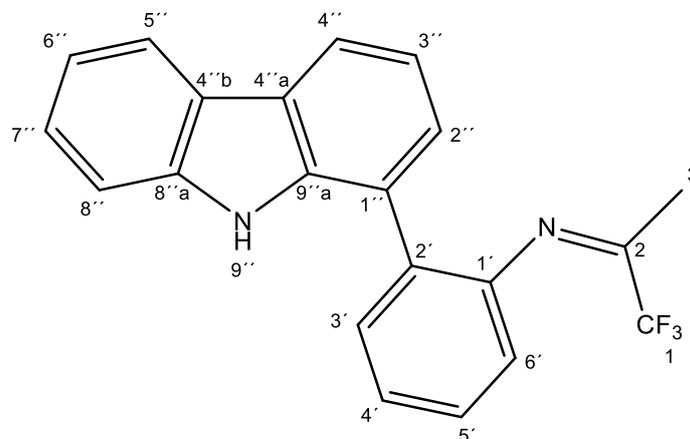
40 mg (0.13 mmol) *N*-(2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl)acetamid (**1**) und 59 mg (0.15 mmol) Lawessons Reagenz wurden in einem Schlenk Kolben unter Stickstoffatmosphäre in 1 mL trockenem Tetrahydrofuran suspendiert. Das Reaktionsgemisch wurde 12 Stunden bei 55°C gerührt. Dann wurde das Gemisch mit 20 mL Wasser versetzt und dreimal mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan) aufgereinigt.

Ausbeute: 25 mg (0.079 mmol/59 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 90 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.61 (bs, 1H, 9''-H), 8.39 (bs, 1H, 1-NH), 8.14 (ddd, *J* = 7.7, 1.3, 0.7 Hz, 1H, 4''-H), 8.10 (ddd, *J* = 7.8, 0.8 Hz, 1H, 5''-H), 8.00 – 7.96 (m, 1H, 6'-H), 7.60 – 7.56 (m, 1H, 4'-H), 7.56 – 7.47 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.43 – 7.36 (m, 3H, 2''-H, 7''-H, 8''-H), 7.33 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, 3''-H), 7.24 (ddd, *J* = 8.1, 6.4, 1.8 Hz, 1H, 6''-H), 2.28 (d, *J* = 0.5 Hz, 3H, 2-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 203.67 (C-1), 140.09 (C-8''a), 138.70 (C-9''a), 137.03 (C-1'), 134.23 (C-2'), 131.93 (C-4'), 128.90 (C-5'), 128.75 (C-3'), 128.69 (C-6'), 127.27 (C-2''), 126.78 (C-7''), 123.69 (C-4''a), 123.34 (C-4''b), 121.01 (C-1''), 120.80 (C-4''), 120.78 (C-5''), 120.06 (C-6''), 120.02 (C-3''), 111.21 (C-8''), 35.38 (C-2)
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3329 (m), 3188 (m), 1511 (m), 1499 (m), 1455 (s), 1417 (s), 1362 (s), 1319 (m), 1235 (s), 1162 (m), 752 (s), 737 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 316 (10) [M^+], 282 (100), 141 (15)
HR-MS (EI):	m/z = 316.1036 (berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{S}$: 316.1034)
HPLC-Reinheit:	98 % ($\lambda = 210$ nm) 92 % ($\lambda = 254$ nm)

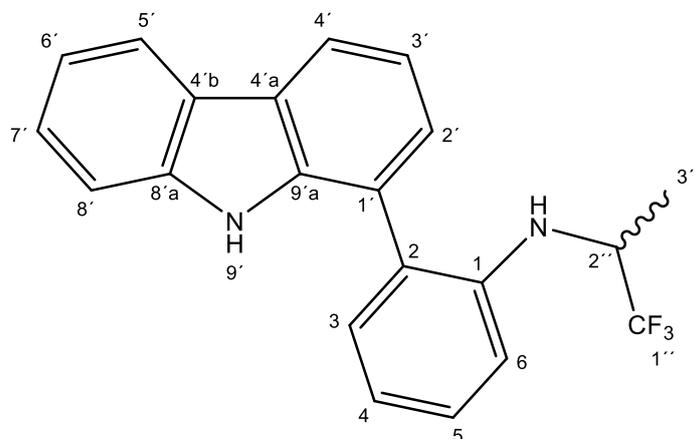
N-[2-(9H-Carbazol-1-yl)phenyl]-1,1,1-trifluorpropan-2-imin (79)

Es wurden 40 mg (0.039 mmol) Tris(dibenzylideneaceton)dipalladium(0)-chloroform-Addukt, 64 mg (0.12 mmol) 1,1'-Bis(diphenylphosphin)ferrocen und 303 mg (0.929 mmol) Cäsiumcarbonat mit 2 mL Toluol unter Stickstoffatmosphäre versetzt und unter Rühren im Eisbad gekühlt. Dem Gemisch wurden 200 mg (0.774 mmol) 2-(9H-Carbazol-1-yl)anilin (**20**) und 96 mg (0.93 mmol) 2-Brom-3,3,3-trifluor-1-propen zugesetzt. Anschließend wurde 15 Stunden bei 110 °C gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, filtriert und mit 20 mL Diethylether nachgewaschen. Das Filtrat wurde unter Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 182 mg (0.517 mmol/67 %) farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.67 (bs, 1H, 9''-H), 8.12 – 8.08 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.65 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, 3'-H), 7.51 (ddd, *J* = 7.7, 1.5 Hz, 1H, 5'-H), 7.47 (ddd, *J* = 8.2, 1.4, 0.8 Hz, 1H, 8''-H), 7.45 – 7.36 (m, 3H, 4'-H, 2''-H, 7''-H), 7.31 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, 3''-H), 7.25 (ddd, *J* = 8.1, 6.8, 1.4 Hz, 1H, 6''-H), 6.96 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H, 6'-H), 1.70 (s, 3H, 3-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 158.66 (q, $J = 33.8$ Hz, C-2), 145.46 (C-1'), 140.63 (C-8''a), 137.48 (C-9''a), 132.24 (C-3'), 129.22 (C-5'), 129.12 (C-2'), 127.58 (C-7''), 126.56 (C-2''), 126.37 (C-4'), 124.45 (C-4''a), 123.86 (C-4''b), 122.37 (C-1''), 120.73 (C-4''), 120.33 (C-5''), 120.17 (C-6''), 119.99 (C-3''), 119.29 (C-6'), 118.67 (C-1), 111.45 (C-8''), 15.16 (C-3)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3440 (s), 3349 (s), 3193 (m), 3058 (m), 1609 (m), 1505 (m), 1452 (s), 1420 (m), 1337 (m), 1319 (m), 1224 (s), 1153 (s), 887 (m), 749 (s)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 353 (18) [M^+], 352 (84) [M^+], 284 (21), 283 (100), 241 (31), 142 (25), 121 (28)
HR-MS (EI):	$m/z = 352.1182$ (berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2$: 352.1187)
HPLC-Reinheit:	>99 % ($\lambda = 210$ nm) 96 % ($\lambda = 254$ nm)

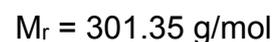
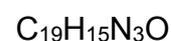
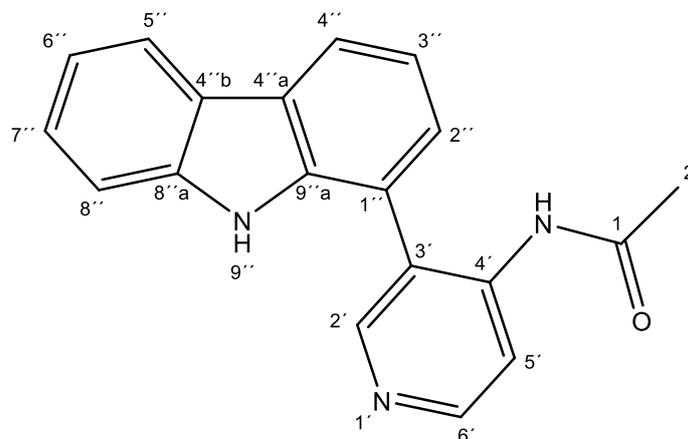
2-(9*H*-Carbazol-1-yl)-*N*-(1,1,1-trifluorpropan-2-yl)anilin (80)C₂₁H₁₇F₃N₂M_r = 354.38 g/mol

50 mg (1.3 mmol) Natriumborhydrid wurden unter Stickstoffatmosphäre in einem Schlenkkolben mit 1 mL Tetrahydrofuran und 3 Tropfen Methanol versetzt. Das Gemisch wurde 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde eine Lösung von 150 mg (0.426 mmol) *N*-(2-(9*H*-Carbazol-1-yl)phenyl)-1,1,1-trifluorpropan-2-imin (**79**) in 2 mL Tetrahydrofuran zugetropft und weitere 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde die Reaktion durch Zugabe von 5 mL Ethylacetat gestoppt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und mit 10 mL Ethylacetat nachgewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 2:8) aufgereinigt.

Ausbeute: 108 mg (0.305 mmol/72 %) farbloses Öl

¹H-NMR (400 MHz, MeOD-d₄): δ (ppm) = 8.13 – 8.06 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 7.42 (ddd, *J* = 8.2, 1.0 Hz, 1H, 8'-H), 7.37 – 7.30 (m, 2H, 3-H, 7'-H), 7.30 – 7.23 (m, 3H, 5-H, 2'-H, 3'-H), 7.17 (ddd, *J* = 8.0, 7.0, 1.1 Hz, 1H, 6'-H), 6.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, 6-H), 6.91 (ddd, *J* = 7.4, 1.1 Hz, 1H, 4-H), 4.15 (bs, 1H, 2''-H), 1.09 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, 3''-H) (Messtemperatur: 50 °C)

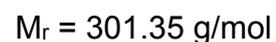
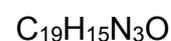
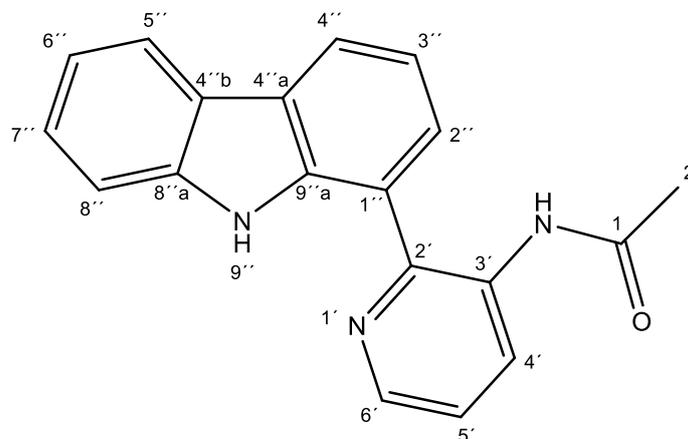
¹³C-NMR (101 MHz, MeOD-d₄):	δ (ppm) = 145.37 (C-1), 141.75 (C-8'a), 139.45 (C-9'a), 132.08 (C-5), 130.07 (C-2'), 129.29 (C-1''), 127.73 (C-3), 126.82 (C-7'), 126.44 (C-2), 125.05 (C-4'a), 124.43 (C-4'b), 122.95 (C-1'), 121.01 (C-5'), 120.59 (C-4'), 120.32 (C-3'), 120.03 (C-6'), 119.76 (C-4), 113.76 (C-6), 112.08 (C-8'), 51.52 (q, $J = 30.7$ Hz, C-2''), 15.10 (C-3'')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3429 (s), 3007 (m), 2960 (s), 2870 (m), 1695 (s), 1618 (m), 1434 (s), 1334 (m), 1197 (m), 1037 (m), 881 (m), 823 (m), 778 (s), 737 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 356 (15) (M + H) ⁺ , 355 (100) (M + H) ⁺
HR-MS (ESI):	m/z = 355.1417 (berechnet für C ₂₁ H ₁₈ F ₃ N ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 355.1422)
HPLC-Reinheit:	>99 % ($\lambda = 210$ nm) 99 % ($\lambda = 254$ nm)

***N*-[3-(9*H*-Carbazol-1-yl)pyridin-4-yl]acetamid (**87**)**

In einem Schlenkcolben wurden 200 mg (0.531 mmol) 1-Brom-9-[[2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl]-9*H*-carbazol (**25**) und 18 mg (0.016 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Dann wurden 3 mL trockenes Dioxan zugespritzt und das Gemisch 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt. Daraufhin wurden die Suspension auf 80 °C erwärmt und langsam 740 µL (5.31 mmol) trockenes Triethylamin und 116 µL (0.799 mmol) 4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 Stunden bei 80 °C gerührt (DC-Kontrolle). Es wurden weitere 116 µL (0.799 mmol) 4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan zugesetzt und das Gemisch über 12 Stunden bei 80 °C gerührt. Das Gemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 3 mL trockenem Methanol, 92 mg (0.53 mmol) 4-Amino-3-brompyridin (**85**) und 432 mg (1.33 mmol) Cäsiumcarbonat versetzt. Das Gemisch wurde über 12 Stunden bei 100 °C gerührt. Das Gemisch wurde mit 50 mL Wasser versetzt und dann dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen wurde nach Trocknen über Natriumsulfat unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:9 – 9:1) aufgereinigt. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde in 5 mL Dichlormethan gelöst und mit 90 µL (1.1 mmol) Pyridin versetzt. Nach Abkühlen der Lösung auf 0 °C wurden 60 µL (0.84 mmol) Acetylchlorid zugegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 2 Stunden gerührt. Dann wurden dem Gemisch 15 mL Wasser zugefügt und dreimal mit je 30 mL

Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/isoHexan 1:1) aufgereinigt. Dem erhaltene Zwischenprodukt wurde 3 mL Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran (1M) zugesetzt und das Gemisch anschließend für 16 Stunden zum Sieden erhitzt. Dem Gemisch wurden 20 mL Wasser zugesetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/isoHexan 9:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde dreimal aus Pentan rekristallisiert.

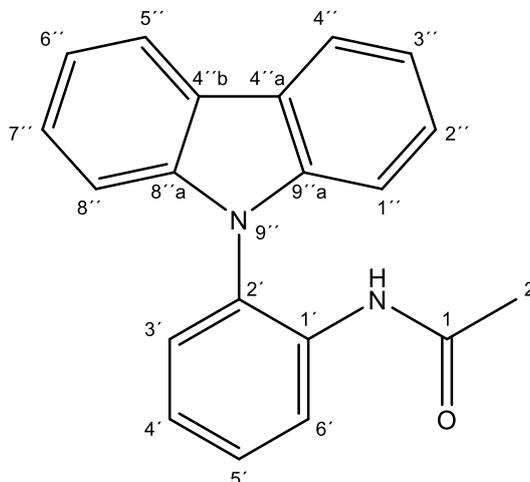
Ausbeute:	19 mg (0.063 mmol/12 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	124 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 10.47 (bs, 1H, 9''-H), 8.50 (s, 1H, 2'-H), 8.38 (d, J = 4.7 Hz, 1H, 5'-H), 8.32 – 8.25 (m, 1H, 6'-H), 8.21 (dd, J = 7.2, 1.5 Hz, 1H, 4''-H), 8.14 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 5''-H), 7.48 (d, J = 8.1 Hz, 1H, 8''-H), 7.45 – 7.41 (m, 2H, 1-NH, 7''-H), 7.40 – 7.36 (m, 2H, 2''-H, 3''H), 7.25 (t, J = 7.5 Hz, 1H, 6''-H), 1.91 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 169.62 (C-1), 151.13 (C-2'), 150.24 (C-6'), 143.74 (C-4'), 141.05 (C-8''a), 139.31 (C-9''a), 127.06 (C-2''), 126.88 (C-7''), 124.98 (C-4''a), 123.52 (C-3', C-4''b), 121.67 (C-4''), 120.88 (C-5''), 120.16 (C-6''), 120.08 (C-3'), 116.58 (C-1''), 114.38 (C-5'), 111.75 (C-8''), 25.27 (C-2)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3400 (m), 3058 (m), 2955 (m), 1701 (s), 1573 (s), 1500 (s), 1456 (m), 1235 (m), 1180 (m ₉), 1149 (m), 1120 (s), 1071 (s), 1026 (s), 751 (s), 721 (m), 695 (m), 541 (s)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 301 (90) [M ⁺], 277 (75), 258 (100)	
HR-MS (EI):	m/z = 301.1203 (berechnet für C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O: 301.1215)	
HPLC-Reinheit:	84 % (λ = 210 nm) 80 % (λ = 254 nm)	

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-1-yl)pyridin-3-yl]acetamid (**88**)**

In einem Schlenkcolben wurden 100 mg (0.266 mmol) 1-Brom-9-[[2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl]-9*H*-carbazol (**25**) und 10 mg (0.0087 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Dann wurden 2 mL trockenes Dioxan zugespritzt und das Gemisch 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt. Daraufhin wurden die Suspension auf 80 °C erwärmt und langsam 380 µL (2.72 mmol) trockenes Triethylamin und 118 µL (0.758 mmol) 4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 Stunden bei 80 °C gerührt (DC-Kontrolle). Es wurden weitere 116 µL (0.799 mmol) 4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan zugesetzt und das Reaktionsgemisch 12 Stunden bei 80 °C gerührt. Das Gemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 3 mL trockenem Methanol, 35 mg (0.27 mmol) 3-Amino-2-chlorpyridin (**86**) und 220 mg (0.675 mmol) Cäsiumcarbonat versetzt. Das Gemisch wurde 12 Stunden bei 100 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 40 mL Wasser versetzt und dann dreimal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen wurde nach Trocknen über Natriumsulfat unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:9 – 9:1) aufgereinigt. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde in 3 mL Dichlormethan gelöst und mit 45 µL (0.56 mmol) Pyridin versetzt. Nach Abkühlen der Lösung auf 0 °C wurden 30 µL (0.42 mmol) Acetylchlorid zugegeben. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 2 Stunden gerührt. Dann wurden dem Gemisch 10 mL Wasser zugefügt und dreimal

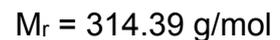
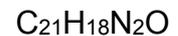
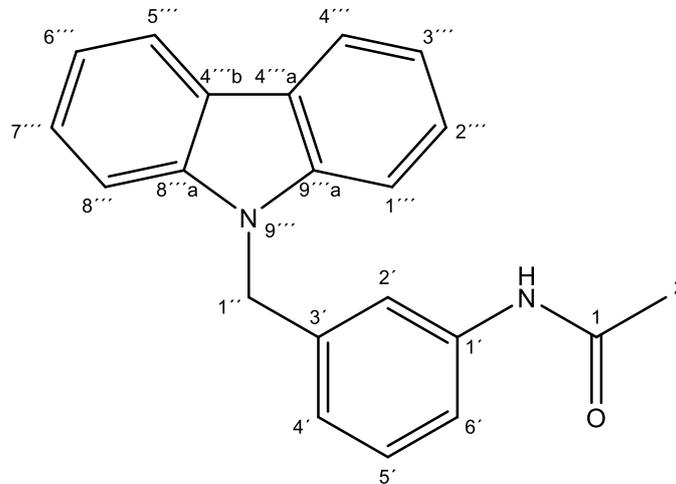
mit je 20 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/isoHexan 1:1) aufgereinigt. Dem erhaltene Zwischenprodukt wurde 2 mL Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran (1M) zugesetzt und das Gemisch anschließend für 16 Stunden zum Sieden erhitzt. Dem Gemisch wurden 20 mL Wasser zugesetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/isoHexan 9:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde dreimal aus Pentan rekristallisiert.

Ausbeute:	23 mg (0.076 mmol/29 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	214 °C	
¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 10.43 (bs, 1H, 9''-H), 8.68 (bs, 1H, 1-NH), 8.53 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 1H, 4'-H), 8.48 (dd, <i>J</i> = 4.6, 1.6 Hz, 1H, 6'-H), 8.23 – 8.13 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.65 (dd, <i>J</i> = 7.4, 1.1 Hz, 1H, 2''-H), 7.55 (dt, <i>J</i> = 8.1, 0.9 Hz, 1H, 8''-H), 7.45 – 7.35 (m, 2H, 5'-H, 7''-H), 7.29 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H, 3''-H), 7.21 (ddd, <i>J</i> = 8.0, 7.1, 1.0 Hz, 1H, 6''-H), 2.02 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 169.58 (C-1), 149.45 (C-2'), 145.88 (C-6'), 141.27 (C-8''a), 139.37 (C-9''a), 133.91 (C-3'), 132.28 (C-5'), 126.71 (C-7''), 126.58 (C-2''), 125.27 (C-4''a), 123.84 (C-4''b), 123.20 (C-4'), 121.66 (C-1''), 121.47 (C-4''), 120.87 (C-5''), 119.92 (C-3''), 119.57 (C-6''), 112.12 (C-8''), 24.04 (C-2)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3416 (m), 3315 (m), 1679 (s), 1598 (m), 1537 (s), 1496 (m), 1456 (m), 1429 (m), 1320 (m), 1305 (s), 1231 (m), 747 (s), 738 (m)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 301 (85) [M ⁺], 286 (25), 258 (100)	
HR-MS (EI):	m/z = 301.1213 (berechnet für C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O: 301.1215)	
HPLC-Reinheit:	90 % (λ = 210 nm) 86 % (λ = 254 nm)	

***N*-[2-(9*H*-Carbazol-9-yl)phenyl]acetamid (**90**)**

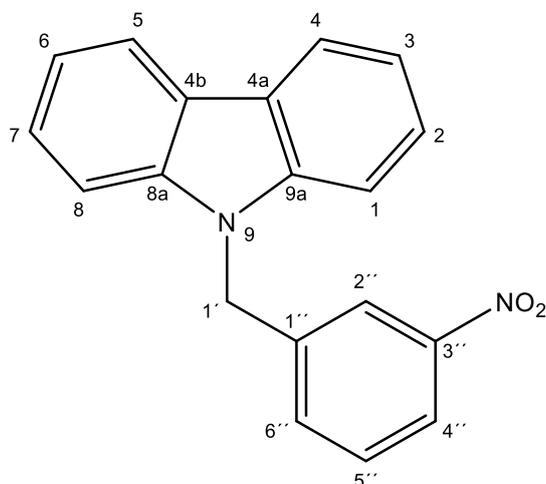
200 mg (0.696 mmol) 9-(2-Nitrophenyl)-9*H*-carbazol (**93**), 194 mg (3.47 mmol) Eisenpulver, sowie 19 mg (0.35 mmol) Ammoniumchlorid wurden mit 6 mL eines Ethanol-Wasser-Gemisches (2:1) versetzt und 90 Minuten bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch unter Vakuum filtriert und mit Ethylacetat und Wasser nachgewaschen. Anschließend wurde die organische Phase des Filtrats abgetrennt und dreimal mit je 20 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 3 mL Dichlormethan gelöst, mit 61 µL (0.76 mmol) Pyridin versetzt und dann unter Rühren auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden 52 µL (0.73 mmol) Acetylchlorid zugesetzt und 2 Stunden bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 15 Stunden gerührt. Nach einer DC-Kontrolle wurden weitere 61 µL (0.76 mmol) und 52 µL (0.73 mmol) Acetylchlorid zugesetzt. Nach 30 Minuten Rühren bei Raumtemperatur wurden dem Gemisch 50 mL Dichlormethan zugesetzt. Die organische Phase wurde dreimal mit je 40 mL Wasser, einmal mit 20 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 20 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute:	132 mg (0.440 mmol/63 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	68 °C	
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.49 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 8.18 (ddd, <i>J</i> = 7.7, 1.2, 0.7 Hz, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.57 – 7.51 (m, 1H, 5'-H), 7.42 (ddd, <i>J</i> = 8.3, 7.2, 1.2 Hz, 2H, 2''-H, 7''-H), 7.39 – 7.26 (m, 4H, 3''-H, 6''-H, 4'-H, 3'-H), 7.13 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H, 1''-H, 8''-H), 6.92 (br s, 1H, 1-NH), 1.74 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 168.8 (C-1), 141.4 (C-8''a, C-9''a), 136.2 (C-1', C-2'), 129.8 (C-5'), 129.3 (C-3'), 126.9 (C-2'', C-7''), 125.3 (C-4'), 124.3 (C-4''a, C-4''b), 122.8 (C-6'), 121.3 (C-4'', C-5''), 121.0 (C-3'', C-6''), 110.5 (C-1'', C-8''), 24.9 (C-2)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3251 (s), 3047 (m), 1678 (m), 1660 (s), 1590 (s), 1530 (s), 1490 (s), 1455 (s), 1298 (m), 1229 (m), 749 (s), 722 (s)	
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 299 (100) (M - H) ⁻	
HR-MS (ESI):	m/z = 299.1186 (berechnet für C ₂₀ H ₁₅ N ₂ O ⁻ [M - H] ⁻ : 299.1184)	
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)	

***N*-{3-[(9*H*-Carbazol-9-yl)methyl]phenyl}acetamid (**91**)**

300 mg (0.992 mmol) 9-(3-Nitrobenzyl)-9*H*-carbazol (**94**), 277 mg (4.96 mmol) Eisenpulver sowie 27 mg (0.49 mmol) Ammoniumchlorid wurden mit 12 mL eines Ethanol-Wasser-Gemisches (2:1) versetzt und 90 Minuten bei 100 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch unter Vakuum filtriert und mit Ethylacetat und Wasser nachgewaschen. Anschließend wurde die organische Phase des Filtrats abgetrennt und dreimal mit je 20 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 5 mL Dichlormethan gelöst, mit 88 µL (1.1 mmol) Pyridin versetzt und dann unter Rühren auf 0 °C abgekühlt. Dann wurden 74 µL (1.0 mmol) Acetylchlorid zugesetzt und 2 Stunden bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 20 Stunden gerührt. Dem Reaktionsgemisch wurden 50 mL Dichlormethan zugesetzt. Die organische Phase wurde dreimal mit je 20 mL Wasser, einmal mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und einmal mit 10 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/Ethylacetat 99:1) aufgereinigt.

Ausbeute:	112 mg (0.381 mmol/38 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	178 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.15 – 8.10 (m, 2H, 4'''-H, 5'''-H), 7.47 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H, 5'-H), 7.43 (ddd, <i>J</i> = 8.2, 7.0, 1.2 Hz, 2H, 2'''-H, 7'''-H), 7.38 (d, <i>J</i> = 8.2 Hz, 2H, 1'''-H, 8'''-H), 7.25 (ddd, <i>J</i> = 8.0, 7.0, 1.1 Hz, 2H, 3'''-H, 6'''-H), 7.21 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H, 6'-H), 7.18 (br s, 1H, 1-NH), 7.15 (s, 1H, 2'-H), 6.90 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H, 4'-H), 5.51 (s, 2H, 1''-H), 2.00 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 168.7 (C-1), 141.1 (C-3'), 139.3 (C-1'), 138.9 (C-8'''a, C-9'''a), 129.9 (C-4'), 126.4 (C-2''', C-7'''), 123.4 (C-4'''a, C-4'''b), 122.5 (C-5'), 120.8 (C-4'', C-5'''), 119.8 (C-3''', C-6'''), 119.2 (C-6'), 117.7 (C-2'), 109.4 (C-1''', C-8'''), 46.9 (C-1''), 24.8 (C-2)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3265 (m), 1666 (s), 1609 (m), 1542 (s), 1484 (s), 1460 (m), 1332 (m), 1324 (m), 1212 (m), 751 (s), 722 (m)	
MS (EI):	<i>m/z</i> (rel. Int. in %) = 314 (100) [M ⁺], 148 (65), 106 (40)	
HR-MS (EI):	<i>m/z</i> = 314.1408 (berechnet für C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O: 314.1419)	
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm)	
	>99 % (λ = 254 nm)	

9-(3-Nitrobenzyl)-9H-carbazol (94)C₁₉H₁₄N₂O₂M_r = 302.33 g/mol

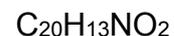
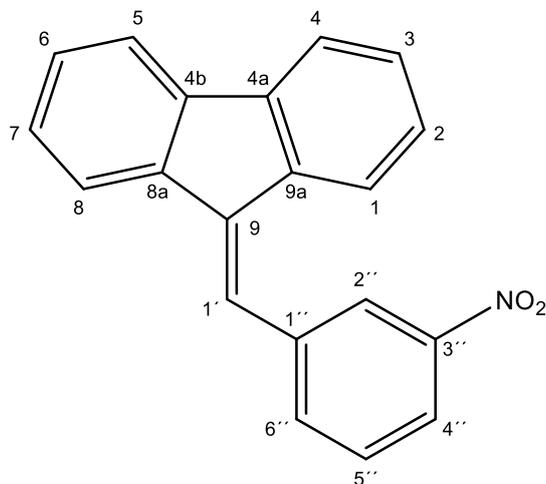
300 mg (1.79 mmol) Carbazol (**92**), 371 mg (2.16 mmol) 1-(Chlormethyl)-3-nitrobenzol, 702 mg (2.15 mmol) Cäsiumcarbonat und 41 mg (0.18 mmol) Triethylbenzylammoniumchlorid wurden in ein Mikrowellen-Vial eingewogen und bei 135 °C, 40 Watt und einem zulässigen Maximaldruck von 17 bar 3 Stunden umgesetzt. Der erhaltene Feststoff wurde in 20 mL Ethylacetat aufgenommen und die Lösung mit 20 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:99) aufgereinigt.

Ausbeute: 402 mg (1.33 mmol/74 %) gelber Feststoff

Schmelzpunkt: 132 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.16 (dd, *J* = 7.8, 0.7 Hz, 2H, 4-H, 5-H), 8.08 (ddt, *J* = 7.8, 2.6, 1.7 Hz, 1H, 4''-H), 8.05 (s, 1H, 2''-H), 7.49-7.40 (m, 3H, 2-H, 7-H, 5''-H), 7.39 (dd, *J* = 12.9, 4.9 Hz, 3H, 1-H, 8-H, 6''-H), 7.28 (ddd, *J* = 7.2, 5.6, 1.0 Hz, 2H, 3-H, 6-H), 5.62 (s, 2H, 1'-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 149.1 (C-3''), 140.9 (C-8a, C-9a), 140.2 (C-1''), 133.0 (C-6''), 130.5 (C-5''), 126.6 (C-2, C-7), 123.7 (C-4a, C-4b), 123.1 (C-4''), 122.0 (C-2''), 121.0 (C-4, C-5), 120.2 (C-3, C-6), 109.2 (C-1, C-8), 46.5 (C-1')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3418 (m), 1524 (s), 1483 (m), 1459 (m), 1453 (m), 1345 (s), 1212 (m), 753 (s), 724 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 302 (100) [M^+], 180 (35), 166 (60)
HR-MS (EI):	m/z = 302.1047 (berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$: 302.1055)
HPLC-Reinheit:	76 % ($\lambda = 210$ nm) 79 % ($\lambda = 254$ nm)

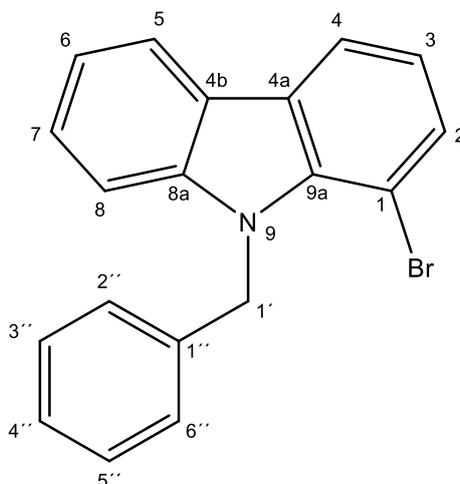
9-(3-Nitrobenzyliden)-9H-fluoren (98)

Es wurden 200 mg (0.574 mmol) *N'*-(9H-Fluoren-9-yliden)-4-methylbenzensäurehydrazid (**97**), 98 mg (0.57 mmol) 1-(Chlormethyl)-3-nitrobenzol, 27 mg (0.11 mmol) Tris(2-furyl)phosphin und 133 mg (0.145 mmol) Tris(dibenzylidenaceton)dipalladium(0) unter Stickstoffatmosphäre in 7.5 mL wasserfreiem Toluol suspendiert. Dann wurden 3 mL Lithium-*tert*-butanolat (1M in Hexan) zugespritzt und das Reaktionsgemisch 18 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde vorsichtig Wasser zugesetzt. Das Gemisch wurde anschließend filtriert und mit 10 mL Wasser und 10 mL Ethylacetat nachgewaschen. Die organische Phase wurde abgetrennt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:4) aufgereinigt.

Ausbeute: 30 mg (0.10 mmol/18 %) roter Feststoff

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.44 (s, 1H, 2''-H), 8.27 – 8.22 (m, 1H, 4''-H), 7.97 – 7.92 (m, 1H, 6''-H), 7.81 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, 8-H), 7.76 – 7.72 (m, 2H, 4-H, 5-H), 7.66 (t, *J* = 7.9 Hz, 2H, 5''-H, 1'-H), 7.42 (td, *J* = 7.4, 1.1 Hz, 1H, 6-H), 7.39 – 7.33 (m, 3H, 1-H, 2-H, 3-H), 7.06 (td, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H, 7-H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, CD_2Cl_2):	δ (ppm) = 149.0 (C-3''), 142.1 (C-1''), 139.9 (C-9), 139.5 (C-4b), 139.2 (C-4a), 138.9 (C-9a), 136.4 (C-8a), 136.0 (C-6''), 130.2 (C-5''), 129.8 (C-3), 129.5 (C-6), 127.8 (C-2), 127.5 (C-7), 124.7 (C-2''), 124.6 (C-1'), 124.5 (C-1), 123.3 (C-4'), 121.0 (C-8), 120.6 (C-5), 120.3 (C-4)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3439 (m), 1522 (s), 1448 (m), 1347 (s), 1272 (m), 777 (m), 733 (m) 722 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 299 (75) [M^+], 252 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 299.0929 (berechnet für $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{NO}_2$: 299.0946)

9-Benzyl-1-brom-9H-carbazol (101)C₁₉H₁₄BrNM_r = 336.23 g/mol

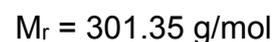
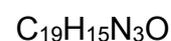
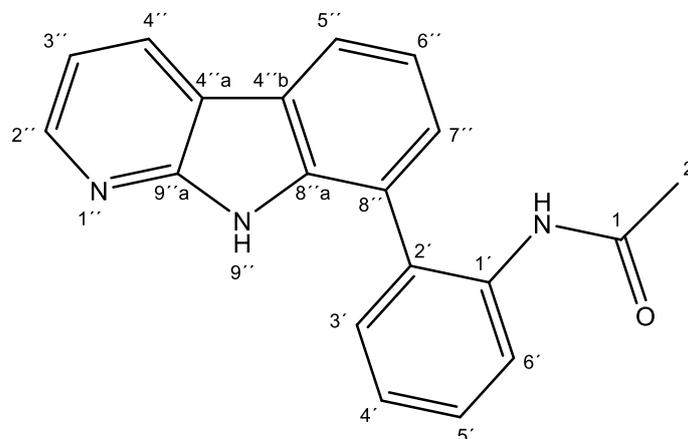
In einem Mikrowellenvial wurden 100 mg (0.406 mmol) 1-Brom-9H-carbazol (**19**), 160 mg (0.491 mmol) Cäsiumcarbonat, 60 µL (0.51 mmol) Benzylbromid und 10 mg (0.044 mmol) Triethylbenzylammoniumchlorid vorgelegt. Die Umsetzung fand unter Mikrowellenbedingungen über eine Dauer von 3 Stunden, bei 135 °C und einer Leistung von 40 Watt und einem zulässigen Maximaldruck von 17 bar statt. Das Rohprodukt wurde in 10 mL Ethylacetat digeriert und filtriert. Der Filterkuchen wurde mit 5 mL Ethylacetat gewaschen. Die vereinigten Ethylacetat-Phasen wurden unter Vakuum eingeeengt und anschließend im Hochvakuum vollständig getrocknet.

Ausbeute: 135 mg (0.402 mmol/99 %) hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 138 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.12 (d, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H, 4-H), 8.11 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, 5-H), 7.61 (dd, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H, 2-H), 7.44 (ddd, *J* = 8.3, 7.1, 1.2 Hz, 1H, 7-H), 7.36 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, 8-H), 7.31 – 7.21 (m, 4H, 6-H, 3''-H, 4''-H, 5''-H), 7.12 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H, 3-H), 7.09 – 7.04 (m, 2H, 2''-H, 6''-H), 6.06 (s, 2H, 1'-H)

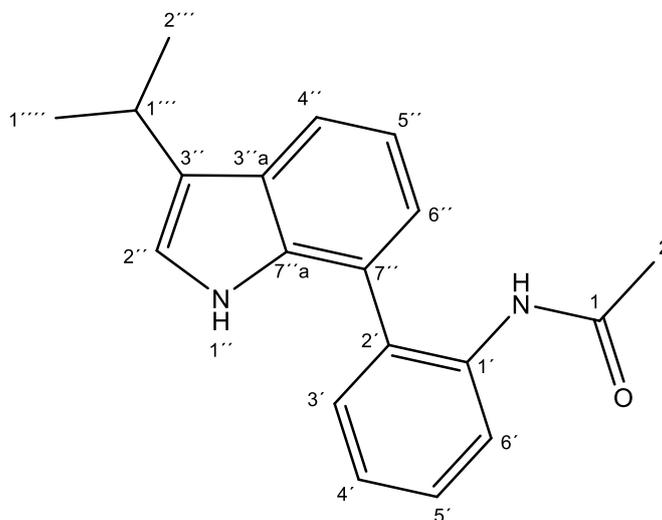
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 142.26 (C-8a), 139.09 (C-1''), 137.40 (C-9a), 131.77 (C-2), 129.11 (C-3'', C-5''), 127.64 (C-4''), 127.23 (C-7), 126.83 (C-4a), 126.49 (C-2'', C-6''), 122.94 (C-4b), 120.97 (C-4), 120.68 (C-3, C-6), 120.07 (C-5), 110.19 (C-8), 103.36 (C-1), 47.93 (C-1')
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3431 (m), 2361 (m), 2342 (m), 1746 (m), 1450 (s), 1413 (m), 1331 (m), 1265 (m), 1246 (m), 1196 (m), 1124 (m), 1051 (m), 1027 (m), 846 (m), 788 (m), 743 (s), 726 (s), 693 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 337 (58) [M ⁺], 335 (65) [M ⁺], 256 (22), 254 (43), 165 (17), 91 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 335.0332 (berechnet für C ₁₉ H ₁₄ BrN: 335.0310)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(9*H*-Pyrido[2,3-*b*]indol-8-yl)phenyl]acetamid (**103**)**

Unter Stickstoffatmosphäre wurden 940 mg (2.87 mmol) 3-Brom-*N*-(2-bromophenyl)pyridin-2-amin (**108**), 129 mg (0.575 mmol) Palladium(II)acetat und 201 mg (0.573 mmol) CyJohnPhos (**106**) in 5 mL *N,N*-Dimethylacetamid suspendiert. Das Gemisch wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt und dann mit 860 µL (5.76 mmol) DBU (1,8-Diazabicyclo [5.4.0]undec-7-en) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 130 °C erhitzt und 16 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Dem Gemisch wurden 5 mL Wasser, 20 mL Ethylacetat und 5 mL Tetrahydrofuran zugefügt. Die organische Phase wurde abgetrennt und einmal mit 30 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/isoHexan 1:1) aufgereinigt. 313 mg (1.27 mmol) des erhaltenen Zwischenprodukts 8-Brom-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indol (**105**) wurden zusammen mit 269 mg (1.50 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 150 mg (0.130 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 15 mL 1,2-Dimethoxyethan und 8 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde 10 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über 12 Stunden statt. Das Reaktionsgemisch wurde in

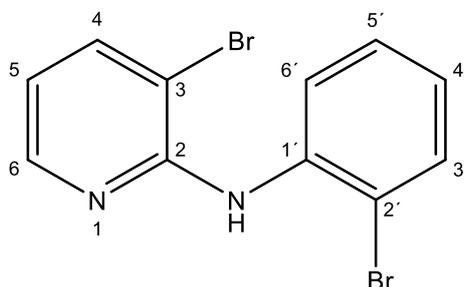
100 mL Wasser aufgenommen und dann viermal mit je 60 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/Ethylacetat 9:1 - 1:9) aufgereinigt. Das Produkt wurde aus Pentan rekristallisiert.

Ausbeute:	26 mg (0.079 mmol/7 %)	rotbrauner Feststoff
Schmelzpunkt:	>250 °C	
¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 11.29 (bs, 1H, 9''-H), 9.01 (bs, 1H, 1-NH), 8.54 (dd, <i>J</i> = 7.7, 1.7 Hz, 1H, 4''-H), 8.40 (dd, <i>J</i> = 4.9, 1.6 Hz, 1H, 2''-H), 8.18 (dd, <i>J</i> = 6.2, 2.8 Hz, 1H, 5''-H), 7.72 (d, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1H, 6'-H), 7.48 – 7.38 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.35 – 7.25 (m, 3H, 4'-H, 6''-H, 7''-H), 7.21 (dd, <i>J</i> = 7.7, 4.8 Hz, 1H, 3''-H), 1.75 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 168.67 (C-1), 152.34 (C-9''a), 146.20 (C-2''), 137.01 (C-8''a), 135.82 (C-1'), 132.27 (C-2'), 130.85 (C-3'), 128.25 (C-4''), 127.92 (C-5'), 127.58 (C-7''), 125.98 (C-6'), 125.41 (C-4'), 122.48 (C-8''), 121.22 (C-4''b), 120.29 (C-5''), 119.48 (C-6''), 115.36 (C-4''a), 115.07 (C-3''), 23.17 (C-2)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3418 (m), 3371 (m), 3062 (m), 1677 (s), 1582 (s), 1520 (s), 1448 (s), 1411 (s), 1300 (m), 1274 (m), 1238 (m), 778 (m), 755 (m), 744 (m)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 301 (80) [M ⁺], 258 (100), 170 (65)	
HR-MS (EI):	m/z = 301.1217 (berechnet für C ₁₉ H ₁₅ N ₃ O: 301.1215)	
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)	

***N*-(2-(3-Isopropyl-1*H*-indol-7-yl)phenyl)acetamid (104)**

400 mg (1.68 mmol) 7-Brom-3-isopropyl-1*H*-indol (**133**) wurden zusammen mit 153 mg (1.68 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 194 mg (0.168 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 20 mL 1,2-Dimethoxyethan und 10 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 10 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über 12 Stunden statt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 100 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 9:1) aufgereinigt. Das noch verunreinigte Produkt wurde mittels einer zweiten FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:9) weiter aufgereinigt. Das erhaltene Produkt wurde in Diethylether suspendiert, filtriert und der Filterkuchen getrocknet.

Ausbeute:	98 mg (0.34 mmol/20 %)	weißer Feststoff
Schmelzpunkt:	185 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.25 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 8.03 (bs, 1H, 1''-H), 7.71 (ddd, J = 7.9, 0.9 Hz, 1H, 6''-H), 7.41 (ddd, J = 8.5, 7.6, 1.7 Hz, 1H, 5'-H), 7.38 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H, 3'-H), 7.27 – 7.18 (m, 2H, 4'-H, 5''-H), 7.15 (bs, 1H, 1-NH), 7.11 (dd, J = 7.2, 1.1 Hz, 1H, 4''-H), 6.97 (d, J = 2.2 Hz, 1H, 2''-H), 3.24 (septd, J = 6.9, 0.9 Hz, 1H, 1'''-H), 1.82 (s, 3H, 2-H), 1.38 (d, J = 6.9 Hz, 6H, 2'''-H, 1''''-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 169.20 (C-1), 136.21 (C-1'), 135.33 (C-7''a), 130.94 (C-3'), 129.53 (C-2'), 129.03 (C-5'), 127.97 (C-3'a), 125.05 (C-4'), 124.79 (C-3''), 123.05 (C-4''), 122.67 (C-6'), 121.46 (C-7''), 120.66 (C-2''), 120.02 (C-6''), 119.91 (C-5''), 26.09 (C-1'''), 24.76 (C-2), 23.67 (C-2''', C-1''''')	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3408 (m), 3293 (s), 2954 (m), 2865 (m), 1687 (s), 1524 (s), 1450 (m), 1308 (m), 765 (m), 748 (m)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 292 (49) [M ⁺], 277 (41), 235 (100)	
HR-MS (EI):	m/z = 292.1564 (berechnet für C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O: 292.1576)	
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)	

3-Brom-N-(2-bromphenyl)pyridin-2-amin (108)

38 mg (0.17 mmol) Palladium(II)acetat und 98 mg (0.17 mmol) Xantphos (4,5-Bis(diphenylphosphin)-9,9-dimethylxanthen, **107**) wurden unter Stickstoffatmosphäre in 10 mL Anisol suspendiert und 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 600 mg (3.47 mmol) 2-Amino-3-brompyridin, 450 µL (3.50 mmol) 1-Brom-2-iodbenzol und 1.6 g (4.9 mmol) Cäsiumcarbonat zugesetzt. Das Gemisch wurde weitere 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Mischung auf 130 °C erhitzt und 12 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 12 mL Wasser versetzt. Die organische Phase wurde abgetrennt und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 10 mL Ethylacetat gelöst und mit 10 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:9) aufgereinigt.

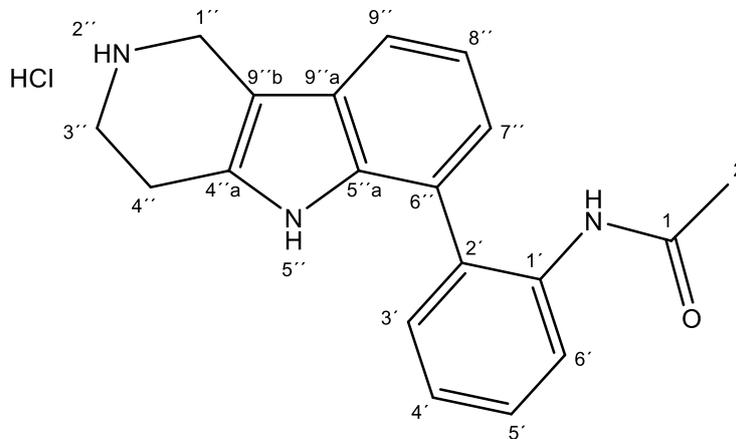
Ausbeute: 756 mg (2.30 mmol/66 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 83 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.60 (dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, 1H, 6'-H), 8.18 (dd, *J* = 4.8, 1.6 Hz, 1H, 6-H), 7.82 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H, 4-H), 7.71 (bs, 1H, 2-NH), 7.59 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, 3'-H), 7.38 – 7.28 (m, 1H, 5'-H), 6.91 (ddd, *J* = 8.0, 7.3, 1.6 Hz, 1H, 4'-H), 6.73 (dd, *J* = 7.8, 4.8 Hz, 1H, 5-H)

¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 152.03 (C-2), 146.76 (C-6), 141.02 (C-4), 138.52 (C-1'), 132.87 (C-3'), 128.49 (C-5'), 123.64 (C-4'), 120.92 (C-6'), 117.03 (C-5), 114.13 (C-2'), 107.82 (C-3)
IR (Film):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3365 (s), 1602 (s), 1557 (m), 1526 (s), 1461 (s), 1455 (s), 1441 (s), 1401 (m), 1339 (m), 1305 (m), 1021 (m), 1011 (m), 782 (m), 749 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 327 (40) (M + H) ⁺ , 329 (100) (M + H) ⁺ , 331 (45) (M + H) ⁺ , 247 (65), 249 (65)
HR-MS (ESI):	m/z = 326.9129 (berechnet für C ₁₁ H ₉ Br ₂ N ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 326.9132)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(2,3,4,5-Tetrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indol-6-yl)phenyl]acetamid-Hydrochlorid (109)**



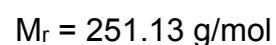
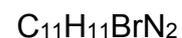
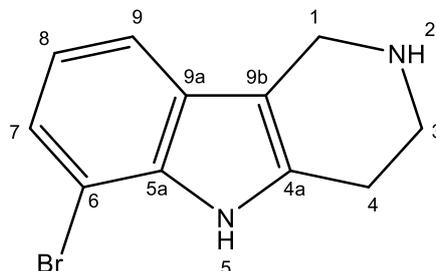
$C_{19}H_{20}ClN_3O$

$M_r = 341.84 \text{ g/mol}$

530 mg (1.51 mmol) *tert*-Butyl-6-brom-1,3,4,5-tetrahydro-2*H*-pyrido[4,3-*b*]indol-2-carboxylat (**111**) wurden zusammen mit 270 mg (1.51 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 175 mg (0.151 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einem Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 20 mL 1,2-Dimethoxyethan und 10 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 8 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 70 °C über 12 Stunden statt. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 mL Wasser aufgenommen und dann viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:1) aufgereinigt. Das erhaltene Zwischenprodukt wurde in 5 mL Dichlormethan gelöst und mit 2 mL Trifluoressigsäure versetzt. Das Gemisch wurde über 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt und anschließend zweimal mit 15 mL Dichlormethan und zweimal mit 15 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Aceton + 3 % Triethylamin)

aufgereinigt. Das Produkt wurde in 1 mL Dichlormethan gelöst und durch Zugabe von Salzsäure (4M in Dioxan) als Hydrochlorid ausgefällt.

Ausbeute:	91 mg (0.27 mmol/20 %)	gelbes Öl
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 10.69 (bs, 1H, 5''-H), 9.65 (bs, 2H, 2''-H), 8.97 (bs, 1H, 1-NH), 7.69 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, 6'-H), 7.45 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, 9''-H), 7.42 – 7.36 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 7.34 – 7.27 (m, 1H, 4'-H), 7.07 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, 8''-H), 6.96 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, 7''-H), 4.30 (s, 2H, 1''-H), 3.48 – 3.35 (m, 2H, 3''-H), 2.98 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H, 4''-H), 1.78 (s, 3H, 2-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 168.55 (C-1), 135.76 (C-1'), 133.94 (C-5''a), 132.72 (C-2'), 131.47 (C-4''a), 130.42 (C-5'), 127.76 (C-3'), 126.22 (C-6'), 125.78 (C-6''), 125.37 (C-4'), 122.18 (C-7''), 122.06 (C-9''a), 119.03 (C-8''), 116.90 (C-9''), 102.09 (C-9''b), 40.76 (C-3''), 39.91 (C-1''), 23.16 (C-2), 20.19 (C-4'')	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3398 (s), 3251 (s), 2816 (m), 2368 (s), 1663 (s), 1526 (m), 1305 (m), 1047 (m), 1025 (s), 1003 (s), 765 (s)	
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 305 (45) [M ⁺], 276 (85), 234 (100) [freie Base vermessen]	
HR-MS (EI):	m/z = 305.1529 (berechnet für C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O: 305.1528) [freie Base vermessen]	
HPLC-Reinheit:	95 % ($\lambda = 210$ nm) 92 % ($\lambda = 254$ nm)	

6-Brom-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indol (110)

400 mg (1.79 mmol) (2-Bromphenyl)hydrazin-Hydrochlorid (**21**) und 275 mg (1.79 mmol) 4-Piperidon-Hydrochlorid-Monohydrat wurden in 6 mL Ethanol gelöst und anschließend mit 2 mL konzentrierter Salzsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 Stunden bei 87 °C gerührt. Das Gemisch wurde filtriert und der Rückstand mit 10 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Die wässrige Phase wurde anschließend dreimal mit je 25 mL Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt.

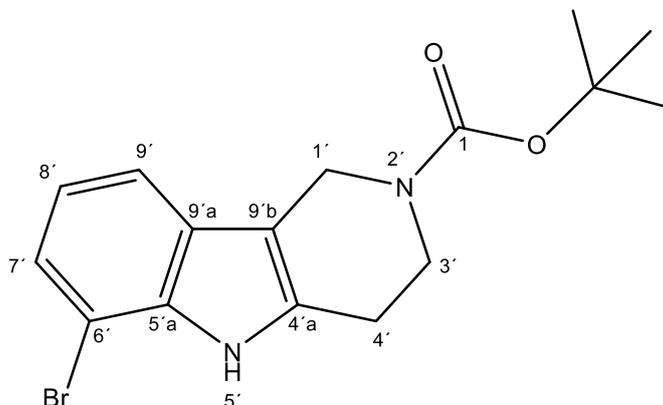
Ausbeute:	240 mg (0.956 mmol/53 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	184 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.26 (bs, 1H, 5-H), 7.35 (dd, <i>J</i> = 7.8, 0.9 Hz, 1H, 9-H), 7.25 (dd, <i>J</i> = 7.6, 0.9 Hz, 1H, 7-H), 6.94 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H, 8-H), 4.00 (t, <i>J</i> = 1.7 Hz, 2H, 1-H), 3.19 (t, <i>J</i> = 5.7 Hz, 2H, 3-H), 2.78 (tt, <i>J</i> = 5.8, 1.7 Hz, 2H, 4-H), 1.78 (bs, 1H, 2-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 134.65 (C-5a), 134.32 (C-4a), 127.87 (C-9a), 123.83 (C-7), 120.91 (C-8), 117.38 (C-9), 111.49 (C-9b), 104.57 (C-6), 43.86 (C-3), 42.69 (C-1), 25.01 (C-4)	
IR (KBr):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3310 (m), 3053 (m), 2916 (m), 2797 (s), 1586 (m), 1472 (s), 1430 (s), 1326 (s), 1260 (s), 1131 (m), 975 (m), 771 (m), 732 (s)	

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 253 (95) (M + H)⁺, 251 (100) (M + H)⁺

HR-MS (ESI): m/z = 251.0184 (berechnet für C₁₁H₁₂BrN₂⁺ [M + H]⁺: 251.0184)

HPLC-Reinheit: 68 % (λ = 210 nm)

40 % (λ = 254 nm)

tert-Butyl-6-brom-1,3,4,5-tetrahydro-2H-pyrido[4,3-b]indol-2-carboxylat (111)

100 mg (0.398 mmol) 6-Brom-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indol (**110**) und 81 μ L (1.0 mmol) Pyridin wurden in 3 mL Dichlormethan suspendiert und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 218 mg (0.999 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat zugesetzt und die Mischung über 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde mit 10 mL Wasser versetzt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und mit dreimal mit je 20 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/Ethylacetat/*iso*Hexan 1:1:2) aufgereinigt.

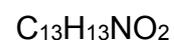
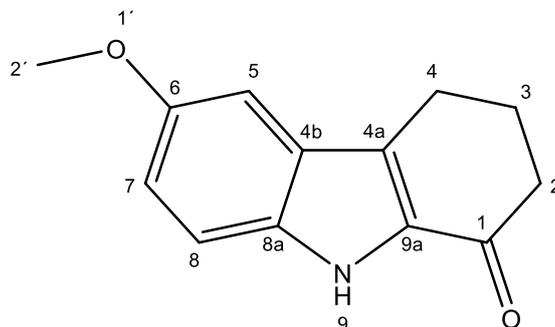
Ausbeute: 137 mg (0.390 mmol/98 %) hellgelber Feststoff

Schmelzpunkt: 79 °C

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 8.29 (bs, 1H, 5'-H), 7.48 – 7.32 (m, 1H, 7'-H), 7.29 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 9'-H), 6.97 (t, J = 7.7 Hz, 1H, 8'-H), 4.63 (s, 2H, 1'-H), 3.91 – 3.72 (m, 2H, 4'-H), 2.85 (dd, J = 5.7 Hz, 2H, 3'-H), 1.52 (s, 9H, C(CH₃)₃)

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 155.28 (C-1), 134.67 (C-5'a), 133.24 (C-4'a), 126.87 (C-9'a), 123.96 (C-9'), 120.80 (C-8'), 116.88 (C-7'), 108.76 (C-9'b), 104.39 (C-6'), 80.16 (C(CH₃)₃), 41.47 (C-4'), 40.69 (C-1'), 28.61 (C(CH₃)₃), 23.64 (C-3')

IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3301 (m), 2975 (m), 1676 (s), 1460 (m), 1420 (s), 1366 (m), 1169 (s), 1147 (s), 1104 (m), 770 (m), 733 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 350 (2) [M ⁺], 352 (1) [M ⁺], 293 (85), 249 (35), 223 (100)
HR-MS (EI):	m/z = 350.0626 (berechnet für C ₁₆ H ₁₉ BrN ₂ O ₂ : 350.0630)
HPLC-Reinheit:	68 % (λ = 210 nm) 40 % (λ = 254 nm)

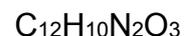
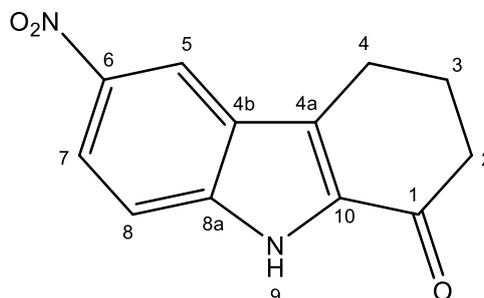
6-Methoxy-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (112)

5.0 g (41 mmol) 4-Methoxyanilin wurden in 85 mL Wasser suspendiert, mit 11 mL konzentrierter Salzsäure versetzt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von 3.9 g (57 mmol) Natriumnitrit wurde 1 Stunde bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 2.7 g (45 mmol) Harnstoff zugesetzt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Nach Ende der Gasentwicklung wurde eine auf 0 °C abgekühlte Mischung von 7.2 mL (45 mmol) 2-Oxocyclohexansäureethylester und 3.2 g (57 mmol) Kaliumhydroxid in 30 mL Wasser, die zuvor 4 Stunden bei 30 °C gerührt wurde, zugegeben. Mit Eisessig wurde anschließend sofort ein pH-Wert unter 3 eingestellt und über Nacht bei Raumtemperatur weiter gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgesaugt, in 85 mL wasserfreier Ameisensäure aufgenommen und 12 Stunden bei 80 °C gerührt. Die Ameisensäure wurde am Rotationsverdampfer unter Vakuum entfernt und der Rückstand in 35 mL Ethylacetat gelöst, mit 60 mL 2N Natriumhydroxid-Lösung versetzt und nach Zusatz von gesättigter Natriumchlorid-Lösung dreimal mit je 70 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 1.2 g (5.6 mmol/14 %) brauner Feststoff

Schmelzpunkt: 215 °C (entspr. Lit.^[122]: 213-214 °C)

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.96 (bs, 1H, 9-H), 7.34 (dd, J = 8.6, 1.0 Hz, 1H, 7-H), 7.05 – 7.00 (m, 2H, 5-H, 8-H), 3.85 (s, 3H, 2'-H), 2.97 (t, J = 6.1 Hz, 2H, 4-H), 2.62 (dd, J = 7.3, 5.7 Hz, 2H, 2-H), 2.29 – 2.22 (m, 2H, 3-H)
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 191.48 (C-1), 155.04 (C-6), 133.68 (C-8a), 132.45 (C-4a), 129.18 (C-4b), 126.71 (C-9a), 118.87 (C-5), 113.88 (C-7), 101.79 (C-8), 56.17 (C-2'), 38.81 (C-2), 25.59 (C-3), 21.94 (C-4)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3256 (s), 1638 (s), 1537 (m), 1486 (m), 1288 (m), 1217(s), 901 (m), 805 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 215 (100) [M ⁺], 200 (45), 172 (20), 159 (30)
HR-MS (EI):	m/z = 215.0989 (berechnet für C ₁₃ H ₁₃ NO ₂ : 215.0946)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

6-Nitro-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (113)

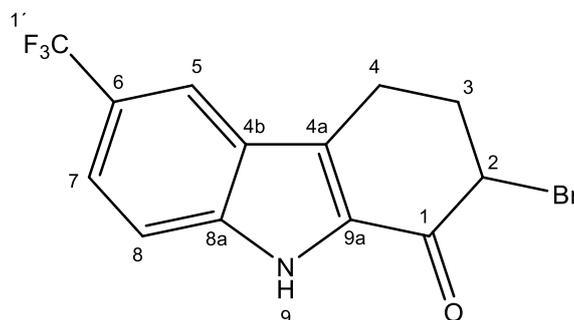
M_r = 230.22 g/mol

5.0 g (36 mmol) 4-Nitroanilin wurden in 75 mL Wasser suspendiert, mit 9 mL konzentrierter Salzsäure versetzt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Nach Zugabe von 3.5 g (51 mmol) Natriumnitrit wurde eine Stunde bei 0 °C gerührt, anschließend 2.4 g (40 mmol) Harnstoff zugesetzt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Nach Ende der Gasentwicklung wurde eine auf 0 °C abgekühlte Mischung von 6.4 mL (40 mmol) 2-Oxocyclohexansäureethylester und 2.8 g (50 mmol) Kaliumhydroxid in 25 mL Wasser, die zuvor 4 Stunden bei 30 °C gerührt wurde, zugegeben. Mit Eisessig wurde anschließend sofort ein pH-Wert unter 3 eingestellt und über Nacht bei Raumtemperatur weiter gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abgesaugt, in 75 mL wasserfreier Ameisensäure aufgenommen und über Nacht bei 80 °C gerührt. Die Ameisensäure wurde am Rotationsverdampfer unter Vakuum entfernt und der Rückstand in 25 mL Ethylacetat gelöst, mit 50 mL 2N Natriumhydroxid-Lösung versetzt und nach Zusatz von 30 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan) aufgereinigt.

Ausbeute: 1.0 g (4.3 mmol/12 %) brauner Feststoff

Schmelzpunkt: 265 °C (entspr. Lit.^[122]: 265 °C)

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 12.34 (bs, 1H, 9-H), 8.71 (d, J = 2.2 Hz, 1H, 5-H), 8.15 (dd, J = 9.1, 2.3 Hz, 1H, 7-H), 7.53 (d, J = 9.1 Hz, 1H, 8-H), 3.04 (t, J = 6.0 Hz, 2H, 2-H), 2.61 (dd, J = 7.2, 5.6 Hz, 2H, 4-H), 2.18 (p, J = 6.3 Hz, 2H, 3-H)
¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 190.78 (C-1), 141.01 (C-6), 140.47 (C-8a), 133.98 (C-9a), 130.31 (C-4a), 124.51 (C-4b), 120.73 (C-7), 118.92 (C-5), 113.35 (C-8), 38.04 (C-4), 24.32 (C-3), 20.62 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3258 (m), 2430 (m), 1642 (s), 1618 (m), 1521 (s), 1471 (m), 1330 (s), 827 (m), 735 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 230 (100) [M ⁺], 174 (70), 128 (40)
HR-MS (EI):	m/z = 230.0693 (berechnet für C ₁₂ H ₁₀ N ₂ O ₃ : 230.0691)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

(±)-2-Brom-6-(trifluormethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (116)C₁₃H₉BrF₃NOM_r = 332.12 g/mol

715 mg (3.20 mmol) Kupfer(II)bromid wurden in 4 mL Ethylacetat suspendiert und auf 60 °C erhitzt. Eine Lösung von 400 mg (1.58 mmol) 6-(Trifluormethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**114**) in 4 mL Ethylacetat wurde langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 12 Stunden bei 60 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension filtriert und der Filtrerrückstand mit 15 mL Ethylacetat nachgewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden unter Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan/Ethylacetat 6:13:1 – 6:3:1) aufgereinigt.

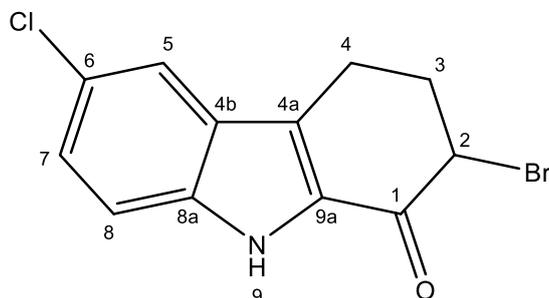
Ausbeute:	494 mg (1.49 mmol/94 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	145 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 9.18 (bs, 1H, 9-H), 8.07 – 8.01 (m, 1H, 5-H), 7.66 – 7.56 (m, 2H, 7-H, 8-H), 4.78 (dd, <i>J</i> = 4.5, 3.7 Hz, 1H, 2-H), 3.24 – 3.11 (m, 2H, 4-H), 2.72 – 2.58 (m, 2H, 3-H)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 184.12 (C-1), 140.03 (C-8a), 130.51 (C-9a), 129.88 (C-4a), 129.48 (C-1'), 125.54 (C-6), 124.75 (C-4b), 124.30 (C-7), 120.20 (C-5), 113.75 (C-8), 50.81 (C-2), 34.39 (C-3), 19.27 (C-4)	
IR (KBr):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3369 (m), 1632 (m), 1582 (m), 1333 (s), 1273 (s), 1111 (s), 893 (m), 816 (m), 657 (m)	

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 332 (90) (M - H)⁻, 330 (100) (M - H)⁻,
328 (90) (M - H)⁻

HR-MS (ESI): m/z = 327.9601 (berechnet für C₁₃H₆BrF₃NO⁻
[M - H]⁻: 327.9585)

HPLC-Reinheit: 66 % (λ = 210 nm)

65 % (λ = 254 nm)

(±)-2-Brom-6-chlor-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (117)C₁₂H₉BrClNOM_r = 298.56 g/mol

804 mg (3.60 mmol) Kupfer(II)bromid wurden in 4 mL Ethylacetat suspendiert und auf 60 °C erhitzt. Eine Lösung von 400 mg (1.82 mmol) 6-Chlor-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**115**) in 4 mL Ethylacetat wurde langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 12 Stunden bei 60 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Suspension filtriert und mit 15 mL Ethylacetat nachgewaschen. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan/Ethylacetat 6:13:1 – 6:3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 512 mg (1.71 mmol/94 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 133 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.94 (bs, 1H, 9-H), 7.72 – 7.66 (m, 1H, 5-H), 7.46 – 7.31 (m, 2H, 7-H, 8-H), 4.75 (dd, *J* = 4.6, 3.7 Hz, 1H, 2-H), 3.21 – 2.99 (m, 2H, 4-H), 2.70 – 2.53 (m, 2H, 3-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 183.98 (C-1), 137.24 (C-8a), 130.14 (C-9a), 128.95 (C-4a), 128.45 (C-7), 127.16 (C-6), 126.93 (C-4b), 121.36 (C-5), 114.33 (C-8), 51.01 (C-2), 34.44 (C-3), 19.26 (C-4)

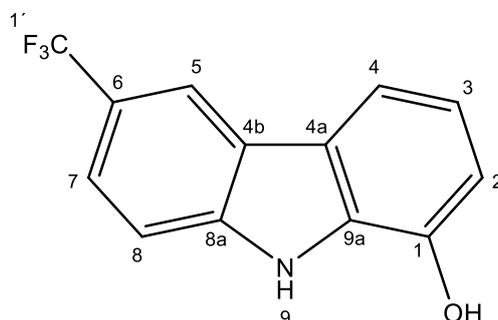
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3275 (m), 3011 (m), 1644 (s), 1539 (m), 1469 (m), 1272 (m), 1057 (m), 888 (m), 811 (s), 726 (m), 604 (m)

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 298 (30) (M - H)⁻, 296 (100) (M - H)⁻,
294 (70) (M - H)⁻

HR-MS (ESI): m/z = 293.9334 (berechnet für C₁₂H₆BrClNO⁻
[M - H]⁻: 293.9321)

HPLC-Reinheit: 62 % (λ = 210 nm)

71 % (λ = 254 nm)

6-(Trifluormethyl)-9H-carbazol-1-ol (118)C₁₃H₈F₃NOM_r = 251.21 g/mol

400 mg (1.20 mmol) (±)-2-Brom-6-(trifluormethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**116**) wurden in 10 mL trockenem Dimethylformamid gelöst und erst mit 156 mg (1.80 mmol) Lithiumbromid und anschließend mit 133 mg (1.80 mmol) Lithiumcarbonat versetzt. Die Suspension wurde auf 150 °C erhitzt und 4 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Das Gemisch wurde auf Eiswasser gegeben und dann mit dreimal je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (isoHexan/Ethylacetat 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 242 mg (0.96 mmol/80 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: 148 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.62 (bs, 1H, 9-H), 8.35 (dd, *J* = 1.7, 0.9 Hz, 1H, 5-H), 7.71 (ddd, *J* = 8.0, 0.8 Hz, 1H, 4-H), 7.67 (ddd, *J* = 8.6, 1.8, 0.7 Hz, 1H, 7-H), 7.57 (ddd, *J* = 8.5, 0.7 Hz, 1H, 8-H), 7.15 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, 3-H), 6.94 (dd, *J* = 7.7, 0.9 Hz, 1H, 2-H), 5.45 (bs, 1H, 1-OH)

¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 142.01 (C-1), 141.51 (C-8a), 130.19 (C-9a), 127.28 (C-1'), 125.21 (C-4a), 123.70 (C-4b), 123.15 (C-7), 122.09 (C-6), 121.24 (C-3), 118.69 (C-5), 113.70 (C-4), 112.11 (C-2), 111.76 (C-8)

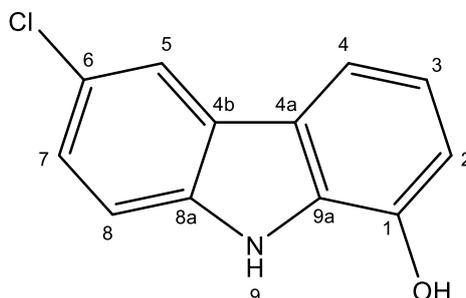
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3480 (s), 3304 (m), 1581 (m), 1328 (s), 1279 (s), 1255 (m), 1236 (s), 1129 (m), 1094 (s), 1082 (s), 819 (m), 729 (m), 714 (m), 652 (m)

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 250 (100) (M - H)⁻

HR-MS (ESI): m/z = 250.0484 (berechnet für C₁₃H₇F₃NO⁻
[M - H]⁻: 250.0480)

HPLC-Reinheit: >99 % (λ = 210 nm)

92 % (λ = 254 nm)

6-Chlor-9H-carbazol-1-ol (119)C₁₂H₈ClNOM_r = 217.65 g/mol

400 mg (1.34 mmol) (±)-2-Brom-6-chlor-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**117**) wurden in 15 mL trockenem Dimethylformamid gelöst und erst mit 174 mg (2.00 mmol) Lithiumbromid und anschließend mit 148 mg (2.00 mmol) Lithiumcarbonat versetzt. Die Suspension wurde auf 150 °C erhitzt und 4 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Das Gemisch wurde auf Eiswasser gegeben und dann dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Ethylacetat 9:1) aufgereinigt.

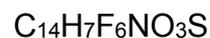
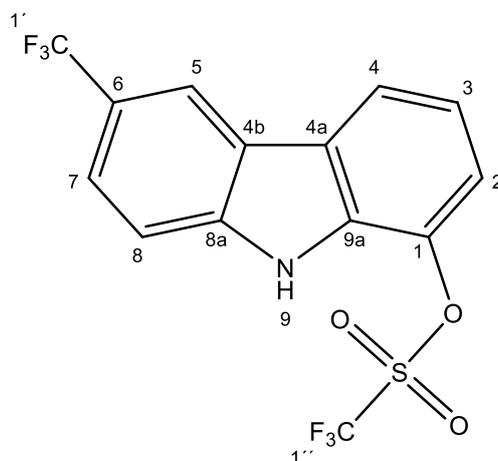
Ausbeute:	217 mg (0.997 mmol/74 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	160 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.44 (bs, 1H, 9-H), 8.02 (ddd, <i>J</i> = 2.0, 0.7 Hz, 1H, 5-H), 7.63 (ddd, <i>J</i> = 7.9, 0.8 Hz, 1H, 4-H), 7.42 (dd, <i>J</i> = 8.6, 0.6 Hz, 1H, 8-H), 7.38 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.0 Hz, 1H, 7-H), 7.09 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H, 3-H), 6.89 (dd, <i>J</i> = 7.7, 0.9 Hz, 1H, 2-H), 5.58 (bs, 1H, 1-OH)	
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 141.94 (C-1), 138.33 (C-8a), 130.27 (C-9a), 126.42 (C-7), 125.26 (C-4b), 125.20 (C-6), 124.78 (C-4a), 120.70 (C-5), 120.68 (C-3), 113.59 (C-4), 112.64 (C-8), 111.81 (C-2)	
IR (KBr):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3486 (m), 3396 (s), 1581 (s), 1469 (m), 1452 (m), 1308 (m), 1263 (m), 1231 (s), 1187 (m), 1097 (s), 810 (s), 744 (m)	

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 218 (30) (M - H)⁻, 216 (100) (M - H)⁻

HR-MS (ESI): m/z = 216.0221 (berechnet für C₁₂H₇ClNO⁻
[M - H]⁻: 216.0216)

HPLC-Reinheit: >99 % (λ = 210 nm)

87 % (λ = 254 nm)

6-(Trifluormethyl)-9H-carbazol-1-yl-trifluormethansulfonat (120)

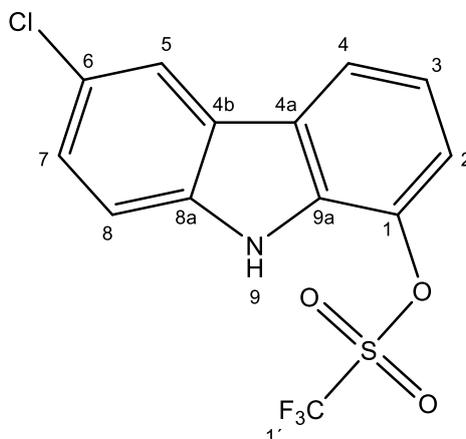
200 mg (0.796 mmol) 6-(Trifluormethyl)-9H-carbazol-1-ol (**118**) wurden mit 2 mL Pyridin versetzt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Nach 10 Minuten wurden 1.6 mL (1.6 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid-Lösung (1M in Dichlormethan) tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 2 Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 5 mL Acetonitril zugesetzt und die Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan gelöst und mit 10 mL Salzsäure (1N) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Ethylacetat 9:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 171 mg (0.446 mmol/56 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 168 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.74 (bs, 1H, 9-H), 8.40 (dd, *J* = 1.8, 0.9 Hz, 1H, 5-H), 8.15 (ddd, *J* = 7.8, 0.8 Hz, 1H, 4-H), 7.76 (ddd, *J* = 8.5, 1.8, 0.7 Hz, 1H, 7-H), 7.65 (ddd, *J* = 8.6, 0.7 Hz, 1H, 8-H), 7.47 (dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz, 1H, 2-H), 7.35 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, 3-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 141.90 (C-8a), 134.87 (C-1), 132.33 (C-9a), 127.32 (C-4a), 125.81 (C-1'), 124.51 (C-7), 123.10 (C-4b), 122.00 (C-6), 121.31 (C-4), 121.28 (C-3), 119.32 (C-2), 118.95 (C-5), 112.55 (C-1''), 112.33 (C-8)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3424 (s), 1416 (s), 1344 (m), 1272 (m), 1220 (s), 1159 (m), 1133 (m), 1117 (s), 947 (m), 819 (m), 613 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 383 (15) (M - H) ⁻ , 382 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 381.9978 (berechnet für C ₁₄ H ₆ F ₆ NO ₃ S ⁻ [M - H] ⁻ : 381.9973)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 93 % (λ = 254 nm)

6-Chlor-9*H*-carbazol-1-yl-trifluormethansulfonat (121)

200 mg (0.919 mmol) 6-Chlor-9*H*-carbazol-1-ol (**119**) wurde mit 2 mL Pyridin versetzt und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Nach 10 Minuten wurden 1.6 mL (1.6 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid-Lösung (1M in Dichlormethan) tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 2 Stunden bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 5 mL Acetonitril zugesetzt und die Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan gelöst und mit 10 mL Salzsäure (1N) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (*iso*Hexan/Ethylacetat 9:1) aufgereinigt.

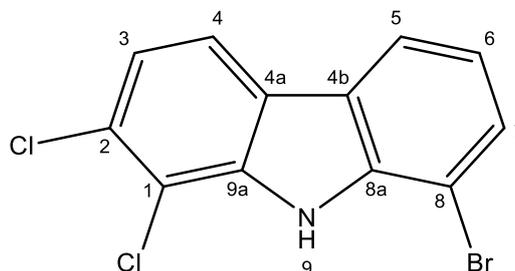
Ausbeute: 217 mg (0.997 mmol/74 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 119 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.47 (bs, 1H, 9-H), 8.02 – 7.97 (m, 2H, 4-H, 5-H), 7.44 – 7.42 (m, 2H, 7-H, 8-H), 7.40 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, 2-H), 7.25 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, 3-H)

¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 138.61 (C-8a), 134.74 (C-1), 132.23 (C-9a), 127.80 (C-7), 126.93 (C-4a), 126.51 (C-6), 124.50 (C-4b), 121.15 (C-5), 120.86 (C-4), 120.65 (C-3), 118.94 (C-2), 118.04 (C-1'), 113.01 (C-8)

IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3433 (s), 1414 (s), 1249 (m), 1217 (s), 1132 (m), 1081 (m), 941 (m), 872 (m), 822 (m), 611 (m)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 350 (35) (M - H) ⁻ , 348 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 347.9715 (berechnet für C ₁₃ H ₆ ClF ₃ NO ₃ S ⁻ [M - H] ⁻ : 347.9709)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 98 % (λ = 254 nm)

8-Brom-1,2-dichlor-9H-carbazol (125)

200 mg (0.787 mmol) 7,8-Dichlor-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**124**) wurden in 12 mL Anisol suspendiert und mit 1.4 g (4.9 mmol) Phosphoroxobromid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde auf 120 °C erhitzt. Das Gemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 70 mL Wasser versetzt. Anschließend wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan /isoHexan 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute:	125 mg (0.397 mmol/50 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	147 °C	
¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.50 (bs, 1H, 9-H), 7.98 (ddd, J = 7.9, 0.8 Hz, 1H, 5-H), 7.88 (dd, J = 8.4, 0.7 Hz, 1H, 4-H), 7.63 (dd, J = 7.8, 0.9 Hz, 1H, 7-H), 7.35 (d, J = 8.4 Hz, 1H, 6-H), 7.18 (t, J = 7.8 Hz, 1H, 3-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 138.85 (C-8a), 137.93 (C-9a), 130.26 (C-2), 129.54 (C-7), 124.96 (C-4b), 123.91 (C-4a), 122.45 (C-3), 122.26 (C-6), 120.30 (C-5), 120.25 (C-4), 115.50 (C-1), 104.96 (C-8)	
IR (KBr):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3408 (s), 1603 (m), 1561 (m), 1490 (m), 1467 (m), 1428 (s), 1296 (s), 1230 (m), 1186 (m), 1163 (s), 801 (m), 768 (s), 726 (m)	

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 317 (50) [M⁺], 315 (100) [M⁺], 313 (70) [M⁺], 280 (20), 252 (40), 234 (50), 198 (40), 162 (40)

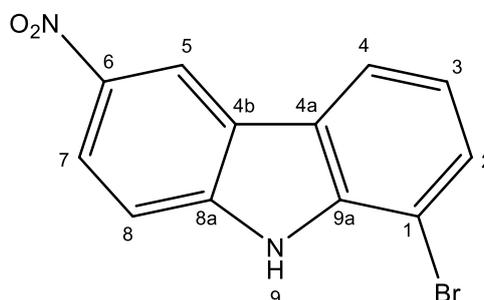
HR-MS (EI): m/z = 312.9067 (berechnet für C₁₂H₆BrCl₂N: 312.9061)

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 316 (50) (M - H)⁻, 314 (100) (M - H)⁻, 312 (65) (M - H)⁻

HR-MS (ESI): m/z = 311.8996 (berechnet für C₁₂H₅BrCl₂N⁻ [M - H]⁻: 311.8982)

HPLC-Reinheit: >99 % (λ = 210 nm)

>99 % (λ = 254 nm)

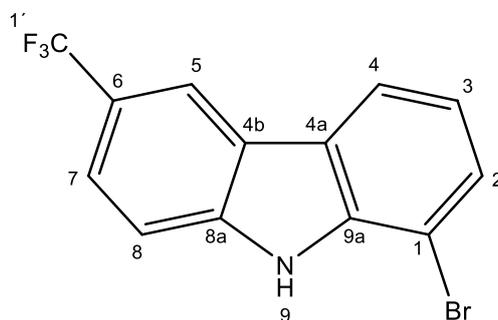
1-Brom-6-nitro-9H-carbazol (126)

$$M_r = 291.10 \text{ g/mol}$$

1000 mg (4.344 mmol) 6-Nitro-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**113**) wurden in 20 mL Anisol suspendiert und mit 3.5 g (12 mmol) Phosphoroxobromid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde bei 120 °C gerührt. Das Gemisch wurde auf Eiswasser gegossen. Anschließend wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dann dreimal mit je 40 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan /isoHexan 7:3 + 1 % Triethylamin) aufgereinigt.

Ausbeute:	221 mg (0.759 mmol/17 %)	gelber Feststoff
Schmelzpunkt:	141 °C	
¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 11.18 (bs, 1H, 9-H), 9.11 (dd, $J = 2.3, 0.5$ Hz, 1H, 5-H), 8.45 – 8.30 (m, 2H, 4-H, 7-H), 7.82 – 7.68 (m, 2H, 2-H, 8-H), 7.29 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H, 3-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 144.24 (C-8a), 142.30 (C-6), 140.66 (C-9a), 130.58 (C-2), 125.48 (C-4a), 123.94 (C-4b), 122.74 (C-3, C-7), 121.30 (C-4), 118.47 (C-5), 112.56 (C-8), 105.05 (C-1)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3428 (s), 3308 (s), 1628 (m), 1607 (m), 1512 (m), 1495 (m), 1354 (m), 1337 (s), 1326 (s), 1242 (m), 1187 (m), 735 (m)	

MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 292 (95) [M ⁺], 290 (100) [M ⁺], 244 (45), 165 (65)
HR-MS (EI):	m/z = 289.9683 (berechnet für C ₁₂ H ₇ BrN ₂ O ₂ : 289.9691)
HPLC-Reinheit:	91 % (λ = 210 nm)
	91 % (λ = 254 nm)

1-Brom-6-(trifluormethyl)-9H-carbazol (127)

400 mg (1.58 mmol) 6-(Trifluormethyl)-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**114**) wurden in 24 mL Anisol suspendiert und mit 2.8 g (9.8 mmol) Phosphoroxybromid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten auf 120 °C erhitzt. Das Gemisch wurde auf Eiswasser gegossen. Anschließend wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan /isoHexan 7:3 + 1 % Triethylamin) aufgereinigt.

Ausbeute: 61 mg (0.099 mmol/12 %) hellgelber Feststoff

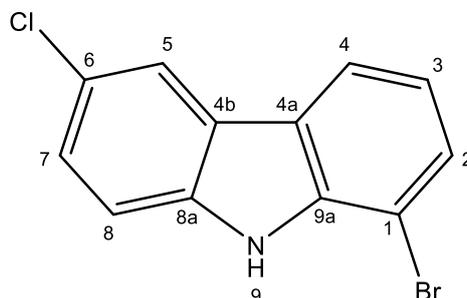
Schmelzpunkt: 166 °C

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.60 (bs, 1H, 9-H), 8.36 – 8.33 (m, 1H, 5-H), 8.05 (ddd, *J* = 7.82, 0.78, 0.78 Hz, 1H, 4-H), 7.73 – 7.69 (m, 1H, 7-H), 7.67 – 7.58 (m, 2H, 2-H, 8-H), 7.19 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, 3-H)

¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 141.26 (C-8a), 139.28 (C-9a), 129.55 (C-2), 127.09 (C-4b), 124.56 (C-4a), 123.80 (C-7), 122.84 (C-6), 122.52 (C-1'), 121.98 (C-3), 120.18 (C-4), 118.98 (C-5), 111.94 (C-8), 104.84 (C-1)

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3433 (s), 1631 (m), 1308 (m), 1347 (s), 1333 (s), 1323 (s), 1274 (s), 1165 (s), 1124 (m), 1113 (s), 1103 (s), 1056 (m), 826 (m) 757(m), 650 (m)

MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 315 (55) [M ⁺], 313 (50) [M ⁺], 235 (100), 194 (65), 166 (40), 139 (40)
HR-MS (EI):	m/z = 312.9734 (berechnet für C ₁₃ H ₇ BrF ₃ N: 312.9714)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 98 % (λ = 254 nm)

1-Brom-6-chlor-9H-carbazol (128)

300 mg (1.37 mmol) 6-Chlor-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**115**) wurden in 15 ml Anisol suspendiert und mit 2.4 g (8.4 mmol) Phosphoroxobromid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde bei 120 °C gerührt. Das Gemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit Wasser versetzt. Anschließend wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan /isoHexan 1:9) aufgereinigt.

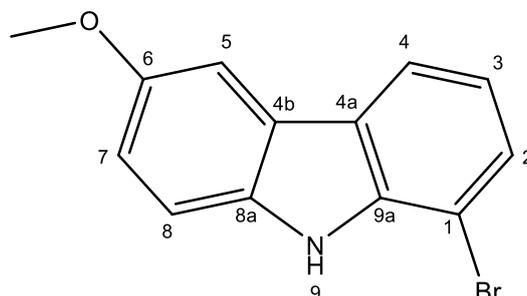
Ausbeute:	106 mg (0.378 mmol/28 %)	hellgelber Feststoff
Schmelzpunkt:	117 °C	
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.41 (bs, 1H, 9-H), 8.02 (ddd, <i>J</i> = 1.8, 0.8 Hz, 1H, 5-H), 7.98 (dt, <i>J</i> = 7.8, 0.9 Hz, 1H, 4-H), 7.61 (dd, <i>J</i> = 7.8, 1.0 Hz, 1H, 2-H), 7.48 – 7.40 (m, 2H, 7-H, 8-H), 7.14 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H, 3-H)	
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 139.25 (C-9a), 138.05 (C-8a), 129.24 (C-2), 127.16 (C-7), 125.96 (C-6), 125.30 (C-4b), 124.17 (C-4a), 121.46 (C-3), 121.00 (C-5), 120.10 (C-4), 112.76 (C-8), 104.70 (C-1)	
IR (KBr):	ν̄ (cm ⁻¹) = 3443 (s), 1606 (m), 1562 (m), 1490 (m), 1460 (m), 1444 (s), 1276 (s), 1231 (m), 1065 (m), 801 (s), 738 (s)	

MS (ESI): m/z (rel. Int. in %) = 282 (33) (M - H)⁻, 280 (100) (M - H)⁻,
278 (85) (M - H)⁻

HR-MS (ESI): m/z = 277.9377 (berechnet für C₁₂H₆BrClN⁻
[M - H]⁻: 277.9372)

HPLC-Reinheit: >99 % (λ = 210 nm)

97 % (λ = 254 nm)

1-Brom-6-methoxy-9H-carbazol (129)C₁₃H₁₀BrNOM_r = 276.13 g/mol

1.0 g (4.6 mmol) 6-Methoxy-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-1-on (**112**) wurden in 30 mL Anisol suspendiert und mit 3.5 g (12 mmol) Phosphoroxobromid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten bei 120 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eiswasser gegossen. Anschließend wurde mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und anschließend dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:9) aufgereinigt.

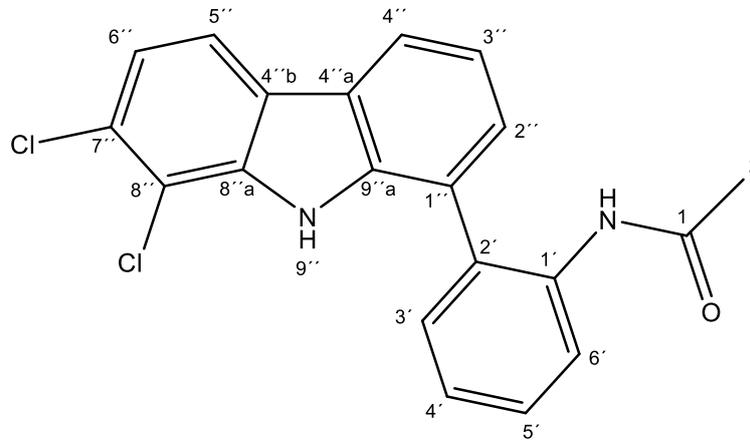
Ausbeute:	372 mg (1.35 mmol/29 %)	beiger Feststoff
Schmelzpunkt:	182 °C	
¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.26 (bs, 1H, 9-H), 7.99 (ddd, J = 7.8, 0.8 Hz, 1H, 4-H), 7.56 (dd, J = 7.7, 0.9 Hz, 1H, 2-H), 7.54 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 7.43 (dd, J = 8.8, 0.6 Hz, 1H, 8-H), 7.13 – 7.08 (m, 2H, 3-H, 7-H), 3.91 (s, 3H, CH ₃)	
¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 154.94 (C-6), 139.38 (C-9a), 134.56 (C-8a), 128.41 (C-2), 125.08 (C-4a), 124.56 (C-4b), 120.67 (C-3), 119.83 (C-4), 116.46 (C-7), 112.39 (C-8), 104.61 (C-1), 103.81 (C-5), 56.44 (CH ₃)	
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3403 (m), 2359 (m), 1496 (s), 1479 (s), 1288 (s), 1220 (s), 1190 (m), 1170 (s), 1134 (m), 810 (s), 784 (s), 760 (m)	

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 277 (95) [M⁺], 275 (100) [M⁺], 262 (75), 260 (80), 234 (20), 232 (20)

HR-MS (EI): m/z = 274.9948 (berechnet für C₁₃H₁₀BrNO: 274.9946)

HPLC-Reinheit: 91 % (λ = 210 nm)

91 % (λ = 254 nm)

***N*-[2-(7,8-Dichlor-9*H*-carbazol-1-yl)phenyl]acetamid (**130**)**

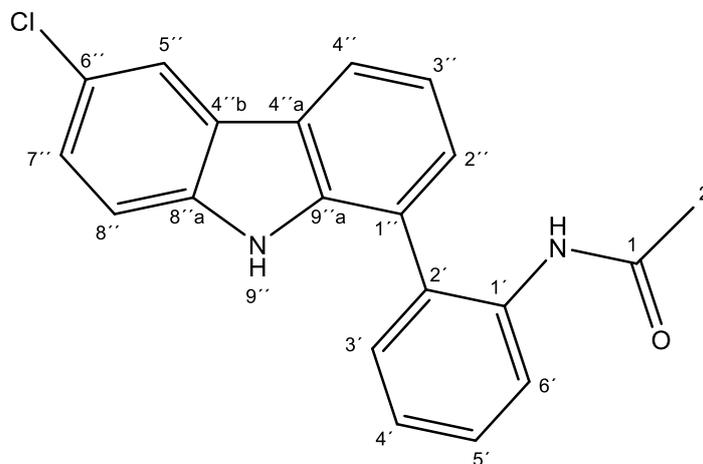
150 mg (0.476 mmol) 8-Brom-1,2-dichlor-9*H*-carbazol (**125**) wurden zusammen mit 86 mg (0.48 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 56 mg (0.046 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 10 mL 1,2-Dimethoxyethan und 5 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 4 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über Nacht statt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 100 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:1 – 99:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 20 mg (0.054 mmol/11 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 233 °C

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 10.64 (bs, 1H, 9''-H), 9.06 (bs, 1H, 1-NH), 8.23 – 8.12 (m, 2H, 4''-H, 5''-H), 7.69 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, 6'-H), 7.49 – 7.37 (m, 3H, 3'-H, 5'-H, 3''-H), 7.37 – 7.27 (m, 3H, 4'-H, 2''-H, 6''-H), 1.74 (s, 3H, 2-H)

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆):	δ (ppm) = 169.19 (C-1), 138.49 (C-8''a), 137.96 (C-9''a), 135.89 (C-1'), 132.44 (C-2'), 131.07 (C-5'), 128.09 (C-3', C-2''), 127.86 (C7''), 126.34 (C-6'), 125.56 (C-4'), 123.39 (C-4''a), 123.24 (C-4''b), 123.14 (C-8''), 120.61 (C-3''), 120.29 (C-6''), 120.04 (C-5''), 119.79 (C-4''), 113.88 (C-1''), 23.08 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3375 (m), 3262 (m), 1633 (s), 1516 (s), 1431 (m), 1414 (m), 1370 (m), 1306 (m), 1161 (m), 787 (m), 756 (s), 741 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 370 (50) [M ⁺], 369 (10) [M ⁺], 368 (60) [M ⁺], 326 (100), 327 (35), 328 (55), 277 (55), 278 (20), 159 (20)
HR-MS (EI):	m/z = 368.0481 (berechnet für C ₂₀ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O: 368.0483)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 369 (70) (M - H) ⁻ , 368 (25) (M - H) ⁻ , 367 (100) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 367.0422 (berechnet für C ₂₀ H ₁₃ Cl ₂ N ₂ O ⁻ [M - H] ⁻ : 367.0405)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

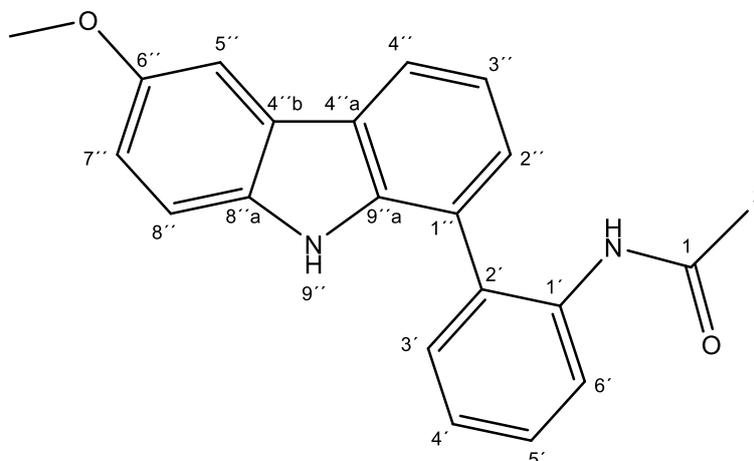
***N*-[2-(6-Chlor-9*H*-carbazol-1-yl)phenyl]acetamid (**131**)**

120 mg (0.428 mmol) 1-Brom-6-chlor-9*H*-carbazol (**128**) wurden zusammen mit 77 mg (0.43 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 50 mg (0.043 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 10 mL 1,2-Dimethoxyethan und 5 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 4 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über 18 Stunden statt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 100 mL Wasser aufgenommen und viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Ethylacetat/*iso*Hexan 1:1 – 99:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 15 mg (0.045 mmol/10 %) beiger Feststoff

Schmelzpunkt: >250 °C

¹H-NMR (500 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 8.29 (bs, 1H, 9''-H), 8.22 (d, J = 8.3 Hz, 1H, 6'-H), 8.11 (dd, J = 7.6, 1.0 Hz, 1H, 4''-H), 8.09 (d, J = 1.9 Hz, 1H, 5''-H), 7.47 (ddd, J = 8.6, 7.5, 1.7 Hz, 1H, 5'-H), 7.44 (dd, J = 7.6, 1.7 Hz, 1H, 3'-H), 7.42 – 7.33 (m, 4H, 2''-H, 3''-H, 7''-H, 8''-H), 7.31 (ddd, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H, 4'-H), 7.03 (bs, 1H, 1-NH), 1.78 (s, 3H, 2-H)
¹³C-NMR (126 MHz, CD₂Cl₂):	δ (ppm) = 169.47 (C-1), 139.04 (C-9''a), 138.52 (C-8''a), 136.20 (C-1'), 131.16 (C-3'), 129.51 (C-5'), 127.89 (C-2'', C-4''a), 126.81 (C-7''), 125.57 (C-4'), 125.55 (C-2'), 124.99 (C-4''b), 123.49 (C-6'), 123.41 (C-6''), 121.45 (C-1''), 121.04 (C-4''), 120.78 (C-5''), 120.64 (C-3''), 112.52 (C-8''), 24.67 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3391 (m), 3289 (m), 1686 (s), 1581 (m), 1522 (s), 1449 (s), 1305 (m), 1240 (m), 798 (m), 766 (m), 747 (m)
MS (EI):	m/z (rel. Int. in %) = 336 (40) [M ⁺], 335 (30) [M ⁺], 334 (90) [M ⁺], 292 (100), 293 (25), 294 (40), 255 (20), 256 (60), 257 (20)
HR-MS (EI):	m/z = 334.0871 (berechnet für C ₂₀ H ₁₅ ClN ₂ O: 334.0873)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 333 (100) (M - H) ⁻ , 335 (40) (M - H) ⁻
HR-MS (ESI):	m/z = 333.0809 (berechnet für C ₂₀ H ₁₄ ClN ₂ O ⁻ [M - H] ⁻ : 333.0795)
HPLC-Reinheit:	>99 % (λ = 210 nm) >99 % (λ = 254 nm)

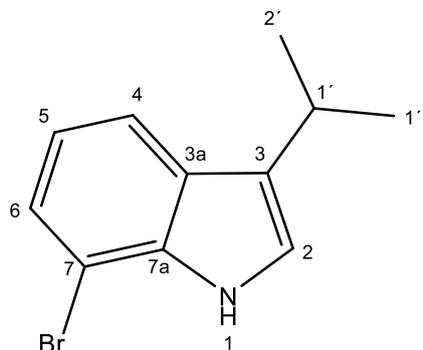
***N*-[2-(6-Methoxy-9*H*-carbazol-1-yl)phenyl]acetamid (132)**

50 mg (0.18 mmol) 1-Brom-6-methoxy-9*H*-carbazol (**129**) wurden zusammen mit 32 mg (0.18 mmol) 2-Acetamidophenylboronsäure (**24**) und 21 mg (0.018 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) in einen Schlenkkolben eingewogen und der Kolben unter Stickstoffatmosphäre verschlossen. Es wurde ein Gemisch aus 4 mL 1,2-Dimethoxyethan und 2 mL Ethanol zugespritzt, durch welches zuvor 10 Minuten lang Stickstoff geleitet wurde. Die Suspension wurde 10 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurden 2 mL einer 2M Natriumcarbonat-Lösung zugespritzt, die zuvor ebenfalls 10 Minuten mit Stickstoff durchströmt wurde. Die Umsetzung fand anschließend bei 90 °C über 12 Stunden statt. Im Anschluss wurde das Gemisch mit 100 mL Wasser versetzt und dann viermal mit je 60 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde aus Pentan rekristallisiert.

Ausbeute: 30 mg (0.091 mmol/25 %) weißer Feststoff

Schmelzpunkt: 224 °C

¹H-NMR (500 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 9.80 (bs, 1H, 9''-H), 8.25 (d, J = 8.2 Hz, 1H, 6'-H), 8.15 (bs, 1H, 1-NH), 8.13 (ddd, J = 7.6, 1.4, 0.7 Hz, 1H, 4''-H), 7.72 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 5''-H), 7.45 – 7.38 (m, 3H, 3'-H, 5'-H, 8''-H), 7.30 – 7.21 (m, 3H, 4'-H, 2''-H, 3''-H), 7.04 (dd, J = 8.8, 2.5 Hz, 1H, 7''-H), 3.90 (s, 3H, O-CH ₃), 1.80 (s, 3H, 2-H)
¹³C-NMR (126 MHz, Aceton-d₆):	δ (ppm) = 169.21 (C-1), 154.92 (C-6''), 139.77 (C-9''a), 137.50 (C-1'), 136.11 (C-8''a), 131.54 (C-5'), 129.44 (C-2'), 128.99 (C-3'), 127.45 (C-2''), 125.07 (C-4'), 124.66 (C-4''a), 124.46 (C-4''b), 123.81 (C-6'), 122.20 (C-1''), 120.76 (C-4''), 119.63 (C-3''), 116.08 (C-7''), 112.78 (C-8''), 103.62 (C-5''), 56.12 (O-CH ₃), 24.06 (C-2)
IR (KBr):	$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹) = 3410 (m), 3313 (s), 1689 (s), 1520 (s), 1463 (m), 1450 (s), 1287 (m), 1209 (s), 754 (s)
MS (ESI):	m/z (rel. Int. in %) = 331 (100) (M + H) ⁺ , 289 (15)
HR-MS (ESI):	m/z = 331.1441 (berechnet für C ₂₁ H ₁₉ N ₂ O ₂ ⁺ [M + H] ⁺ : 331.1447)
HPLC-Reinheit:	97 % (λ = 210 nm) 95 % (λ = 254 nm)

7-Brom-3-isopropyl-1H-indol (133)C₁₁H₁₂BrNM_r = 238.13 g/mol

500 mg (2.24 mmol) 2-Bromphenylhydrazin-Hydrochlorid (**21**) und 0.360 mL (3.36 mmol) Isovaleraldehyd wurden in einer Mischung aus 10 mL Ethanol und 0.5 mL Eisessig gelöst. Das Gemisch wurde 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und filtriert. Das Filtrat wurde unter Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde mittels FSC (Dichlormethan/*iso*Hexan 1:9) aufgereinigt.

Ausbeute: 403 mg (1.69 mmol/76 %) gelbes Öl

¹H-NMR (400 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 8.19 (bs, 1H, 1-H), 7.61 (ddd, *J* = 7.9, 0.8 Hz, 1H, 4-H), 7.33 (dd, *J* = 7.4, 0.8 Hz, 1H, 6-H), 7.06 (dd, *J* = 2.4, 0.9 Hz, 1H, 2-H), 6.99 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5-H), 3.19 (septd, *J* = 6.9, 1.0 Hz, 1H, 1'-H), 1.36 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H, 2'-H, 1''-H)

¹³C-NMR (101 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 135.71 (C-7a), 128.64 (C-3a), 125.76 (C-3), 124.54 (C-6), 120.67 (C-5), 120.65 (C-2), 119.18 (C-4), 105.10 (C-7), 26.22 (C-1'), 23.59 (C-2', C-1'')

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3429 (m), 2959 (m), 2869 (m), 1488 (m), 1433 (s), 1334 (s), 1197 (s), 1037 (m), 778 (s), 737 (s)

MS (EI): m/z (rel. Int. in %) = 239 (32) [M⁺], 237 (32) [M⁺], 224 (94), 222 (100), 143 (59)

HR-MS (EI): m/z = 237.0152 (berechnet für C₁₁H₁₂BrN: 237.0153)

HPLC-Reinheit: >99 % (λ = 210 nm)

74 % (λ = 254 nm)

6.3 Arbeitsmethoden biologische Testung

6.3.1 ALPHA-Screen

Die Experimente wurden am SGC in Oxford von unserem Kooperationspartner durchgeführt.

Dose-response:

Die idealen Konzentrationen an Macrodomain-Protein und Macrodomain-ALPHA-Screen Peptid wurden über „dose-response“-Experimente ermittelt. Das Peptid wurde dazu gegen Macrodomain-Protein in Konzentrationsbereichen jeweils zwischen 3200 nM und 0.2 nM in 15 Verdünnungsstufen titriert. Alle Reagenzien wurden in Assay-Puffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 0.1 % BSA und 0.05 % CHAPS) gelöst und vor dem Auftragen auf die Assay-Platten auf Raumtemperatur equilibriert. Der Assay wurde in 20 µL Wells auf low-volume ProxiPlate™-384 Plus Assay-Platten (PerkinElmer) bei Raumtemperatur durchgeführt. Dazu wurden 4 µL Peptid mit 4 µL Protein in 4 µL Assay-Puffer über 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Dann wurden 8 µL AlphaScreen donor und acceptor beads (jeweils 5 mg/mL; finale Assay-Konzentration: 16 µg/mL, Perkin Elmer AlphaScreen® Histidine (Nickel Chelate) Detection Kit) unter Schwachlicht-Bedingungen zugegeben und die Platten mit Folie versiegelt. Anschließend wurde weitere 60 Minuten inkubiert. Die Platten wurden mit einem PHERAstar FS plate reader (BMG Labtech) unter Verwendung des AlphaScreen 680 excitation/570 emission filter set ausgelesen.

Testung:

Für die Testung der einzelnen Verbindungen wurden 20 nL der gelösten Verbindung mit einem Echo acoustic liquid handler in ProxiPlate™-384 Plus Assay-Platten (PerkinElmer) verteilt. Dann wurden 12 µL einer Lösung zugegeben, die sowohl das Macrodomain-ALPHA-Screen-Peptid als auch das Macrodomain Protein (in der jeweils zuvor bestimmten optimalen Konzentration für den Assay) in Assay-Puffer (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 0.1 % BSA und 0.05 % CHAPS, 0.5 mM TCEP) enthält. Alternativ wurden 12 µL einer Lösung von biotinyliertem, Hexahistidin-markiertem Linker-Peptid zugesetzt um Counterscreen-Experimente zur Validierung einer Verbindung durchzuführen. Anschließend wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Dann wurden 8 µL AlphaScreen donor und acceptor beads (jeweils 5 mg/mL;

finale Assay-Konzentration: 16 µg/mL, Perkin Elmer AlphaScreen® Histidine (Nickel Chelate) Detection Kit) unter Schwachlicht-Bedingungen zugegeben und die Platten mit Folie versiegelt. Anschließend wurde weitere 60 Minuten inkubiert. Die Platten wurden mit einem PHERAstar FS plate reader (BMG Labtech) unter Verwendung des AlphaScreen 680 excitation/570 emission filter set ausgelesen.

6.3.2 ITC (Isotherme Titrationskalorimetrie)

Die Experimente wurden am SGC in Oxford von unserem Kooperationspartner durchgeführt. Für die Messungen wurde ein VP-ITC Mikro-Titrationskalorimeter von MicroCal™, LLC (Northampton, MA), mit einem ThermoVac-Modul, einem Zellvolumen von 1.8 mL und einer 350 µL Mikrospritze verwendet. Das Protein wurde über Nacht gegen ITC-Puffer dialysiert (50 mM HEPES pH 7.5 bei 25 °C, 300 mM NaCl, 5 % Glycerol, 0.5 mM TCEP), der auch für die Herstellung der Lösungen der Testverbindungen benutzt wurde. Die Experimente wurden bei 12 °C und einer Rührgeschwindigkeit von 307 UpM in ITC-Puffer durchgeführt. Die Mikroinjektionsspritze wurde mit der Lösung der Testverbindung (0.8 mM – 1.0 mM in ITC-Puffer) beladen und in die Kalorimeter-Messzelle eingebracht, die mit Protein-Lösung (40 µM – 50 µM) befüllt war. Das System wurde äquilibriert bis die Messtemperatur von 12 °C erreicht war. Das Experiment wurde dann nach zusätzlichen 120 Sekunden Verzögerung gestartet. Alle Versuche wurden mit einer Initial-Injektion von 2 µL, gefolgt von 28 identischen Injektionen von 10 µL mit einer Dauer von 4 Sekunden pro Injektion und einer Pause von 240 Sekunden zwischen den einzelnen Injektionen durchgeführt. Die Daten-Analyse erfolgte mit der zum Gerät gehörigen MicroCal™ Origin Software, die Bindungsenthalpien (ΔH) und Dissoziationskonstanten (K_D) liefert. Thermodynamische Parameter wurden berechnet ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S = RT \ln K_D$, wobei ΔG , ΔH und ΔS die jeweilige Änderung der freien Energie, Enthalpie und Entropie ist). Es wurde ein „single binding site“ Modell angewendet.

6.3.3 BLI (Bio-Layer-Interferometrie)

Die Experimente wurden am SGC in Oxford von unserem Kooperationspartner durchgeführt. Die BLI-Bindungs-Assays wurden an einem Octet RED384 BLI Gerät (fortéBio) durchgeführt. Superstreptavidin (SSA) Biosensoren wurden mit biotinyliertem Macrodomain-Protein beladen und 120 Sekunden in Assay-Puffer (25 mM HEPES, pH 7.5, 100 mM NaCl, 0.01 % Tween 20) äquibriert. Die Assoziation wurde in Assay-Puffer, der jeweils eine von sieben 1:1 Verdünnungen der zu testenden Verbindung enthielt, über 240 Sekunden gemessen. Die Dissoziation wurde über 240 Sekunden in reinem Assay-Puffer gemessen. Die Experimente wurden mit SSA-Biosensoren ohne biotinyliertem Protein wiederholt. Die erhaltenen Daten wurden mit der Analysen-Software von fortéBio ausgewertet. Die Assoziations-Rate k_{on} und die Dissoziationsrate k_{off} wurden unter Verwendung einer „single-site binding“-Näherung berechnet. Die Dissoziationskonstante K_D wurde aus dem Verhältnis k_{off}/k_{on} errechnet.

6.3.4 Agar-Diffusions-Test

Von den zu testenden Verbindungen wurden 1 %ige (m/V) Stammlösungen in Dimethylsulfoxid hergestellt und davon jeweils 3.0 μ L auf Testplättchen (Durchmesser 6 mm) der Firma Macherey-Nagel aufgetragen, was einer Menge von 30 μ g Substanz pro Filterplättchen entspricht. Das antimykotisch wirksame Clotrimazol und das antibiotisch aktive Tetracyclin wurden als Referenzsubstanzen verwendet. Von diesen Referenzen wurden 1 %ige (m/V) Stammlösungen in Dimethylsulfoxid hergestellt. Jeweils 3.0 μ L dieser Referenzlösungen wurden auf Rundfilter aufgetragen, was einer Menge von 30 μ g Substanz pro Filterplättchen entspricht. Die Blindwerte wurden durch Auftragen von 3.0 μ L reinem Dimethylsulfoxid pro Rundfilter gemessen. Die Testplättchen wurden vor dem Aufbringen auf die Testplatten 24 Stunden zum Trocknen ausgelegt.

Die Pilze und Bakterien wurden von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DMSZ) in Braunschweig bezogen und entsprechend der mitgelieferten Vorschriften in Flüssigkultur angezüchtet. Als Nährmedium wird für *Candida glabrata*, *Hyphopichia burtonii*, *Yarrowia lipolytica*, *Escherichia coli* und *Pseudomonas marginalis*, ein All-Culture Agar (AC-Agar) der Firma Sigma verwendet.

Für die Herstellung des Nährmediums werden 35.2 g AC-Agar und 20 g Agar in 1.0 L Wasser suspendiert und anschließend autoklaviert. Für *Streptococcus entericus* und *Staphylococcus equorum* wird ein Agar aus 10.0 g Caseinpepton, 5.0 g Hefeextrakt, 5.0 g Glucose und 5.0 g Natriumchlorid in 1.0 L Wasser genutzt, welcher ebenfalls autoklaviert wird. Unter sterilen Arbeitsbedingungen werden je 15 mL des noch warmen, flüssigen Agars in Petrischalen gefüllt und dann mindestens 1 Stunde bei 8 °C gekühlt, bis der Agar erstarrt ist. Für den Schimmelpilz *Aspergillus niger* dient ein Potato Agar als Nährmedium. Hierzu werden zur Herstellung 32 g Potato Dextrose Agar und 20 g Agar in 1.0 L Wasser suspendiert und autoklaviert. Unter sterilen Arbeitsbedingungen werden ebenfalls je 15 ml des noch warmen, flüssigen Agars in Petrischalen gefüllt und dann mindestens eine Stunde bei 8 °C gekühlt.

Die erstarrten Agar-Böden werden mit einem in der Flüssigkultur des jeweiligen Keims getränkten Wattestäbchen bestrichen und sofort mit vier Substanzplättchen, sowie dem als Blindwert und dem als Referenz präparierten Plättchen belegt. Anschließend werden die präparierten Agar-Platten 36 Stunden bei 32.1 °C (für Bakterien) beziehungsweise bei 28.0 °C (für Pilze) inkubiert. Der Durchmesser der Hemmhöfe wird manuell ausgemessen.

6.3.5 MTT-Test

Der MTT-Test wird an Zellen der humanen Leukämiezelllinie HL-60 durchgeführt. Die Zellzahl pro Milliliter wird auf 9×10^5 Zellen eingestellt. Hierzu wird die aktuelle Zelldichte der Kultur mittels einer Hämocyten-Zählkammer (Fuchs-Rosenthal) bestimmt und die Zellsuspension in einer Petrischale auf die erforderliche Zelldichte mit Medium verdünnt. Anschließend werden in einer 96-Wellplatte je 99 µL Zellsuspension pro Well ausgesät und 24 Stunden bei 37 °C im Brutschrank inkubiert.

Von den zu untersuchenden Testsubstanzen werden jeweils 10 mM Stammlösungen in Dimethylsulfoxid hergestellt, welche dann sechsmal nacheinander im Verhältnis 1:2 verdünnt werden. Der Nullwert enthält 1 µL Dimethylsulfoxid. Die Kontrollzellen werden mit reinem Nährmedium versetzt. Als Positivkontrolle wird eine Triton® X-100-Lösung in einer Endkonzentration von 1 µg/mL zugesetzt. Von jeder Testlösung bzw. von reinem Dimethylsulfoxid und von der Triton® X-100-Stammlösung werden je 1 µL in je ein Well, welches schon mit 99 µL der HL-60 Zellsuspension befüllt ist, pipettiert

und 24 Stunden bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Danach wird jedes Well mit 10 µL MTT-Lösung (5 mg MTT in 1.0 mL PBS) versetzt und weitere 2 Stunden unter den oben angeführten Bedingungen inkubiert. Danach werden 190 µL Dimethylsulfoxid zugesetzt und nach einer Stunde sowie gelegentlichem Rütteln, wird die Platte photometrisch bei einer Wellenlänge von 570 nm (Referenzwellenlänge 630 nm) in einem ELISA-Reader (SLT Spectra, Crailsheim) vermessen. Die statistische Auswertung sowie die Berechnung der IC₅₀-Werte erfolgt mit Hilfe der Prism 4 Software (GraphPad, USA).

6.3.6 Proteinkristallographie

Die Experimente wurden am SGC in Oxford von unserem Kooperationspartner durchgeführt. Die Kristallisations-Screenings wurden sowohl unter „ligand friendly screen 6 (LFS6)“-Bedingungen, „Joint Center for Structural Genomics 7 (JCSG7)“-Bedingungen als auch „Hampton Index Screen 3 (HIN3)“-Bedingungen nach der sitting-drop-vapour-diffusion-Methode^[123] durchgeführt. Dabei wurden 150 nL Tropfen aus Lösungen von frischem bzw. tiefgefrorenem Protein mit Konzentrationen von 12 - 20 mg/mL mit Verhältnissen von Protein zu Kristallisations-Puffer von 1:2, 1:1 und 2:1 aufgesetzt. Die Kristallisations-Platten wurden bei 4 °C bzw. 20 °C über einen Zeitraum von zwei Monaten inkubiert und mit einem CrystalMation™ Minstrel III abgebildet. Die Kristalle wurden mit Nylon-Ösen gefasst und in flüssigen Stickstoff überführt. Die Daten wurden mit einer Diamond Synchrotron beamline erfasst.

7. Abkürzungsverzeichnis

$\tilde{\nu}$	Wellenzahl (cm ⁻¹)
°	Grad
°C	Grad Celsius
μg	Mikrogramm
μL	Mikroliter
μM	Mikromol
3D	dreidimensional
Abb.	Abbildung
AcCl	Essigsäurechlorid
Aceton-d ₆	deutertes Aceton
AcOH	Essigsäure
ADP	Adenosindiphosphat
ADP-R	Adenosindiphosphat-Ribose
ALPHA	Amplified luminescent proximity homogeneous assay
AMP	Adenosinmonophosphat
Arg / R	Arginin
ARTD	ADP-ribosyltransferase, diphtheria toxin-like
Asp / N	Asparagin
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	Attenuated Total Reflectance
BAL	B-aggressive lymphoma
BINAP	2,2'-Bis(diphenylphosphin)-1,1'-binaphthyl
BLI	Bio-layer Interferometrie
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
br	breit
BRCT	BRCA1 C-terminal-domain
Bu ₄ NBr	Butylammoniumbromid
bzw.	beziehungsweise
CD ₂ Cl ₂	deutertes Dichlormethan
CDCl ₃	deutertes Chloroform
CO ₂	Kohlenstoffdioxid

CoaSt6	Collaborator of STAT6
Cs ₂ CO ₃	Cäsiumcarbonat
Cu ₂ Cl ₂	Kupfer(I)chlorid
CuBr ₂	Kupfer(II)bromid
CuSO ₄	Kupfer(II)sulfat
d	Dublett
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett eines Dublett
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d ₆	deutertes Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dppf	1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen
DSF	Differential Scanning Fluorimetrie
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
EI	Elektronenstoß-Ionisation
EMA	European Medicines Agency
ESI	Elektrospray-Ionisation
Et	Ethyl
et al.	et alii (und andere)
Et ₃ N	Triethylamin
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
FDA	US Food and Drug Administration
Fe	Eisen
FHA	forkhead-associated domain
FSC	Flash-Säulen-Chromatographie
g	Gramm
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
Glu / E	Glutaminsäure
Gly / G	Glycin
H ₂ O	Wasser

HBr	Bromwasserstoff
HCC	hepatozelluläres Karzinom
HCl	Chlorwasserstoff
HDAC	Histondeacetylase
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HR	homologe Rekombination
HRMS	hochauflösende Massenspektroskopie
Hz	Herz
I ₂	Iod
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IgA	Immunglobulin A
Ile / I	Isoleucin
IR	Infrarotspektroskopie
ITC	Isothermal Titration Calorimetry
<i>J</i>	Kopplungskonstante in der NMR-Spektroskopie
JNK1	c-Jun N-terminale Kinase
k.I.	keine Inhibition
K ₂ CO ₃	Kaliumcarbonat
Kap.	Kapitel
Kat.	Katalysator
KBr	Kaliumbromid
K _D	Dissoziationskonstante
KMnO ₄	Kaliumpermanganat
KOH	Kaliumhydroxid
L	Ligand
LHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
Li ₂ CO ₃	Lithiumcarbonat
LiBr	Lithiumbromid
LiOH	Lithiumhydroxid
LiOtBu	Lithium- <i>tert</i> -butanolat
Lys / K	Lysin
M	Molar (Mol je Liter)
m	Multiplett
m/z	Masse je Ladungseinheit
MAR	mono(ADP)-Ribose

MCP	Macrodomain-containing-protein
Me	Methyl
MeMgBr	Methylmagnesiumbromid
MeOD-d ₄	deuteriertes Methanol
Met / M	Methionin
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
Mr	relative Molekülmasse
MS	Massenspektrometrie
MSA	Methansulfonsäure
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
MW	Mikrowellen-Bedingungen
N	Normal
Na ₂ CO ₃	Natriumcarbonat
NaBH ₃ CN	Natriumcyanoborhydrid
NaBH ₄	Natriumborhydrid
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid, oxidiert
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid, reduziert
NADP ⁺	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat, oxidiert
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat, reduziert
NaH	Natriumhydrid
NaNO ₂	Natriumnitrit
NaOtBu	Natrium- <i>tert</i> -butanolat
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NH ₄ Cl	Ammoniumchlorid
NHC	N-heterocyclische Carbene
nm	Nanometer
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
O ₂	Sauerstoff
pADP-R	poly-Adenosindiphosphat-Ribose
PAR	poly(ADP)-Ribose

PARG	Poly(ADP-Ribose)-Glycohydrolase
PARP	Poly(ADP-Ribose)-Polymerase
PARP14MD2	zweite Macrodomein von PARP14
PBM	PAR-bindung motif
PBZ	PAR-binding Zinkfinger
Pd(OAc) ₂	Palladium(II)acetat
Pd(P(Ph) ₃) ₄	Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)
Pd/C	Palladium auf Kohle
Pd ₂ (dba) ₃	Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0)
Pd ₂ (dba) ₃ *CHCl ₃	Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0) Chloroform-Addukt
PEG	Polyethylenglycol
Ph	Phenyl
Phe / F	Phenylalanin
PhOPh	Diphenylether
pKa	Säurekonstante
POBr ₃	Phosphoroxobromid
POCl ₃	Phosphoroxochlorid
PPA	Polyphosphorsäure
ppm	parts per million
Pro / P	Prolin
PTM	Posttranslationale Proteinmodifikationen
q	Quartett
R	Rest
RNA	Ribonukleinsäure
RP	reversed Phase
RRM	RNA-recognition motif
RT	Raumtemperatur
s	singulett
SAR	Struktur-Activity Relationship
sec	sekundär
sec-BuLi	sec-Butyllithium
SEM	2-(Trimethylsilyl)ethoxymethyl
sept	Septett
Ser / S	Serin
SGC	Structural Genomics Consortium

Smp.	Schmelzpunkt
S _N 2	Nucleophile Substitution zweiter Ordnung
t	Triplett
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TARG	ADP-ribose glycohydrolase 1
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
<i>t</i> BuLi	<i>tert</i> -Butyllithium
TEBAC	Benzyltriethylammoniumchlorid
<i>tert</i>	tertiär
Tf	Triflylgruppe
Tf ₂ O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TiCl ₄	Titan(IV)chlorid
TMS	Tetramethylsilan
TS	Thymidylat-Synthase
TsOH	Toluolsulfonsäure
UV	Ultraviolett
Val / V	Valin
vgl.	vergleiche
WWE	WWE-Domain
z.B.	zum Beispiel
δ	Chemische Verschiebung in der NMR-Spektroskopie (ppm)
λ	Wellenlänge

8. Literaturverzeichnis

- [1] <http://images.google.de/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.schulbilder.org%2Fmalvorlage-raupe-p12926.jpg&imgrefurl=http%3A%2F%2Fwww.schulbilder.org%2Fmalvorlage-raupe-i12926.html&h=750&w=531&tbid=xwCWXYLQ-vOlfM%3A&docid=mCC3KordoWUFsM&ei=zrajVqWNI8mqywO-vL-ABw&tbm=isch&iact=rc&uact=3&dur=470&page=1&start=0&ndsp=40&ved=0ahUKEwlrKahucDKAhVJ1XIKHT7eD3AQRQMlYjAQ>, (**Zugriff: 23.01.2016**).
- [2] <http://aзаusmalbilder.net/ausmalbild/194>, (**Zugriff: 23.01.2016**).
- [3] M. Tyers, M. Mann, *Nature* **2003**, 422, 193-197.
- [4] A. F. M. Altelaar, J. Munoz, A. J. R. Heck, *Nat Rev Genet* **2013**, 14, 35-48.
- [5] M. Wilhelm, J. Schlegl, H. Hahne, A. M. Gholami, M. Lieberenz, M. M. Savitski, E. Ziegler, L. Butzmann, S. Gessulat, H. Marx, T. Mathieson, S. Lemeer, K. Schnatbaum, U. Reimer, H. Wenschuh, M. Mollenhauer, J. Slotta-Huspenina, J.-H. Boese, M. Bantscheff, A. Gerstmair, F. Faerber, B. Kuster, *Nature* **2014**, 509, 582-587.
- [6] M.-S. Kim, S. M. Pinto, D. Getnet, R. S. Nirujogi, S. S. Manda, R. Chaerkady, A. K. Madugundu, D. S. Kelkar, R. Isserlin, S. Jain, J. K. Thomas, B. Muthusamy, P. Leal-Rojas, P. Kumar, N. A. Sahasrabudde, L. Balakrishnan, J. Advani, B. George, S. Renuse, L. D. N. Selvan, A. H. Patil, V. Nanjappa, A. Radhakrishnan, S. Prasad, T. Subbannayya, R. Raju, M. Kumar, S. K. Sreenivasamurthy, A. Marimuthu, G. J. Sathe, S. Chavan, K. K. Datta, Y. Subbannayya, A. Sahu, S. D. Yelamanchi, S. Jayaram, P. Rajagopalan, J. Sharma, K. R. Murthy, N. Syed, R. Goel, A. A. Khan, S. Ahmad, G. Dey, K. Mudgal, A. Chatterjee, T.-C. Huang, J. Zhong, X. Wu, P. G. Shaw, D. Freed, M. S. Zahari, K. K. Mukherjee, S. Shankar, A. Mahadevan, H. Lam, C. J. Mitchell, S. K. Shankar, P. Satishchandra, J. T. Schroeder, R. Sirdeshmukh, A. Maitra, S. D. Leach, C. G. Drake, M. K. Halushka, T. S. K. Prasad, R. H. Hruban, C. L. Kerr, G. D. Bader, C. A. Iacobuzio-Donahue, H. Gowda, A. Pandey, *Nature* **2014**, 509, 575-581.
- [7] S. Prabakaran, G. Lippens, H. Steen, J. Gunawardena, *Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine* **2012**, 4, 565-583.
- [8] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemie* **2003**, 5. Auflage.
- [9] Casey M. Daniels, S.-E. Ong, Anthony K. L. Leung, *Molecular Cell* **2015**, 58, 911-924.
- [10] G. Löffler, P. Petrides, P. Heinrich, *Biochemie und Pathobiochemie* **2007**, 8. Auflage.
- [11] V. Schreiber, F. Dantzer, J.-C. Ame, G. de Murcia, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2006**, 7, 517-528.
- [12] F. Teloni, M. Altmeyer, *Nucleic Acids Research* **2015**.
- [13] E. Barkauskaite, G. Jankevicius, I. Ahel, *Molecular Cell* **2015**, 58, 935-946.
- [14] K. L. H. Feijs, A. H. Forst, P. Verheugd, B. Luscher, *Nat Rev Mol Cell Biol* **2013**, 14, 443-451.
- [15] D. Corda, M. Di Girolamo, *The EMBO Journal* **2003**, 22, 1953-1958.
- [16] M. M. Rosado, E. Bennici, F. Novelli, C. Pioli, *Immunology* **2013**, 139, 428-437.
- [17] Z. Wang, G. A. Michaud, Z. Cheng, Y. Zhang, T. R. Hinds, E. Fan, F. Cong, W. Xu, *Genes & Development* **2012**, 26, 235-240.
- [18] M. O. Hottiger, *Molecular Cell* **2015**, 58, 1134-1134.e1131.
- [19] P. Bai, *Molecular Cell*, 58, 947-958.

- [20] Felix Y. Feng, Johann S. de Bono, Mark A. Rubin, Karen E. Knudsen, *Molecular Cell*, **58**, 925-934.
- [21] <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PARP14>, (**Zugriff: 14.01.2016**).
- [22] S. H. Cho, S. Goenka, T. Henttinen, P. Gudapati, A. Reinikainen, C. M. Eischen, R. Lahesmaa, M. Boothby, *Blood* **2009**, *113*, 2416-2425.
- [23] S. H. Cho, A. K. Ahn, P. Bhargava, C.-H. Lee, C. M. Eischen, O. McGuinness, M. Boothby, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2011**, *108*, 15972-15977.
- [24] Alexandra H. Forst, T. Karlberg, N. Herzog, A.-G. Thorsell, A. Gross, Karla L. H. Feijs, P. Verheugd, P. Kursula, B. Nijmeijer, E. Kremmer, H. Kleine, A. G. Ladurner, H. Schüler, B. Lüscher, *Structure* **2013**, *21*, 462-475.
- [25] S. Vyas, M. Chesarone-Cataldo, T. Todorova, Y.-H. Huang, P. Chang, *Nat Commun* **2013**, *4*.
- [26] V. Iansante, P. M. Choy, S. W. Fung, Y. Liu, J.-G. Chai, J. Dyson, A. Del Rio, C. D'Santos, R. Williams, S. Chokshi, R. A. Anders, C. Bubici, S. Papa, *Nat Commun* **2015**, *6*.
- [27] C. M. Nicolae, E. R. Aho, K. N. Choe, D. Constantin, H.-J. Hu, D. Lee, K. Myung, G.-L. Moldovan, *Nucleic Acids Research* **2015**, *43*, 3143-3153.
- [28] http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/003726/WC500180153.pdf, (**Zugriff: 14.01.2016**).
- [29] K. A. Menear, C. Adcock, R. Boulter, X.-I. Cockcroft, L. Copsy, A. Cranston, K. J. Dillon, J. Drzewiecki, S. Garman, S. Gomez, H. Javaid, F. Kerrigan, C. Knights, A. Lau, V. M. Loh, I. T. W. Matthews, S. Moore, M. J. O'Connor, G. C. M. Smith, N. M. B. Martin, *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, *51*, 6581-6591.
- [30] W. L. Kraus, *Molecular Cell*, **58**, 902-910.
- [31] F. H. Niesen, H. Berglund, M. Vedadi, *Nat. Protocols* **2007**, *2*, 2212-2221.
- [32] <http://www.bmglabtech.com/de/technologie/detektionsmethoden/alphascreen/alphascreen-obj-0-913.html>, (**Zugriff: 11.11.2015**).
- [33] R. M. Eglén, T. Reisine, P. Roby, N. Rouleau, C. Illy, R. Bossé, M. Bielefeld, *Current Chemical Genomics* **2008**, *1*, 2-10.
- [34] S. Taouji, S. Dahan, R. Bossé, E. Chevet, *Current Genomics* **2009**, *10*, 93-101.
- [35] <https://www.urmc.rochester.edu/MediaLibraries/URMCMedia/hts/documents/AlphaScreenPracticalGuide.pdf>, (**Zugriff: 11.11.2015**).
- [36] A. Gehring, *Dissertation, LMU München* **2013**.
- [37] F. Bracher, D. Hildebrand, *Liebigs Annalen der Chemie* **1993**, *1993*, 837-839.
- [38] G. I. Karras, G. Kustatscher, H. R. Buhecha, M. D. Allen, C. Pugieux, F. Sait, M. Bycroft, A. G. Ladurner, *The EMBO Journal* **2005**, *24*, 1911-1920.
- [39] W. Borsche, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1908**, *359*, 49-80.
- [40] E. Fischer, F. Jourdan, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1883**, *16*, 2241-2245.
- [41] B. M. Barclay, N. Campbell, *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1945**, 530-533.
- [42] C. B. de Koning, J. P. Michael, A. L. Rousseau, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **2000**, 1705-1713.
- [43] P. Metz, C. Mues, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 6841 - 6854.
- [44] E. Merkul, E. Schafer, T. J. J. Muller, *Organic & biomolecular chemistry* **2011**, *9*, 3139-3141.

- [45] S. S. Moleele, J. P. Michael, C. B. de Koning, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2831-2844.
- [46] P. Gandeepan, C.-H. Cheng, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2084-2087.
- [47] D. Haddenham, C. L. Bailey, C. Vu, G. Nepomuceno, S. Eagon, L. Pasumansky, B. Singaram, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 576-583.
- [48] C. S. Wei, G. H. M. Davies, O. Soltani, J. Albrecht, Q. Gao, C. Pathirana, Y. Hsiao, S. Tummala, M. D. Eastgate, *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52*, 5822-5826.
- [49] E. E. Romero-Ale, A. I. Olives, M. A. Martin, B. Del Castillo, P. Lopez-Alvarado, J. C. Menendez, *Luminescence* **2005**, *20*, 162 - 169.
- [50] M. Milen, A. Grün, E. Bálint, A. Dancsó, G. Keglevich, *Synthetic Communications* **2010**, *40*, 2291-2301.
- [51] S. H. Jung, D. H. Huh, D. W. Ryu, K. M. Lee, E. S. Kang, M. Y. Chae, *EP 2 421 064 A2* **2013**.
- [52] W. Wang, *US 2009/0088588 A1* **2009**.
- [53] M. T. Barros, S. S. Dey, C. D. Maycock, P. Rodrigues, *Chemical Communications* **2012**, *48*, 10901-10903.
- [54] S. A. Girard, X. Hu, T. Knauber, F. Zhou, M.-O. Simon, G.-J. Deng, C.-J. Li, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5606-5609.
- [55] G. Srinivas, M. Periasamy, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2785-2788.
- [56] S. L. MacNeil, B. J. Wilson, V. Snieckus, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1133-1136.
- [57] S. H. Watterson, P. Chen, Y. Zhao, H. H. Gu, T. G. M. Dhar, Z. Xiao, S. K. Ballentine, Z. Shen, C. A. Fleener, K. A. Rouleau, M. Obermeier, Z. Yang, K. W. McIntyre, D. J. Shuster, M. Witmer, D. Dambach, S. Chao, A. Mathur, B.-C. Chen, J. C. Barrish, J. A. Robl, R. Townsend, E. J. Iwanowicz, *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, *50*, 3730-3742.
- [58] D. Tilly, S. S. Samanta, F. Faigl, J. Mortier, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8347-8350.
- [59] N. Fomina, S. E. Bradforth, T. E. Hogen-Esch, *Macromolecules* **2009**, *42*, 6440-6447.
- [60] R. A. Abramovitch, D. Shapiro, *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1956**, 4589-4592.
- [61] D. Shapiro, R. A. Abramovitch, *Journal of the American Chemical Society* **1955**, *77*, 6690-6691.
- [62] J. Barluenga, M. Tomás-Gamasa, F. Aznar, C. Valdés, *Nat Chem* **2009**, *1*, 494-499.
- [63] A. P. Gehring, F. Bracher, *Synthesis* **2012**, *44*, 2441-2447.
- [64] A. Pal, P. Besenius, R. P. Sijbesma, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12987-12989.
- [65] H. Kleimann, *Die Angewandte Makromolekulare Chemie* **1981**, *98*, 185-194.
- [66] K. Schärer, M. Morgenthaler, R. Paulini, U. Obst-Sander, D. W. Banner, D. Schlatter, J. Benz, M. Stihle, F. Diederich, *Angewandte Chemie* **2005**, *117*, 4474-4479.
- [67] B. J. Henderson, T. F. Gonzalez-Cestari, B. Yi, M. L. Dalefield, D. B. McKay, K. Mahasenan, C. Li, R. E. Pavlovicz, D. J. Carper, R. S. Coleman, *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 8681 - 8692.
- [68] K. Watanabe, F. Uehara, S. Hiki, T. Kohara, K. Fukunaga, S. Yokoshima, *WO 2006028290 (A1)* **2006**.
- [69] M. Bonnat, A. Hercouet, M. L. Corre, *Synthetic Communications* **1991**, *21*, 1579-1582.

- [70] N. D. Koduri, Z. Wang, G. Cannell, K. Cooley, T. M. Lemma, K. Miao, M. Nguyen, B. Frohock, M. Castaneda, H. Scott, D. Albinescu, S. R. Hussaini, *The Journal of Organic Chemistry* **2014**, *79*, 7405-7414.
- [71] N. A. Meanwell, *Journal of Medicinal Chemistry* **2011**, *54*, 2529-2591.
- [72] T. Kino, Y. Nagase, Y. Horino, T. Yamakawa, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2008**, *282*, 34-51.
- [73] P. S. Turnbull, R. Cadilla, D. J. Cowan, A. L. Larkin, I. Kaldor, E. L. Stewart, *WO 2005085185 (A1)* **2005**.
- [74] Y. Gong, K. Kato, *Journal of Fluorine Chemistry* **2004**, *125*, 767-773.
- [75] A. Deutsch, H. Glas, A. Hoffmann-Röder, C. Deutsch, *RSC Advances* **2014**, *4*, 9288-9291.
- [76] <http://www.rcsb.org/pdb/explore/structureCluster.do?structureId=3Q71>, **(Zugriff: 30.10.2015)**.
- [77] C. D. Siebert, *Chemie in unserer Zeit* **2004**, *38*, 320-324.
- [78] G. A. Patani, E. J. LaVoie, *Chemical Reviews* **1996**, *96*, 3147-3176.
- [79] D. Steinhilber, M. Schubert-Zsilavec, H. J. Roth, *Medizinische Chemie, 2. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart* **2010**.
- [80] T. Kikuchi, Y. Nobuta, J. Umeda, Y. Yamamoto, T. Ishiyama, N. Miyaura, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 4967-4971.
- [81] M. Murata, T. Oyama, S. Watanabe, Y. Masuda, *The Journal of Organic Chemistry* **2000**, *65*, 164-168.
- [82] B. O. A. Tasch, D. Antovic, E. Merkul, T. J. J. Müller, *European Journal of Organic Chemistry* **2013**, *2013*, 4564-4569.
- [83] A. C. Cooper, *Design and Development of New Carbon-based Sorbent Systems for an Effective Containment of Hydrogen Final Report* **2012**.
- [84] A. G. Meyer, K. N. Winzenberg, D. G. Sawutz, A. J. Liepa, *US 2008/0262048 A1* **2008**.
- [85] L. Meca, L. Triscikova, H. Berke, K. Langfeld, M. Schneider, O. Nuyken, W. Obrecht, *EP 2 027 920 A1* **2009**.
- [86] W. R. Bamford, T. S. Stevens, *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1952**, 4735-4740.
- [87] R. H. Shapiro, *Organic Reactions* **1976**, *23*, 405-507.
- [88] Q. Xiao, J. Ma, Y. Yang, Y. Zhang, J. Wang, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4732-4735.
- [89] A. Martín, M. Mesa, M. L. Docampo, V. Gómez, R. F. Pellón, *Synthetic Communications* **2006**, *36*, 271-277.
- [90] D. Maiti, B. P. Fors, J. L. Henderson, Y. Nakamura, S. L. Buchwald, *Chemical Science* **2011**, *2*, 57-68.
- [91] J. Maruyama, H. Yamashita, T. Watanabe, S. Arai, A. Nishida, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1327-1335.
- [92] A. Hajra, Y. Wei, N. Yoshikai, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5488-5491.
- [93] Y. D. Markovich, T. N. Kudryavtseva, V. Y. Markovich, I. A. Koroleva, O. A. Shevlyakova, *Russ J Gen Chem* **2013**, *83*, 1511-1514.
- [94] M. Kurahashi, M. Fukuyo, A. Shimada, A. Furusaki, I. Nitta, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1969**, *42*, 2174-2179.
- [95] A. Lipka, *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie* **1980**, *466*, 195-202.
- [96] G. D. Potts, W. Jones, *Acta Crystallographica Section C* **1995**, *51*, 267-268.
- [97] M. Kádár, A. Biró, K. Tóth, B. Vermes, P. Huszthy, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2005**, *62*, 1032-1038.

- [98] K. Huber, L. Brault, O. Fedorov, C. Gasser, P. Filippakopoulos, A. N. Bullock, D. Fabbro, J. Trappe, J. Schwaller, S. Knapp, F. Bracher, *Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, *55*, 403-413.
- [99] R. Martin, S. L. Buchwald, *Accounts of Chemical Research* **2008**, *41*, 1461-1473.
- [100] L. M. Klingensmith, E. R. Strieter, T. E. Barder, S. L. Buchwald, *Organometallics* **2006**, *25*, 82-91.
- [101] J. P. Wolfe, S. Wagaw, S. L. Buchwald, *Journal of the American Chemical Society* **1996**, *118*, 7215-7216.
- [102] M. Mineno, M. Sera, T. Ueda, M. Mizuno, M. Yamano, H. Mizufune, A. Zanka, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 5550-5557.
- [103] M. Mizuno, H. Mizufune, M. Sera, M. Mineno, T. Ueda, *WO 2008/016184 A1* **2008**.
- [104] S. R. Chemler, D. Trauner, S. J. Danishefsky, *Angewandte Chemie* **2001**, *113*, 4676-4701.
- [105] A. G. Dossetter, H. Beeley, J. Bowyer, C. R. Cook, J. J. Crawford, J. E. Finlayson, N. M. Heron, C. Heyes, A. J. Highton, J. A. Hudson, A. Jestel, P. W. Kenny, S. Krapp, S. Martin, P. A. MacFaul, T. M. McGuire, P. M. Gutierrez, A. D. Morley, J. J. Morris, K. M. Page, L. R. Ribeiro, H. Sawney, S. Steinbacher, C. Smith, M. Vickers, *J Med Chem* **2012**, *55*, 6363-6374.
- [106] A. Ritter, *Dissertation, LMU München* **2006**.
- [107] C. P. Miller, *WO 2011/097496 A1* **2011**.
- [108] T. Choshi, T. Sada, H. Fujimoto, C. Nagayama, E. Sugino, S. Hibino, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2593-2596.
- [109] F. Bracher, D. Hildebrand, *Liebigs Annalen der Chemie* **1992**, *1992*, 1315-1319.
- [110] G. A. Holdgate, W. H. J. Ward, *Drug Discov Today* **2005**, *10*, 1543-1550.
- [111] C. A. Wartchow, F. Podlaski, S. Li, K. Rowan, Z. Xiaolei, D. Mark, H. Kuo-Sen, *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2011**, *25*, 669-676.
- [112] R. L. Rich, D. G. Myszka, *Analytical Biochemistry* **2007**, *361*, 1-6.
- [113] Y. Abdiche, D. Malashock, A. Pinkerton, J. Pons, *Analytical Biochemistry* **2008**, *377*, 209-217.
- [114] http://www.google.de/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.genengnews.com%2Fmedia%2Fimages%2Farticle%2Fblock_8425.jpg&imgrefurl=http%3A%2F%2Ffiziware.tumblr.com%2Ffortebio-biolayer-interferometry&h=300&w=375&tbnid=3uyW26XoawuH1M%3A&docid=1KPWS7OJpZYV9M&ei=Tm9DVp_GBYHCPay-g-AE&tbm=isch&iact=rc&uact=3&dur=4573&page=1&start=0&ndsp=38&ved=0CCcQrQMwA2oVChMIn6WfYeelyQIVAWEPCh0s3wBM, (**Zugriff: 11.11.2015**).
- [115] H. R. Horton, L. A. Moran, K. G. Scrimgeour, M. D. Perry, J. D. Rawn, *Biochemie* **2008**.
- [116] B. Hettich, *Bachelorarbeit, LMU München* **2014**.
- [117] C. Glas, *Bachelorarbeit, LMU München* **2015**.
- [118] R. Nussinov, C.-J. Tsai, *Cell* **2013**, *153*, 293-305.
- [119] J.-P. Changeux, *Annual Review of Biophysics* **2012**, *41*, 103-133.
- [120] T. Mosmann, *Journal of Immunological Methods* **1983**, *65*, 55-63.
- [121] M. V. Berridge, A. S. Tan, K. D. McCoy, R. Wang, *Biochemica* **1996**, *4*, 14-19.
- [122] J.-M. Gazengel, J.-C. Lancelot, S. Rault, M. Robba, *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1990**, *27*, 1947-1951.

- [123] M. A. Dessau, Y. Modis, *Journal of Visualized Experiments : JoVE* **2011**, 2285.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Kerstin Jutta Mautner
Geburtsdatum: 06.05.1984
Geburtsort: Passau

Ausbildung

09/2003 – 06/2006 Ausbildung zur Chemielaborantin bei der Wacker Chemie AG, Burghausen
06/2006 – 04/2007 Chemielaborantin bei der Wacker Chemie AG – Consortium für elektrochemische Industrie GmbH, München
04/2007 – 09/2011 Studium der Pharmazie an der Ludwig-Maximilians-Universität München
11/2011 – 04/2012 Pharmazie-Praktikantin, Apotheke des städtischen Klinikums München GmbH
05/2012 – 10/2012 Pharmazie-Praktikantin, Orlando-Apotheke, München
12/2012 Approbation als Apothekerin
01/2013 – 04/2016 Promotionsstudium, Arbeitskreis Prof. Dr. Bracher, Department Pharmazie, Ludwig-Maximilians-Universität München
01/2013 – 04/2016 Weiterbildung zur Fachapothekerin für pharmazeutische Analytik