

**Entdeckung 3-heterozyklisch substituierter
1-Phenylsulfinyl-2-naphthole als Hemmstoffe der
Aldosteron-Synthase (CYP11B2) sowie Entwicklung
neuer human und an der Ratte wirksamer
Dihydrochinolinonderivate**

Dissertation

zur Erlangung des Grades des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III
Chemie, Pharmazie, Bio- und Werkstoffwissenschaften
der Universität des Saarlandes

von

Dipl.-Chem. Cornelia M. Grombein

Saarbrücken

2010

Tag des Kolloquiums: 11.02.2011

Dekan: Prof. Dr.-Ing. Stefan Diebels

Berichterstatter: Prof. Dr. Rolf W. Hartmann

Prof. Dr. Uli Kazmaier

Vorsitz: Prof. Dr. Dr. h.c. Hans H. Maurer

Akad. Mitarbeiter: Dr. Martin Frotscher

Die vorliegende Arbeit entstand unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. R. W. Hartmann am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Naturwissenschaftlich-technischen Fakultät III der Universität des Saarlandes von März 2007 bis Juli 2010.

„Ob eine Sache gelingt, erfährst du nicht,
wenn du darüber nachdenkst,
sondern wenn du es ausprobierst.“

(Unbekannt)

Für meine Großmutter
und meine Familie

Zusammenfassung

Das Enzym Aldosteron-Synthase (CYP11B2) katalysiert die letzten Schritte der Biosynthese des Aldosterons. Die Hemmung dieses Enzyms stellt ein vielversprechendes Therapiekonzept zur Behandlung von Erkrankungen dar, bei denen erhöhte Aldosteronkonzentrationen im Plasma eine Rolle spielen, wie z.B. bei einer Herzinsuffizienz oder einer Myokardfibrose. 3-Pyridylsubstituierte Naphthaline sind potente CYP11B2-Inhibitoren, die jedoch das hepatische Enzym CYP1A2 hemmen und nicht in der Lage sind *in vivo* (Ratte) den Aldosteronspiegel zu senken. Zur Optimierung dieser Hemmstoffe wurden Substituenten an C-1 und C-2 des Naphthalins eingeführt. Dabei wurde ein neuer synthetischer Zugang zu 1,3-disubstituierten 2-Naphtholen entwickelt, die sich als potente und gegenüber den Enzymen CYP11B1, CYP17 und CYP19 hochselektive CYP11B2-Inhibitoren herausstellten. In einem zweiten Ansatz führte die Modifikation des mit dem Pyridylrest substituierten Rings des Naphthalins durch Einführen von Heteroatomen und polarer Gruppen zu einem Verlust der inhibitorischen Wirkung auf das Targetenzym CYP11B2. Im letzten Teil dieser Arbeit wurden ausgehend von pyridylsubstituierten Dihydrochinolinonen neue hochpotente Inhibitoren des humanen CYP11B2-Enzyms gewonnen, die gegenüber dem hoch homologen CYP11B1 selektiv sind und darüber hinaus in der Lage sind *in vitro* die Aldosteron-Synthase der Ratte zu hemmen.

Summary

Aldosterone synthase (CYP11B2) catalyses the last steps in aldosterone biosynthesis. Therefore, the inhibition of this enzyme offers a promising therapy concept for the treatment of cardiovascular diseases associated with chronically elevated aldosterone plasma levels. Examples include hypertension, congestive heart failure and myocardial fibrosis. 3-Pyridine substituted naphthalenes are potent CYP11B2 inhibitors. However, they are not selective towards the hepatic enzyme CYP1A2 and they are not able to reduce aldosterone plasma levels *in vivo* (rat). Optimization of these compounds by introduction of substituents at C-1 and C-2 of the naphthalene core resulted in the development of a new synthetic approach to 1,3-disubstituted 2-naphthols, which turned out to be potent CYP11B2 inhibitors showing excellent selectivities towards CYP11B1, CYP17, and CYP19. In a second approach the pyridyl substituted ring of the naphthalene was modified by introduction of heteroatoms and polar groups resulting in a loss of inhibitory potency towards the target enzyme CYP11B2. In the last part of this work, using pyridyl substituted dihydroquinolinones as lead structure, new highly potent human CYP11B2 inhibitors were developed that show good selectivities towards the highly homologous CYP11B1 and are able to inhibit the rat CYP11B2 *in vitro*.

Danksagungen

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. R. W. Hartmann für die interessante Aufgabenstellung, die Möglichkeit zur Mitarbeit in diesem hochaktuellen und spannenden Forschungsprojekt und seine Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit sowie bei Herrn Prof. Dr. U. Kazmaier für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Ferner möchte ich Dr. Ralf Heim für die Betreuung während der ersten Hälfte meiner Dissertation und die vielen hilfreichen „Tipps und Tricks“ und anregenden Diskussionen danken.

Bei Dr. Emmanuel Bey sowie Dr. Michael Heydel bedanke ich mich für die kritische Durchsicht der Manuskripte und für wissenschaftliche Diskussionen.

Frau Dr. Christina Zimmer danke ich für die Einweisung in die Durchführung der biologischen Tests zur CYP11B-Hemmung.

Bei Dr. Volker Huch vom Institut für anorganische Chemie bedanke ich mich für die Aufnahme der Röntgenstrukturen und die Bereitstellung der Daten und bei Herrn Dr. Zapp für die Aufnahme der NMR-Spektren.

Für praktische Unterstützung bedanke ich mich bei den studentischen Hilfskräften Katharina Rupp und Jan-Henning Sahner sowie bei Christian Burgard, der Teile der in Kap. 3.1.3 vorgestellten Ergebnisse während seiner Bachelorarbeit bearbeitet hat.

Bei Sabrina Rau, Jannine Jung, Jeannine Ludwig, Martina Jankowski, Gertrud Schmitt und Victoria Krämer bedanke ich mich für einen großen Teil der biologischen Testung der synthetisierten Verbindungen.

Dem CYP-Team sowie den weiteren derzeitigen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die stete Unterstützung, Beantwortung von Fragen und Diskussionen.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern und Schwestern für die fortdauernde Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Biosynthese und Physiologie der Mineralo- und Glucocorticoide.....	1
1.1.1	Cytochrom-P450-Enzyme (CYP)	1
1.1.2	Die Biosynthese der adrenalen Corticoide	3
1.1.3	Das Mineralocorticoid Aldosteron	6
1.1.4	Das Glucocorticoid Cortisol.....	8
1.2	Aldosteronabhängige Krankheiten.....	10
1.2.1	Hyperaldosteronismus	10
1.2.2	Herzinsuffizienz und myokardiale Fibrose	11
1.3	Das Enzym Aldosteron-Synthase (CYP11B2) als Target.....	13
1.3.1	Therapiemöglichkeiten für aldosteronabhängige Krankheiten	13
1.3.2	Aldosteron-Synthase (CYP11B2) als neues Target	15
1.4	CYP11B2-Inhibitoren: Aktueller Kenntnisstand	18
1.4.1	Steroidale Inhibitoren.....	18
1.4.2	Unselektive nicht-steroidaler Hemmstoffe des humanen CYP11B2-Enzyms.....	18
1.4.3	Entwicklung selektiver CYP11B2-Inhibitoren	19
1.4.3.1	Von Etomidat und/oder Fadrozol abgeleitete CYP11B2-Inhibitoren	19
1.4.3.2	Im Arbeitskreis Hartmann entwickelte CYP11B2-Inhibitoren.....	22
2	Problemstellung und Zielsetzung	26
3	Ergebnisse und Diskussion.....	31
3.1	Unerwartetes Ergebnis einer $S_{N,Ar}$ -Reaktion: Die Entdeckung eines neuen synthetischen Zugangs zu 1-phenylsulfanylsubstituierten 2-Naphtholen.....	31
3.1.1	Einleitung	31
3.1.2	Entdeckung einer neuartigen $S_{N,Ar}$ -Reaktion	31
3.1.2.1	Geplanter Syntheseweg für phenylsulfanylsubstituierte Pyridylnaphthaline und oxidierte Derivate	31
3.1.2.2	Ergebnisse	32
3.1.2.3	Kenntnisstand: 3-Aryl-1-(phenylsulfanyl)-substituierte 2-Naphthole	34
3.1.2.4	Hypothetischer Mechanismus der $S_{N,Ar}$ -Reaktion.....	35
3.1.3	Optimierung und Untersuchungen zur Übertragbarkeit der $S_{N,Ar}$ -Reaktion auf andere Edukte.....	36

3.2 Synthese und biologische Evaluierung von 1-Phenylsulfinyl-3-(3-pyridyl)-2-naphtholen und verwandter Verbindungen als CYP11B2-Inhibitoren	40
3.2.1 Einleitung	40
3.2.2 Synthese	40
3.2.3 Biologische Ergebnisse	44
3.2.4 Diskussion	47
3.2.5 Fazit	48
3.3 Neue Grundstrukturen für CYP11B2-Inhibitoren durch Modifikation des Naphthalin-„B-Rings“	49
3.3.1 Einleitung	49
3.3.2 Ergebnisse und Diskussion	51
3.3.2.1 Synthese	51
3.3.2.2 Biologische Ergebnisse und Diskussion	52
3.3.3 Fazit	54
3.4 Modifikation des „A-Rings“: Weiterentwicklung der Inhibitoren des Dihydrochinolin-2-on-Typs	55
3.4.1 Einleitung	55
3.4.2 Ergebnisse	56
3.4.2.1 Synthese	56
3.4.2.2 Biologische Ergebnisse	61
3.4.3 Diskussion	65
3.4.4 Fazit	68
4 Zusammenfassung und Ausblick	69
4.1 Zusammenfassung	69
4.2 Ausblick	76
5 Experimenteller Teil	78
5.1 Synthetischer Teil	78
5.1.1 Chemical and Analytical Methods	78
5.1.1.1 General Procedures	79
5.1.1.2 Synthesis of compounds described in chapter 3.1 and 3.2	81
5.1.2 Synthesis of compounds described in chapter 3.3	111
5.1.3 Synthesis of compounds described in chapter 3.4	116
5.2 Pharmakologische Arbeitsmethoden	133
5.2.1 Test auf Hemmung der CYP11B-Enzyme	133

5.2.2 Test auf Hemmung des humanen CYP17-Enzyms	134
5.2.3 Test auf Hemmung des humanen CYP19-Enzyms	134
6 Abkürzungsverzeichnis	135
7 Anhang: Röntgenstrukturdaten	137
7.1 1-(Phenylsulfanyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (4)	137
7.2 1-(Phenylsulfinyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (5)	142
8 Referenzen.....	147

1 Einleitung

1.1 Biosynthese und Physiologie der Mineralo- und Glucocorticoide

1.1.1 Cytochrom-P450-Enzyme (CYP)

Die Biosynthese der adrenalen Steroidhormone verläuft ausgehend von Cholesterol über fünf Cytochrom-P450-Enzyme (CYP). CYP-Enzyme stellen eine Superfamilie (< 4500 Mitglieder) von Enzymen dar, bei denen ein Eisen(III)-Protoporphyrin-Komplex (Häm) kovalent über das Schwefelatom eines Cysteins mit dem Protein verbunden ist (Abbildung 1).

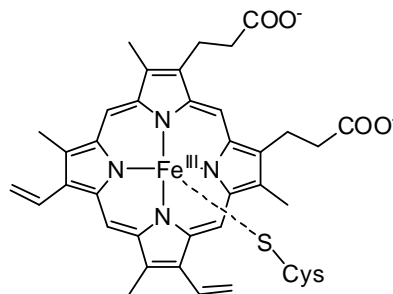


Abbildung 1: Eisen(III)-Protoporphyrin-Komplex.

Die Enzyme wurden außer in einigen primitiven Bakterien in allen Lebenswesen im endoplasmatischen Retikulum (ER), aber auch in den Mitochondrien gefunden. CYP-Enzyme bestehen normalerweise aus etwa 500 Aminosäuren, die in einer hoch konservierten Tertiärstruktur angeordnet sind: Drei parallele Helices, die D-, L- und I-Helix und die antiparallele E-Helix bilden den Kern der Tertiärstruktur. Das prosthetische Häm liegt zwischen der L- und der I-Helix und ist über ein Cystein an das Enzym gebunden. Die Einteilung der CYP-Enzyme erfolgt aufgrund der Sequenzidentitäten in Familien (s.i. > 40 %), die mit einer arabischen Ziffer bezeichnet werden, und Unterfamilien (s.i. > 55 %), deren Kennzeichnung durch einen Buchstaben erfolgt.

Es gibt zwei Hauptfunktionen für CYP-Enzyme: In Säugetieren sind die Enzyme der Familien CYP1-CYP3 für etwa 75-80 % der in Phase I des Metabolismus ablaufenden Oxidationen von Xenobiotika verantwortlich. Sie weisen daher eine geringe Substratspezifität auf; Enzyme aus den Familien CYP4-CYP51 zeigen normalerweise eine hohe Substratspezifität, da sie die Biosynthesen wichtiger endogener Signalmoleküle wie Steroidhormone, Gallensäuren, Eicosanoide und fettlöslicher Vitamine katalysieren.^{1,2}

Bis auf wenige Ausnahmen funktionieren CYP-Enzyme als mischfunktionelle Oxidasen, d.h. sie übertragen ein Atom eines Sauerstoffmoleküls auf das Substrat, während das andere zu Wasser reduziert wird. Humane mitochondriale CYP-Enzyme, z.B. CYP11A1, CYP11B1 und CYP11B2, erhalten die zur Reduktion benötigten Elektronen von NADPH. Diese werden über die Adrenodoxin-Reduktase (AdR) und das Adrenodoxin (Adx), auf das CYP-Enzym übertragen. Bei mikrosomalen CYP-Enzymen, z.B. den hepatischen CYP-Enzymen, CYP17, CYP21 und CYP19, die im endoplasmatischen Retikulum vorkommen, übernimmt das Enzym Cytochrom-P450-Oxidoreduktase (CPR) - manchmal in Kombination mit Cytochrom b_5 - diese Aufgabe.³

Der katalytische Zyklus der CYP-Enzyme ist in Abbildung 2 dargestellt. Das Substrat bindet in das aktive Zentrum des Enzyms, induziert dadurch eine Konformationsänderung, wodurch die Bindung des Wassermoleküls im *low-spin*-Eisenkomplex (**A**) gestört wird und ein fünfgliedriger *high-spin*-Komplex (**B**) entsteht. **B** hat nun ein positiveres Reduktionspotential ($\approx -0,17$ V) als Ferredoxin und wird somit durch dieses zum zweiwertigen *high-spin*-Eisenkomplex (**C**) reduziert. Anschließend wird ein Sauerstoffmolekül axial (η^1 , end-on) angelagert, wobei ein Elektron des Eisens auf den Sauerstoff übertragen wird (Komplex **D**). Aus **D** entstehen durch die Übertragung eines zweiten Elektrons von Ferredoxin und anschließender Protonierung die instabilen *low-spin*-Komplexe **E** und **F**, die unter heterolytischer Spaltung der O-O-Bindung zu Wasser und dem Oxido-Komplex (**G**) zerfallen. Nach Insertion des Sauerstoffs in das Substrat wird dieses abgespalten und durch Anlagerung eines Wassermoleküls der Ausgangskomplex **A** gebildet.¹

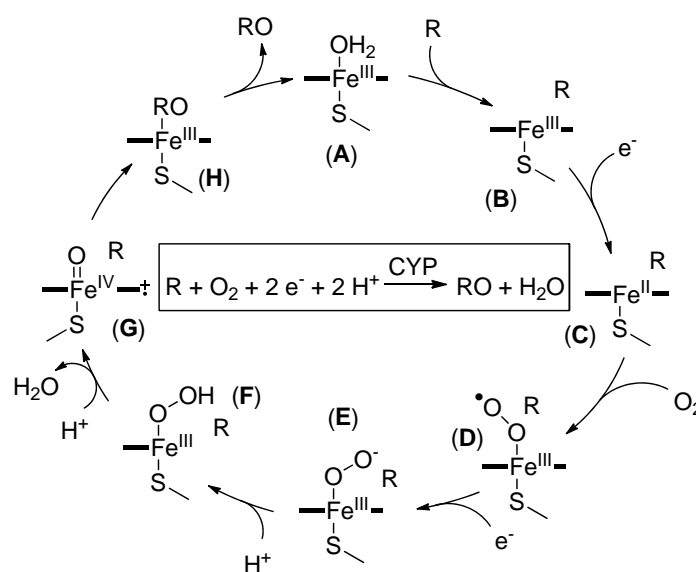


Abbildung 2: Katalysezyklus der CYP-Enzyme; R = Substrat; RO = Produkt.¹

1.1.2 Die Biosynthese der adrenalen Corticoide

Die Biosynthese der Mineralo- und Glucocorticoide findet in den Nebennieren statt. Diese sind aus dem Nebennierenmark, in dem Adrenalin und Noradrenalin produziert werden, und der Nebennierenrinde aufgebaut (Abbildung 3). Die Nebennierenrinde wird aufgrund histologischer und biochemischer Untersuchungen in drei Zonen unterteilt: In der äußersten Schicht, der *Zona Glomerulosa* werden Mineralocorticoide, vor allem Aldosteron (1.1.3), das bedeutendste menschliche Mineralocorticoid, gebildet. In der darunterliegenden *Zona Fasciculata* werden Glucocorticoide, vor allem Cortisol (1.1.4), und in der innersten Zone, der *Zona Reticularis*, Androgene und ebenfalls Glucocorticoide synthetisiert.^{4,5} Neben dieser klassischen Zonierung fanden Nishimoto *et al.* kürzlich in den äußeren Schichten der Nebennierenrinde morphologisch isolierte Zellcluster, die ebenfalls Aldosteron produzieren.⁶

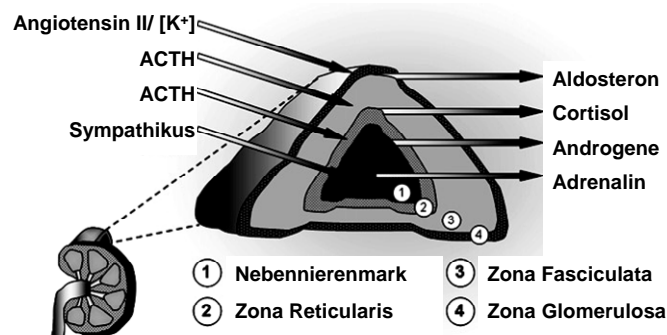


Abbildung 3: Aufbau der Nebenniere mit den in der jeweiligen Zone produzierten Hormonen und ihren regulierenden Faktoren (angepasst, aus Ref.7).

Die Biosynthese der adrenalen Corticoide erfolgt ausgehend von Cholesterol. Sie wird durch fünf CYP-Enzyme und das Enzym 3β -Hydroxy-Steroiddehydrogenase (3β -HSD) katalysiert (Abbildung 4, S.4). Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist der durch das StAR-Enzym (*steroidogenic acute regulatory protein*) vermittelte Transport des Cholesterols von der äußeren zur inneren Membran der Mitochondrien in der Nebennierenrinde.^{8,9} Dort wird Cholesterol mittels CYP11A1 (P450_{sc}, *side chain cleavage enzyme*) in einem dreistufigen Prozess bestehend aus einer Hydroxylierung an C-22, einer Hydroxylierung an C-20 und folgender Spaltung des Glykols zu Pregnenolon umgesetzt. Dieses diffundiert in das endoplasmatische Retikulum (ER), in der es je nach Nebennierenzone in unterschiedliche Hormone überführt wird.

In der *Zona Glomerulosa* wird Pregnenolon durch Oxidation der 3β -Hydroxylgruppe und Isomerisierung der Doppelbindung an C-5 in Progesteron umgewandelt. Beide Reaktionen werden durch die 3β -HSD, die an der Membran des glatten ER lokalisiert ist, katalysiert. Pro-

gesteron wiederum wird an der cytosolischen Membranseite des glatten ER durch CYP21 an C-21 zu 11-Deoxycorticosteron (DOC) hydroxyliert, welches von den Mitochondrien aufgenommen wird. Das Enzym Aldosteron-Synthase (CYP11B2), das in der inneren Mitochondrienmembran verankert ist, katalysiert die 11 β -Hydroxylierung des DOC zum Corticosteron, die Hydroxylierung an C-18 zum 18-Hydroxycorticosteron und die anschließende Oxidation unter Wasserabspaltung zum Aldosteron. Die 11 β -Hydroxylierung von DOC zu Corticosteron kann auch von CYP11B1 katalysiert werden.⁹⁻¹¹

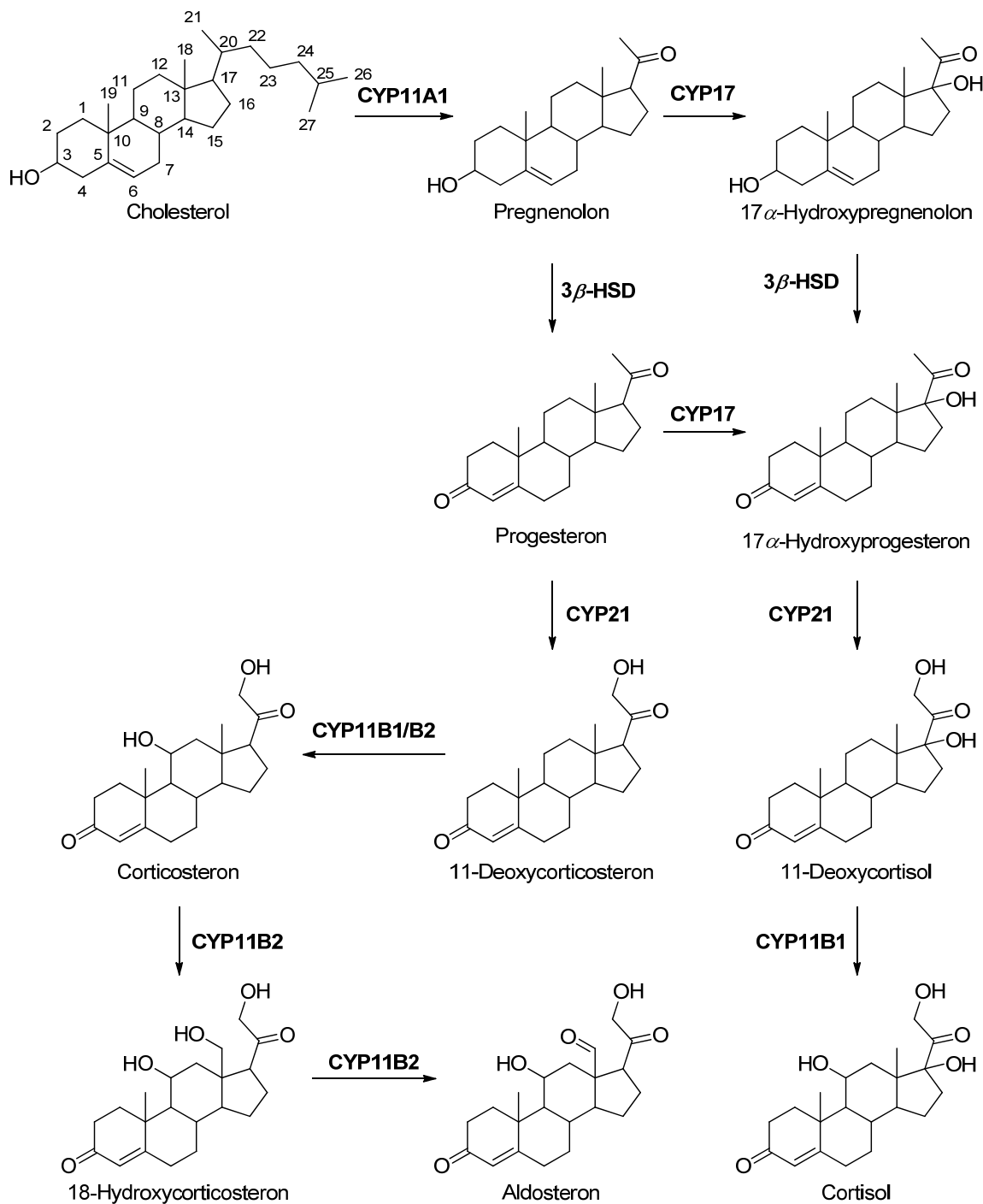


Abbildung 4: Die Biosynthese der adrenalen Corticoide.

In der *Zona Fasciculata* können sowohl Pregnenolon als auch Progesteron im ER durch CYP17 zu 17α -Hydroxypregnenolon und 17α -Hydroxyprogesteron hydroxyliert werden. Dieses in der Cortisolbiosynthese notwendige Intermediat kann auch – analog zur oben beschriebenen Progesteronsynthese – durch 3β -HSD katalysiert aus 17α -Hydroxypregnenolon gebildet werden. 17α -Hydroxyprogesteron wird durch Hydroxylierung an C-21 durch CYP21 zu 11-Deoxycortisol (RSS) umgesetzt, welches passiv zur inneren Mitochondrienmembran diffundiert, an der es von der 11β -Hydroxylase (CYP11B1) an C-11 zu Cortisol hydroxyliert wird.^{10,11}

In anderen Spezies unterscheiden sich die Biosynthesewege von Mineralo- und Glucocorticoiden teilweise: In Rindern, Schweinen, Schafen und Fröschen gibt es nur ein CYP11B-Enzym, das die letzten Schritte der Biosynthese von Corticoiden katalysiert. Bei Mäusen, Meerschweinchen und Pavianen kommen wie beim Menschen mindestens zwei Enzyme vor.^{4,12} In neugeborenen Ratten wurde zusätzlich CYP11B3 gefunden, welches in der *Zona Fasciculata/Reticularis* exprimiert wird und sowohl zu Hydroxylierungen an C-11 als auch an C-18 aber nicht zur Aldehydbildung an C-18 befähigt ist.¹³

Im Menschen sind die beiden *CYP11B*-Gene in den codierenden Regionen zu 95 % identisch. Sie sind hintereinander etwa 45 kb voneinander entfernt auf dem Chromosom 8q angeordnet.^{12,14,15} Die Proteine werden mit einer Sequenz von jeweils 503 Aminosäuren gebildet, von denen ein 24 Aminosäuren langes Teilstück als Signalpeptid fungiert, das die neu gebildeten Enzyme in die Mitochondrien dirigiert und anschließend abgespalten wird.¹⁴ Von den verbliebenen 479 Aminosäuren unterscheiden sich nur noch 29, die außerhalb der vermutlichen Substraterkennungsregionen der Enzyme liegen.¹⁶

Da CYP11B2 und CYP11B1 membrangebundene Enzyme sind, konnten bis jetzt von beiden keine Kristallstrukturen erhalten werden. Auf Grundlage der Kristallstrukturen mehrerer unterschiedlicher humaner hepatischer und/oder bakterieller CYP-Enzyme wurden Homologiemodelle erstellt. Belkina *et al.* fokussierten sich auf die räumliche Anordnung der Aminosäuren im aktiven Zentrum und eine mögliche Stabilisierung des Häms durch ein Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen. Sie schlussfolgerten, dass CYP11B1 eine größere Substratbindetasche als CYP11B2 aufweist und sich die zwei CYP11B Enzyme in der Lage des Häms unterscheiden.¹⁶ Das Homologiemodell von Ulmschneider *et al.* beschreibt Aktivitätsunterschiede einiger nicht steroidaler Hemmstoffe¹⁷ und das Modell von Roumen *et al.* konzentriert sich auf die Lage und Wechselwirkungen der natürlichen Liganden und einiger literaturbekannter Hemmstoffe in den Enzymen.¹⁸

1.1.3 Das Mineralocorticoid Aldosteron

Das bedeutendste menschliche Mineralocorticoid Aldosteron wurde 1953 von Simpson und Tait erstmals aus Rindernebennieren isoliert und kurz darauf strukturell aufgeklärt.¹⁹ Es reguliert den Salz- und Wasserhaushalts des Körpers, indem es an Mineralocorticoid-Rezeptoren (MR) im Zytosol der Epithelzellen in den Nieren bindet. Der so gebildete Rezeptor-Ligand-Komplex wandert in den Zellkern, in dem er als Transkriptionsfaktor durch Interaktion mit verschiedenen DNA regulierenden Elementen letztendlich die Expression und Aktivierung von Natriumionenkanälen (ENaC) in der apikalen Epithelmembran und von Na⁺/K⁺-ATPasen in der basolateralen Membran auslöst.²⁰ Dies führt zu einer erhöhten Rückresorption an Natriumionen in den Verbindungstübuli und Sammelrohren der Niere und zu einer vermehrten Exkretion von Kalium- und Ammoniumionen sowie von Protonen. Die Na⁺-Resorption führt aufgrund des osmotischen Effekts zudem zu einer Wasserretention und somit zu einer Erhöhung des Blutvolumens, dessen Erhöhung wiederum ein Ansteigen des Blutdrucks bewirkt. Die erhöhte Kaliumexkretion kann neben weiteren noch nicht belegten Mechanismen durch eine Änderung des elektrochemischen Gradienten aufgrund der erhöhten Na⁺-Resorption erklärt werden.²¹

In den Epithelzellen der Nieren, der Ohrspeicheldrüse, des Darms und in mehreren anderen Geweben, vor allem im Herzkreislaufsystem und im zentralen Nervensystem, wurden ebenfalls MR gefunden. Die Effekte, die dort durch MR-Aktivierung ausgelöst werden, unterscheiden sich von den oben beschriebenen Wirkungen von Aldosteron und gehören möglicherweise teilweise zu den im nächsten Abschnitt beschriebenen nicht-genomischen Effekten. So begünstigt Aldosteron im kardiovaskulären Bereich die Ausbildung einer myokardialen Hypertrophie, Myokardfibrose und eine deregulierte Funktion des Gefäßendothels. Im ZNS scheint Aldosteron zur Regulierung des Blutdrucks, des Salzappetits und des Sympathikotonus beizutragen.⁹

Neben den genomischen wurden sogenannte nicht-genomische Aldosteroneffekte beschrieben. Sie unterscheiden sich durch die Geschwindigkeit mit der ihre Wirkung eintritt, d.h. in der Regel lassen sich nicht-genomische Effekte nach wenigen Minuten nachweisen, wohingegen genomische Effekte mehrere Stunden bis Tage nach dem Stimulus auftreten.²² Beispielsweise wurde vier Minuten nach Injektion von Aldosteron bei gesunden Probanden eine Verringerung des Blutflusses im Unterarm gemessen.²³ *In vitro* wurden nicht-genomische Effekte in verschiedenen Zellen, wie vaskulären glatten Muskelzellen, Lymphozyten, Kardiomyozyten und Nierenzellen beobachtet. Aufgrund der Geschwindigkeit ihres Auftretens wird vermutet, dass nicht-genomische Effekt nicht durch neusynthetisierte

Proteine ausgelöst werden. Eine These, für die auch spricht, dass manche der Effekte nicht durch die Translationsinhibitoren Actinomycin-D und Cycloheximid gehemmt werden.^{9,24} Außerdem wird die Existenz weiterer möglicherweise membrangebundener Aldosteronrezeptoren neben den klassischen MR-Rezeptoren aufgrund der Beobachtung kontrovers diskutiert, dass einige der nicht-genomischen Effekte durch den MR-Antagonisten Spironolacton nicht beeinflusst werden.^{9,25,26}

Die Regulierung der Aldosteronbiosynthese erfolgt hauptsächlich durch das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS, Abbildung 5).^{9,27,28} Es wird bei Schwankungen der Natrium- und Kaliumionenkonzentration oder bei zu geringem Blutdruck aktiviert. Das proteolytische Enzym Renin, das vom juxtaglomerulären Apparat in den Nieren sezerniert wird, spaltet ein Dipeptid vom Angiotensinogen, das in der Leber gebildet wird, ab, wodurch das Dekapeptid Angiotensin I gebildet wird. Dieses wird im vaskulären Endothel durch ACE (*angiotensin converting enzyme*) zum Octapeptid Angiotensin II (Ang II) gespalten. Ang II verengt einerseits die Blutgefäße, so dass der Blutdruck steigt, und regt andererseits in der *Zona glomerulosa* der Nebennierenrinde die Transkription von *CYP11B2* und damit die Bildung von Aldosteron an.²⁹

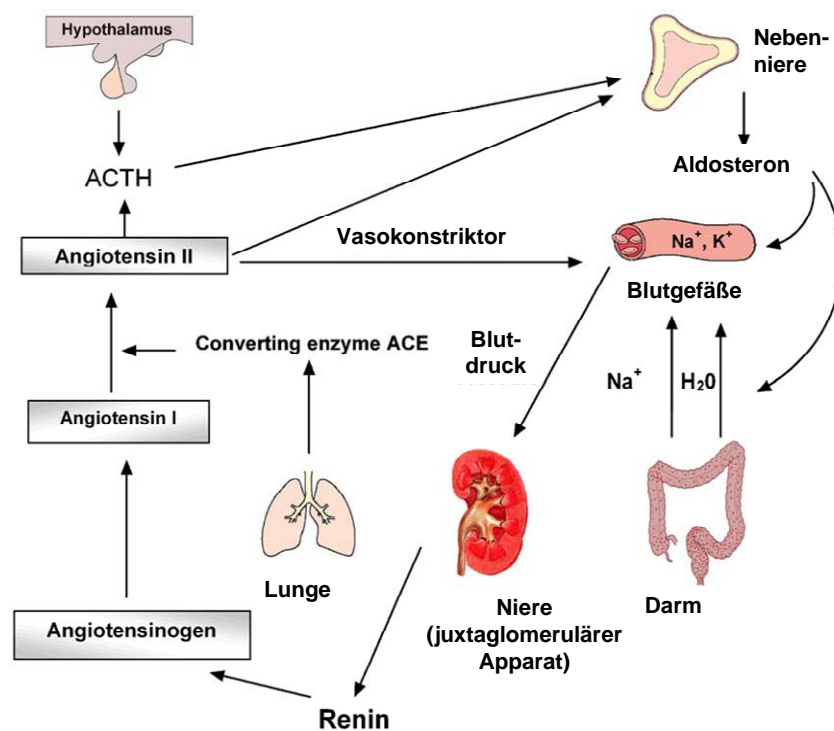


Abbildung 5: Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS, angepasst, aus Ref.30).

Des Weiteren beeinflussen bereits geringe Schwankungen der extrazellulären Kaliumkonzentration die Aldosteronsekretion der Nebennieren. Ein Anstieg des Plasmakaliumspiegels führt zu einem Anstieg des intrazellulären Calciumspiegels der Zellen der *Zona glomerulosa*, welche wiederum die Transkription von *CYP11B2* erhöht.³¹ So kann eine Erhöhung der Serumkaliumkonzentration um 0,1 mmol/l zu einem Anstieg des Aldosteronspiegels um 25 % führen.^{21,32} Ein weiterer Faktor, der den Plasmaaldosteronspiegel beeinflusst, ist Adrenocorticotropin (ACTH), das den zirkadianen Rhythmus der Steroidhormone reguliert.^{9,21}

Bei einer chronischen Stimulierung der Aldosteronproduktion, deren Effekte mehrere Stunden bis Tage nach dem Stimulus andauern, wird vermehrt CYP11B2 exprimiert, wohingegen eine akute Stimulierung, deren Effekte nach wenigen Minuten bis Stunden einsetzen, durch eine erhöhte Expression von StAR (s. Kap. 1.1.2) vermittelt wird.²⁹

1.1.4 Das Glucocorticoid Cortisol

Das bedeutendste Glucocorticoid des Menschen ist Cortisol. Es wird in der *Zona Fasciculata* der Nebennierenrinde ausgehend von 11-Deoxycortisol mit Hilfe des Enzyms Steroid-11 β -Hydroxylase (CYP11B1) gebildet (Kap.1.1.2).¹¹ Physiologisch reguliert es die Glucosekonzentration im Blut. Außerdem wirkt es immunsuppressiv und antiinflammatorisch und spielt eine Rolle in der Regulierung des Blutdrucks, der Insulinsekretion, des Knochen-, Protein- und Fettstoffwechsels.^{7,33,34} Der Cortisolspiegel im Blut wird über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse mittels ACTH kontrolliert. Eine geringe Cortisolkonzentration oder andere Faktoren wie verschiedene Formen von Stress stimulieren die Sekretion des *corticotropin releasing* Hormons (CRH) im Hypothalamus. CRH regt in der Hypophyse die Produktion von ACTH an, welches wiederum die Cortisolproduktion in der Nebenniere stimuliert. Pathologisch erhöhte Cortisolspiegel, „Cushing Syndrom“ genannt, werden meist durch Tumore der Hypophyse oder der Nebennieren ausgelöst. Außerdem werden erhöhte Cortisolkonzentrationen im Plasma mit Krankheiten wie dem metabolischen Syndrom, Diabetes Mellitus, Osteoporose, Bluthochdruck, Adipositas, Muskelschwäche, opportunistischen Infektionen und einer gestörten Wundheilung in Zusammenhang gebracht.^{7,34,35}

Cortisol besitzt etwa die gleiche Affinität zum MR wie Aldosteron ($K_d \approx 0,5-2$ nM),³⁶ was sich dadurch erklären lässt, dass die Ligandbindungsdomäne des Glucocorticoidrezeptors (GR) zu etwa 57 % identisch ist mit der des MR.⁹ Außerdem ist die Cortisolkonzentration im

Blut normalerweise etwa tausendfach höher als die Aldosteronkonzentration.¹¹ Die Spezifität des MR für Aldosteron in Epithelzellen lässt sich durch verschiedene Faktoren, die den MR vor übermäßiger Aktivierung schützen, erklären. Einerseits ist ein Großteil des Cortisols an Plasmaproteine gebunden, andererseits ist in mineralocorticoidsensitiven Geweben, wie der Niere, dem Darm, den Schweiß- und den Speicheldrüsen das Enzym 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase Typ 2 (11 β -HSD2) mit dem MR kolokalisiert. 11 β -HSD2 oxidiert Cortisol zum inaktiven Cortison (Abbildung 6). Aldosteron wird von 11 β -HSD2 nicht umgesetzt, da in Lösung der Aldehyd an C-18 mit der Hydroxylgruppe an C-11 ein Halbacetal bildet.^{9,37} Als weitere Mechanismen zur „Aldosteronselektivität“ des MR, die allerdings noch einer Verifizierung und weiterer Aufklärung bedürfen, werden das Redox-Gleichgewicht der Zellen und unterschiedliche Transportmechanismen der Hormone durch die Zellmembranen diskutiert.³⁸

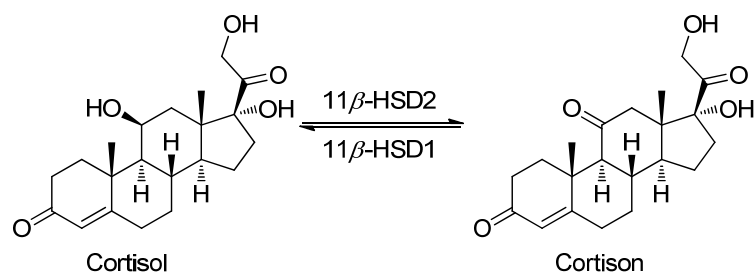


Abbildung 6: Inaktivierung von Cortisol durch 11 β -HSD2.

1.2 Aldosteronabhängige Krankheiten

1.2.1 Hyperaldosteronismus

Hypertonie oder Bluthochdruck ist ein bedeutender Risikofaktor für das Auftreten und den Verlauf kardiovaskulärer Krankheiten; 62 % aller Schlaganfälle und 49 % aller Herzkrankheiten werden durch eine Hypertonie verursacht oder negativ beeinflusst. Etwa 20-50 % der Erwachsenen in den Industrieländern sind betroffen, womit Hypertonie die häufigste therapierbare Krankheit in den Industrieländern darstellt.³⁹ Aufgrund der Ursachen werden zwei Formen unterschieden; für eine primäre oder essentielle Hypertonie kann keine eindeutige Ursache bestimmt werden, da sie meist multifaktoriell bedingt ist. Einer sekundären Hypertonie liegen eine oder mehrere Primärkrankheiten zugrunde, eine Möglichkeit dafür ist ein Hyperaldosteronismus, auf den im Folgenden näher eingegangen wird.

Der primäre Hyperaldosteronismus (PA, Conn-Syndrom) zeichnet sich durch erhöhte Aldosteronplasmaspiegel aus, die autonom in den Nebennieren produziert werden. Das Krankheitsbild wurde 1954 erstmals von J. Conn beschrieben,⁴⁰ und etwa 5-10 % aller Bluthochdruckpatienten leiden darunter.⁴¹ Die erhöhten Aldosteronplasmaspiegel und die damit einhergehenden Elektrolytverschiebungen – erhöhte Natrium- und erniedrigte Kaliumblutwerte – können neben einer Hypertonie auch weitere Symptome wie Müdigkeit, Muskelschwäche, Kopfschmerzen, Epistaxis, Herzrhythmusstörungen, Polyurie, Polydipsie, temporäre Lähmungen, Muskelspasmen und eine metabolische Alkalose auslösen. Ein PA kann unterschiedliche Ursachen haben, die häufigsten sind ein aldosteronsekretierendes Adenom (APA) oder eine bilaterale Hyperplasie (IHA, BAH) der Nebennierenrinde. In mehreren Studien wurde gezeigt, dass Patienten mit PA ein höheres Risiko als andere Hypertoniker haben, Herz- oder Nierenschäden sowie kardiovaskuläre Ereignisse, wie einen Herzinfarkt, Schlaganfall, Vorhofflimmern oder anhaltende Arrhythmien zu erleiden.^{42,43} Auch wird eine Beteiligung von PA an einigen Symptomen des metabolischen Syndroms und der damit einhergehenden erhöhten Sterblichkeit aufgrund kardiovaskulärer Ursachen diskutiert.⁴¹

Der Begriff „sekundärer Hyperaldosteronismus“ beschreibt Formen des Hyperaldosteronismus, die auf eine Fehlfunktion des RAAS zurückzuführen sind. Ursächlich können erhöhte Reninspiegel, die durch ein nephrotisches Syndrom, eine Stenose renaler Arterien oder eine Herzinsuffizienz ausgelöst wurden, sein.⁴⁴

1.2.2 Herzinsuffizienz und myokardiale Fibrose

Bei einer Herzinsuffizienz ist das Herz nicht in der Lage, ein ausreichendes Blutvolumen durch den Körper zu pumpen. Dies äußert sich nach einer Definition der *European Society of Cardiology* unter anderem durch charakteristische Symptome wie Kurzatmigkeit, Müdigkeit oder Ödeme, besonders im Bereich der Knöchel und Unterschenkel.⁴⁵ Ursachen können neben einem Herzinfarkt, der zu einer plötzlich verminderten Herzleistung führt, auch Primärkrankheiten sein, die zu einer graduellen Abnahme dieser führen, wie z. B. ein Herzklappenfehler, Hypertonie, Kardiomyopathien und Herzrhythmusstörungen.⁴⁶ Im Jahr 2006 war die Herzinsuffizienz mit 317.000 Fällen der häufigste Grund für einen stationären Krankenhausaufenthalt in Deutschland.⁴⁷ Die Sterblichkeit innerhalb der ersten fünf Jahre nach Diagnose betrug in unterschiedlichen Studien während der letzten zwei Jahrzehnte abhängig vom Alter der Patienten und dem Schweregrad der Erkrankung zwischen 26 und 52 %.⁴⁸ Erhöhte Aldosteronkonzentrationen im Plasma sind Indikatoren für eine erhöhte Morbidität und Mortalität.⁴⁹

Erhöhte Aldosteronplasmaspiegel spielen eine Rolle bei der Entstehung einer Herzinsuffizienz und dem Voranschreiten der Krankheit.⁵⁰ Hierbei resultieren die erhöhten Aldosteronkonzentrationen aus einer Störung der neurohormonalen Gleichgewichte, d.h. das RAAS ist (Abbildung 5; S. 7) aufgrund der verminderten Herzleistung pathologisch kompensatorisch aktiviert. Dadurch werden vasokonstriktorisch wirkendes Angiotensin II und Aldosteron gebildet. Diese Hormone bewirken die Retention von Natriumionen und Wasser, was wiederum zu einer verstärkten Ausschüttung von Renin und erneuter Aktivierung des RAAS mit weiter steigendem Blutvolumen und somit auch zu einem höheren Blutdruck führt. Die somit gesteigerte Belastung des Herzens führt zu einem vermehrten Sauerstoffverbrauch, der wiederum eine weitere Verschlechterung der Herzleistung verursacht (Abbildung 7, S. 12).⁴⁶

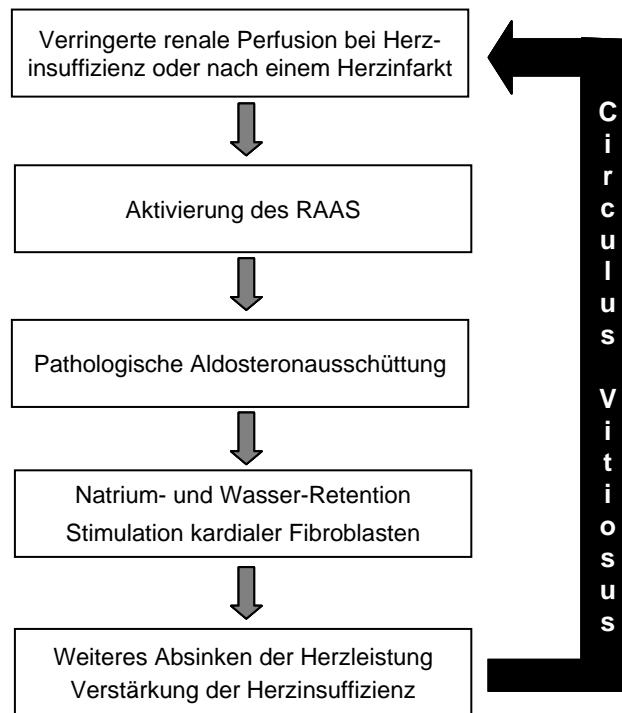


Abbildung 7: Pathologische Aktivierung der Aldosteronproduktion.

Aldosteron kann in Organen, in denen der MR exprimiert wird, wie dem Herzen, den Blutgefäßen und den Nieren, Entzündungsreaktionen auslösen, die zu Fibrosen führen können.⁵¹ Es wird zwischen zwei Arten von Fibrose unterschieden: erstens die primäre oder reaktive Fibrose, bei der eine Neusynthese von Kollagen ohne erkennbare Schädigung des Gewebes und ohne einen Verlust an Myozyten stattfindet und zweitens die sekundäre oder reparative Fibrose, bei der das Gewebes nach einer Schädigung, z.B. nach einem Herzinfarkt vernarbt.⁵² Aldosteron bzw. MR-Aktivierung stimuliert unter bestimmten Rahmenbedingungen, z.B. einer kochsalzreichen Ernährung oder einer Entzündung, die Zellproliferation und Matrixsynthese. Im Herzen produzieren kardiale Fibroblasten vermehrt interstitielles Bindegewebe – sowohl Kollagen I als auch Elastin – während Matrix-Metalloproteasen (MMP) die extrazelluläre Matrix abbauen. Diese Faktoren führen zu einer Versteifung des Herzmuskels und somit zu einer reduzierten Kapazität des Herzens, sich mit Blut zu füllen. Ein Prozess, der „*kardiales Remodeling*“ genannt wird.^{38,53}

1.3 Das Enzym Aldosteron-Synthase (CYP11B2) als Target

1.3.1 Therapiemöglichkeiten für aldosteronabhängige Krankheiten

Für die Behandlung aldosteronabhängiger Krankheiten, wie Herzinsuffizienz und Myokardfibrose, werden neben einer Verringerung bzw. Kontrolle von Risikofaktoren, wie Rauchen oder Diabetes, unterschiedliche pharmakologische Therapieansätze verwendet.

Die größte Gruppe stellen Substanzen dar, die das RAAS beeinflussen. ACE-Inhibitoren hemmen die Spaltung von Angiotensin I zu Angiotensin II und wirken somit hauptsächlich vasodilatatorisch. Die CONSENSUS-Studie (*Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study*) zeigte, dass die Symptome und die Überlebensrate von Herzinsuffizienzpatienten durch den ACE-Inhibitor Enalapril deutlich verbessert wurden. Allerdings entwickelten einige der Patienten einen chronischen Husten, der aus der Hemmung des Metabolismus von Bradykinin resultiert.⁵⁴

Weitere in das RAAS eingreifende Therapieoptionen sind Angiotensin-Rezeptor-Blocker (ARB), die bei einer Unverträglichkeit von ACE-Inhibitoren eingesetzt werden,⁵⁵ und das im August 2007 in der EU als Antihypertonikum zugelassene Aliskiren, das als Renininhibitor den geschwindigkeitsbestimmenden ersten Schritt des RAAS hemmt.⁵⁶ Bei einer längerfristigen Therapie mit ACE-Hemmstoffen oder ARBs wurde häufig nach einer anfänglichen Senkung der Aldosteronkonzentrationen nach wenigen Monaten ein erneuter Anstieg der Spiegel und damit einhergehend eine Verschlechterung der Symptomatik beobachtet.⁵⁷ Zur Erklärung dieses Phänomens, das als „aldosterone escape“ bezeichnet wird, gibt es unterschiedliche Theorien. Die Hauptmechanismen sind eine nicht ausreichende Hemmung der Bildung von Ang-II durch einen ACE-Inhibitor, die Synthese von Ang-II über ACE-unabhängige Wege, bzw. die Stimulierung der Aldosteronbiosynthese unabhängig von Ang-II, z.B. durch erhöhte Kaliumkonzentrationen im Blut.⁴⁶

Mineralocorticoid-Rezeptorantagonisten stellen eine weitere Therapieform dar. Die zusätzliche Gabe des MR-Antagonisten Spironolacton (Abbildung 8, S. 14) zu einer Standardtherapie bei schwerer Herzinsuffizienz zeigte in der 1999 veröffentlichten RALES-Studie (*Randomized Aldactone Evaluation Study*) positive Effekte. Nach drei Monaten waren die Mortalitätsrate, die Anzahl der Hospitalisierungen und das plötzliche Herzversagen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe um 30 % gesenkt.⁵⁸ Des Weiteren wurde eine Milderung der kardialen Kollagenbildung bei herzinsuffizienten Patienten durch eine Therapie mit Spironolacton beobachtet⁵⁹ und bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus wurde das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse auf das Niveau bei anderen Formen essentieller

Hypertonie gesenkt.⁴³ Allerdings gab es vor allem bei längerfristiger Behandlung mit Spironolacton erhebliche Nebenwirkungen, wie Potenzstörungen, Gynäkomastie, Brustschmerzen und Dysmenorrhoe, die sich mit der steroidal Struktur der Verbindung und der daraus resultierenden unspezifischen Wirkung an den Progesteron- und Androgenrezeptoren erklären lassen.⁵⁸ 2004 beschrieben Juurlink *et al.* eine Zunahme von schweren Hyperkaliämien, die möglicherweise mit der vermehrten Verordnung von Spironolacton nach Publikation der RALES-Ergebnisse zusammenhängt.⁶⁰

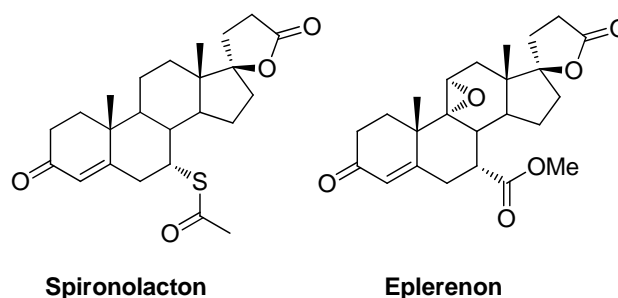


Abbildung 8: Steroidale MR-Antagonisten.

In der EPHEMUS-Studie (*Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study*) wurde der Mineralocorticoid-Antagonist Eplerenon (Abbildung 8) an Patienten nach einem Herzinfarkt getestet. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde eine Reduzierung der Mortalitätsrate unabhängig von der Todesursache um 15 % und aufgrund kardiovaskulärer Gründe um 21 % beobachtet. Des Weiteren war die Anzahl der Krankenhausaufenthalte in der mit Eplerenon behandelten Gruppe um 23 % geringer.⁶¹ Eplerenon zeichnet sich gegenüber Spironolacton durch eine erhöhte Selektivität aus, allerdings besitzt es nur eine geringere Affinität zum MR.⁶²

Aufgrund der Nebenwirkungen von Spironolacton und Eplerenon, wird nach nicht-steroidalen MR-Antagonisten gesucht. Durch Optimierung in Hochdurchsatz-Screenings (HTS) gefundener Verbindungen wurden unterschiedlichen Substanzklassen,⁶³ wie Indole (z.B. **A**)⁶⁴ und Dihydropyridine (z.B. **BR-4628**),⁶⁵ entwickelt (Abbildung 9, S. 15), die sowohl eine gesteigerte Aktivität *in vitro* und *in vivo* als auch ein verbessertes Selektivitätsprofil als die steroidalen MR-Antagonisten aufweisen. Das von *Pfizer* entwickelte Pyrazolin-Derivat **PF-3882845** wurde als Kandidat für die klinische Prüfung ausgewählt.⁶⁶

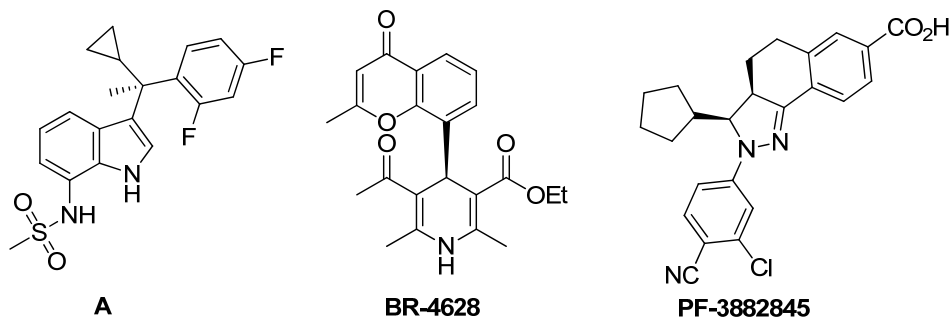


Abbildung 9: In der Entwicklung befindliche nicht steroidale MR-Antagonisten.

1.3.2 Aldosteron-Synthase (CYP11B2) als neues Target

Die direkte Hemmung der Wirkung von Aldosteron mittels eines MR-Antagonisten zeigt zwar – wie in Kap.1.3.1 dargestellt – deutlich positive Wirkungen auf den Verlauf kardiovaskulärer Krankheiten. Aufgrund der beschriebenen Nebenwirkungen und des Risikos einer Hyperkaliämie sind Spironolacton und Eplerenon aber nur für einen eingeschränkten Patientenkreis nutzbar. Ein weiterer Nachteil einer Therapie mit MR-Antagonisten ist, dass erhöhte Aldosteronspiegel im Blut nicht beeinflusst werden. *In vivo* (Wistar-Ratte) führen diese zu einer vermehrten Expression von Mineralocorticoid-Rezeptoren in der linken Herzkammer,⁶⁷ woraus geschlossen werden kann, dass bei einer längerfristigen Therapie mit MR-Antagonisten diese ihre Effektivität verlieren können. Einige der durch Aldosteron ausgelösten nicht-genomischen Effekte (s. Kap.1.1.3), deren Auswirkungen nicht vollständig aufgeklärt sind, werden ebenfalls nicht durch die MR-Antagonisten Spironolacton oder Eplerenon gehemmt.

Als einen neuen therapeutischen Ansatz propagierte R. W. Hartmann bereits 1994 die Hemmung der Aldosteronbiosynthese durch Inhibitoren der Aldosteron-Synthase (CYP11B2).⁶⁸ CYP11B2, das nur die letzten drei Schritte der Aldosteronbiosynthese katalysiert (s. Kap. 1.1.2), bietet sich als Target für Krankheiten wie Hyperaldosteronismus, Herzinsuffizienz und Myokardfibrose an,^{69,70} da die Synthesewege anderer Hormone nicht beeinflusst werden. Um mögliche Nebenwirkungen auf das endokrine System zu minimieren, sollten einerseits nicht-steroidale Moleküle bevorzugt werden und andererseits sollten potentielle CYP11B2-Inhibitoren hohe Selektivitäten gegenüber anderen CYP-Enzymen aufweisen. Aufgrund der großen Homologie von über 93 %¹⁴ stellt das Erreichen einer ausreichenden Selektivität gegenüber der 11 β -Hydroxylase (CYP11B1), die den letzten Schritt in der Cortisolbiosynthese katalysiert (s. Kap.1.1.2), eine besondere Herausforderung dar.

Aufgrund der im Arbeitskreis von Prof. R. W. Hartmann durchgeführten Arbeiten zur Entwicklung von Hemmstoffen von CYP19^{71,72} und CYP17⁷³⁻⁷⁵ ist bekannt, dass solche Verbindungen zur Entwicklung potenter und selektiver CYP-Inhibitoren geeignet sind, die eine funktionelle Gruppe beinhalten, die das Häm-Eisen komplexieren kann. Dadurch wird einerseits die Bindungsaffinität erhöht und andererseits die für den katalytischen Prozess benötigte Sauerstoffaktivierung verhindert.

Derzeit gibt es noch keine CYP11B2-Inhibitoren, die als Arzneistoff für aldosteron-abhängige Krankheiten zugelassen sind. In den letzten Jahren wurden mehrere *Proof-of-Concept*-Studien mit Fadrozol oder dessen *R*-Enantiomer *in vivo* durchgeführt. Fadrozol (CGS 16949A) wurde 1987 als Hemmstoff ($IC_{50} = 4,5 \text{ nM}$) der humanen Aromatase (CYP19) beschrieben.⁷⁶ Kurze Zeit später wurde zudem eine starke Hemmung der Corticoidbiosynthese sowohl *in vitro*⁷⁷ als auch *in vivo*⁷⁸ publiziert. Racemattrennung zeigte, dass das *S*-Fadrozol ein potenter CYP19-Inhibitor ist ($IC_{50} = 4,6 \text{ nM}$),⁷⁹ der außerdem das humane CYP11B1 deutlich hemmt. Roumen *et al.* fanden in V79MZ-Zellen, die *hCYP11B1* exprimieren, einen IC_{50} -Wert von 9,9 nM bei einer 17-fachen Selektivität gegenüber CYP11B2 ($IC_{50} = 171 \text{ nM}$).¹⁸ *R*-Fadrozol (**FAD286**, Abbildung 10) ist ein schwächerer CYP19 Inhibitor ($IC_{50} = 39 \text{ nM}$).⁷⁹ Allerdings ist es für die beobachtete Hemmung der Aldosteronbiosynthese verantwortlich ($IC_{50} = 6,0 \text{ nM}$) und zeigt eine etwa 20-fache Selektivität gegenüber CYP11B1 ($IC_{50} = 118,6 \text{ nM}$).¹⁸ Diese Tatsache macht *R*-Fadrozol interessant als Modellsubstanz um die Auswirkungen einer CYP11B2-Hemmung auf bestimmte Krankheiten *in vivo* zu untersuchen und somit CYP11B2 als Target zu validieren.

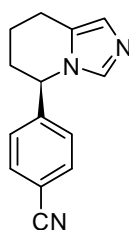


Abbildung 10: R-Fadrozol.

Rigel *et al.* zeigten in einem Modell für sekundären Hyperaldosteronismus in Sprague-Dawley-Ratten, dass eine einmalige Gabe von **FAD286** die Aldosteronspiegel dosisabhängig (0,03-300 mg/kgKG) für maximal acht Stunden senkt. Für eine entsprechende Senkung der Corticosteronkonzentration war eine 50-fach höhere Dosis notwendig, was eine Verzehnfachung der Selektivität gegenüber der *in vitro* in Nebennierenpräparationen gefundenen Selektivität entspricht.⁸⁰ Menard *et al.* zeigten, dass 3 mg/kgKG **FAD286** die Aldosteron-

spiegel im Urin spontan hypertensiver Ratten (SHR) im Verlauf von vier Wochen senkt.⁸¹ Fiebeler *et al.* untersuchten den Einfluss verringerter Aldosteronplasmaspiegel auf doppelt transgene Ratten (dTGR). Diese haben aufgrund der Überexpression der Gene für humanes Renin und Angiotensinogen einen Bluthochdruck und schwere Endorganschäden und sterben nach sieben bis acht Wochen. Es wurde gezeigt, dass **FAD286** (4 mg/kgKG) täglich im Futter die Sterblichkeit und Schäden an Herz und Niere im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich reduziert.⁸² Eine vergleichende Studie zwischen Spironolacton (80 mg/(kgKG d)) und **FAD286** (4 mg/(kgKG d)) in herzinsuffizienten Ratten zeigte, dass beide Verbindungen in etwa gleichem Ausmaß die Herzleistung erhöhen und die Funktion der linken Herzkammer verbessern.⁸³ Ebenso fanden Lea *et al.*, dass Spironolacton und **FAD286** in gleichem Maße Endorganschäden wie Hypertrophien und interstitielle Fibrosen der Nieren und des Herzens reduzieren. Sie verwendeten einseitig nephrektomierte Ratten, bei denen durch Angiotensin II und/oder eine salzreichen Fütterung fibrotische Prozesse in der Niere ausgelöst wurden.⁸⁴ Minnaard-Huiban *et al.* verglichen die Wirkung von **FAD286** (*R*-Fadrozol) mit dem *S*-Enantiomer in spontan hypertensiven herzinsuffizienten (SHHF) Ratten. Beide Enantiomere senkten in einer Dosis von 1,2 mg/(kgKG d) (i.v.) die Aldosteronspiegel im Blut. Überraschenderweise reduzierte das *S*-Enantiomer die Aldosteronkonzentration im Urin signifikant stärker als das *R*-Enantiomer, wohingegen nur das *R*-Enantiomer eine vor Studienbeginn bestehende interstitielle Fibrose des linken Ventrikels um 50 % verringerte.⁸⁵

Zusammenfassend konnte in den oben beschriebenen Studien gezeigt werden, dass **FAD286** in der Lage ist, die Aldosteronspiegel im Blut und teilweise im Urin zu senken sowie bereits bestehende fibrotische Veränderungen im Herzen oder den Nieren deutlich zu reduzieren. Allerdings können aufgrund der kurzen Zeitdauer der Studien (max. 13 Wochen) keine Aussagen über eventuelle Nebenwirkungen bei einer langfristigen Therapie mit einem Aldosteron-Synthase-Inhibitor (ASI) gemacht werden. Auch ist es nötig, diese Studien mit einem selektiven CYP11B2-Hemmstoff durchzuführen, da es schwierig ist, abzuschätzen, welchen Anteil die Hemmung von CYP19 und CYP11B1 durch **FAD286** an den beschriebenen Effekten haben.

1.4 CYP11B2-Inhibitoren: Aktueller Kenntnisstand

1.4.1 Steroidale Inhibitoren

Anfang der 90er Jahre wurde Mespirenon (Abbildung 11) als einer der ersten steroidalen Hemmstoffe der Aldosteronbiosynthese beschrieben. Mespirenon ($c = 100 \mu\text{M}$) senkte die Konzentration an Aldosteron und 18-Hydroxycorticosteron in einer Rattennebennierenpräparation um mehr als 40 %. Gleichzeitig erhöhte sich die Corticosteronkonzentration, woraus auf eine selektive Hemmung der Aldosteron-Synthase geschlossen wurde.⁸⁶ Für 18-vinyl- und 18-acetylen-substituierte Progesteronverbindungen (18-VP und 18-EP) und 18-Vinyldeoxycorticosteron (18-VDOC) wurde eine Hemmung der Aldosteron-Synthase in Ratten- oder Rindernebennierenpräparationen mit K_i -Werten im niedrigen mikromolaren Bereich gezeigt (Abbildung 11).⁸⁷ Bei Untersuchungen zum Mechanismus der Hemmung wiesen Delorme *et al.* für 18-VP mittels Gelelektrophorese und Differenzspektroskopie nach, dass ein Stickstoff des Häms alkyliert wird und somit eine kovalente Bindung zwischen Inhibitor und Enzym entsteht, weshalb diese Gruppe von Hemmstoffen auch Suizidinhibitoren genannt wird.⁸⁸ Mit diesen Verbindungen wurden allerdings nur Tests an Rinder- oder Rattenzympräparationen durchgeführt, so dass keine Aussage über ihre Wirkung auf das menschliche Enzym getroffen werden kann.

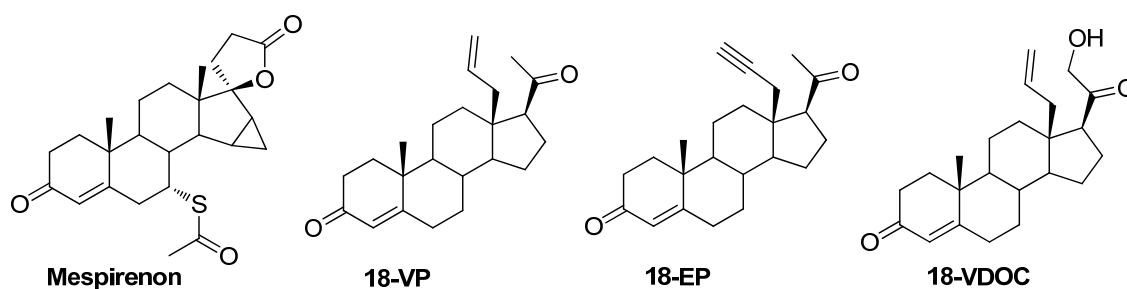


Abbildung 11: Steroidale Inhibitoren der Aldosteron-Synthase.

1.4.2 Unselektive nicht-steroidaler Hemmstoffe des humanen CYP11B2-Enzyms

In Abbildung 12 (S. 19) sind nicht-steroidale Verbindungen gezeigt, bei denen die Hemmung des humanen CYP11B2-Enzyms eine Nebenwirkung darstellt. Bei einem Screening verschiedener Fungizide, deren Struktur einen stickstoffhaltigen Heterozyklus aufweist, stellte sich Ketoconazol als potentester Hemmstoff dieser Klasse heraus. Es hemmt die Umsetzung von DOC zu Aldosteron in Hefezellen ($\text{IC}_{50} = 3,5 \mu\text{M}$) und in V79MZ-Zellen ($\text{IC}_{50} =$

0,65 μM),^{i,89} die humanes CYP11B2 exprimieren. Weitere Beispiele sind der Kinaseinhibitor Staurosporin ($\text{IC}_{50} = 11 \text{ nM}$),⁹⁰ Metyrapon⁹¹ ($\text{IC}_{50} = 208 \text{ nM}$),¹⁸ das als Hemmstoff der 11 β -Hydroxylase (CYP11B1) zur Therapie des Cushing Syndroms eingesetzt wird, das Anästhetikum *R*-Etomidat⁹² (ETO, $\text{IC}_{50} = 1,7 \text{ nM}$)¹⁸ und das in Kapitel 1.3.2 beschriebene *R*-Fadrozol.

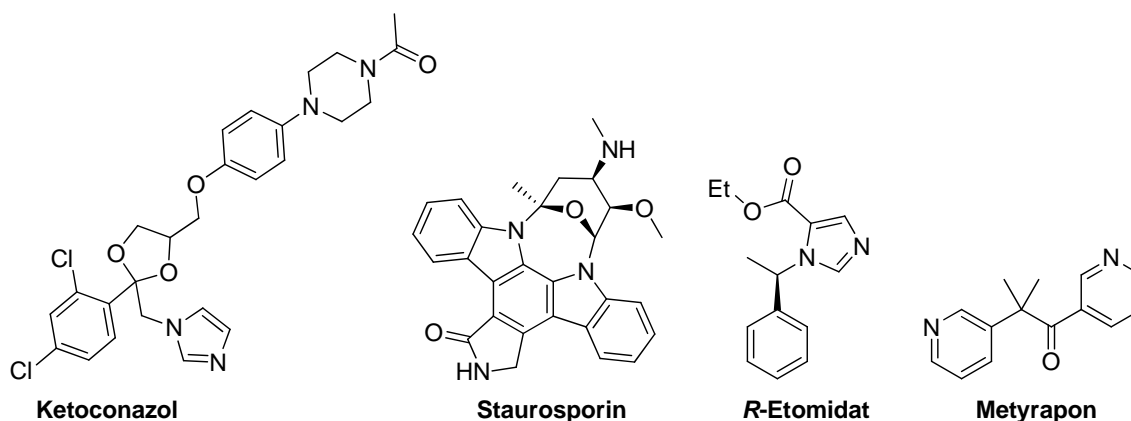


Abbildung 12: Unselektive CYP11B2-Inhibitoren.

1.4.3 Entwicklung selektiver CYP11B2-Inhibitoren

1.4.3.1 Von Etomidat und/oder Fadrozol abgeleitete CYP11B2-Inhibitoren

In der Arbeitsgruppe von Prof. Hermans wurden die Wechselwirkungen von 18-Hydroxycorticosteron, **FAD286** und ETO mit CYP11B2 und CYP11B1 durch Docking in zuvor generierte Homologiemodelle untersucht.¹⁸ Daraufhin synthetisierten sie eine Reihe nicht chiraler *N*-Benzyl-1*H*-imidazole als potentielle CYP11B2-Inhibitoren (Abbildung 13). Als potenteste und gegenüber CYP11B1 selektivste Verbindung stellte sich dabei das am Imidazol phenyl- und am Benzylrest *para*-cyanosubstituierte Derivat heraus ($\text{IC}_{50} = 6,0 \text{ nM}$; sf ($\text{IC}_{50}(\text{CYP11B1})/\text{IC}_{50}(\text{CYP11B2}) = 20$).⁹³

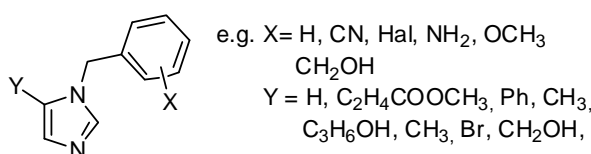


Abbildung 13: *N*-Benzyl-1*H*-imidazole.

ⁱ Die in diesem Kapitel genannten IC_{50} -Werte in V79-Zellen geben nur Trendwerte für die inhibitorische Potenz der Verbindungen an. Sie lassen sich nicht direkt untereinander und mit in anderen Kapiteln genannten Werten vergleichen, da die Bedingungen (z.B. Substratkonzentration, Zellzahl, Inkubationszeit, Detektion der Produkte) nicht für alle Tests identisch waren.

*Speedel*⁹⁴⁻⁹⁷ und *Novartis*⁹⁸⁻¹⁰¹ patentierten in den letzten Jahren von Fadrozol abgeleitete Substanzklassen als CYP11B2-Inhibitoren. Dabei lassen sich die durchgeführten Strukturmodifikationen wie in Abbildung 14 (S. 20) gezeigt zusammenfassen.

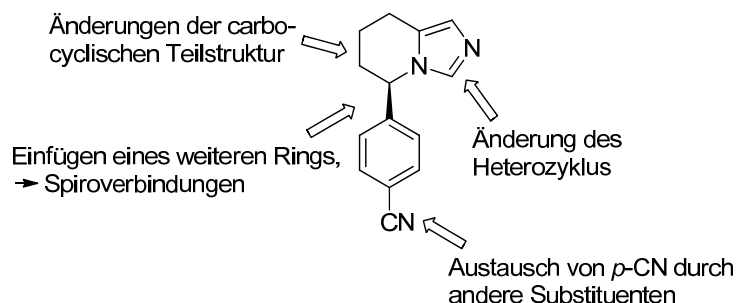


Abbildung 14: Zusammenfassung der Modifikationen am Fadrozol.

In Abbildung 15 (S. 21) sind die allgemeinen Formeln der durch diese Modifikationen erhaltenen Verbindungen gezeigt. Das *para*-Cyanophenyl-Motiv findet sich in allen Substanzklassen meist mit R₁ bezeichnet, falls der Phenylring nicht explizit in der allgemeinen Formel wiedergegeben ist, wieder. In den meisten Substanzklassen gibt es aber auch Beispiele, bei denen die *para*-Cyanofunktion durch andere Substituenten ausgetauscht bzw. das gesamte Motiv beispielsweise durch einen aliphatischen Rest ersetzt wurde.

So wurde das Tetrahydropyridin des für die Koordination an das Häm verantwortlichen 5,6,7,8-Tetrahydroimidazo[1,5-*a*]pyridins durch Aromatisierung, Einführung eines Heteroatoms, Ringkontraktion oder Erweiterung sowie durch Einführung Substituenten modifiziert.^{94,98} Durch Einführung eines Amids wurden Imidazopyrazine und Imidazodiazepine erhalten.⁹⁹ Aus diesen wurden durch Benzylierung des Lactams hoch potente, aber gegenüber CYP11B1 unselektive CYP11B2-Inhibitoren generiert.¹⁰⁰ Die hohe inhibitorische Aktivität der Verbindungen veranlasste Adams *et al.*, das Lactam durch ein Sultam bioisoster auszutauschen. Dies ergab Verbindungen mit deutlich gesteigerter Selektivität gegenüber CYP11B1 (bis sf > 600), die allerdings das hepatische Enzym CYP3A4 stark hemmen und somit für eine weitere Entwicklung als Arzneistoff ausscheiden.¹⁰²

In weiteren Verbindungsklassen wurde der an das Imidazol kondensierte Carbozyklus entfernt, stattdessen wurde der Phenylrest zu einem bicyclischen annelierten System erweitert, wodurch beispielsweise *N*-imidazolsubstituierte Tetrahydronaphthaline, (Oxo-) Tetrahydrochinoline, Chromane oder Indane erhalten wurden, die zwar potente Inhibitoren der Aldosteronbiosynthese in NCI-H295R-Zellen sind, allerdings nur eine geringe Selektivität gegenüber der Cortisolbiosynthese und/oder CYP19 aufweisen.¹⁰¹

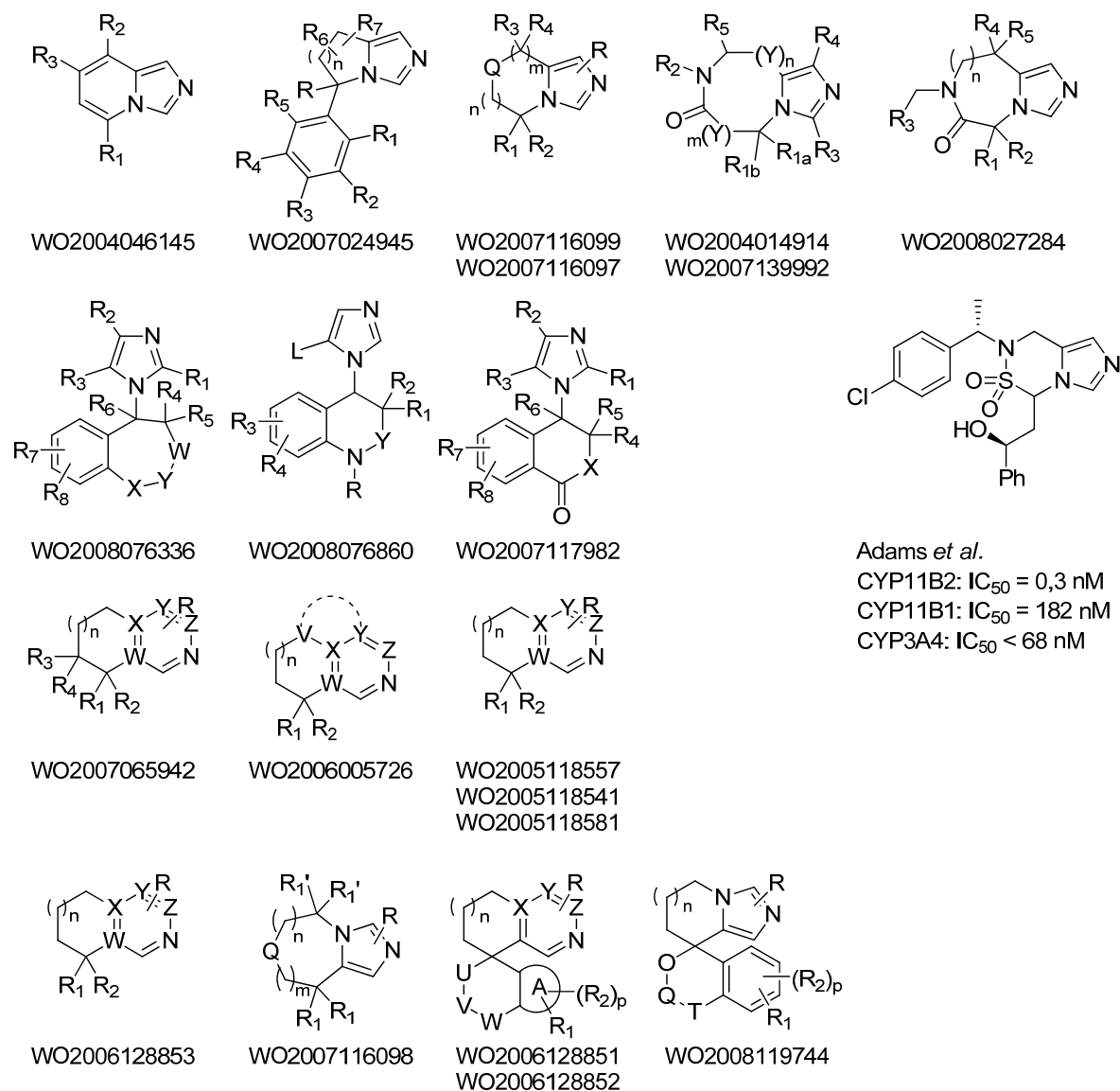


Abbildung 15: Von Fadrozol abgeleitete CYP11B2-Hemmstoffe.

Am Imidazol wurde die Position der Stickstoffatome variiert, das Ringsystem durch einen zusätzlichen Carbozyklus erweitert, Substituenten eingeführt, oder es wurde durch einen anderen stickstoffhaltigen Heterozyklus ersetzt.⁹⁵

Eine Weiterentwicklung der bisher beschriebenen CYP11B2-Hemmstoffe stellen spirozyklische Verbindungen dar. Sie sind in der Lage, innerhalb von zwei Stunden nach peroraler Gabe von 4 mg/kgKG den Aldosteronplasmaspiegel von Ratten um bis zu 82 % zu senken.⁹⁶

WO2008076862 deckt Verbindungen ab, die nicht von Fadrozol sondern von Etomidat – R_1 oder R_2 ist Alkoxy-carbonyl – und mit einem Heterozyklus substituierten Tetrahydronaphthalinen (s. Kap. 1.4.3.2) abgeleitet wurden (Abbildung 16, S 22).¹⁰³ Die daneben abgebildeten Indole sind in der Lage die Aldosteronbiosynthese in NCI-H295R-Zellen zu hemmen ($IC_{50} < 10 \text{ nM}$).¹⁰⁴

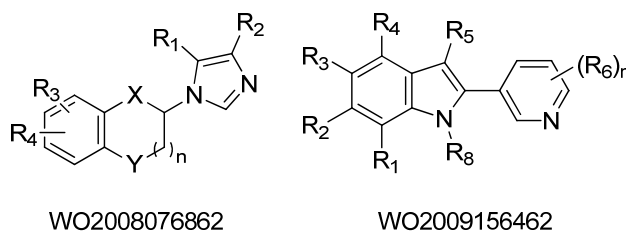


Abbildung 16: Sonstige von Novartis als CYP11B2-Inhibitoren patentierte Strukturen.

Novartis führte in den letzten zwei Jahren die erste klinische Prüfung eines Aldosteron-Synthase-Inhibitors durch. Die **LCI699** genannte Verbindung ähnelt strukturell **FAD286**, hemmt *in vitro* an V79-Zellen das *h*CYP11B2 mit einem IC_{50} im niedrigen nanomolaren Bereich und zeigt eine dreifache Selektivität gegenüber CYP11B1.¹⁰⁵ Nach einer Dosisfindungsstudie in gesunden Probanden¹⁰⁶ wurde in einer *Proof-of-Concept*-Studie in 14 Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus gezeigt, dass bei zweimal täglicher Einnahme von 0,5 oder 1 mg **LCI699** die Aldosteronkonzentration im Plasma um 68 bzw. 75 % sinkt und die Kaliumkonzentration sich normalisiert. Jedoch wurde nur eine geringe Blutdrucksenkung (-4,1 mm Hg, 1 mg **LCI699**) beobachtet. Die basalen Cortisolkonzentrationen wurden nicht beeinflusst. Allerdings war bei einem Test, bei dem die Stimulierung der Steroidbiosynthese durch ACTH überprüft wurde, der Anstieg der Cortisolkonzentration abgeschwächt, was auf eine Hemmung des CYP11B1-Enzyms hindeutet.¹⁰⁵ Vergleichbare Ergebnisse wurden in einer Studie an Patienten mit essentieller Hypertonie erhalten.¹⁰⁷ Anfang dieses Jahres [2010] wurde das Projekt **LCI699** aufgrund „ein[es] Sicherheitsproblem[s] in Form einer beeinträchtigten Belastungsreaktion“ eingestellt,¹⁰⁸ wobei wahrscheinlich Bezug auf den ACTH-Stimulationstest genommen wird.

1.4.3.2 Im Arbeitskreis Hartmann entwickelte CYP11B2-Inhibitoren

Im Arbeitskreis Hartmann wurde zur biologischen Evaluierung neuer CYP11B2-Inhibitoren ein Test in Spalthefe (*Schizosaccharomyces pombe*), die humanes CYP11B2 exprimiert,⁶⁹ und ein zellbasierter Assay in V79MZ-Zellen (Lungenfibroblasten des chinesischen Hamsters), die entweder das humane CYP11B2 oder das humane CYP11B1 überexprimieren,¹⁰⁹ etabliert. In einem Screening der etwa 500 Verbindungen umfassenden *in-house* Bibliothek von Hemmstoffen verschiedener CYP-Enzyme^{71,73} wurden mehrere Verbindungen gefunden, die in der Lage sind das *h*CYP11B2-Enzym zu hemmen (Abbildung 17, S. 23), darunter **HB60** ($IC_{50} = 59$ nM, sf ($IC_{50}(\text{CYP11B1})/IC_{50}(\text{CYP11B2}) = 5$), **GW102** ($IC_{50} = 41$ nM, sf = 2)⁷⁰ und imidazolylmethylen-substituierte Tetraline und Indane, z.B.

MMZ35 ($IC_{50} = 10 \text{ nM}$, $sf = 0,3$) und **MMZ41** ($IC_{50} = 11 \text{ nM}$, $sf = 0,6$). Substitution der letztgenannten mit einem Halogen oder einem Nitril am Benzolkern ergab hochpotente Inhibitoren des humanen CYP11B2-Enzyms ($IC_{50} = 4\text{-}100 \text{ nM}$), die allerdings nur eine geringe Selektivität gegenüber CYP11B1 ($sf \leq 5$) zeigen.¹⁷ Austausch des Imidazols durch einen anderen Heterozyklus erwies sich als erfolgreiche Strategie, die Selektivität gegenüber CYP11B1 zu steigern. Besonders 3-pyridyl- (z.B. **SU11A**: $IC_{50} = 11 \text{ nM}$, $sf = 81$, $R = H$), 5-isochinoly- (z.B. **SU40A**: $IC_{50} = 58 \text{ nM}$, $sf = 20$, $R = F$) und 3-pyrimidylsubstituierte Verbindungen (z.B. **SU20A**: $IC_{50} = 27 \text{ nM}$, $sf = 118$, $R = F$) stellen hochpotente und gegenüber CYP11B1 selektive CYP11B2-Inhibitoren dar.¹¹⁰

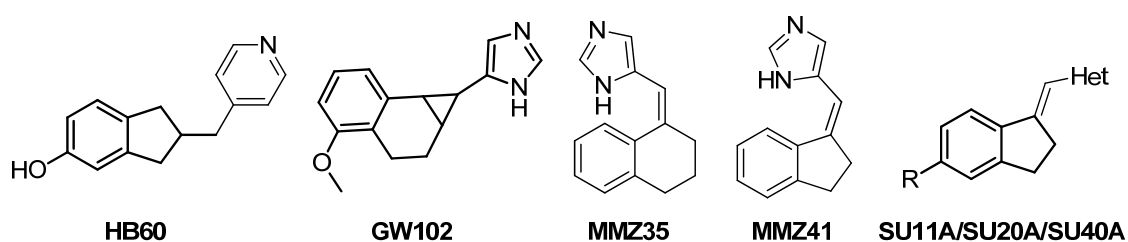


Abbildung 17: Treffer des Screenings und erste Optimierungen.¹⁵⁴

Um die inhibitorische Aktivität und vor allem die Selektivität gegenüber CYP11B1 weiter zu steigern, wurde **SU11A** modifiziert. Durch Rigidisierung der exozyklischen Doppelbindung und Entfernung des aliphatischen Rings wurden Naphthaline und Dihydronaphthaline entwickelt (Abbildung 18).¹¹¹

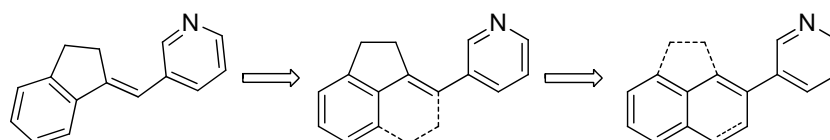


Abbildung 18: Design von Naphthalin-Verbindungen als CYP11B2-Hemmstoffe.

Die meisten der 3-pyridylsubstituierten Naphthaline zeigen eine deutliche CYP11B2-Hemmung (Abbildung 19, S 24). Besonders die 6-methoxy- (**MV23**), 6-ethoxy- (**MV39**) und 6-cyanosubstituierten (**MV55**) Verbindungen sind hochpotente CYP11B2-Inhibitoren ($IC_{50} = 3\text{-}12 \text{ nM}$) mit herausragenden Selektivitäten gegenüber CYP11B1 ($sf = 238\text{-}451 \text{ nM}$).¹¹¹ Das 6-methoxysubstituierte Dihydronaphthalin-Derivat hemmt das humane CYP11B2 in ähnlicher Stärke (**MV45**, $IC_{50} = 2 \text{ nM}$, $sf = 275$) wie die entsprechenden Naphthalin-Verbindung **MV23**. Das durch Ringkontraktion erhaltene Inden stellte sich als der CYP11B2-Inhibitor (**MV49**, $IC_{50} = 4 \text{ nM}$) mit der größten Selektivität gegenüber CYP11B1 ($sf = 1421$) heraus, der bisher veröffentlicht wurde.¹¹²

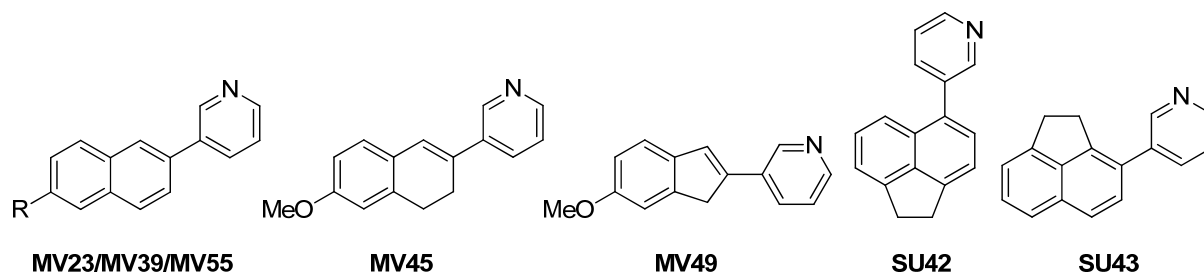


Abbildung 19: 3-Pyridylsubstituierte (Dihydro-)naphthaline und verwandte Verbindungen.

Durch Überlagerung der bisher vorgestellten CYP11B2-Inhibitoren des Arbeitskreises Hartmann wurde ein Pharmakophormodell erstellt, das durch die Entwicklung pyridyl-substituierter Acenaphthene validiert wurde (Abbildung 19, **SU42**, $IC_{50} = 14 \text{ nM}$, $sf = 207$; **SU43**, $IC_{50} = 10 \text{ nM}$, $sf = 245$).¹¹³

Die erweiterte biologische Evaluierung der (Dihydro-)naphthalin-Verbindungen ergab, dass sie zwar eine ausreichende Selektivität gegenüber CYP3A4 und CYP2D6 zeigen, jedoch CYP1A2 stark hemmen (**MV23** 98 %, **MV55** 97 %, **MV45** 97 %, $c = 2 \text{ }\mu\text{M}$) und somit nicht als Arzneistoffe geeignet sind, da das Risiko von unerwünschten Arzneimittelwechselwirkungen erhöht ist. Weiterhin senkt das Naphthalin **MV23** den Aldosteronspiegel *in vivo* in Wistar-Ratten nur geringfügig.¹¹⁴ Um diese Nachteile zu überwinden wurden Modifikationen durchgeführt, die sich auf das Einführen verschiedener Substituenten an das Pyridin konzentrierten. Zwei Trends sind zu erkennen (Abbildung 20): Methoxyalkylsubstituenten in Position fünf, z.B. **SL376** ($IC_{50} = 0,2 \text{ nM}$, $sf = 155$), und Austausch des 3-Pyridins durch 4-Isochinolin, z.B. **SL132** ($IC_{50} = 0,6 \text{ nM}$, $sf = 57$) und **RHC12** ($IC_{50} = 0,5 \text{ nM}$, $sf = 128$) erhöhen die Hemmaktivität der Verbindungen gegenüber CYP11B2 bei guter Selektivität gegenüber CYP11B1. Insbesondere die Isochinolin-Verbindungen zeigen dabei eine deutlich verringerte CYP1A2-Hemmung (**SL132** 57 %, **RHC12** 6 %, $c = 2 \text{ }\mu\text{M}$).¹¹⁵

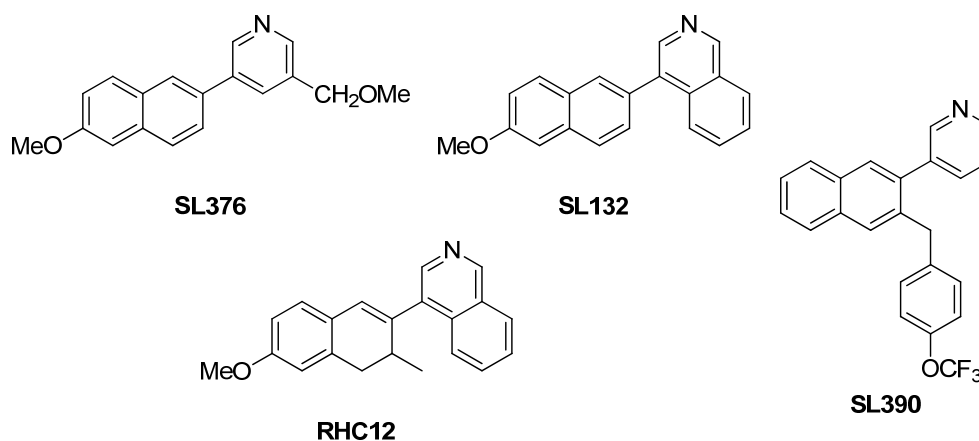


Abbildung 20: Weiterentwickelte Naphthalin-Verbindungen.

Das Pharmakophormodells wurde erweitert, indem neben den zuvor verwendeten Verbindungen gegenüber CYP11B2 unselektive Aromatase-Inhibitoren in den Ligandensatz aufgenommen wurden. Basierend auf diesem Modell wurden die Naphthalin-Verbindungen durch einen carbozyklischen Linker erweitert, wodurch potente und gegenüber CYP11B1 hochselektive CYP11B2-Inhibitoren erhalten wurden, z. B. **SL390**: $IC_{50} = 3,9 \text{ nM}$, $sf = 913$.¹¹⁶

Eine weitere Strategie, durch die die CYP1A2-Hemmung erfolgreich reduziert werden konnte, war die schrittweise Verringerung der Aromatizität und Planarität des Naphthylgerüsts der CYP11B2-Hemmstoffe (Abbildung 21). Das Dihydronaphthalin **SL90** zeigt keine deutliche Verringerung der CYP1A2-Hemmung ($IC_{50} = 0,18 \text{ }\mu\text{M}$), aber Keton **SL34** hemmt CYP1A2 nur noch mit einem IC_{50} -Wert von $1,55 \text{ }\mu\text{M}$ unter Beibehaltung der starken CYP11B2-Hemmung ($IC_{50} = 7,8 \text{ nM}$) und der hohen Selektivität gegenüber CYP11B1 ($sf = 496$). Eine Weiterentwicklung dieser Substanz verhinderten jedoch zytotoxische Effekte in U-937-Zellen, die bei Konzentrationen von mehr als $100 \text{ }\mu\text{M}$ beobachtet wurden. Das bioisostere Dihydrochinolinon **SL125** (CYP11B2 $IC_{50} = 28 \text{ nM}$, $sf = 241$) zeigt bis zur höchsten getesteten Konzentration von $200 \text{ }\mu\text{M}$ keine Zytotoxizität und eine um 10 % geringere Hemmung von CYP1A2 im Vergleich zu **SL34**. Austausch des 3-Pyridins durch 4-Isochinolin (**SL242**) ergab einen CYP11B2-Inhibitor mit gesteigerter inhibitorischer Aktivität ($IC_{50} = 0,2 \text{ nM}$, $sf = 187$), der eine hohe Selektivität gegenüber den hepatischen CYP-Enzymen aufweist, insbesondere gegenüber CYP1A2 ($IC_{50} > 150 \text{ }\mu\text{M}$).¹¹⁷ Zudem ist **SL242** der erste gegenüber CYP11B1 selektive *h*CYP11B2-Inhibitor, der in der Lage ist, *in vitro* auch das CYP11B2 der Ratte in einer Konzentration von $2 \text{ }\mu\text{M}$ zu 65 % zu hemmen und der somit für *in-vivo*-Studien geeignet ist. Nach intravenöser Applikation von 20 mg/kgKG wurde der Aldosteronplasmaspiegel in sechs ACTH-stimulierten männlichen Wistar-Ratten um 36-63 % über eine Zeitdauer von 0,5-3 h gesenkt.¹¹⁸

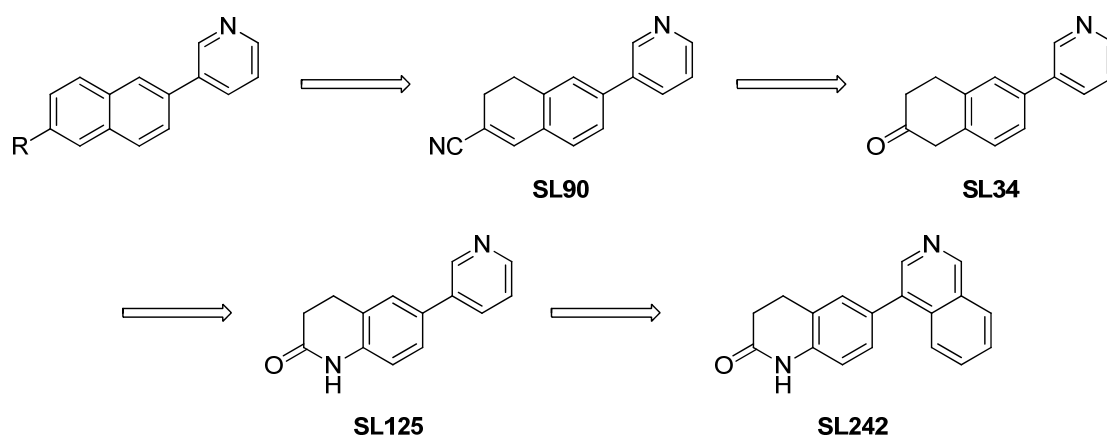


Abbildung 21: Design der Dihydronaphthalin-Verbindungen

2 Problemstellung und Zielsetzung

Die Hemmung der Aldosteronbiosynthese ist ein viel versprechendes Therapiekonzept zur Behandlung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, bei denen ein pathologisch erhöhter Aldosteronspiegel im Plasma eine Rolle spielt. Nicht-steroidale Inhibitoren der Aldosteron-Synthase (CYP11B2), die die letzten Schritte der Aldosteronbiosynthese katalysiert, stellen eine Alternative zu den bestehenden Therapiemöglichkeiten, vor allem als Ersatz für Mineralocorticoid-Rezeptorantagonisten, dar. Die derzeit verwendeten MR-Antagonisten Spironolacton und Eplerenon können schwerwiegende Nebenwirkungen verursachen und sind nicht in der Lage, die Aldosteronkonzentration im Blut zu senken (Kap. 1.3.1). Die Eignung von CYP11B2 als Target bei primärem Hyperaldosteronismus und essentiellm Bluthochdruck wurde in ersten klinischen Studien mit dem CYP11B2-Hemmstoff **LCI699** gezeigt (Kap. 1.4.3.1). Allerdings reduzierte diese Verbindung – wahrscheinlich aufgrund einer nicht ausreichenden Selektivität gegenüber der hoch homologen (> 95 %) ¹⁴ 11 β -Hydroxylase (CYP11B1) – die Cortisolsekretion nach ACTH-Stimulierung und ist somit nicht als Arzneistoff geeignet.^{105,107}

Die in den letzten Jahren im Arbeitskreis Hartmann entwickelten CYP11B2-Hemmstoffe besitzen – zur Koordination an das Häm-Eisen des Enzyms – einen stickstoffhaltigen Heterozyklus, z.B. Pyridin, der an ein anneliertes zweigliedriges Ringsystem gebunden ist (s. Kap.1.4.3.2).^{17,70,110-117} In der Klasse der heterozyklisch substituierten Naphthaline und strukturell verwandter Verbindungen wurden hochwirksame CYP11B2-Inhibitoren gefunden, die das Targetenzym im nanomolaren Konzentrationsbereich hemmen und hohe Selektivitäten gegenüber CYP11B1 und weiteren steroidogenen und hepatischen CYP-Enzymen aufweisen.^{111,112,115} Allerdings stellten sich die Naphthaline als starke Inhibitoren des hepatischen Enzyms CYP1A2 heraus. CYP1A2 macht einen Anteil von etwa 13 % der CYP-Enzyme in der Leber aus. Es ist für die Metabolisierung hetero- und carbozyklischer Amine, aber auch polyzyklischer Kohlenwasserstoffe verantwortlich.^{10,119} Eine starke inhibitorische Wirkung auf hepatische CYP-Enzyme ist bei potentiellen Therapeutika aufgrund des großen Risikos unerwünschter Wechselwirkungen und der möglichen Entstehung toxischer Metabolite ein Kriterium, das gegen eine Weiterentwicklung dieses Wirkstoffes spricht.

Zudem war eine *Proof-of-Principle*-Studie *in vivo* nicht erfolgreich: Das Derivat **MV23** war nicht in der Lage, den Aldosteronspiegel in Wistar-Ratten deutlich zu senken.¹¹⁴ Dieses

Ergebnis lässt sich wahrscheinlich auf eine zu geringe inhibitorische Aktivität der Verbindung auf das CYP11B2-Enzym der Ratte zurückführen.

Dr. S. Lucas entwickelte während seiner Dissertation¹²⁰ die Klasse der Hemmstoffe mit Naphthalinstruktur (hier als Beispiel dargestellt Verbindung **MV22**)¹¹¹ durch unterschiedliche Modifikationen weiter (Abbildung 22). Bei den Verbindungen des Typs I wurde das Naphthalin durch einen carbozyklischen Rest erweitert.¹¹⁶ Die benzanellierten Heterozyklen des Typs II wurden durch Austausch des pyridylsubstituierten Benzolkerns von **MV22** – im Folgenden „B-Ring“ genannt – erhalten.ⁱⁱ Die Dihydrochinolinone des Typs III wurden durch Verringerung der Aromatizität und Substitution von C-H-Gruppen im „A-Ring“ generiert.¹¹⁷

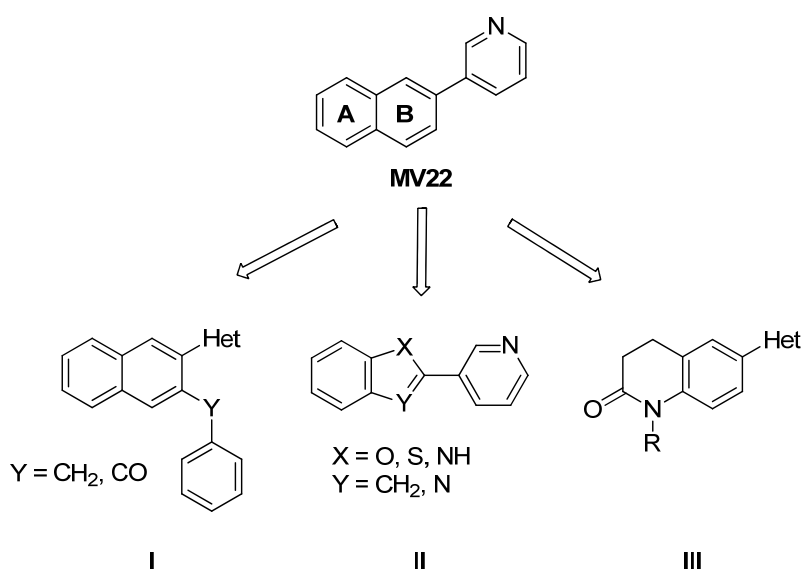


Abbildung 22: Leitstruktur MV22 mit einem Überblick über die bereits erfolgten strukturellen Modifikationen.

Ziel dieser Arbeit ist es aufbauend auf den oben beschriebenen Ergebnissen, neue hochwirksame CYP11B2-Hemmstoffe zu entwickeln, die verbesserte pharmakodynamische und pharmakokinetische Eigenschaften zeigen. Um eine Eignung der neu gewonnenen Inhibitoren als potentielle Therapeutika zu gewährleisten, sollen diese möglichst große Selektivitäten gegenüber CYP11B1 und den steroidogenen CYP-Enzymen CYP17 und CYP19 aufweisen. Außerdem ist eine Hemmwirkung auf das CYP11B2-Enzym der Ratte wünschenswert, damit die neuen Inhibitoren für *in-vivo*-Studien in Ratten geeignet sind.

Die Entwicklung neuer CYP11B2-Hemmstoffe soll auf den drei bereits durchgeführten in Abbildung 22 gezeigten Strukturvarianten der pyridylsubstituierten Naphthaline aufbauen.

ⁱⁱ Unveröffentlichte Daten, die von Dr. S. Lucas während seiner Dissertation gewonnen wurden.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit (Kap.3.1) sollen die durch einen Benzyl- oder Benzoylrest erweiterten Naphthalin-Verbindungen (Typ I) weiterentwickelt werden. Diese stellen eine Klasse an hochpotenten und gegenüber CYP11B1 und CYP17 selektiven CYP11B2-Hemmstoffe dar. Allerdings zeigt ein Großteil der Verbindungen nur eine geringe Selektivität gegenüber CYP19.

- Zur Optimierung der Verbindungsklasse soll der Linker Y bioisoster gegen eine Sulfid-, Sulfoxid- oder Sulfonbrücke (X) ersetzt werden (Abbildung 23).

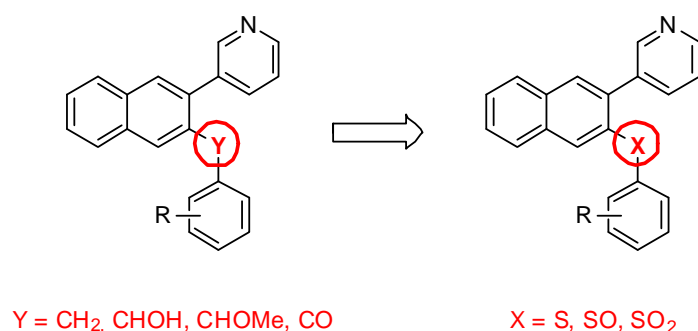


Abbildung 23: Variation der an Position 3 benzyl- oder benzoylsubstituierten Naphthalin-Verbindungen des Typs I.

Die geplante Synthesemethode sah vor das Sulfid **b** ausgehend von 2-Methoxynaphthalin über das Triflat **a** darzustellen (Abbildung 24).

Dabei wurde im Rahmen der Entwicklung der Syntheseroute ein Produkt erhalten, das durch Analyse der Kristallstruktur als die in der Literatur nicht beschriebene Verbindung 1-(Phenylsulfanyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (**c**) identifiziert wurde.

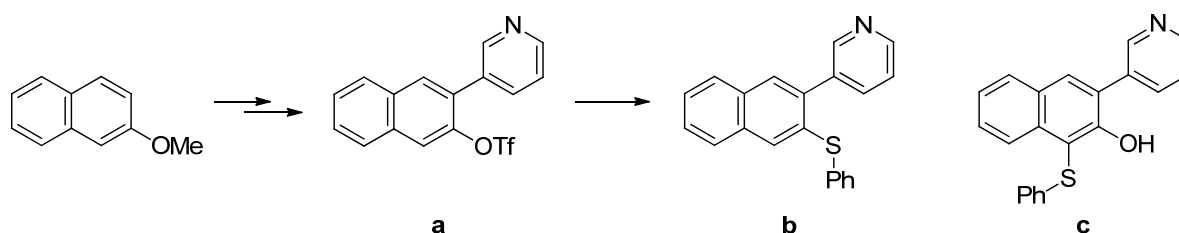


Abbildung 24: Geplanter Syntheseweg zum Sulfid **b** und die erhaltene neue Verbindung **c**.

Die Reaktion mit der **c** erhalten wurde stellt einen neuen Syntheseweg dar, um 1,3-disubstituierte 2-Naphthole zu erhalten. Außerdem stellt **c** einen pharmakologisch interessanten „Scaffold“ dar, der sich aufgrund der Substitution mit einem stickstoffhaltigen Heterozyklus zur Entwicklung von Hemmstoffen für CYP-Enzyme eignet.

Daher soll die Reaktion zu **c** näher untersucht werden (Kap. 3.1.3):

- Die Reaktionsbedingungen werden bezüglich des Lösungsmittels und der Base optimiert.
- Mit dem Ziel, synthetischen Zugang zu neuen strukturell ähnlichen Substanzklassen zu erhalten, wird das Spektrum der in der Reaktion einsetzbaren Edukte untersucht.

Im zweiten Teil dieser Arbeit (Kap. 3.2) soll die biologische Aktivität der neuen Verbindungsklasse evaluiert und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen aufgestellt werden. Ausgehend von Verbindung **c** werden folgende Modifikationen vorgenommen (Abbildung 25):

- Oxidation des Schwefels.
- Einführung eines oder zweier Substituenten mit unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften in verschiedenen Positionen des Phenylsulfanylrests oder der oxidierten Analoga und bioisosterer Austausch des Benzolrings durch Thiophen.
- Synthese der entsprechenden 1,3-disubstituierten Naphthaline ohne Hydroxylfunktion in Position 2.

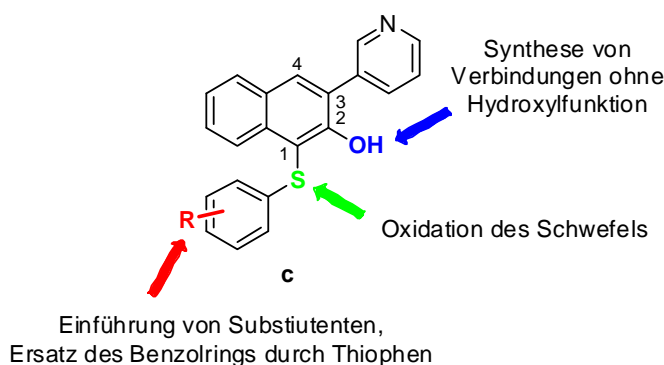


Abbildung 25: Geplante Strukturvariationen der Verbindung c.

Im dritten Teil dieser Arbeit (Kap. 3.3) soll das erfolgreiche Konzept, den „B-Ring“ des Naphthalins (s. Abbildung 22, S. 27) durch fünfgliedrige Heterozyklen auszutauschen, auf sechsgliedrige Ringe übertragen werden (Abbildung 26, S. 30). Beim Design der Inhibitoren soll insbesondere durch Reduktion der Lipophilie der Moleküle und Erhöhung der Polarität die „Druglikeness“ der Hemmstoffe und die Selektivität gegenüber CYP1A2 verbessert werden. Um die Generierung von potenten CYP11B2-Hemmstoffen zu beschleunigen, sollen literaturbekannte Moleküle nach folgenden Gesichtspunkten ausgewählt werden:

- Annelierter Heterozyklus: Reduktion der Lipophilie und Erhöhung der Polarität durch Austausch von C-H-Gruppen durch Stickstoffatome bzw. durch Einführen polarer Funktionalitäten.
- Erhöhung der Flexibilität und Reduktion der Planarität durch Einfügen einer Methylenbrücke zwischen Grundstruktur und dem das Häm-Eisen koordinierenden Heterozyklus.
- Variation des Heterozyklus von 3- zu 4-Pyridin.

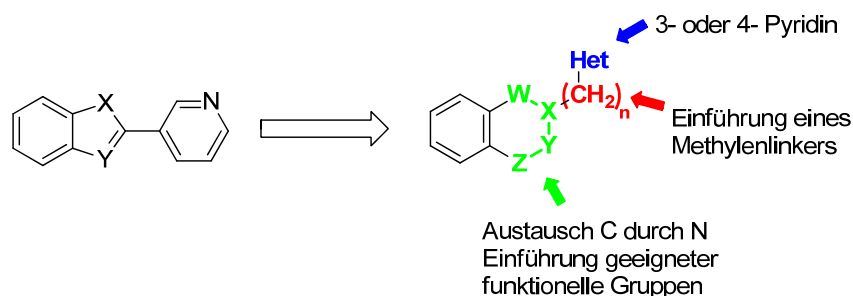


Abbildung 26: Modifikation der benzanellierten fünfgliedrigen Heterozyklen des Typs II.

Im vierten Teil dieser Arbeit (Kap. 3.4) dienen die Hemmstoffe des 3,4-Dihydrochinolin-2-on-Typs (Typ III) als Leitverbindungen. Im Vordergrund der Optimierung soll dabei die Entwicklung neuer Inhibitoren stehen, die sowohl das humane CYP11B2 als auch das der Ratte hemmen. Ausgehend von der Leitstruktur **SL125** werden dabei folgende Modifikationen durchgeführt (Abbildung 27):

- Austausch einer Methylengruppe des Dihydropyridinon-Rings („A-Ring“) durch einen Ether oder ein sekundäres oder tertiäres Amin.
- Synthese der Sultame (-SO₂N-) anstelle der Lactame (-CON-).
- Methylierung des Lactams oder Sultams.
- Austausch des 3-Pyridins durch 4-Isochinolin. Eine Strategie, die sich bereits als steigend auf die hemmende Wirkung der Verbindungen sowohl auf das humane CYP11B2 als auch auf das Enzym der Ratte herausgestellt hat.^{117,118}

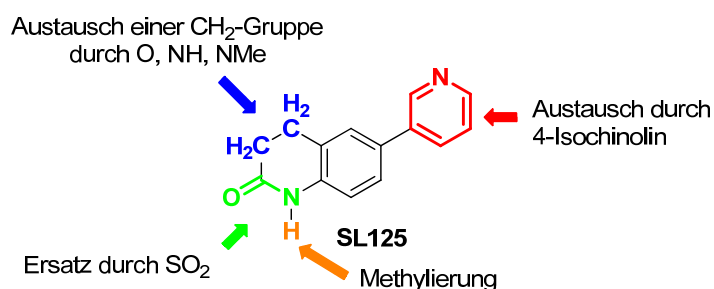


Abbildung 27: Geplante Variationen der Leitverbindung SL125.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Unerwartetes Ergebnis einer $S_{N,Ar}$ -Reaktion: Die Entdeckung eines neuen synthetischen Zugangs zu 1-phenylsulfanylsubstituierten 2-Naphtholen

3.1.1 Einleitung

Mit Hilfe eines Pharmakophormodells, für dessen Erstellung neben den im Arbeitskreis Hartmann als CYP11B2-Inhibitoren entwickelten Methylenindanen und Naphthalinen (s. Kap. 1.4.3.2) als Aromatase-Inhibitoren beschriebene Flavone mit signifikanter CYP11B2-Hemmung (73-94 % Hemmung, $c = 0,5 \mu\text{M}$) verwendet wurden, wurde die NaphthalinGrundstruktur durch einen carbozyklischen Rest in *ortho*-Position zum Heterozyklus erweitert. Durch Einführung eines substituierten Benzyl- oder Benzoylrests wurden potente und gegenüber CYP11B1 hochselektive CYP11B2-Inhibitoren erhalten, z. B. **SL390**: $\text{IC}_{50} = 3,9 \text{ nM}$, $\text{sf} = 913$ (s. Kap. 1.4.3.2, Abbildung 20, S. 24).¹¹⁶ Zur weiteren Optimierung dieser Verbindungsklasse soll der Linker Y bioisoster gegen eine Sulfid-, Sulfoxid- oder Sulfonbrücke (X) ersetzt werden (Abbildung 28).

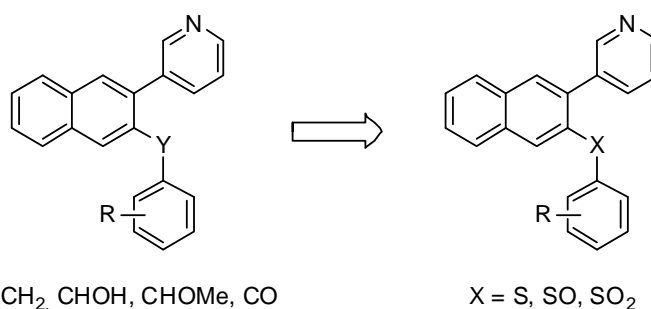


Abbildung 28: Der geplante bioisostere Austausch des Linkers Y.

3.1.2 Entdeckung einer neuartigen $S_{N,Ar}$ -Reaktion

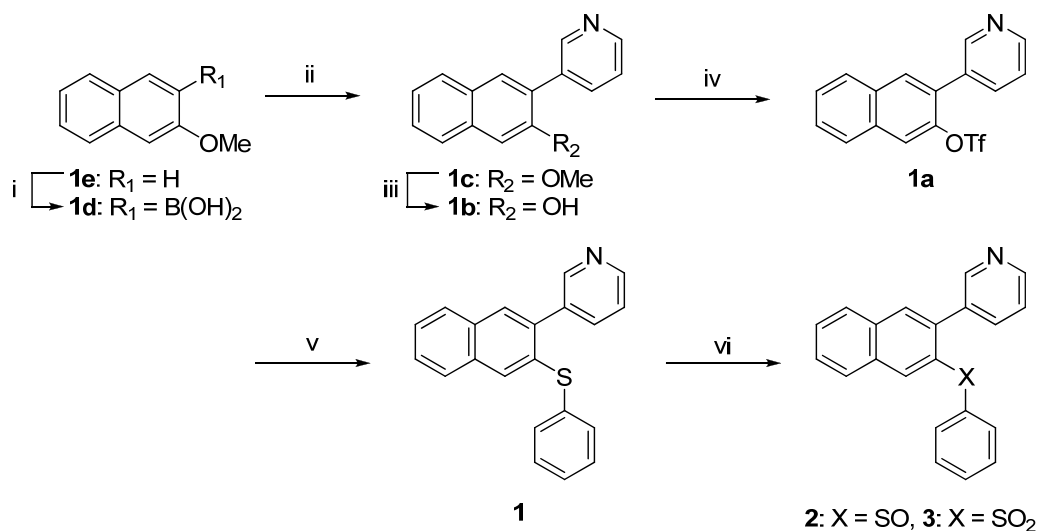
3.1.2.1 Geplanter Syntheseweg für phenylsulfanylsubstituierte Pyridylnaphthaline und oxidierte Derivate

Die in Abbildung 28 gezeigte 2-phenylsulfanylsubstituierten 3-Pyridylnaphthaline und deren oxidierten Derivate sollen über eine fünf- bzw. sechststufige Syntheseroute dargestellt

werden. Diese ist exemplarisch für die unsubstituierte Verbindung **1** in Schema 1 abgebildet. In der ersten Stufe wird 2-Methoxynaphthalin (**1e**) mittels einer *ortho*-Lithiierung zu 3-Methoxynaphthalinboronsäure umgesetzt,¹²¹ die anschließend in einer *Suzuki*-Kreuzkupplungsreaktion¹²² mit 3-Pyridinboronsäure zu **1c** gekuppelt wird.¹¹¹ Durch saure Spaltung des Methylethers in wässriger konzentrierter Bromwasserstoffsäure unter Rückfluss und Veresterung des so gewonnenen Alkohols mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid wird Triflat **1a**¹¹⁶ erhalten. Dieses soll mit Thiophenol palladiumkatalysiert mittels einer von Itoh und Mase¹²³ beschriebenen Methode zur Knüpfung von Kohlenstoff-Schwefel-Bindungen zur Zielverbindung **1** umgesetzt werden. Itoh und Mase synthetisierten durch Kupplung der entsprechenden Arylhalogenide oder -triflate mit substituierten Thiophenolen oder Alkylthiolen in Gegenwart von 2,5 mol% Tris(dibenzylidenaceton)dipalladium (0), 5 mol% Xantphos und zwei Äquivalenten Ethyldiisopropylamin (DIPEA) unter Rückfluss eine Reihe von Aryl-Aryl- bzw. Aryl-Alkyl-Thioethern.

Durch Oxidation mit einem bzw. zwei Äquivalenten *meta*-Chlorperbenzoesäure (*m*-CPBA) sollen anschließend das entsprechende Sulfoxid **2** und Sulfon **3** erhalten werden.

Schema 1: Der geplante Syntheseweg für Phenylsulfanyl-Verbindungen und deren oxidierte Derivate.^a



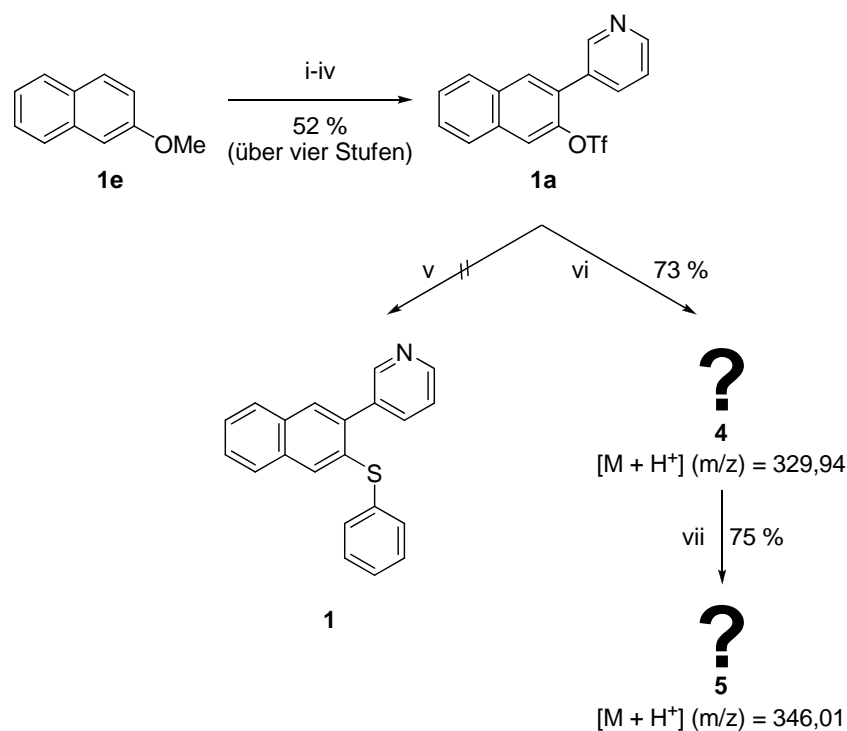
^a Reagenzien und Bedingungen: (i) 1. *n*-BuLi, THF, rt, 2,5 h, 2. B(OMe)₃, -78 °C, 3 h; (ii) 3-Brompyridin, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, Toluol/Ethanol (4/1 v/v), Rückfluss, 3 h; (iii) aq. HBr (48 %); Rückfluss, 14 h; (iv) Tf₂O, Pyridin, CH₂Cl₂, 0 °C, 1 h; (v) Thiophenol, DIPEA, Pd₂(dba)₃, Xantphos, Dioxan, Rückfluss; (vi) 1 oder 2 Äquivalente *m*-CPBA, CH₂Cl₂, rt.

3.1.2.2 Ergebnisse

Das Triflat **1a** wurde wie oben beschrieben in vier Stufen mit einer Gesamtausbeute von 52 % erhalten (Schema 2, S. 33). Allerdings ließ sich der Triflatrest von **1a** in der nächsten

Stufe nicht mit Thiophenol substituieren. Auch nach einer Reaktionszeit von 24 h war keine nennenswerte Umsetzung des Edukts zu beobachten. Nach Änderung der Reaktionsbedingungen zu denen einer „klassischen“ nukleophilen Substitution – d.h. Weglassen des Katalysators und des Liganden, Verwendung von Dimethylformamid anstelle von 1,4-Dioxan als Lösungsmittel und Kaliumcarbonat anstelle von DIPEA als Base – wurde ein farbloser Feststoff **4** erhalten. Das Massenspektrum (ESI) zeigte einen Molekülmassenpeak (m/z) von 329,94 $[M + H^+]$, der somit um etwa 16 g/mol von der für **1** berechneten Masse von 314,42 $[M + H^+]$ abwich. Oxidation von **4** mit einem Äquivalent *m*-CPBA resultierte einem Produkt **5** mit einer Masse (m/z) von 346,01 $[M + H^+]$.

Schema 2: Ergebnisse der Synthesversuche zu **1**.



^a Reagenzien und Bedingungen: (i-v) siehe Fußnote Schema 1 (S. 32); (vi) Thiophenol, K_2CO_3 , DMF, 100 °C, 1 h; (vii) 1 Äquivalent *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , rt, 2,5 h.

Kristallisation und Röntgenstrukturanalyse ergab, dass anstelle der erwarteten *ipso*-Substitution eine neuartige nukleophile aromatische Substitution stattgefunden hat, bei der formal das Hydrid in *ortho*-Position zur Triflatfunktion durch Thiophenolat substituiert und der Trifluormethylsulfinatrest abgespalten wurde. So wurden anstelle 2,3-disubstituierter Naphthaline 1,3-disubstituierte Naphthole, nämlich 1-(Phenylsulfonyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (**4**, Abbildung 29, S. 34) und 1-(Phenylsulfonyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (**5**, Abbildung 30, S. 34), erhalten.

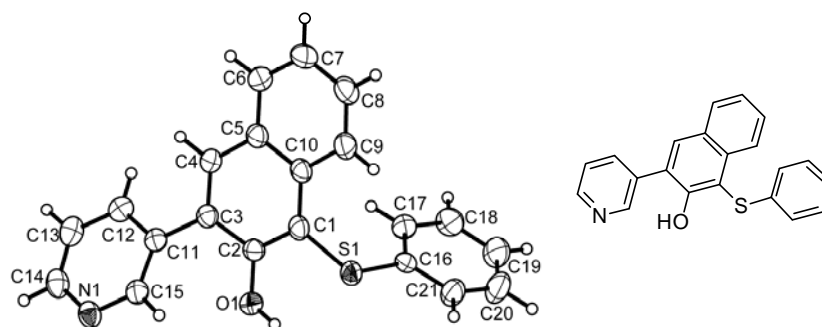


Abbildung 29: Kristallstruktur und Strukturformel der Verbindung 4.

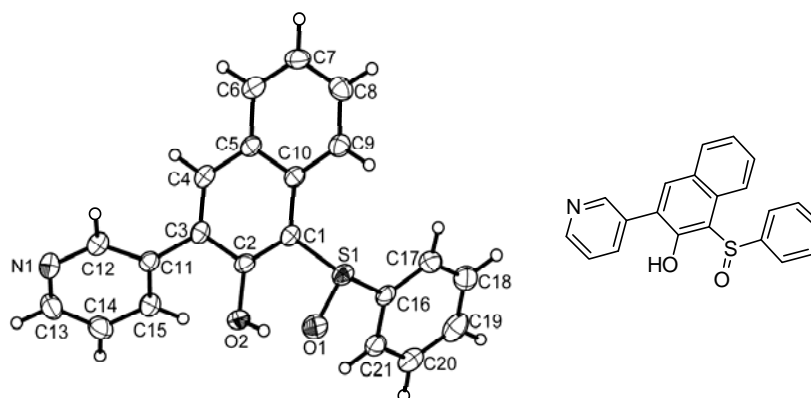


Abbildung 30: Kristallstruktur und Strukturformel der Verbindung 5.

3.1.2.3 Kenntnisstand: 3-Aryl-1-(phenylsulfanyl)-substituierte 2-Naphthole

In der Literatur sind 3-aryl-1-(phenylsulfanyl)-substituierte 2-Naphthole zurzeit (Oktober 2010) nicht beschrieben. Über ähnliche Strukturen (Abbildung 31, S. 35) berichteten Tsukamoto und Kondo:¹²⁴ Sie synthetisierten mittels einer palladiumkatalysierten Annelierung aus disubstituierten Acetylenen und (2-Boronophenyl)acetaten 3,4-disubstituierte 2-Naphthole, unter anderem auch das 1-tosylsubstituierte Derivat **A**. Xu und Moore¹²⁵ beschrieben 3-Methoxy-2-phenyl-4-(phenylsulfanyl)-1-naphthol (**B**), das sie durch thermische Umlagerung eines phenylsulfanylsubstituierten Cyclobutenons erhielten. Janz und Kaila¹²⁶ synthetisierten 4-Anilino-3-hydroxy-2-phenylchinolin (**C**) über eine zweistufige Eintopfreaktion, ausgehend von 4-carboxysubstituierten Chinolinen. Für die erste Stufe – eine Bromodecarboxylierung – wurde gezeigt, dass sie sich auf Naphthalin übertragen lässt. Für die Derivate **D** der trisubstituierten Strukturen, bei denen das zentrale Naphthalin durch ein Benzol ersetzt ist, gibt es mehrere Beispiele in der Literatur, für die unterschiedliche Synthesestrategien verwendet wurden. So führten Kauch und Hoppe¹²⁷ einen Phenylsulfanyl-Rest mittels *ortho*-Lithiierung in ein *ortho*-arylsubstituiertes Phenol ein, wohingegen Jung *et*

al.¹²⁸ das während einer Pummerer-Umlagerung aus 2-(Phenylsulfinyl)phenolen gebildete α -Ketosulfoniumsalz mit elektronenreichen Aromaten abfingen.

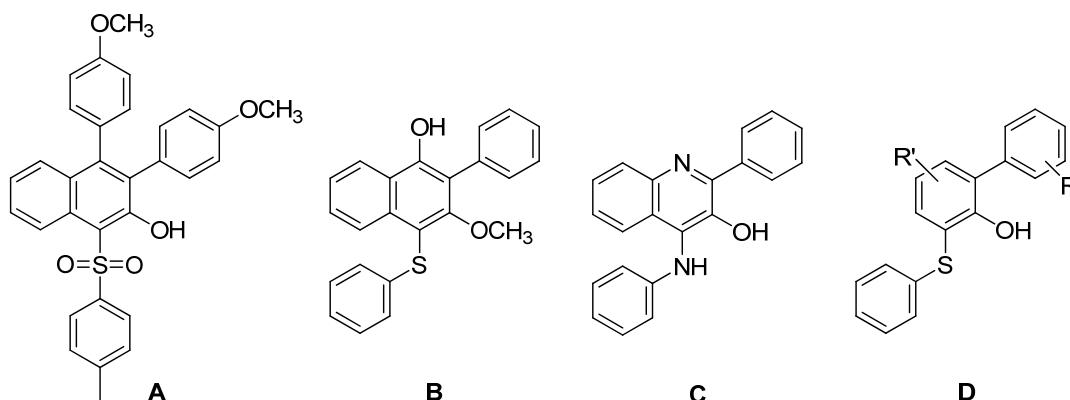


Abbildung 31: In der Literatur beschriebene dem 1-(Phenylsulfonyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol ähnliche Verbindungen.

3.1.2.4 Hypothetischer Mechanismus der $S_{N,Ar}$ -Reaktion

In Abbildung 32 (S. 35) ist ein möglicher Mechanismus für die nukleophile Substitutionsreaktion gezeigt. Im ersten Schritt wird Thiophenol durch die Base deprotoniert. Das entstandene Thiolat greift an C-1, also *ortho* zur Triflatgruppe, von **1a** an, und es entsteht eine Meisenheimer-Komplex-analoge Zwischenstufe, von der ein Trifluormethylsulfonatanion abgespalten wird. Das so erhaltene Keton wird aufgrund der Stabilisierung des aromatischen Systems im tautomeren Gleichgewicht zum Naphthol **4** umgewandelt, das isoliert wurde.

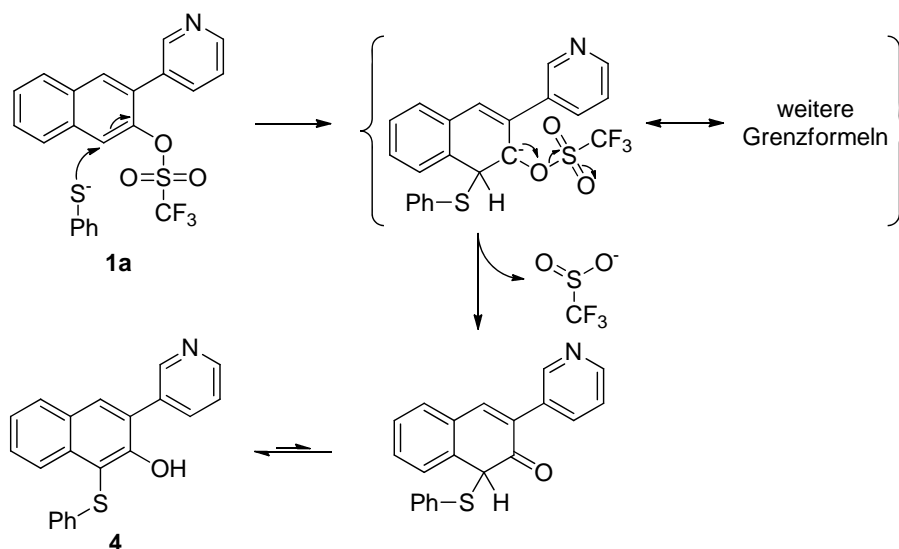


Abbildung 32: Hypothetischer Mechanismus der neuen $S_{N,Ar}$ -Reaktion.

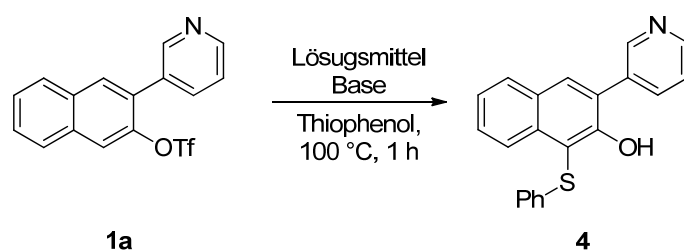
3.1.3 Optimierung und Untersuchungen zur Übertragbarkeit der $S_{N,Ar}$ -Reaktion auf andere Edukteⁱⁱⁱ

Das durch die neue $S_{N,Ar}$ -Reaktion erhaltene trisubstituierte Naphthalin könnte als Grundstruktur für unterschiedliche pharmakologisch interessante Targets dienen. Da das Naphthol in 3-Position mit einem stickstoffhaltigen Heteroaromaten substituiert ist, der eine starke Wechselwirkung mit dem Häm-Eisen eingehen kann, stellen die neuen Verbindungen potentielle Inhibitoren von CYP-Enzymen dar. Um die Synthese von Derivaten, die auf ihre biologische Wirkung getestet werden können, vorzubereiten, wurden die Reaktionsbedingungen (Tabelle 1, S. 37) und die Übertragbarkeit der Reaktion auf unterschiedliche Edukte untersucht (Tabelle 2, S. 38).

Optimierung der Reaktionsbedingungen

- Die Ausbeuten bei Verwendung der Basen Kaliumkarbonat oder Natriumhydrid ähnelten sich (73 % bzw. 79 %, Einträge 1 und 2), wohingegen mit Kaliumphosphat eine deutlich geringere Ausbeute (22 %, Eintrag 3) und mit Triethylamin, das in Anlehnung an das von Itoh und Mase¹²³ verwendete DIPEA als Aminbase ausgewählt wurde, kein Produkt erhalten wurde (Eintrag 4). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für weitere Optimierungen der Reaktionsbedingungen Natriumhydrid verwendet; bei den Untersuchungen zur Anwendbarkeit der Reaktion und insbesondere bei der Synthese der in Kapitel 3.2 beschriebenen Derivate wurde meist Kaliumkarbonat bevorzugt.
- Bei Durchführung der Reaktion mit verschiedenen Lösungsmitteln wurde ein eindeutiges Ergebnis erhalten: Bei Verwendung von Dimethylformamid wurde eine Ausbeute von 79 % (Eintrag 1, s.o.) erzielt. Diese verringerte sich mit Dimethylsulfoxid auf 22 % (Eintrag 5); mit Tetrahydrofuran oder 1,4-Dioxan konnte kein Produkt nachgewiesen werden (Einträge 6 und 7).

ⁱⁱⁱ Ein Teil der in Kapitel 3.1.3 beschriebenen Arbeiten wurde von Herrn Christian Burgard (B.Sc) im Rahmen seiner Bachelorarbeit durchgeführt.

Tabelle 1: Optimierung der Reaktionsbedingungen.^a

Eintrag	Base	Lösungsmittel	Ausbeute (%) ^b
1	K ₂ CO ₃	DMF	73
2	NaH	DMF	79
3	K ₃ PO ₄	DMF	22
4	NEt ₃	DMF	0 ^c
5	NaH	DMSO	22
6	NaH	THF	0 ^c
7	NaH	1,4-Dioxan	0 ^c

^a Bedingungen: 0,5 mmol Base, 0,3 mmol Thiophenol, 0,25 mmol **1a**, 2 ml Lösungsmittel, 100 °C, 1 h.

^b isolierte Ausbeute nach flashchromatographischer Aufreinigung; stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: 0,5 % Methanol in CH₂Cl₂, Reinheit: LC-UV > 95 %. ^c Mittels DC und LC-MS (ESI) war die Bildung von **4** nicht nachweisbar (LC < 5 %).

Untersuchungen zur Übertragbarkeit der S_NAr-Reaktion auf andere Edukte

Für eine Optimierung der biologischen Aktivität der neuen Verbindungen sollte das gewünschte Produkt nicht nur in hohen Ausbeuten zugänglich sein, sondern die Substitutionsreaktion sollte auch mit einer breiten Auswahl an Edukten durchführbar sein. Deshalb wurde die Übertragbarkeit der Reaktion auf eine Reihe unterschiedlich substituierter Thiophenole und anderer Nukleophile sowie auf strukturelle Varianten des Triflats **1a** untersucht (Tabelle 2, S. 38, weitere Beispiele für Reaktionen mit substituierten Thiophenolen sind in Kap. 3.2 beschrieben).

Tabelle 2: Untersuchungen zur Übertragbarkeit der $S_{N,Ar}$ -Reaktion auf andere Edukte.^a

Triflat **1a, 12a, 14a, 15a** + $R_2-X-H \xrightarrow{DMF, Base}$ Produkt **4, 6-15**

Eintrag	Triflat	R ₁	R ₂	X	Base	Produkt	Ausbeute (%) ^b
1	1a	3-Pyridin		S	K ₂ CO ₃	4	73
2	1a	3-Pyridin		S	K ₂ CO ₃	6	62
3	1a	3-Pyridin		S	K ₂ CO ₃	7	42
4	1a	3-Pyridin		S	K ₂ CO ₃	8	34
5	1a	3-Pyridin		S	K ₂ CO ₃	9	0 ^c
6	1a	3-Pyridin		S	NaH	9	0 ^d
7	1a	3-Pyridin		O	NaH	10	0 ^d
8	1a	3-Pyridin		NH	NaH	11	0 ^d
9	12a^e	4-Isochinolin		S	K ₂ CO ₃	12	64
10	12a^e	4-Isochinolin		S	K ₂ CO ₃	13	71
11	14a^e	H		S	NaH	14	58
12	 15a^e			S	NaH	 15	0 ^d

^a Reaktionsansatz: 1 Äquivalent Triflat **1a-15a**, 2 Äquivalente Base und 1.2 Äquivalente Nukleophil, DMF, 100 °C, 0,5-3 h. ^b isolierte Ausbeute nach flashchromatographischer Aufreinigung; stationäre Phase: Kieselgel, mobile Phase: Methanol-Dichlormethan-Gemisch, Reinheit: LC-UV > 95 %. ^c Es wurde 3-(3-Pyridyl)-2-naphthol in einer Ausbeute von 72 % isoliert. ^d Mittels DC und LC-MS (ESI) war die Bildung von **9-11** und **15** nicht nachweisbar (LC < 5 %). ^e Die Triflate **12a**, **14a** und **15a** wurden über ähnliche Synthesewege wie **1a** dargestellt (siehe experimenteller Teil: Kap. 5.1.1.1).

- Mit methoxyfunktionalisierten Thiophenolen (Einträge 2-4) lief die Reaktion mit moderaten Ausbeuten ab (34-62 %).
- Als Beispiel für ein aliphatisches Thiol wurde Cyclohexanthiol gewählt (Eintrag 5). Jedoch wurde bei der Reaktion keine Produktbildung, sondern nur die Hydrolyse des Triflats beobachtet: Es wurde 3-(3-Pyridyl)-2-naphthol in einer Ausbeute von 72 % isoliert. Auch nach Austausch der Base, d.h. Natriumhydrid anstelle von Kaliumkarbonat, konnte die Bildung des Produkts **9** nicht nachgewiesen werden (Eintrag 6).
- Substitutionsreaktionen mit anderen Nucleophilen – als Beispiele wurden Phenol und Anilin untersucht (Eintrag 7 und 8) – waren ebenfalls nicht erfolgreich. Daraus lässt sich der Schluss ziehen, dass die Reaktion bevorzugt mit weichen Nucleophilen abläuft und „härtere“ Nucleophile als Thiophenol nicht zum entsprechenden trisubstituierten Naphthalin umgesetzt werden können.
- Neben einer Substitution des Thiophenols lies sich auch die Struktur des Triflats variieren. Bei Einführung eines Isochinolins anstelle des Pyridins in das Triflat wurde das jeweilige Produkt in einer Ausbeute von 64 bzw. 71 % erhalten (Einträge 9 und 10). Dieser Austausch wurde bereits als Möglichkeit, die inhibitorische Aktivität gegenüber CYP11B2 und die Selektivität gegenüber hepatischen CYP-Enzymen, insbesondere gegenüber CYP1A2 von CYP11B2-Inhibitoren des Naphthalin- und Dihydronaphthalintyps zu steigern, beschrieben.¹¹⁵
- Eintrag 11 zeigt, dass keine Substitution an C-3 für ein Ablaufen der $S_{N,Ar}$ -Reaktion benötigt wird und somit ein neuer synthetischer Zugang zu *ortho*-phenylsulfanyl-substituierten 2-Naphtholen gefunden wurde.
- Eine Einschränkung der Anwendbarkeit der Reaktion ist, dass ein anneliertes Ring-system des Edukts wie bei den Naphthalinen **1a**, **12a** und **14a** notwendig für die *ortho*-Substitution scheint. Beim Versuch, das pyridylsubstituierte Phenyltriflat **15a** mit Thiophenol umzusetzen, konnte das Produkt **15** nicht nachgewiesen werden (Eintrag 12).

3.2 Synthese und biologische Evaluierung von 1-Phenylsulfinyl-3-(3-pyridyl)-2-naphtholen und verwandter Verbindungen als CYP11B2-Inhibitoren

3.2.1 Einleitung

In diesem Kapitel werden die Synthese und biologischen Eigenschaften einer Reihe 1-(phenylsulfinyl)-3-(3-pyridyl)-substituierter 2-Naphthole und strukturell verwandter Verbindungen beschrieben. Sie wurden durch Oxidation von 1-(Phenylsulfanyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphtholen, die durch die im vorangegangenen Kapitel (Kap. 3.1) beschriebene $S_{N,Ar}$ -Reaktion zugänglich waren, erhalten. Da sie sich als starke und selektive CYP11B2-Hemmstoffe des CYP11B2-Enzyms herausstellten, wurden Struktur-Wirkungs-Beziehungen im Hinblick auf ihre inhibitorische Aktivität für das humane und das Rattenzym sowie auf die Selektivität gegenüber anderen steroidogenen CYP-Enzymen (CYP11B1, CYP17 und CYP19) aufgestellt. Weiterhin wurden 1,3-disubstituierte Naphthaline und 2-(Phenylsulfonyl)-3-(3-pyridyl)-naphthalin synthetisiert und auf ihre biologische Aktivität untersucht.

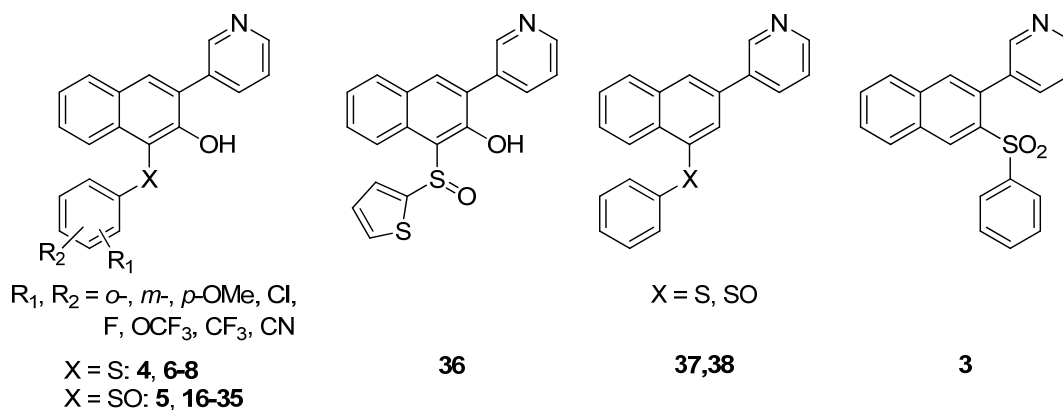


Abbildung 33: Überblick über die in diesem Kapitel beschriebenen 1-(phenylsulfinyl)-3-(3-pyridyl)-substituierten 2-Naphthole und verwandte Verbindungen.

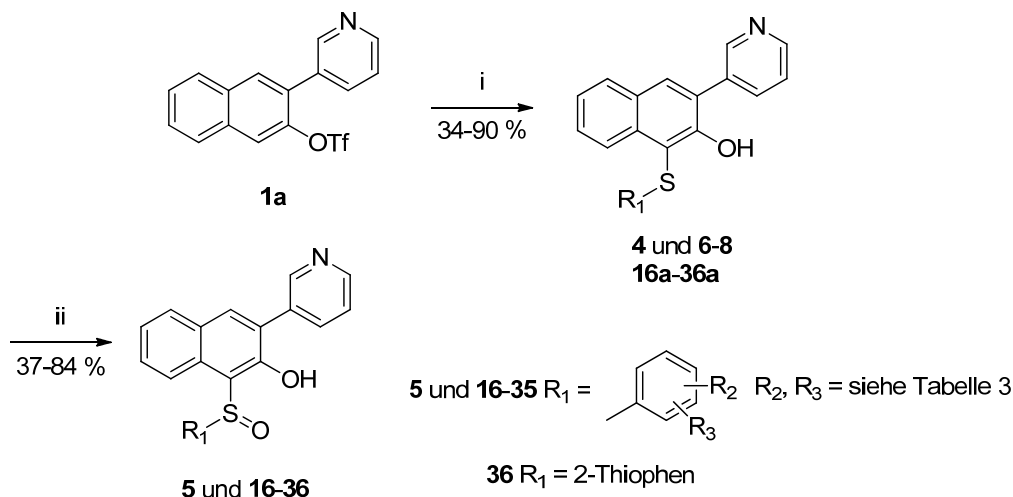
3.2.2 Synthese

Synthese der 1-substituierten 3-Pyridyl-2-naphthole 4 bis 36

Die in Kapitel 3.1.2 beschriebene $S_{N,Ar}$ -Reaktion konnte erfolgreich unter Verwendung von Triflat **1a** auf eine Reihe von substituierten Thiophenolen und 2-Thiophenthiole übertragen werden. Dabei wurden neben den oben beschriebenen Verbindungen **4** und **6-8** die Produkte

16a-36a nach Aufreinigung mittels Flashchromatographie in Ausbeuten zwischen 34 % und 90 % erhalten. Oxidation mit einem Äquivalent *meta*-Chlorperbenzoesäure ergab die entsprechenden Sulfoxide **5** und **16-36** als racemische Gemische als farblose, beige oder gelbe Feststoffe oder Schäume in Ausbeuten von 37 bis 90 % (Schema 3).

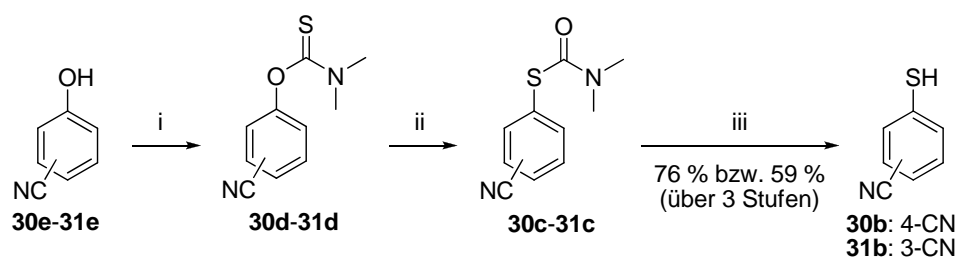
Schema 3: Synthese der 1-substituierten 3-Pyridyl-2-naphthole **4** bis **36**.^a



^a Reagenzien und Bedingungen: (i) substituiertes Thiophenol oder Thiophen-2-thiol, K_2CO_3 , DMF, 100 °C, 0,5-3 h; (ii) *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , rt, 0,5-3 h.

Das für die Synthese der cyanosubstituierten Verbindungen **30** und **31** verwendete 3- bzw. 4-Mercaptobenzonitril (**30b**, **31b**) wurde ausgehend vom jeweiligen Cyanophenol (**30e**, **31e**) nach der Methode von Newman und Karnes in drei Stufen erhalten (Schema 4, S. 41).¹²⁹ Es wurden die von Krishnamurthy und Aimino¹³⁰ beschriebenen Reaktionsbedingungen verwendet. Dabei wurden die Phenole mit Triethylendiamin deprotoniert und anschließend mit Dimethylthiocarbamoylchlorid zu den über den Sauerstoff gebundenen Thiocarbamaten **30d** und **31d** umgesetzt. Diese wurden in der Schmelze zu den über den Schwefel gebundenen Thiocarbamaten **30c** und **31c** umgelagert, die mit methanolischer Kaliumhydroxidlösung zu den Thiolen gespalten wurden. Das 4-cyanosubstituierte Thiophenol **30b** konnte mit einer Gesamtausbeute von 76 % über drei Stufen und das 3-cyanosubstituierte Derivat **31b** mit einer Ausbeute von 59 % erhalten werden.

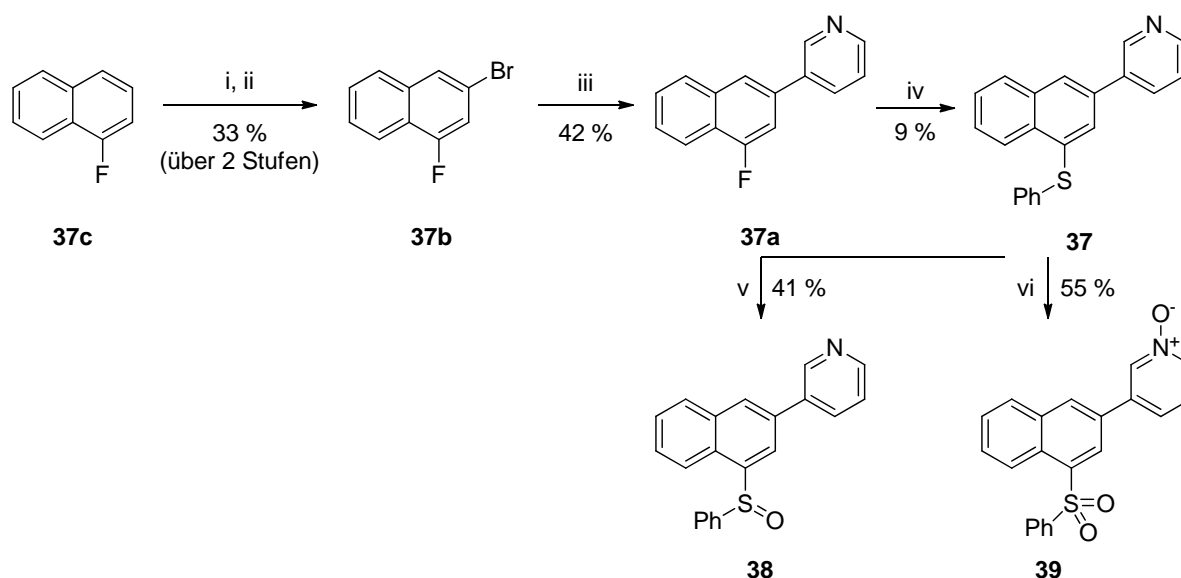
Schema 4: Synthese von 3- und 4-Mercaptobenzonitril nach Newman und Karnes.^a



^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Triethylendiamin, Dimethylthiocarbamoylchlorid, DMF, 65 °C; (ii) 190 °C; (iii) KOH, Methanol, THF, rt.

Synthese der 1-substituierten 3-Pyridylnaphthaline **37** und **38**

Die Synthese der Verbindungen **37** und **38** ist in Schema 5 abgebildet. Zuerst wurde 1-Fluornaphthalin (**37c**) in zwei Stufen wie von Leroux *et al.*¹³¹ beschrieben - mittels einer *ortho*-Lithierung und anschließender Umlagerung des Brom-Substituenten von der 2- in die 3-Position - an Position 3 mit einer Ausbeute von 33 % bromiert. Der so erhaltene Brom-Substituent wurde anschließend in einer *Suzuki*-Kreuzkupplung¹²² unter Anwesenheit von Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und wässriger Natriumcarbonatlösung durch 3-Pyridin mit einer Ausbeute von 42 % ersetzt. In der nächsten Stufe wurde das Fluoratom durch Thiophenol in Anwesenheit von Base nukleophil substituiert. Bei thermischer Reaktionsführung (60-100 °C) wurde nach einer Reaktionszeit von 48 Stunden mittels dünn-schichtchromatographischer Kontrolle keine Umsetzung des Edukts **37a** beobachtet. Umstellung der Synthese auf ein mikrowellenaktiviertes Verfahren ergab **37** nach chromatographischen Aufreinigung und Fällung als Hydrochlorid als farblosen Feststoff in einer Ausbeute von 9 %. Durch Oxidation mit einem Äquivalent *meta*-Chlorperbenzoesäure konnte das Sulfoxid **38** mit einer Ausbeute nach Aufreinigung von 41 % gewonnen werden. Beim Versuch zum Sulfon zu oxidieren wurde ein farbloser Feststoff isoliert, dessen Masse mit der des entsprechenden Pyridin-*N*-oxids **39** übereinstimmt.

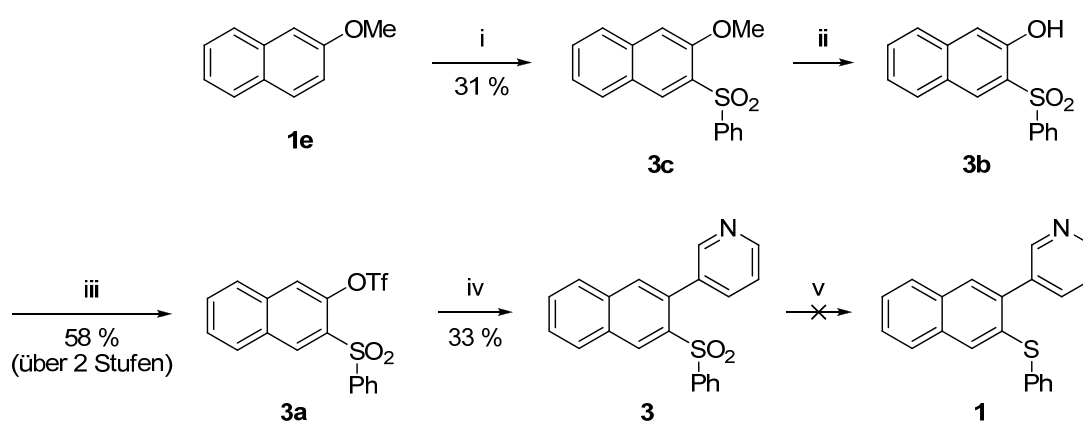
Schema 5: Synthese der 1-substituierten 3-Pyridylnaphthaline **37** bis **39**.^a

^a Reagenzien und Bedingungen: (i) 1. *sec*-BuLi, Hexan, -78 °C, 2 h, 2. Br₂, 0,5 h; (ii) *n*-BuLi, HTMP, THF/Hexan, -78 °C, 6 h; (iii) 3-Brompyridin, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, Toluol/Ethanol (4/1 v/v), Rückfluss, 3 h; (iv) Thiophenol, K₂CO₃, DMF, μ w, 40 min; (v) 1 Äquivalent *m*-CPBA, CH₂Cl₂, rt, 1 h, (vi) 2 Äquivalente *m*-CPBA, CH₂Cl₂, rt, 1 h.

Synthese des 2-substituierten 3-Pyridylnaphthalins **3**

Die Synthese der ursprünglich geplanten 2-phenylsulfanylsubstituierten 3-Pyridylnaphthaline (s. Kap. 313.1.1) wurde mittels einer alternativen Syntheseroute versucht (Schema 6). Die ersten zwei Stufen wurde wie von Li *et al.*¹³² beschrieben durchgeführt. 2-Methoxynaphthalin (**1e**) wurde mit Butyllithium behandelt und die so generierte Lithiumspezies mit Benzolsulfonsäurefluorid abgefangen. Dabei wurde **3c** in einer Ausbeute von 31 % über zwei Stufen erhalten. Spaltung des Methylethers in 48 %iger Bromwasserstoffsäure unter Rückfluss und Umsetzung des erhaltenen Naphthols mit Triflormethansulfonsäureanhydrid ergab Triflat **3a** in einer Ausbeute von 58 %. Unter Verwendung unterschiedlicher *Suzuki*-Kreuzkupplungsbedingungen gelang es nicht, den Triflatsubstituenten durch 3-Pyridin zu ersetzen. Ersatz der 3-Pyridinboronsäure durch die entsprechende Grignardverbindung, die aus 3-Brompyridin durch Zugabe einer *iso*-Propylmagnesiumchlorid-Lithiumchloridkomplex-Lösung hergestellt wurde,¹³³ und Umsetzung des Triflats mit dieser unter *Negishi*-Reaktionsbedingungen¹³⁴ – d.h. Anwesenheit von Tetrakis-(triphenylphosphin)-palladium(0) als Katalysator und Zinkchlorid zur Transmetallierung des Pyridylmagnesiumchlorids – ergab **3** als beigefarbenen Feststoff in einer Ausbeute von 33 %. Versuche das Sulfon mit Lithiumaluminiumhydrid¹³⁵ oder mit Diisobutylaluminiumhydrid¹³⁶ zum Sulfid zu reduzieren funktionierten nicht; es konnten nur Zerfallsprodukte isoliert werden.

Schema 6: Synthese des 2-substituierten 3-Pyridylnaphthalins **3**.^a



^a Reagenzien und Bedingungen: (i) 1. *n*-BuLi, THF, 0 °C, 1 h, 2. PhSO₂F; (ii) aq. HBr (48 %), Rückfluss, 14 h, 3 h; (iii) Tf₂O, Pyridin, CH₂Cl₂, 0 °C bis rt, 3 h; (iv) 1. Pd(PPh₃)₄, ZnCl₂, THF, rt, 1 h, 2. 3-Pyridylmagnesiumchlorid, 50 °C, 5 h; (v) LiAlH₄, THF, Rückfluss, 4 h oder DiBAL-H, Toluol, rt bis Rückfluss, 6 h.

3.2.3 Biologische Ergebnisse

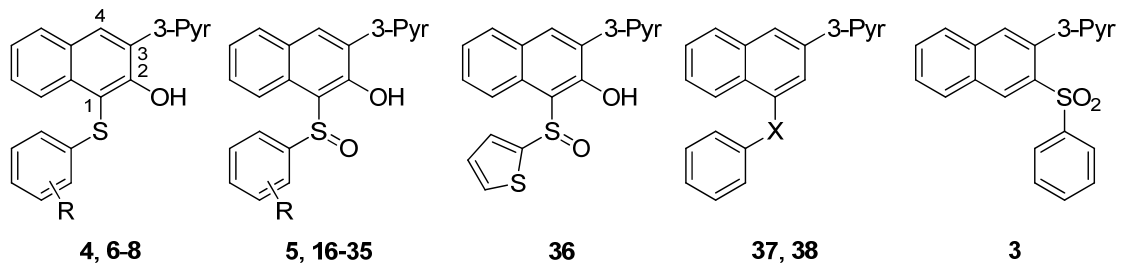
Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP11B2 und CYP11B1

Die inhibitorische Wirkung der synthetisierten Verbindungen auf die für die Corticoidbiosynthese verantwortlichen Enzyme, CYP11B1 und CYP11B2, wurde wie in Kap. 5.2.1 angegeben in V79MZ-Zellen, die entweder das humane CYP11B1 oder CYP11B2 exprimieren,^{69,109} untersucht (Tabelle 3, S. 45). Als Referenz sind die *in-house* ermittelten Hemmdaten des literaturbekannten CYP11B2-Inhibitors Fadrozol (Racemat) angegeben (*h*CYP11B2: IC₅₀ = 0,8 nM; *h*CYP11B1: IC₅₀ = 6,3 nM).

Die Sulfide **4** und **6-8** (1-substituierte 3-Pyridyl-2-naphthole) hemmen das CYP11B2-Enzym nicht oder nur mit sehr geringer Stärke (< 25 %, c = 0,5 µM), wohingegen die meisten der entsprechenden Sulfoxide sich als starke CYP11B2-Inhibitoren herausstellten (**5**, **16-29** und **31-35**: IC₅₀ = 14-64 nM). Lediglich das *para*-cyanosubstituierte Derivat **30** und die Thiophen-Verbindung **36** zeigen eine geringere Hemmung (**30**: 47 %, c = 0,5 µM, **36**: IC₅₀ = 192 nM). Die Selektivitäten gegenüber CYP11B1 reichen von relativ niedrigen Faktoren für die 2-methoxysubstituierte Verbindung **18** (sf = 17) und das Thiophen **36** (sf = 32) zu mittleren Werten für Verbindungen **16**, **20**, **26**, **29**, **34** und **35** (sf = 80-123). Die übrigen Sulfoxide zeigen große (**5**, **17**, **21-24**, **27**, **28**, **30-33**: sf = 155-283) bzw. sehr große Selektivitätsfaktoren, die 400 übersteigen (**19**: sf = 407, **25**: sf = 415). Insgesamt ist die 3-trifluormethoxysubstituierte Verbindung **25** der stärkste (IC₅₀ = 14 nM) und gegenüber CYP11B1 selektivste Hemmstoff (sf = 415) der Klasse der 1-(Phenylsulfinyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthole.

Die Verbindungen ohne Hydroxylfunktion in Position 2 (1-substituierte 3-Pyridyl-naphthaline) zeigen eine deutlich reduzierte inhibitorische Aktivität. In einer Konzentration von 0,5 µM hemmt das Sulfoxid **38** die Bildung der Produkte nur zu 33 % und das Sulfid **37** nur zu 15 %. Auch das 2-substituierten 3-Pyridyl-naphthalin **3** ist nur ein schwacher CYP11B2-Hemmstoff (16 %).

Tabelle 3: Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP11B2 und CYP11B1.



Verbindung	R	X	Hemmung in % ^a		IC ₅₀ in nM ^b		sf
			<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B1 ^d		
4	H		22				
6	4-OCH ₃		22				
7	3-OCH ₃		20				
8	2-OCH ₃		18				
5	H		85	33	6712	203	
16	4-OCH ₃		80	48	4196	87	
17	3-OCH ₃		87	27	7315	271	
18	2-OCH ₃		86	64	1096	17	
19	4-Cl		84	22	8947	407	
20	3-Cl		90	60	4797	80	
21	2-Cl		90	22	4487	204	
22	4-F		84	33	5549	168	
23	3-F		85	39	6548	168	
24	4-OCF ₃		88	32	7427	232	
25	3-OCF ₃		83	14	5812	415	
26	2-OCF ₃		77	56	4710	84	
27	4-CF ₃		81	25	6189	248	
28	3-CF ₃		88	43	6674	155	
29	2-CF ₃		86	53	5076	96	
30	4-CN		47				
31	3-CN		84	46	8550	186	
32	3,4-di-Cl		90	33	8333	253	
33	3,5-di-CF ₃		78	33	9346	283	
34	3,5-di-Cl		87	47	4717	100	
35	3-Cl-4-F		91	53	6534	123	
36			79	192	6164	32	
37		S	15				
38		SO	33				
3			16				
Fadrozol				0.8	6.3	8	

^a Mittelwert aus mind. zwei unabhängigen Experimenten; Hemmstoff c = 0,5 μM. ^b Mittelwert aus mind. drei unabhängigen Experimenten, Standardabweichung < 25 %. ^c V79MZ*h*CYP11B2-Zellen, Substrat DOC c = 100 nM. ^d V79MZ*h*CYP11B1-Zellen, Substrat DOC: c = 100 nM.

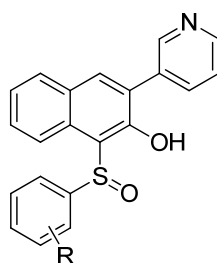
Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP17 und CYP19

Die 1-phenylsulfinylsubstituierten 3-Pyridyl-2-naphthole **5**, **16-29** und **31-36** wurden *in vitro* auf ihre Selektivität gegenüber den steroidogenen Enzymen CYP17 und CYP19 untersucht. Keine der untersuchten Verbindungen zeigt in einer Konzentration von 2 μM eine signifikante Hemmung (< 5 %) des CYP17-Enzyms. Auch gegenüber CYP19 sind die untersuchten Sulfoxide selektiv. Die gemessenen Hemmwerte betragen weniger als 5 % bei einer eingesetzten Konzentration von 0,5 μM .

Ergebnisse der biologischen Testung am CYP11B2 der Ratte

Um die Verbindungen auf ihre Tauglichkeit als potentielle Therapeutika zu überprüfen, müssen sie *in vivo* in einem geeigneten Tiermodell untersucht werden. Deshalb wurden ausgewählte 1-phenylsulfinylsubstituierte 3-Pyridyl-2-naphthole auf ihre inhibitorische Aktivität in V79MZ-Zellen untersucht, die das Ratten-CYP11B2 exprimieren (Tabelle 4).¹¹⁸ Die sieben getesteten Verbindungen zeigen in einer Konzentration von 2 μM keine oder nur eine geringe Hemmung des *rat*CYP11B2-Enzyms (< 35 %).

Tabelle 4: Ergebnisse der biologischen Testung am CYP11B2 der Ratte.



5-35

Verbindung	R	Hemmung in % ^a
		<i>rat</i> CYP11B2 ^b
5	H	2
17	3-OCH ₃	8
19	4-Cl	32
21	2-Cl	32
24	4-OCF ₃	13
28	3-CF ₃	28
31	3-CN	14
Fadrozol		67 [0.5 μM]

^a Mittelwert aus mind. zwei unabhängigen Experimenten; Hemmstoff 2 μM , Standardabweichung < 25 %. ^b V79MZ*rat*CYP11B2-Zellen; Substrat DOC: c = 0,5 μM .

3.2.4 Diskussion

Ein Vergleich der biologischen Daten der Sulfide **4** und **6-8** (18-22 % Hemmung, $c = 0,5 \mu\text{M}$) mit den entsprechenden Sulfoxiden **5** und **16-18** ($\text{IC}_{50} = 27\text{-}64 \text{ nM}$) zeigt die Bedeutung der Oxidationsstufe des Schwefelatoms auf die inhibitorische Aktivität der Verbindungen auf das CYP11B2-Enzym. Verbindung **38**, bei der die Hydroxylfunktion in Position 2 fehlt, unterstreicht die Rolle dieser, da **38** CYP11B2 nur zu 33 % hemmt. Beide Beobachtungen deuten darauf hin, dass zwischen dem Sauerstoffatom der Sulfoxidbrücke und der Hydroxylfunktion eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung existiert, die die sterische Flexibilität des verbrückten Phenylrings einschränkt, somit einerseits den durch Bindung des Moleküls an das Enzym entstehenden Entropieverlust verringert und andererseits den Phenylring in einer Konformation fixiert, in der die Affinität zum humanen CYP11B2, aber nicht zu anderen CYP-Enzymen erhöht ist.

In der Klasse der Sulfoxide (1-phenylsulfinylsubstituierte 3-Pyridyl-2-naphthole **5** und **16-36**) wurde der Einfluss unterschiedlicher Substituenten am Phenylrest untersucht, wobei sich herausstellte, dass keine der gewählten funktionellen Gruppen die Hemmaktivität wesentlich beeinflusste. Lediglich im Fall des *para*-cyanosubstituierten Derivats **30** und Verbindung **36**, bei der der Phenylrest durch das bioisostere Thiophen ersetzt wurde, wurde ein deutlicher Verlust der inhibitorischen Wirkung auf CYP11B2 beobachtet. Für die anderen Substituenten lassen sich keine eindeutigen Struktur-Wirkungs-Beziehungen ableiten. Die Einführung einer elektronenschiebenden Funktion führt im Fall des *meta*-Methoxy-Derivats **17** zu einer der stärksten und gegenüber CYP11B1 selektivsten Verbindungen dieser Klasse ($\text{IC}_{50} = 27 \text{ nM}$, $\text{sf} = 271$), wohingegen eine Methoxyfunktion in *para*- oder *ortho*-Position eine deutlich geringere Selektivität gegenüber CYP11B1 zur Folge hat (**16**, $\text{sf} = 87$; **18**, $\text{sf} = 17$). Der gleiche Trend wurde bei den trifluormethoxysubstituierten Verbindungen beobachtet: Das *meta*-Trifluormethoxy-Derivat **25** ($\text{IC}_{50} = 14 \text{ nM}$, $\text{sf} = 415$) ist der stärkste und selektivste CYP11B2-Hemmstoff dieser Serie. Beispiele für weitere Verbindungen mit elektronenziehenden Substituenten, die eine ähnlich große inhibitorische Wirkung gegenüber CYP11B2 zeigen, sind das *ortho*- und das *para*-Chlor-Derivat (**21**, $\text{IC}_{50} = 22 \text{ nM}$, $\text{sf} = 204$; **19**, $\text{IC}_{50} = 22 \text{ nM}$, $\text{sf} = 407$).

Zusammenfassend kann aus den Daten aus Tabelle 3 (S. 45) gefolgert werden, dass kleine Substituenten am Phenylring nur einen geringen Einfluss auf die inhibitorische Aktivität und auf die Selektivität der Sulfoxide haben. Diese Tatsache lässt sich möglicherweise zur Optimierung pharmakokinetischer Eigenschaften ausnutzen. Ein Vergleich der Daten des *meta*-chlorsubstituierten Derivats (**20**, $\text{IC}_{50} = 60 \text{ nM}$, $\text{sf} = 80$) mit denen der *meta*-Chlor-*para*-

Fluor-Verbindung (**35**, $IC_{50} = 53$ nM, $sf = 123$) zeigt, dass der zusätzliche Fluorsubstituent zu einer geringfügigen Aktivitäts- und deutlichen Selektivitätssteigerung führt. Aus dieser Beobachtung lässt sich schließen, dass es bei einer zu geringen metabolischen Stabilität möglich wäre, einen Teil der Wasserstoffatome durch Fluoratome zu ersetzen.

Die fehlende inhibitorische Aktivität (< 35 %, $c = 2$ μ M) gegenüber dem CYP11B2-Enzym der Ratte bedeutet, dass bei einer Weiterentwicklung der Verbindungsklasse nach einer Spezies gesucht werden muss, wie z.B. Meerschweinchen, Hamster oder eine Affenart, die für erste pharmakodynamische *in-vivo*-Studien, aber auch für Krankheitsmodelle geeignet ist.

3.2.5 Fazit

Kapitel 3.1 und Kapitel 3.2 handeln von der Entdeckung eines neuen synthetischen Zugangs zu 1-phenylsulfanylsubstituierten 3-(3-Pyridyl)-2-naphtholen mittels einer neuartigen $S_{N,Ar}$ -Reaktion und der Weiterentwicklung der so erhaltenen Verbindungen zu potenten CYP11B2-Inhibitoren. Es konnte gezeigt werden, dass sich mit der neuen Methode 2-Naphthyltriflate mit einer Reihe von Thiophenolen sowie Thiophene-2-thiol, aber nicht mit anderen Nukleophilen wie Phenol, Anilin oder Cyclohexanthiol in mittleren bis guten Ausbeuten (37-90 %) zu den entsprechenden substituierten Naphtholen umsetzen lassen.

Weiterhin wurde gezeigt, dass die durch Oxidation zum Sulfoxid erhaltenen 1-(Phenylsulfanyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthole eine neue Klasse aktiver und selektiver Hemmstoffe der humanen Aldosteron-Synthase darstellen. Vielversprechende Verbindungen sind das *para*-Chlor- **19** und das *meta*-Trifluormethoxy-Derivat **25**. Sie üben eine große inhibitorische Potenz auf das humane CYP11B2-Enzym mit IC_{50} -Werten im niedrigen nanomolaren Bereich aus (**19**: $IC_{50} = 22$ nM, **25**: $IC_{50} = 14$ nM) und zeigen herausragende Selektivitäten von mehr als 400 gegenüber dem hoch homologen CYP11B1 (**19**: $sf = 407$ nM, **25**: $sf = 415$) sowie CYP17 (< 5 % Hemmung, $c = 2$ μ M) und CYP19 (< 5 % Hemmung, $c = 0,5$ μ M) aus. Somit stellen sie eine gute Leitstruktur dar, um pharmakokinetische Parameter zu untersuchen und zu optimieren. Nach einer geeigneten Spezies für pharmakodynamische Untersuchungen muss allerdings noch gesucht werden.

3.3 Neue Grundstrukturen für CYP11B2-Inhibitoren durch Modifikation des Naphthalin-, „B-Rings“

3.3.1 Einleitung

Basierend auf einer der 2005 publizierten Leitverbindungen mit Naphthalinstruktur (3-(2-Naphthyl)pyridin **MV22**,¹¹¹ Abbildung 34) wurde durch strukturelle Modifikationen des Benzolkerns, der nicht mit Pyridin substituiert ist – im Folgenden „A-Ring“ genannt (Abbildung 34) – mit Pyridin oder Isochinolin substituierte Dihydrochinolinone entwickelt (s. Kap. 1.4.3.2).¹¹⁷

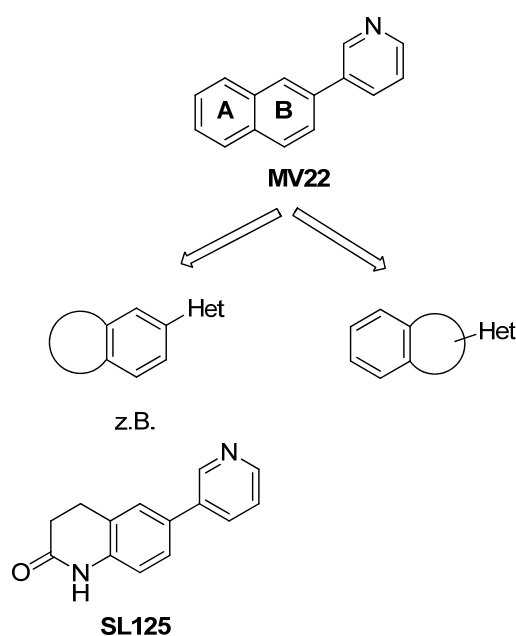
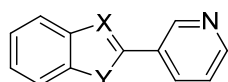


Abbildung 34: Design Strategie.

In Tabelle 5 (S. 50) sind Beispiele, bei denen der pyridylsubstituierte Benzolkern von **MV22** – im Folgenden „B-Ring“ genannt (Abbildung 34) – durch fünfgliedrige Heteroaromaten ausgetauscht wurde, gezeigt. Das 3-pyridylsubstituierte Benzothiophen **SL204** sowie das entsprechende Benzofuran- **SL203** und Benzothiazol-Derivat **SL206** stellten sich als starke CYP11B2-Inhibitoren heraus ($IC_{50} = 14-62$ nM), die eine mehr als 100-fache Selektivität gegenüber CYP11B1 aufweisen.^{iv}

^{iv} Unveröffentlichte Daten: die Verbindungen wurden von Dr. Simon Lucas während seiner Dissertation synthetisiert.

Tabelle 5: Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP11B2 und CYP11B1.



SL203-SL206, SL210

Verbindung	X	Y	Hemmung in % ^a		IC ₅₀ in nM ^b		sf
			<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B1 ^d	<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B1 ^d	
MV22 ^e					28	5826	208
SL125 ^f					28	6746	241
SL204	CH	S	93	18	14	1830	130
SL203	CH	O	83	< 10	42	6466	155
SL206	N	S	82	< 10	62	9377	152
SL205	N	O	49	< 10			
SL210	N	NH	< 10	10			
Fadrozol					0.8	6.3	8

^a Mittelwert aus mind. zwei unabhängigen Experimenten; Hemmstoff c = 0,5 µM. ^b Mittelwert aus mind. drei unabhängigen Experimenten, Standardabweichung < 25 %. ^c V79MZ*h*CYP11B2-Zellen, Substrat DOC c = 100 nM. ^d V79MZ*h*CYP11B1-Zellen, Substrat DOC: c = 100 nM. ^e Daten aus Ref. 111 ^f Daten aus Ref. 117.

Die Strategie, den „B-Ring“ des Naphthalins zu verändern sollte nun durch Einführung von sechsgliedrigen Heterozyklen anstelle der oben beschriebenen fünfgliedrigen erweitert werden. Hierzu wurden literaturbekannte Moleküle, die mit 3- oder 4-Pyridin substituiert waren, synthetisiert. Bekannt ist, dass Inhibitoren und Substrate von CYP1A2 häufig planare Moleküle mit einem kleinen Volumen sind, die hydrophobe Eigenschaften und somit einen großen LogP-Wert besitzen.¹³⁷ Die Auswahl der Strukturen erfolgte deshalb unter dem Aspekt, die Lipophilie der Verbindungen durch Einführung von Heteroatomen bzw. polarer Funktionalitäten zu reduzieren, so dass diese keine oder nur eine geringe inhibitorische Aktivität gegenüber CYP1A2 aufweisen (Abbildung 35).

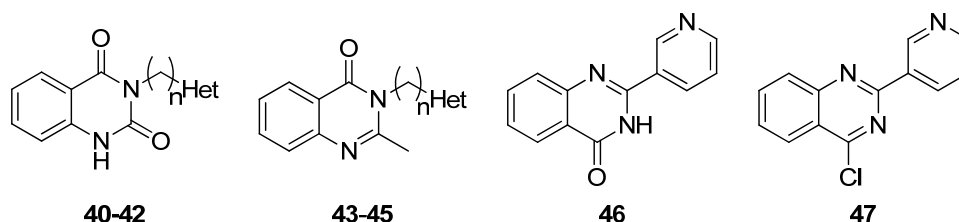


Abbildung 35: Überblick über die in diesem Kapitel beschriebenen „B-Ring“-modifizierten Verbindungen.

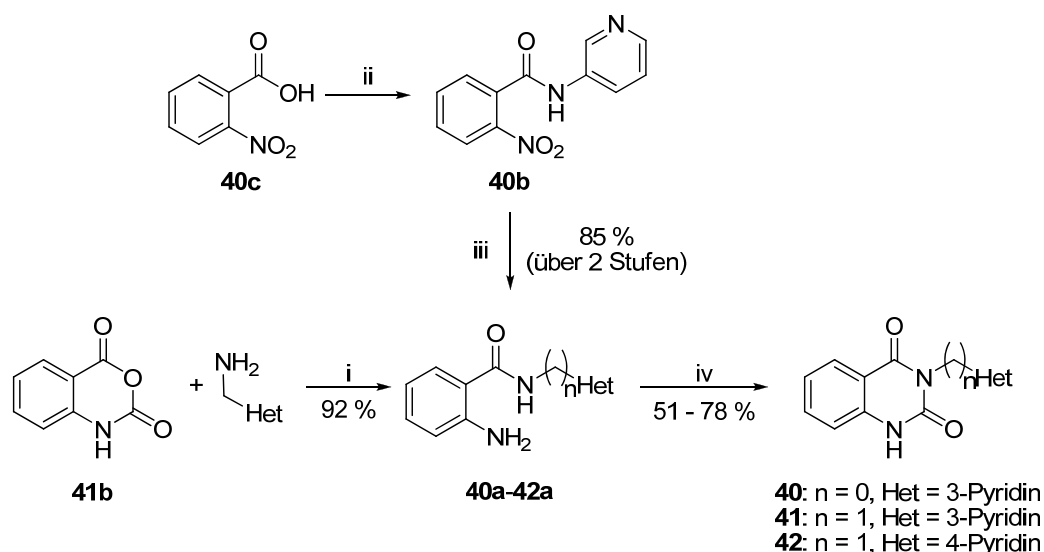
3.3.2 Ergebnisse und Diskussion

3.3.2.1 Synthese

Synthese der Chinazolindione **40** bis **42**

Die Chinazolindione **40** bis **42**¹³⁸ wurden durch Zyklisierung der entsprechenden *ortho*-Aminobenzamide **40a-42a** mit Triphosgen in Anwesenheit von Triethylamin in Ausbeuten von 51 bis 78 % erhalten (Schema 7).¹³⁹ Die Darstellung der dafür verwendeten Benzamide **41a**¹⁴⁰ und **42a**¹⁴¹ erfolgte ausgehend von Isatosäureanhydrid (**41b**) mit 3- oder 4-Picolylamin mit einer Ausbeute von jeweils 92 %.¹⁴² Benzamid **40a**¹⁴³ war durch diese Reaktion nicht zugänglich. Deshalb wurde das Amid **40b** ausgehend von 2-Nitrobenzoesäure (**40c**) über das Säurechlorid mit 3-Aminopyridin geknüpft, und die Nitrogruppe anschließend mit Wasserstoff über 10 % Palladium auf Aktivkohle (10 Gew.%) reduziert, wodurch Amin **40a** mit einer Ausbeute von 85 % über zwei Stufen erhalten wurde.

Schema 7: Synthese der Chinazolindione **40** bis **42**.^a



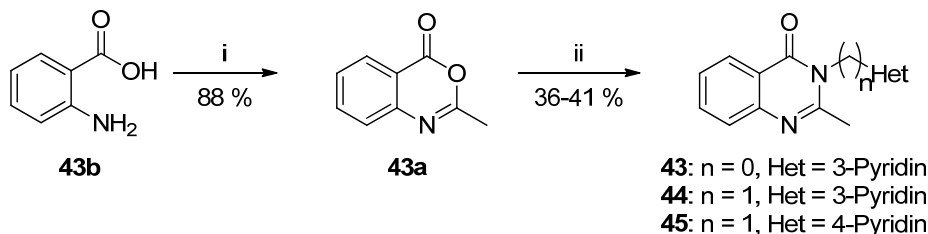
^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Triethylamin, Dioxan, Rückfluss, 1 h; (ii) 1. SOCl_2 , 70 °C, 4 h; 2. 3-Aminopyridin, Pyridin, DMF, 140 °C, 3 h; (iii) 10 % Pd/C, Ethanol, H_2 , rt, 14 h; (iv) Triphosgen, Dioxan, Rückfluss, 4 h.

Synthese der Chinazolone **43** bis **45**

In Schema 8 (S. 52) ist der Syntheseweg der Chinazolone **43** bis **45**¹⁴⁴ abgebildet. Die Synthese erfolgte nach einer von Nagase *et al.*¹⁴⁵ beschriebenen Methode. Dabei wurde Anthranilsäure (**43b**) durch Refluxieren in Essigsäureanhydrid mit einer Ausbeute von 88 %

zu **43a**¹⁴⁶ zyklisiert, welches dann in moderaten Ausbeuten von 36-41 % mit den entsprechenden Aminopyridinen zu den Chinazolonen **43-45** umgesetzt wurde.

Schema 8: Synthese der Chinazolone **43 bis 45**.^a

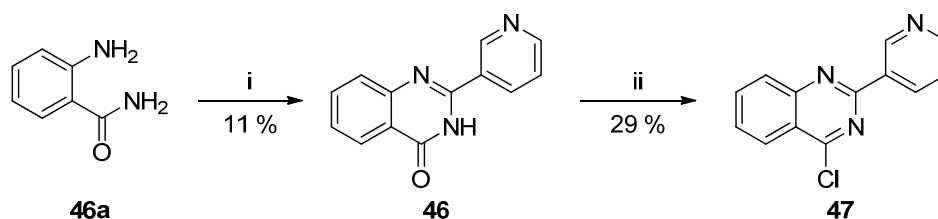


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Essigsäureanhydrid, 130 °C, 4 h; (ii) 3-Amino-, 3- oder 4-(Amino-methyl)pyridin, DMF, 140 °C, 3 h.

Synthese der Verbindungen **46** und **47**

Chinazolon **46**¹⁴⁷ wurde mittels einer mit *para*-Toluolsulfonsäure katalysierten Eintopfreaktion von Anthranilsäureamid (**46a**) mit Nicotinaldehyd und anschließender Oxidation mit Tetrachlor-*o*-benzochinon (*ortho*-Chloranil) synthetisiert (Schema 9).¹⁴⁸ Dabei wurde das Produkt aufgrund einer schlechten Kristallisation und eines zur Aufreinigung benötigten Umkristallisationsschritts aus Ethanol nur in einer Ausbeute von 11 % erhalten. Refluxieren von **46** mit Phosphoroxychlorid in der Schmelze ergab die chlosubstituierte Verbindung **47** nach flashchromatographischer Aufreinigung mit einer Ausbeute von 29 %.¹⁴⁹

Schema 9: Synthese der Verbindungen **46** und **47**.^a

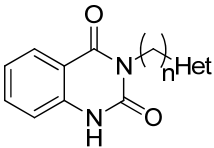


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) 1. *para*-Toluolsulfonsäure, Nicotinaldehyd, Essigsäure, DMF, 50 °C, 0,5 h; 2. *ortho*-Chloranil, 50 °C, 1 h (ii) POCl₃, Rückfluss, 1 h.

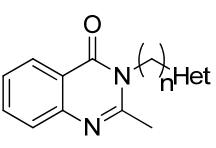
3.3.2.2 Biologische Ergebnisse und Diskussion

Die Testung der potentiellen CYP11B2-Inhibitoren erfolgte wie in Kap. 5.2.1 beschrieben in V79MZ-Zellen, die entweder das humane CYP11B2 oder CYP11B1 exprimieren (Tabelle 6, S.53).

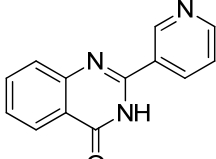
Tabelle 6: Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP11B2 und CYP11B1.



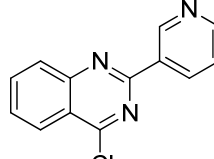
40-42



43-45



46



47

Verbindung	n	Het	Hemmung in % ^a		IC ₅₀ in nM ^b		sf
			<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B1 ^d	<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B1 ^d	
MV22^e					28	5826	208
40	0	3-Py	< 10	< 10			
41	1	3-Py	16	< 10			
42	1	4-Py	< 10	30			
43	0	3-Py	< 10	< 10			
44	1	3-Py	< 10	< 10			
45	1	4-Py	< 10	< 10			
46			< 10	< 10			
47			< 10	< 10			
Fadrozol					0.8	6.3	8

^a Mittelwert aus mind. zwei unabhängigen Experimenten; Hemmstoff $c = 0,5 \mu\text{M}$. ^b Mittelwert aus mind. drei unabhängigen Experimenten, Standardabweichung < 25 %. ^c V79MZ*h*CYP11B2-Zellen, Substrat DOC $c = 100 \text{ nM}$. ^d V79MZ*h*CYP11B1-Zellen, Substrat DOC: $c = 100 \text{ nM}$. ^e Daten aus Ref. 111.

Als erste Verbindungen wurden die Chinazolindione **40-42** untersucht, deren Lipophilie sich um mehr als drei LogP-Einheiten von der von **MV22** unterscheidet. (**MV22**: $\text{cLogP} = 3,37$, **40**: $\text{cLogP} = 0,99$, **41** und **42**: $\text{cLogP} = 1,06$)^v. Das 3-pyridylsubstituierte Derivat **40** war in einer Konzentration von $0,5 \mu\text{M}$ im V79-Zelltest nicht in der Lage CYP11B2 oder CYP11B1 zu hemmen. Auch bei den Verbindungen **41** und **42** konnte keine oder nur eine sehr geringe CYP11B2-Hemmung gemessen werden (**41**: 16 %, **42**: < 10 %). Bei ihnen erlaubt die Methylengruppe eine höhere Flexibilität, vergrößert deren Abstand zwischen Heterozyklus und Chinazolindion und verringert die Planarität der Moleküle. Allerdings stellte sich das 4-pyridylsubstituierte Derivat **42** als schwacher CYP11B1-Hemmstoff heraus (30 %). Möglicherweise ist der Verlust der inhibitorischen Wirksamkeit im Vergleich zu **MV22** (*h*CYP11B2: $\text{IC}_{50} = 28 \text{ nM}$) durch die große Differenz der logP-Werte zu erklären.

^v Die angegebenen LogP-Werte wurden mit ChemDraw Ultra Version 11.0.1 von CambridgeSoft® berechnet. Dabei wurde ein von G. M. Crippen entwickelter fragment-basierter Algorithmus verwendet (Ghose, A. K.; Crippen, G. M. Atomic physicochemical parameters for three-dimensional-structure-directed quantitative structure-activity relationships. 2. Modeling dispersive and hydrophobic interactions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1987**, *27*, 21-35).

Eine andere Erklärung könnten abstoßende Wechselwirkungen zwischen den funktionellen Gruppen und dem aktiven Zentrum des Enzyms sein.

Die 2-Methylchinazolone (**43-45**) haben, da die Carboxylfunktion in Position 2 durch eine Methylgruppe ausgetauscht wurde, eine etwas höhere Lipophilie, so dass der Unterschied zu den Naphthalinen abgeschwächt ist (**43**: $c\text{LogP} = 1,54$; **44** und **45**: $c\text{LogP} = 1,61$)^v. Methylgruppen an dieser Position beeinflussen die inhibitorische Aktivität von heterozyklisch substituierten Naphthalin- oder Dihydronaphthalinen nicht, reduzieren aber möglicherweise die hemmende Wirkung auf CYP1A2, indem sie eine koplanare Konformation der Ringsysteme erschweren.¹¹⁵ Allerdings üben weder Verbindung **43**, bei der das Pyridin direkt an das Chinazolon gebunden ist, noch die zwei über einen Methylenspacer verbrückten Derivate **44** und **45** eine inhibitorische Wirkung auf eines der beiden CYP11B-Enzyme aus.

Verbindung **46** und **47** wurden als Beispiele untersucht, bei denen das Pyridin wie bei den Naphthalinen über einen sp^2 -hybridisierten Kohlenstoff an das Molekülgerüst gebunden ist. Das Chinazolon **46** fungiert dabei als Beispiel für ein Molekül mit niedriger Lipophilie ($c\text{LogP} = 1,54$)^v; die Lipophilie des chlosubstituierten Chinazolins **47** ($c\text{LogP} = 3,65$)^v liegt dagegen im gleichen Bereich wie diejenige von **MV22** ($c\text{LogP} = 3,37$)^v. Beide Verbindungen sind jedoch ebenfalls nicht in der Lage die CYP11B-Enzyme zu hemmen.

Als Gründe für den Verlust der inhibitorischen Aktivität der Verbindungen auf die CYP11B-Enzyme kommen in Frage:

- Es gibt für die funktionellen Gruppen im aktiven Zentrum des Enzyms keine geeigneten Wechselwirkungspartner
- Die Zellgängigkeit der Verbindungen ist zu niedrig. Dieser Grund könnte durch Evaluierung der biologischen Aktivitäten im zellfreien CYP11B2-Assays überprüft werden (s. Kap. 5.2.1).

3.3.3 Fazit

Die hier vorgestellte Strategie, den „B-Ring“ des Naphthalins durch einen sechsgliedrigen polaren Zyklus auszutauschen, um den Einfluss der CYP11B2-Hemmstoffe auf das hepatische CYP1A2-Enzym zu verringern, stellte sich als nicht geeignet heraus. Alle vorgenommenen strukturellen Modifikationen oder die dadurch hervorgerufenen Änderungen der physikochemischen Eigenschaften führten zu einem Verlust der inhibitorischen Wirkung auf das Targetenzym CYP11B2.

3.4 Modifikation des „A-Rings“: Weiterentwicklung der Inhibitoren des Dihydrochinolin-2-on-Typs

3.4.1 Einleitung

Verbindungen aus der Klasse der 3,4-Dihydrochinolin-2-on-basierten CYP11B2-Inhibitoren (s. Kap. 1.4.3.2, Abbildung 36) haben sich als Beispiele für eine erfolgreiche Abwandlung des „A-Rings“ pyridylsubstituierter Naphthaline herausgestellt: Heterozyklisch substituierte Dihydrochinolinone weisen ein verbessertes Selektivitätsprofil als die entsprechenden Naphthaline gegenüber den hepatischen CYP-Enzymen auf und es gibt unter Ihnen Beispiele für Hemmstoffe sowohl des humanen CYP11B2 als auch des der Ratte (z.B. **SL242**).¹¹⁷

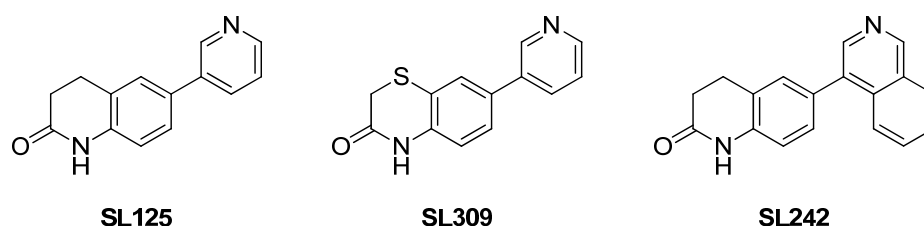


Abbildung 36: Leitverbindungen aus der Klasse der 3,4-Dihydrochinolin-2-one.

In diesem Kapitel werden Versuche beschrieben, den 3,4-Dihydrochinolin-2-on-Core zu optimieren, indem eine Methylengruppe des Dihydropyridinon-Rings („A-Ring“) gegen Heteroatome und die Lactam- durch eine Sulfamfunktion ersetzt wird (Abbildung 37).

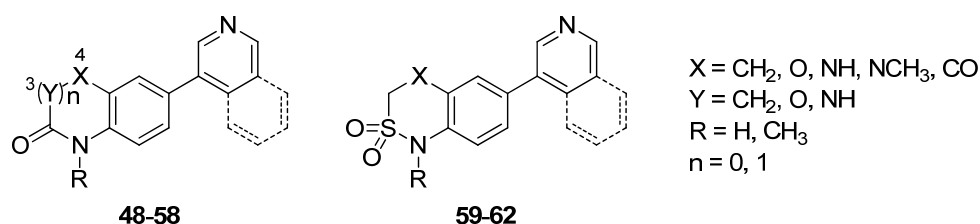


Abbildung 37: Überblick über die in diesem Kapitel beschriebenen CYP11B2-Inhibitoren des Dihydrochinolinontyps und verwandte Verbindungen.

Ein erster Versuch hierzu wurde bereits von Dr. Simon Lucas durchgeführt. Durch Austausch der Methylengruppe mit einem Schwefelatom in C-4 (Verbindung **SL309**) wurde die inhibitorische Wirkung der Verbindung verdoppelt.¹¹⁷ Dieser Befund deutet darauf hin,

dass das neu eingeführte Heteroatom Wechselwirkungen mit Aminosäuren in der Bindetasche des Enzyms eingehen kann.

Die in diesem Abschnitt beschriebenen Modifikationen beschränken sich auf einen Austausch der Methylengruppe durch die Heteroatome Sauerstoff und Stickstoff. Für die Suche nach neuen *h*CYP11B2-Inhibitoren, die für *in-vivo*-Studien geeignet sind, wurden Verbindungen, die bezüglich ihrer Hemmung des humanen CYP11B2-Enzyms vielversprechend waren, auf Selektivität gegenüber dem humanen CYP11B1, CYP17 und CYP19 und auf ihre Aktivität auf das CYP11B2 der Ratte getestet.

3.4.2 Ergebnisse

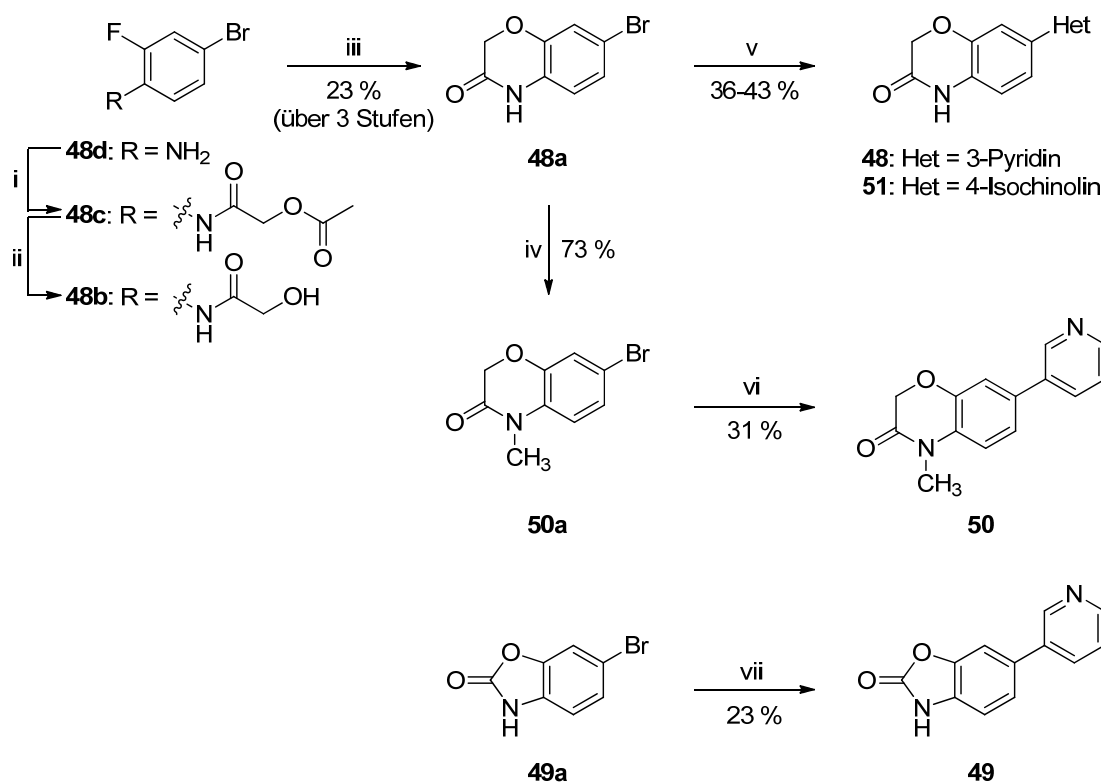
3.4.2.1 Synthese

Die Synthesewege der in diesem Kapitel beschriebenen Verbindungen sind in den Schemata 10-15 abgebildet. Als letzte Stufe (mit Ausnahme von Verbindung **61**) wurde jeweils das bromierte Molekülgerüst mit 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure in Gegenwart von Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und einer Karbonatbase in einer *Suzuki*-Kreuzkupplungsreaktion¹²² zum Teil auch mikrowellen-unterstützt unter Verwendung einer Methode von van der Eycken *et al.*¹⁵⁰ umgesetzt, wobei die Zielverbindungen in Ausbeuten von 15 bis 98 % erhalten wurden. Im Folgenden werden die Synthesen der bromierten Zwischenstufen beschrieben.

Synthese der Benzoxazinone **48**, **50** und **51** sowie des Benzoxazolinons **49**

Der Schlüsselbaustein **48a** in der Herstellung der Benzoxazinone **48**, **50** und **51** wurde ausgehend von 4-Brom-2-fluoranilin **48d** nach einer von Varnes *et al.* beschriebenen Methode mit geringfügigen Änderungen dargestellt (Schema 10).¹⁵¹ Das Anilin **48d** wurde im ersten Schritt mit Acetoxyacetylchlorid zum Ester **48c** acetyliert. Anschließend wurde **48c** basisch zum Alkohol **48b** gespalten und das Fluoratom in einer intramolekularen nukleophilen Substitution ersetzt, wodurch **48a** in einer Gesamtausbeute von 23 % erhalten wurde. Die Zwischenstufe **50a** wurde durch Methylierung von **48a** mit Methyljodid und Kalium-*tert*-butanolat als Base in einer Ausbeute von 73 % dargestellt.

Schema 10: Synthese der Benzoxazinon-Derivate **48**, **50** und **51** sowie des Benzoxazolinons **49**.^a

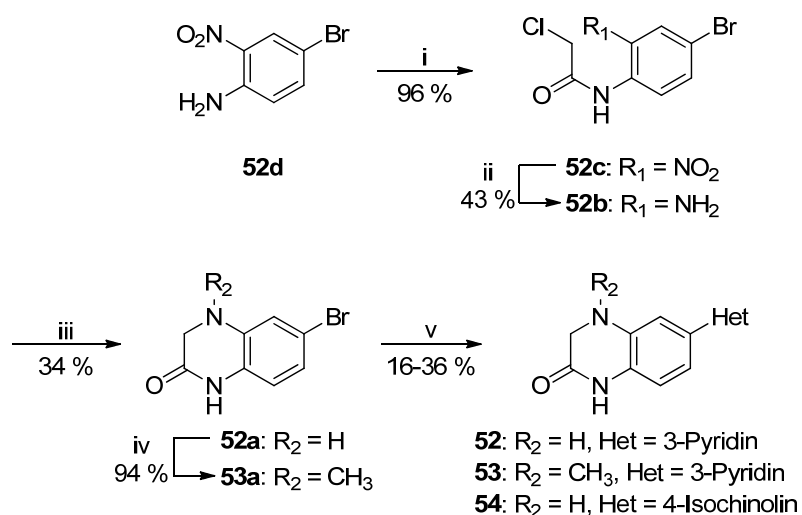


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Acetoxyacetylchlorid, CHCl_3 , rt, 0,5 h; (ii) aq. NaOH, Ethanol, 0 °C, 0,5 h; (iii) NaH, DMF, 140 °C, 2 h; (iv) $\text{KO}t\text{Bu}$, CH_3I , DMF, rt (v) 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, aq. NaHCO_3 , DMF, μW , 150 °C, 15 min; (vi) 3-Pyridinboronsäure, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, aq. Na_2CO_3 , DME, Rückfluss, 5,5 h; (vii) 3-Pyridinboronsäure, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, aq. Cs_2CO_3 , DME, Rückfluss, 6 h.

Synthese der Dihydrochinoxalinone 52 bis 54

Das bromierte Dihydrochinoxalinon **52a** wurde nach einer von Li *et al.*¹⁵² beschriebenen Syntheseroute über drei Stufen mit einer Ausbeute von 14 % synthetisiert (Schema 11, S. 58): Zuerst wurde die Aminofunktion des 4-Brom-2-nitroanilin (**52d**) mit 2-Chloracetylchlorid acetyliert. Anschließend wurde die Nitrogruppe mit Eisen und Essigsäure zum Amin **52b** reduziert. Diese Methode wurde gewählt, da bei anderen Reduktionsmitteln (z.B. Wasserstoff in Anwesenheit von Palladium/Kohle) die Möglichkeit bestünde, dass der Brom- oder der Chlorsubstituent abgespalten wird. Die Zwischenstufe **52a** wurde durch intramolekulare S_N-Reaktion desamins durch Eliminierung von Chlorwasserstoff unter basischen Bedingungen erhalten. Sie wurde anschließend entweder wie oben beschrieben zu den Endverbindungen umgesetzt oder mittels einer reduktiven Aminierung von Formaldehyd, bei der **53a** in einer Ausbeute von 94 % erhalten wurde, methyliert.

Schema 11: Synthese der Dihydrochinoxalinone 52 bis 54.^a

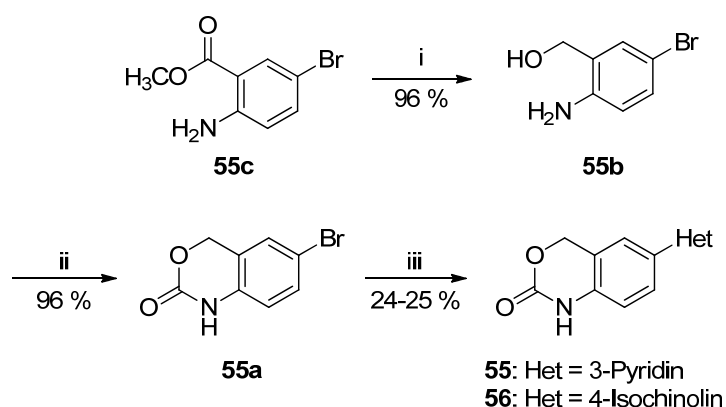


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Chloracetylchlorid, Toluol, Rückfluss, 1,5 h; (ii) Fe, NH₄Cl, CH₃COOH, H₂O, DMF, 50 °C, 15 min; (iii) NaI, Na₂CO₃, Acetonitril, Rückfluss, 14 h; (iv) 1. Formaldehyd (37 %), CH₃COOH, MeOH; 2. NaBH₃CN, MeOH (v) 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure, Pd(PPh₃)₄, aq. NaHCO₃, DMF, μ W, 150 °C, 15 min.

Synthese der Benzoxazinone **55** und **56**

Zur Herstellung der Benzoxazinone **55** und **56** wurde 2-Amino-5-brombenzoesäuremethyl-ester (**55c**) wie von Snider *et al.*¹⁵³ beschrieben mit Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol **55b** reduziert (Schema 12). Dieser wurde anschließend mit Triphosgen zu Benzoxazinon **55a** cyclisiert, das in einer Ausbeute von 92 % über zwei Stufen erhalten wurde.

Schema 12: Synthese der Benzoxazinone **55** und **56**^a

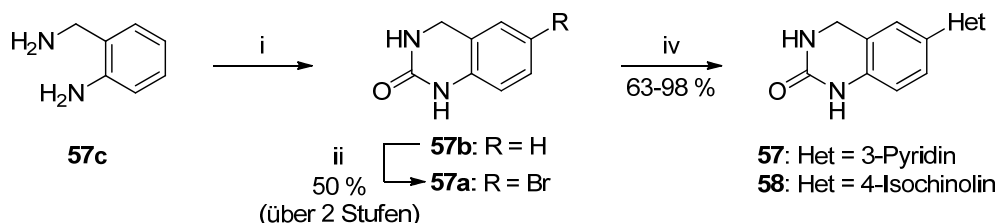


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) LiAlH₄, THF, 0 °C, 1 h; (ii) Triphosgen, THF, rt, 20 min; (iii) 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, DME, Rückfluss, 3,5-4,5 h.

Synthese der Dihydrochinazolone **57** und **58**

Das bromierte Dihydrochinazolone **57a**¹⁵⁴ wurde in einer Ausbeute von 50 % über zwei Stufen dargestellt (Schema 13). Zuerst wurde 2-(Aminomethyl)anilin **57c** mit Triphosgen cyclisiert¹⁵⁵ und das so erhaltene Dihydrochinazolone **57b** anschließend mit *N*-Bromsuccinimid bromiert.¹⁵⁶

Schema 13: Synthese der Dihydrochinazolone **57** und **58**.^a

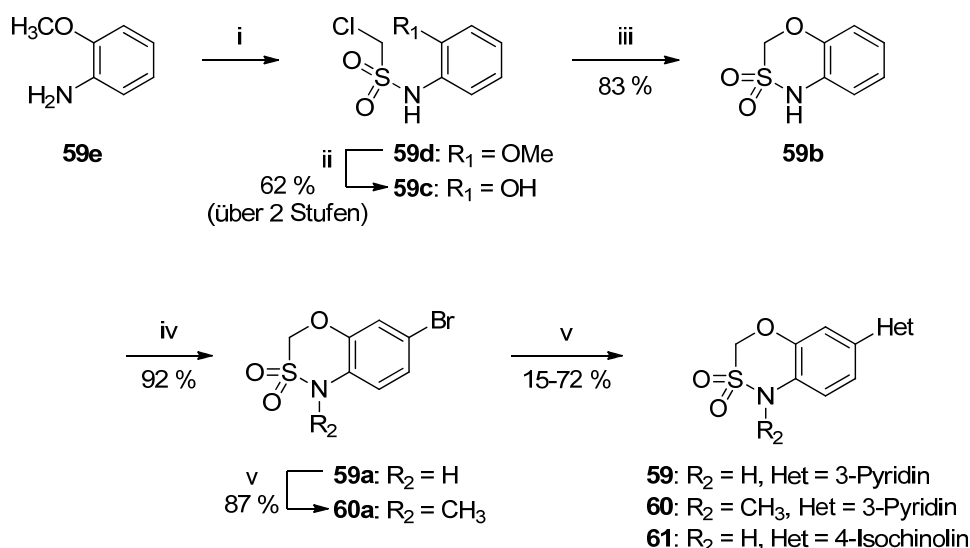


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Triphosgen, THF, rt, 30 min; (ii) *N*-Bromsuccinimid, DMF, 0 °C, 2 h; (iii) 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, DME, Rückfluss, 14 h.

Synthese der Sultame 59 bis 61

Die für die Synthese der heterozyklisch substituierten Benzoxathiazin-2,2-dioxide **59-61** benötigte Zwischenstufe **59a** wurde ausgehend von *ortho*-Anisidin (**59e**) dargestellt (Schema 14). Dieses wurde zuerst mit Chlormesylylchlorid und Triethylamin sulfoniert, dann wurde der Methylester **59d** mit Bortribromid gespalten. Nach Zyklisierung durch Etherbildung unter basischen Bedingungen wurde **59b** in einer Ausbeute von 52 % über drei Stufen erhalten. Die Bromierung zu **59a** erfolgte durch Zutropfen einer Bromlösung in Chloroform mit einer Ausbeute von 92 %, woraufhin **59a** entweder wie oben beschrieben zu den Zielverbindungen umgesetzt wurde oder dessen Sultamfunktion mit Methyljodid in einer Ausbeute von 87 % zu **60a** methyliert wurde.

Schema 14: Synthese der Sultame 59 bis 61.^a

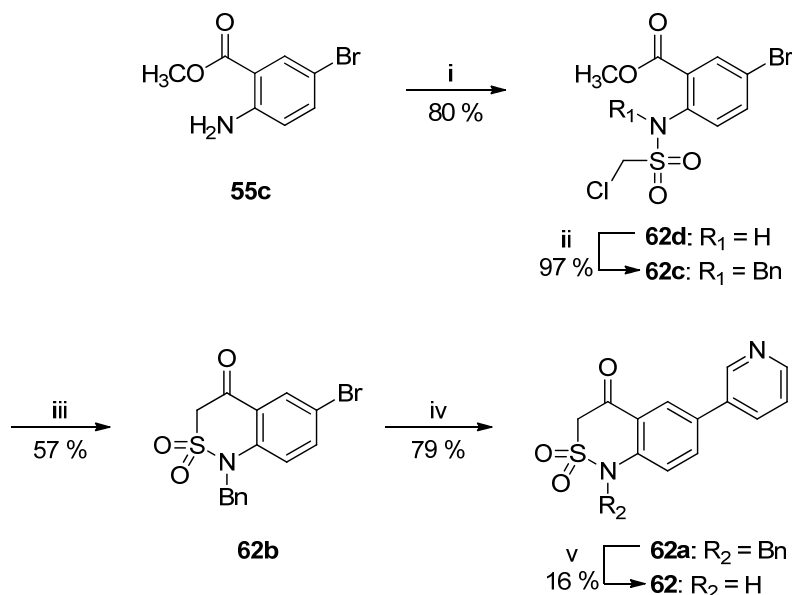


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Chlormesylylchlorid, NEt₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 1,5 h; (ii) BBr₃, CH₂Cl₂, 0 °C, 1,5 h; (iii) aq. NaOH, MeOH, 50 °C, 5 h; (iv) Br₂, CHCl₃, 0 °C, 4 h; (v) CH₃I, K₂CO₃, DMF, 50 °C, 3 h; (vi) 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, DME, Rückfluss, 14 h.

Synthese des Sultams 62

Die Synthese des Sultams **62** ist in Schema 15 (S. 61) beschrieben. Das benzylgeschützte Benzothiazinondioxid **62b** wurde nach einer Syntheseroute synthetisiert, die kürzlich für ähnliche Verbindungen von Volovenko *et al.*¹⁵⁷ beschrieben wurde. Zuerst wurde 2-Amino-5-brombenzoesäuremethylester (**55c**) mit Mesylchlorid in Anwesenheit von Pyridin sulfoniert. Anschließend wurde das so erhaltene Sulfonamid **62d** mit einer Benzylgruppe geschützt, bevor im nächsten Schritt bei Zugabe von Natriumhydrid der Mesylrest deprotoniert wurde. Das so gebildete Carbanion zyklisiert durch intramolekularen Angriff an

der Esterfunktion und Abspaltung von Methanolat zur Zwischenstufe **62b**, die auf diesem Weg in einer Ausbeute von 44 % erhalten wurde. Sultam **62b** wurde nun mit 3-Pyridinboronsäure in einer Suzuki-Reaktion mit einer Ausbeute von 79 % zu **62a** gekuppelt. Die Zielverbindung **62** wurde durch Abspaltung der Benzylschutzgruppe mit Wasserstoff über Palladium/Kohle erhalten (16 % Ausbeute).

 Schema 15: Synthese des Sultams **62**.^a


^a Reagenzien und Bedingungen: (i) Mesylchlorid, Pyridin, CH₂Cl₂, 0 °C, 14 h; (ii) Benzylbromid, K₂CO₃, DMF, 50 °C, 4 h; (iii) NaH, DMF, rt, 24 h; (iv) 3-Pyridinboronsäure, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, Toluol/Ethanol (4/1 v/v), Rückfluss, 14 h; (v) H₂, 10 % Pd/C, Methanol, Rückfluss, 14 h.

3.4.2.2 Biologische Ergebnisse

Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP11B2 und CYP11B1

Die Testung der potentiellen CYP11B2-Inhibitoren erfolgte wie in Kap. 5.2.1 beschrieben in V79MZ-Zellen, die entweder das humane CYP11B2 oder CYP11B1 exprimieren (Tabelle 7, S. 62).

Tabelle 7: Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP11B2 und CYP11B1.

Verbindung	X	Y	R	n	Hemmung in % ^a		sf	
					<i>h</i> CYP11B2 ^c	IC ₅₀ in nM ^b		
						<i>h</i> CYP11B2 ^c	<i>h</i> CYP11B1 ^d	
SL125^e	CH ₂	CH ₂	H	1		28	6746	241
SL309^e	S	CH ₂	H	1		12	525	44
SL242^e	CH ₂	CH ₂				0.2	33	187
48	O	CH ₂	H	1	87	41	1312	32
49	O		H	0	39			
50	O	CH ₂	CH ₃	1	98	11	776 ^g	73
51	O	CH ₂			100	0,5	28	58
52	NH	CH ₂	H	1	57	366	3451	10
53	NCH ₃	CH ₂	H	1	80	89	796	9
54	NH	CH ₂			100	1,1	54	48
55	CH ₂	O	H	1	95	24	1692	70
56	CH ₂	O			100	0.3	15	54
57	CH ₂	NH	H	1	72	228	120	0,5
58	CH ₂	NH			100	2,2	4.5	2
59	O		H		<5			
60	O		CH ₃		60	193	7483	39
61					16			
62	CO		H		<5			
Fadrozol						0,8	6,3	8

^a Mittelwert aus mind. zwei unabhängigen Experimenten; Hemmstoff c = 0,5 µM. ^b Mittelwert aus mind. drei unabhängigen Experimenten, Standardabweichung < 25 %. ^c V79MZhCYP11B2-Zellen, Substrat DOC c = 100 nM. ^d V79MZhCYP11B1-Zellen, Substrat DOC: c = 100 nM. ^e Daten aus Ref. 117.

In der Klasse der 3-pyridylsubstituierten Dihydrochinolinone hat der Übergang von einer Methylengruppe in Position 4 zu einem Ether, d.h. von Dihydrochinolinonen zu Benzo[1,4]oxazinonen, keinen wesentlichen Einfluss auf die Hemmung des CYP11B2-Enzyms (**48**: IC₅₀ = 41 nM, zum Vergleich **SL125**: IC₅₀ = 28 nM), jedoch verringert sich die Selektivität gegenüber des CYP11B1-Enzyms auf etwa ein Zehntel (**48**: sf = 32, vs. **SL125**: sf = 241).

Durch Methylierung des Lactams **48** wird sowohl die CYP11B2-Hemmung auf 11 nM gesteigert als auch die Selektivität verdoppelt (**50**: sf = 73). Demgegenüber verringert der

Ersatz der Etherfunktion durch ein primäres oder sekundäres Amin die *h*CYP11B2-Hemmung (**52**: $IC_{50} = 366$ nM, **53**: $IC_{50} = 89$ nM) sowie die Selektivität gegenüber CYP11B1 (**52**: $sf = 10$, **53**: $sf = 9$) deutlich. Das Benzoxazolinon **49** als Beispiel für eine Verbindung mit einem fünfgliedrigen „A-Ring“ hemmt das humane CYP11B2-Enzym mit einer deutlich geringeren Stärke als die entsprechende Verbindung mit einem sechsgliedrigen „A-Ring“ (**49**: 39 % Hemmung, $c = 0,5$ μ M, **48**: $IC_{50} = 41$ nM).

Beim Austausch der Methylengruppe in Position 3 durch Heteroatome lassen sich ähnliche Tendenzen ablesen: Benzo[1,3]oxazinon **55** hemmt das *h*CYP11B2 mit einem IC_{50} -Wert von 33 nM und zeigt eine 70-fach niedrigere Hemmung des *h*CYP11B1, während für die entsprechende Stickstoff-Verbindung (Dihydrochinazolon **57**) eine deutlich geringere CYP11B2-Hemmung ($IC_{50} = 228$ nM) gemessen wurde. Die inhibitorische Wirkung auf das CYP11B1-Enzym ist dagegen gestiegen ($IC_{50} = 120$ nM), so dass **57** eine schwach CYP11B1-selektive Verbindung ist ($sf(hCYP11B2/hCYP11B1) = 2$).

Die Verbindungen, die im „A-Ring“ anstelle der Lactam- eine Sultam-Funktion enthalten, stellten sich als Substanzen ohne inhibitorische Wirkung auf die CYP11B-Enzyme heraus (Verbindungen **59** und **62**). Eine Ausnahme bildet dabei das methylierte Derivat **60**, das eine hemmende Wirkung auf das humane CYP11B2-Enzym (IC_{50} -Wert = 192 nM) und eine 39-fache Selektivität gegenüber CYP11B1 zeigt.

In der Klasse der 4-isochinolylysubstituierten Dihydrochinolinon-Derivate weisen die Verbindungen, die an Position 3 oder 4 des „A-Rings“ ein Sauerstoffatom enthalten, – d.h. Benzo[1,4]oxazinon **51** und Benzo[1,3]oxazinon **56** – eine starke Hemmwirkung auf das CYP11B2-Enzym (**51**: $IC_{50} = 0.5$ nM, **56**: $IC_{50} = 0.3$ nM) und eine etwa fünfzigfache Selektivität gegenüber CYP11B1 auf (**51**: $sf = 58$, **56**: $sf = 54$). Die entsprechenden stickstoffhaltigen Verbindungen hemmen das humane CYP11B2 mit wenig geringerer Potenz (**54**: $IC_{50} = 1.1$ nM, **58**: $IC_{50} = 2.2$ nM). Verbindung **54** zeigt ebenfalls eine etwa 50-fache Selektivität gegenüber CYP11B1. Das Isochinolin-Derivat **58** ist – im Gegensatz zur entsprechenden pyridylsubstituierten Verbindung **57**, die eine geringe Selektivität für CYP11B1 zeigt ($sf(hCYP11B2/hCYP11B1) = 2$) – eine schwach CYP11B2-selektive Verbindung ($sf = 2$).

In einem zellulären Assay haben neben der Affinität zum Enzym kinetische Effekte Einfluss auf die inhibitorische Stärke der getesteten Hemmstoffe. Um zu untersuchen, ob diese eine Ursache für den Verlust der hemmenden Wirkung der Sultame darstellen, wurden die Verbindungen **59** und **61** zusätzlich auf ihre inhibitorische Potenz in einem Homogenat der oben verwendeten V79MZ*h*CYP11B2-Zellen getestet (s. Kap. 5.2.1). Die Produktbildung

wurde bei einer Hemmstoffkonzentration von 0,5 μM von Verbindung **59** zu 31 % und von Verbindung **61** zu 70 % gehemmt.

Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP17 und CYP19

Die potentesten Inhibitoren des humanen CYP11B2-Enzyms wurden auf ihre Selektivität gegenüber den steroidogenen Enzymen CYP17 und CYP19 untersucht (Tabelle 8, s. Kapitel 3.2.35.2.3). Alle untersuchten Verbindungen hemmen die Aktivität des humanen CYP17 nur geringfügig (< 25 %, $c = 2 \mu\text{M}$). Das humane CYP19 wird mit Ausnahme der Derivate **50** und **55**, die eine Hemmung von 20 % bzw. 31 % zeigen, ebenfalls nicht inhibiert (< 5 %, $c = 0,5 \mu\text{M}$). Somit konnte gezeigt werden, dass CYP11B2-Inhibitoren der Klasse der Dihydrochinolinone die steroidogenen Enzyme CYP17 und CYP19 nicht beeinflussen.

Tabelle 8: Ergebnisse der biologischen Testung am humanen CYP17 und CYP19.

Verbindung	Hemmung in % ^a	
	CYP17 ^b	CYP19 ^c
SL125 ^d	20	31
SL242 ^d	22	<10
48	22	<10
50	<10	20
51	24	<10
54	18	<10
55	<10	31
56	15	<10

^a Mittelwert aus drei unabhängigen Experimenten; Standardabweichung < 10 %. ^b Homogenat aus *E. coli*, die humanes CYP17 exprimieren; Substrat Progesteron: $c = 25 \mu\text{M}$, Hemmstoff $c = 2 \mu\text{M}$; Referenz: Ketoconazol $\text{IC}_{50} = 2780 \text{ nM}$. ^c CYP19 in humanen Plazenta-Mikrosomen; Substrat Androstendion: $c = 0,5 \mu\text{M}$; Hemmstoff $c = 0,5 \mu\text{M}$; Referenz: Fadrozol $\text{IC}_{50} = 30 \text{ nM}$. ^d Daten aus Ref. 117.

Ergebnisse der biologischen Testung am CYP11B2 der Ratte

Um CYP11B2-Hemmstoffe zu finden, die für *in-vivo*-Studien in der Ratte geeignet sind, wurden vier der in Tabelle 7 (S. 62) aufgeführten neuen Verbindungen in V79MZ-Zellen untersucht, die das *rat*CYP11B2 exprimieren (Tabelle 9, S. 65, s. Kap. 5.2.1).¹¹⁸ In einer Konzentration von 2 μM übt das pyridylsubstituierte Benzoxazinon **55** ebenso wie die Referenz **SL125** keine Hemmung aus. Das isochinolylysubstituierte Dihydrochinoxalin **54**

hemmt das *rat*CYP11B2 zu 34 %. Die Isochinoline **51** und **56** stellten sich als ähnlich starke Inhibitoren wie die Referenzverbindung **SL242** heraus (65 %, ¹¹⁸ **51**: 64 %, **56**: 51 %).

Tabelle 9: Ergebnisse der biologischen Testung am CYP11B2 der Ratte.

Verbindung	Hemmung in % ^a
	<i>rat</i> CYP11B2 ^b
SL125 ^c	<5
SL242 ^c	65
51	64
54	34
55	<5
56	51
Fadrozol	67 [0,5 µM]

^a Mittelwert aus mind. zwei unabhängigen Experimenten; Hemmstoff 2 µM, Standardabweichung < 25 %. ^b V79MZ*rat*CYP11B2-Zellen; Substrat DOC: c = 0,5 µM. ^c Daten aus Ref. 118.

3.4.3 Diskussion

Die hier beschriebenen Verbindungen des Dihydrochinolin-2-on-Typs können in zwei Gruppen eingeteilt werden: Einerseits diejenigen, die einen 3-Pyridylrest als Hämkoordinierende Gruppe tragen und andererseits die Derivate, die stattdessen mit 4-Isochinolin substituiert sind.

Bei den Pyridin-Verbindungen zeigt sich, dass die Substitution einer der Methylenbrücken in Position 3 oder 4 durch einen Wasserstoffbrückenakzeptor, wie O oder NMe (Verbindungen **48**, **53** und **55**), keinen Einfluss auf die inhibitorische Wirkung der Verbindungen gegenüber des humanen CYP11B2-Enzyms hat, allerdings die Selektivität gegenüber *h*CYP11B1 abnimmt.

Demgegenüber führt die Einführung einer Funktionalität, die als Wasserstoffbrückendonator Wechselwirkungen mit den umliegenden Aminosäuren eingehen kann, nämlich NH (Verbindungen **52** und **57**), zu einer deutlich verringerten *h*CYP11B2-Hemmung. Methylierung des Amins, d.h. Aufhebung der Wasserstoffbrückendonator-Eigenschaften (Derivat **53**) resultiert wiederum in einer verbesserten Hemmwirkung.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass Wasserstoffbrückendonoren in Position 3 oder 4 vom Enzym nicht toleriert werden, Akzeptoren dagegen schon.

Interessanterweise hemmt das Dihydrochinazolon **57** das humane CYP11B1-Enzym zweimal stärker als das CYP11B2-Enzym. Somit stellt es einen Ausgangspunkt für die Suche nach selektiven CYP11B1-Inhibitoren dar, die in der Behandlung von Krankheiten, bei denen erhöhte Cortisolkonzentrationen eine Rolle spielen, wie z.B. dem Cushing- oder metabolischem Syndrom, eingesetzt werden könnten.¹⁵⁸

Der Versuch, die Lactamfunktion des Dihydrochinolinons durch ein Sultam zu ersetzen war nicht erfolgreich. Die Verbindungen **59** bis **62** hemmen keines der beiden humanen CYP11B-Enzyme. Eine mögliche Ursache könnten die Änderungen der sterischen Eigenschaften des 3,4-Dihydropyridinon-Rings sein. Das Schwefelatom der Sultame ist im Gegensatz zum planaren Carboxylkohlenstoff der Lactame tetraedrisch koordiniert. Somit kann geschlossen werden, dass für die Generierung potenter Inhibitoren der Wasserstoffbrückenakzeptor in dieser Position des Moleküls in einer Ebene mit dem annelierten Benzolring liegen muss. Diese Annahme wird durch die Beobachtung unterstützt, dass bei CYP11B2-Inhibitoren mit NaphthalinGrundgerüst durch Einführung eines linearen Wasserstoffbrückenakzeptors in der Naphthalinebene die inhibitorische Wirkung zunahm (Abbildung 38).¹¹¹

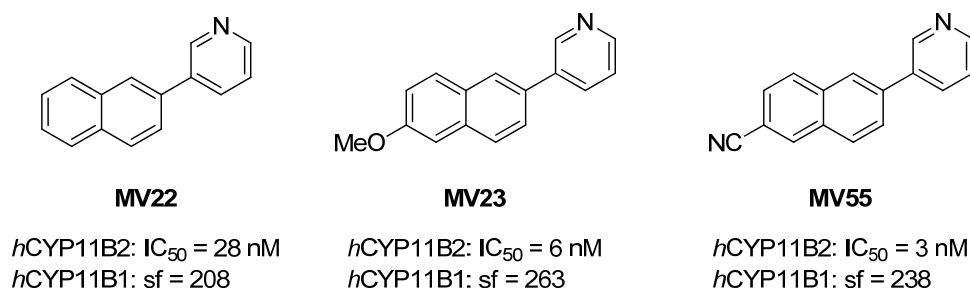


Abbildung 38: Beispiele für akzeptorsubstituierte Naphthaline.

Durch Schützen des Sulfonamids konnte die CYP11B2-Hemmung gesteigert werden: Verbindung **59** zeigte keine signifikante Hemmung (< 5 %), wohingegen **60** das humane CYP11B2-Enzym zu 60 % hemmte. Hieraus lässt sich ableiten, dass die höhere Acidität des NH der Sultame im Vergleich zu den Lactamen zum Verlust der inhibitorischen Aktivität beiträgt, indem kinetische Eigenschaften, zum Beispiel die Membrangängigkeit, verändert sind. Diese könnte die vorliegenden *in vitro* ermittelten Hemmdaten beeinflussen, da die Testung der potentiellen Inhibitoren in einem zellulären Assay durchgeführt wurde (s. Kap. 5.2.1).

Diese Hypothese wurde in einem „zellfreien“ Assay überprüft, bei dem ein Homogenat aus V79MZ*h*CYP11B2-Zellen als Enzymquelle genutzt wurde. Für das pyridylsubstituierte Sultam **59** konnte ein geringer Anstieg der CYP11B2-Hemmung auf 31 % gegenüber < 5 %

im zellulären Assay beobachtet werden. Beim Isochinolin **61** stieg die Hemmung von 16 % auf 70 %. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass eine geringe Membrangängigkeit der hier beschriebenen Sultame neben weiteren Faktoren, wie den oben diskutierten sterischen Veränderungen oder weiteren kinetischen Parametern, zum Verlust der inhibitorischen Aktivität auf das CYP11B2-Enzym beiträgt.

Der Austausch des 3-Pyridins durch 4-Isochinolin als funktionelle Gruppe, die an das Häm-Eisen koordiniert, hat bereits in mehreren Substanzklassen, wie z.B. bei Naphthalinen, Dihydronaphthalinen¹¹⁵ und Dihydrochinolinonen, zu einer Steigerung der inhibitorischen Wirkung der Verbindungen auf das humane CYP11B2-Enzym geführt. Die Leitverbindung **SL125** ist z.B. ein schwächerer CYP11B2-Inhibitor als das entsprechende isochinoly-substituierte Derivat **SL242**.¹¹⁷ Dieser Trend konnte für die in diesem Kapitel beschriebenen Verbindungen bestätigt werden: Alle 4-isochinoly-substituierten Verbindungen sind bei ähnlicher oder gesteigerter Selektivität gegenüber CYP11B1 stärkere Hemmstoffe des humanen CYP11B2-Enzyms als die entsprechenden 3-Pyridine. Besonders auffällig ist diese Beobachtung für das Dihydrochinoxalinon **54**, das im Vergleich zur entsprechenden Pyridin-Verbindung **52** eine etwa 300-fach stärkere Hemmung auf das humane CYP11B2 ausübt (**54**: $IC_{50} = 1,1 \text{ nM}$; **52**: $IC_{50} = 366 \text{ nM}$).

Möglicherweise erhöht der annelierte Benzolring die Bindungsaffinität der *h*CYP11B2-Hemmstoffe aus der Klasse der Dihydrochinolinone auf zwei Wegen. Einerseits könnten die Unterschiede in der Elektronendichte zwischen dem Stickstoff des Pyridins und des Isochinolins die Koordination zum Häm-Eisen verbessern. Andererseits könnte es zusätzliche hydrophobe Wechselwirkungen zwischen dem annelierten Benzolring und dem Enzym geben, die dadurch erklärt werden können, dass eine koplanare Konformation des Isochinolins und des Molekülgerüsts aufgrund von sterischen Wechselwirkungen erschwert ist.

Die hier vorgestellten Verbindungen wurden mit dem Ziel entwickelt, neue Inhibitoren des humanen CYP11B2-Enzyms zu finden, die für *in-vivo*-Studien in Ratten geeignet sind. Daher wurden die Derivate, die ein vielversprechendes Aktivitäts- und Selektivitätsprofil für die humanen Enzyme zeigen, auf ihre Hemmung des CYP11B2-Enzyms der Ratte *in vitro* getestet. Dieses Vorgehen ist notwendig, um erfolglose *in-vivo*-Studien zu vermeiden, da eine Vorhersage der inhibitorischen Wirkung auf das CYP11B2-Enzym der Ratte auf Grundlage der Daten am humanen Enzym aufgrund der geringen Homologie der beiden Enzyme von nur etwa 70 %¹¹⁸ nicht verlässlich ist.

Aus den erhaltenen Ergebnissen lassen sich für die Klasse der Dihydrochinolinone Struktur-Aktivitäts-Beziehung für das Rattenenzym ableiten:

- bezüglich des eisenkoordinierenden Heterozyklus: Mit Pyridin substituierte Verbindungen hemmen das CYP11B2-Enzym der Ratte nicht, wohingegen die entsprechenden Isochinoline Inhibitoren sowohl des Ratten- als auch des humanen Enzyms sind.
- bezüglich des Molekül-„Cores“: Die inhibitorische Wirkung auf das Rattenenzym wird durch den Austausch einer Methylenbrücke durch einen Wasserstoffbrückenakzeptor nicht oder nur geringfügig beeinflusst (**SL242**: 65 %; **51**: 64 % und **56**: 51 % Hemmung, $c = 2 \mu\text{M}$). Einführung eines Amins führt sowohl beim humanen als auch beim Ratten-Enzym zu einer Verringerung der Hemmung (**54**: 34 %).

3.4.4 Fazit

Kürzlich wurde über die Entwicklung von Dihydrochinolinonen als neue Klasse von CYP11B2-Inhibitoren berichtet, die ein optimiertes Selektivitätsprofil zu mehreren steroidogenen und hepatischen CYP-Enzymen aufweist.¹²⁰ Das 4-isochinolylysubstituierte Derivat **SL242** war darüber hinaus in der Lage die Aldosteronkonzentrationen im Plasma in einer *in-vivo*-Studie in Wistar-Ratten signifikant zu senken.^{117,118} Zur weiteren Optimierung der Hemmstoffe wurden verschiedene Modifikationen des Dihydrochinolinonleitstruktur untersucht.

Viel versprechende Derivate sind die 4-isochinolylysubstituierten Benzoxazinone **51** und **56**. Sie sind hochpotente Inhibitoren des humanen CYP11B2-Enzyms mit IC_{50} -Werten im subnanomolaren Bereich, zeigen eine über 50-fache Selektivität gegenüber CYP11B1, hemmen die steroidogenen Enzyme CYP17 und CYP19 nur geringfügig und sind zudem in der Lage, das CYP11B2 der Ratte zu hemmen (**51**: *h*CYP11B2: $\text{IC}_{50} = 0,5 \text{ nM}$, $\text{sf} = 58$, *rat*CYP11B2: 64 % Hemmung, $c = 2 \mu\text{M}$; **56**: *h*CYP11B2: $\text{IC}_{50} = 0,3 \text{ nM}$, $\text{sf} = 54$, *rat*CYP11B2: 51 % Hemmung, $c = 2 \mu\text{M}$).

4 Zusammenfassung und Ausblick

4.1 Zusammenfassung

Pathologisch erhöhte Aldosteronspiegel spielen bei bestimmten Herz-Kreislauf-Erkrankungen eine wesentliche Rolle. Sie verursachen unter anderem das Krankheitsbild des primären Hyperaldosteronismus, bei dem Tumore oder Hyperplasien der Nebennieren autonom Aldosteron sekretieren und eine Hypertonie auslösen. Außerdem können die Progression einer Herzinsuffizienz und fibrotischer Veränderungen von Organen, wie dem Herzen, der Blutgefäße oder der Nieren durch erhöhte Aldosteronspiegel verstärkt werden.

Als neuer alternativer Therapieansatz für diese Krankheitsbilder wurde die Hemmung der Aldosteronbiosynthese vorgeschlagen.⁶⁸ Das Enzym Aldosteron-Synthase (CYP11B2) bietet sich als Targetenzym an,^{69,70} da es ausschließlich die letzten drei Schritte der Aldosteronsynthese katalysiert, und somit bei einer Hemmung dieses Enzyms nicht in die Biosynthese anderer Steroidhormone eingegriffen wird. Durch Entwicklung nicht-steroidaler Inhibitoren, die eine möglichst große Selektivität gegenüber anderen Enzymen aufweisen, soll das Auftreten von Nebenwirkungen minimiert werden.

In den letzten Jahren wurden im Arbeitskreis von Prof. R. W. Hartmann nicht-steroidale CYP11B2-Hemmstoffe entwickelt, die aus einem stickstoffhaltigen Heterozyklus, z.B. Pyridin, der an ein anneliertes zweigliedriges Ringsystem gebunden ist, aufgebaut sind.^{17,70,110-117}

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung neuer hochwirksamer Inhibitoren des humanen CYP11B2, die eine deutliche Selektivität gegenüber dem hoch homologen CYP11B1-Enzym und weiteren steroidogenen und hepatischen CYP-Enzymen aufweisen. Zudem sollte die Entwicklung von Hemmstoffen, die sowohl das humane als auch das CYP11B2-Enzym der Ratte hemmen weitergeführt werden.

Dazu dienten – aufbauend auf den Ergebnissen von Dr. S. Lucas¹²⁰ – bekannte CYP11B2-Hemmstoffe mit Naphthalinstruktur (z.B. **MV22**, Abbildung 39, S. 70) als Leitstrukturen. Diese heterozyklisch substituierten Naphthaline sind hochpotente CYP11B2-Inhibitoren, die eine hohe Selektivität gegenüber CYP11B1 zeigen. Allerdings hemmen sie das hepatische Enzym CYP1A2 und sind nicht in der Lage, den Aldosteronspiegel *in vivo* (bei der Ratte) zu senken.

Folgende Modifikationen wurden durchgeführt (Abbildung 39):

- Erweiterung des naphthalinischen Molekülgerüsts durch einen Phenylsulfinylrest in Position 1 und eine Hydroxylfunktion in Position 2 (Kap.3.1 und 3.2).
- Austausch des „B-Rings“ des Naphthalins durch verschiedene sechsgliedrige Heterozyklen (Kap.3.3).
- Modifikation des „A-Rings“ der heterozyklisch substituierten Dihydrochinolinone durch Substitution einer Methylenbrücke mit einem Heteroatom und Austausch des Lactams durch ein Sultam (Kap. 3.4).

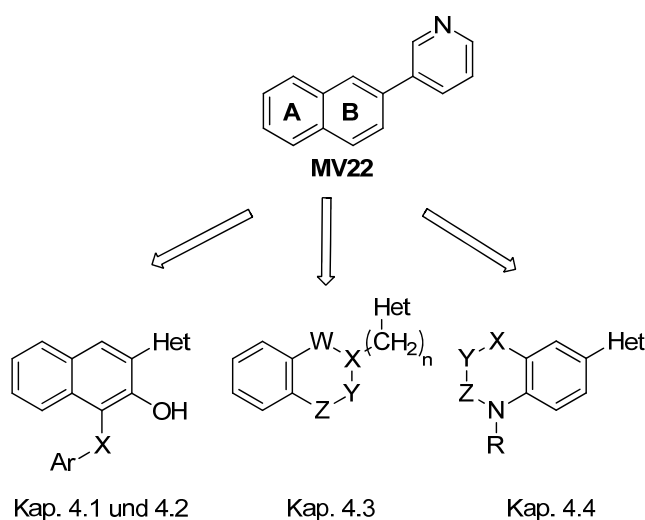


Abbildung 39: Leitstruktur MV22 mit einem Überblick über die durchgeführten strukturellen Modifikationen.

Heterozyklisch substituierte Naphthaline, die in Position 3 des Naphthalins durch einen carbozyklischen Rest erweitert sind, stellen potente Hemmstoffe des CYP11B2-Enzyms mit IC_{50} -Werte im niedrigen nanomolaren Bereich und herausragende Selektivitätsfaktoren gegenüber CYP11B1 dar (z.B. **SL395**, s. Kap. 1.4.3.2, Abbildung 20, S. 24).¹¹⁶

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob diese Verbindungsklasse optimiert werden kann, indem der Methylen- oder Carbonyllinker, der den carbozyklischen Rest mit dem Naphthalin verbindet, bioisoster durch eine schwefelhaltige Brücke (S, SO, SO₂) ersetzt wird (Kap. 3.1).

Die Syntheseroute ging von 2-Methoxynaphthalin aus, das über vier Stufen zum Triflat **1a** umgesetzt wurde (Abbildung 40, S. 71). Im nächsten Schritt war geplant, die Triflatfunktion palladiumkatalysiert nach einer von Itoh und Mase¹²³ beschriebenen Methode zur Knüpfung von Aryl-Aryl- oder Aryl-Alkyl-Thioethern durch einen Phenylsulfonylrest zu substituieren. Dieser Versuch war jedoch erfolglos.

Erst nach Umstellung der Reaktionsbedingungen – Weglassen des Katalysators und Austausch von Base und Lösungsmittel – wurde ein neues Produkt erhalten, das durch Analyse der Kristallstruktur als das 1,3-disubstituierte Naphthol **4** identifiziert wurde.

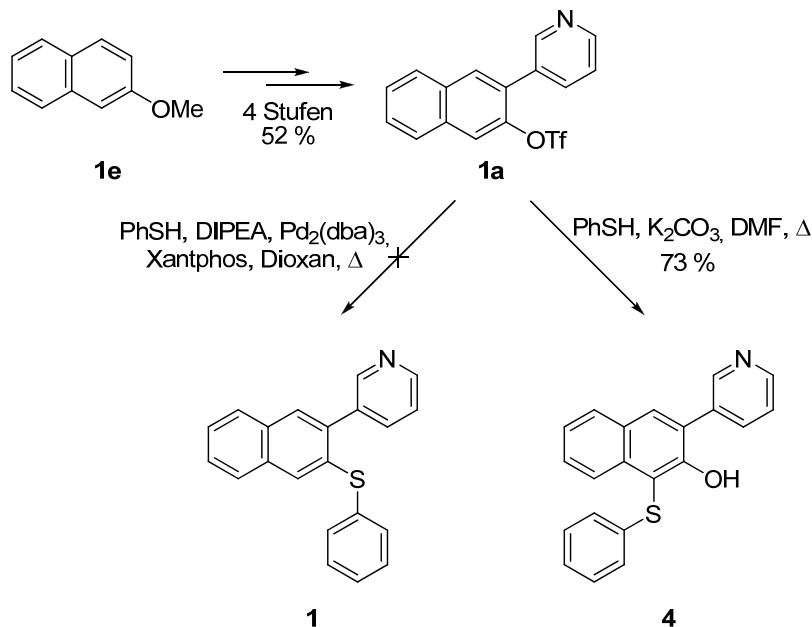


Abbildung 40: Geplanter letzter Schritt in der Synthese der 2,3-disubstituierten Naphthaline und erhaltene 1,3-disubstituierte Naphthole.

Da das 1,3-disubstituierte Naphthol **4** aufgrund seiner Substitution mit einem stickstoffhaltigen Heterozyklus in Position 3 eine interessante Leitstruktur für die Entwicklung von Hemmstoffen für CYP-Enzyme darstellt, wurde die neuartige S_{N,Ar}-Reaktion des Triflats **1a** mit Thiophenol weiter untersucht:

- Die Optimierung der Reaktionsbedingungen in Hinblick auf die Base und das Lösungsmittel ergab (Kap. 3.1.3), dass bei Verwendung von Kaliumkarbonat oder Natriumhydrid als Base und Dimethylformamid als Lösemittel **4** mit den höchsten Ausbeuten (73 bzw. 79 %) erhalten wurde (Abbildung 41).

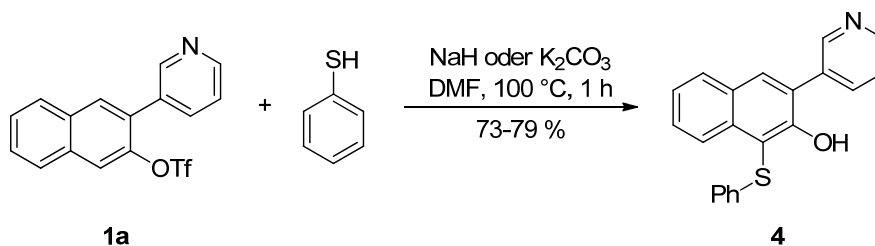


Abbildung 41: Optimierte Reaktionsbedingungen für die S_{N,Ar}-Reaktion des Triflats **1a** mit Thiophenol.

- Die Evaluierung der Übertragbarkeit der Reaktion auf weitere Edukte zeigte (Kap. 3.1.3), dass von den untersuchten Nucleophilen nur Thiophenol oder am Aromaten substituierte Thiophenole mit Triflat **1a** mit Ausbeuten von 34-73 % umgesetzt werden können. Aliphatische Thiole und andere Nucleophile wie Phenol oder Anilin reagieren unter den gewählten Bedingungen nicht.
- Die Struktur des Triflats lässt sich ebenfalls verändern: Zwar wurde mit Phenyltriflat **13a** kein Produkt erhalten, aber bei Verwendung der Derivate, bei denen das 3-Pyridin durch 4-Isochinolin ausgetauscht wurde (Triflat **12a**) oder die Position 3 unsubstituiert (Triflat **14a**) ist, wurden die entsprechenden Produkte – abhängig vom verwendeten Thiophenol – in Ausbeuten von 58-71 % erhalten. Somit stellt die untersuchte $S_{N,Ar}$ -Reaktion nicht nur einen neuen synthetischen Zugang zu 1,2,3-disubstituierten sondern auch zu 1,2-disubstituierten Naphthalinen dar.

Im zweiten Teil dieser Arbeit (Kap. 3.2) wird die Synthese und die Untersuchung der biologischen Aktivität der neuen 1,3-disubstituierten Naphthole und strukturell ähnlicher Verbindungen beschrieben. Der Schwerpunkt der Strukturmodifikationen lag auf der Einführung unterschiedlicher Substituenten am Phenylsulfanylrest (**4**, **6-8** und **16a-36a**) und der Oxidation der so erhaltenen Sulfide zum Sulfoxid (**5**, **16-36**). Daneben wurden 1,3-substituierte Naphthaline (**37**, **38**) hergestellt, um die Rolle der Hydroxylgruppe an C-2 auf die inhibitorische Wirkung zu untersuchen, und das ursprünglich geplante 2,3-disubstituierte Naphthalin **3** wurde über einen alternativen Weg synthetisiert (Abbildung 42).

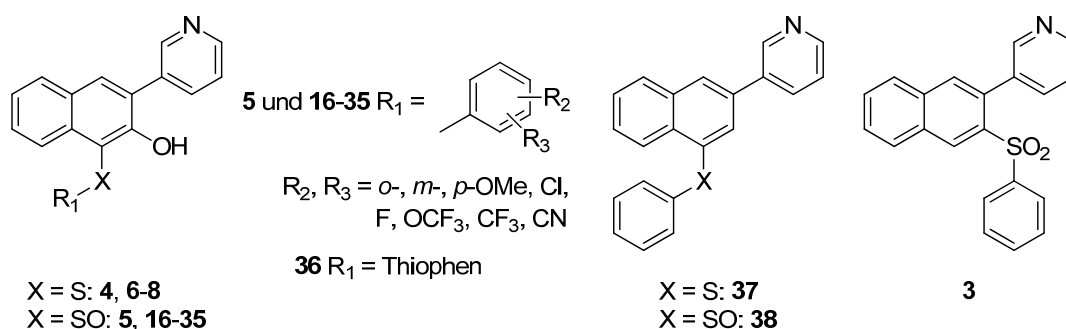


Abbildung 42: Übersicht über die in Kapitel 3.2 beschriebenen Verbindungen.

Die Evaluierung der biologischen Aktivität der Verbindungen ergab, dass die Sulfoxide **5** und **16-36** – mit Ausnahme des *para*-cyanosubstituierten Derivats **30** und der Thiophen-Verbindung **36** – potente Inhibitoren des humanen CYP11B2-Enzyms sind ($IC_{50} = 14\text{-}64$ nM), die keine oder nur eine geringe Hemmwirkung auf die humanen Enzyme CYP17 und

CYP19 ausüben ($< 5\%$ Hemmung, $c = 0,5 \mu\text{M}$). Die Selektivitätsfaktoren gegenüber *h*CYP11B1 variieren zwischen 17 und 415, sind aber mit Ausnahme des *ortho*-methoxy-substituierten Derivats **31** und der Thiophen-Verbindung **36** größer als 80. Die Sulfide **4** und **6-8** sowie das 2,3- und die 1,3-disubstituierten Naphthaline **3**, **37** und **38** zeigen keine oder nur eine geringe Hemmung von *h*CYP11B2.

Somit lassen sich die folgenden Struktur-Wirkungs-Beziehungen für die Verbindungs-klasse ableiten (Abbildung 43):

- Das Ergebnis, dass die Sulfoxide im Gegensatz zu den Sulfiden potente *h*CYP11B2-Inhibitoren sind, deutet darauf hin, dass die Oxidationsstufe des Schwefels wichtig für die inhibitorische Wirkung auf CYP11B2 ist. Gleiches gilt für die Hydroxylfunktion: Neben möglichen Wechselwirkungen mit Aminosäureresten des Enzyms könnte sie, mit dem Sauerstoff des Sulfoxids eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung eingehen, und somit die sterische Flexibilität des Phenylsulfinylrests einschränken. Dadurch würde der Entropieverlust verringert und der Phenylring in einer Konformation fixiert werden, in der die Affinität zum CYP11B2-Enzym erhöht ist.
- Unterschiedliche Substituenten am Phenylrest beeinflussen die inhibitorische Wirkung der Verbindungen auf die humanen Enzyme CYP11B2, CYP11B1, CYP17, CYP19 und auf das CYP11B2 der Ratte nur in geringem Maße. Durch Variation der Substituenten lassen sich möglicherweise die pharmakokinetischen Eigenschaften, z.B. die metabolische Stabilität, optimieren.

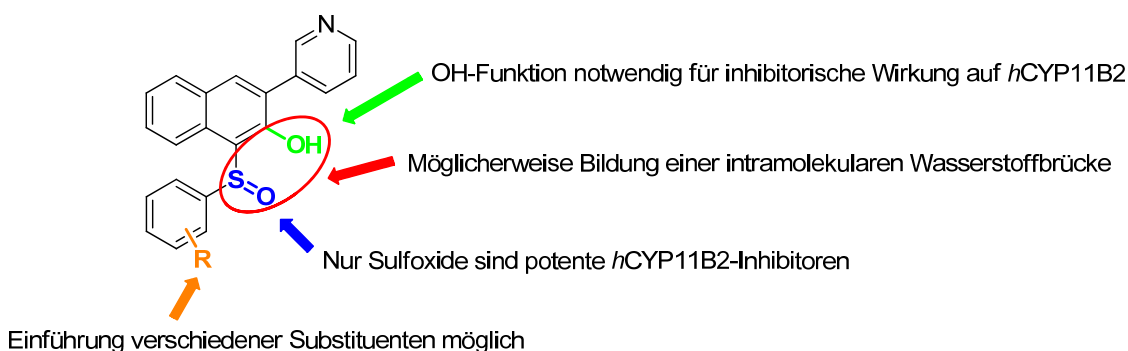


Abbildung 43: Struktur-Wirkungsbeziehungen für CYP11B2-Inhibitoren mit „Sulfoxid“-Struktur.

Die *para*-chlor- und die *meta*-trifluormethoxysubstituierte Verbindungen **19** und **25** sind die potentesten Hemmstoffe des humanen CYP11B2-Enzyms (**19**: $\text{IC}_{50} = 22 \text{ nM}$, **25**: $\text{IC}_{50} = 14 \text{ nM}$) dieser Klasse. Sie besitzen zudem eine hohe Selektivität von mehr als 400 gegenüber dem hoch homologen CYP11B1 (**19**: $\text{sf} = 407$, **25**: $\text{sf} = 415$) und üben im Gegensatz zu den mit einem Benzyl- oder Benzoylrest substituierten Naphthalinen¹¹⁶ keinen Einfluss auf

CYP17 (< 5 % Hemmung, $c = 2 \mu\text{M}$) und CYP19 (< 5 % Hemmung, $c = 0,5 \mu\text{M}$) aus (Abbildung 44).

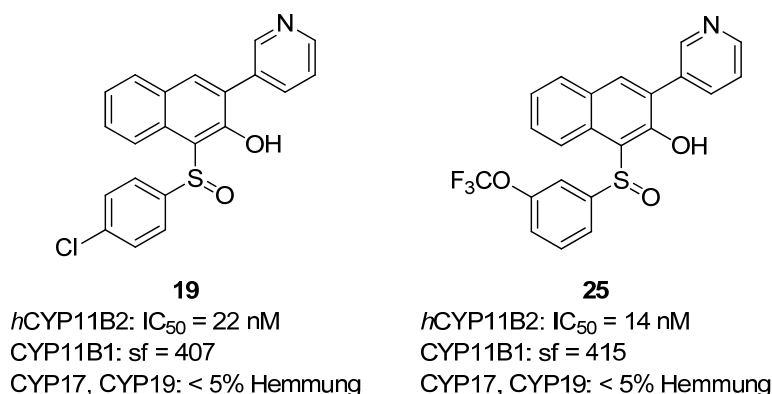


Abbildung 44: Die 1-phenylsulfinylsubstituierten 3-Pyridylnaphthole **19** und **25**.

Im dritten Teil dieser Arbeit (Kap. 3.3) stand die Entwicklung neuer Leitstrukturen im Vordergrund, bei denen der „B-Ring“ der CYP11B2-Inhibitoren mit Naphthalinstruktur durch sechsgliedrige Heteroaromaten ersetzt wurde. Durch Austausch von aromatischen C-H-Gruppen durch Heteroatome bzw. durch Einführen polarer Funktionalitäten sollte ein verbessertes Selektivitätsprofil gegenüber den hepatischen CYP-Enzymen, insbesondere gegenüber CYP1A2 erreicht werden (Abbildung 45). Allerdings zeigten die synthetisierten Chinazolindione **40-42**, Chinazolone **43-46** und das Chinazolin **47** keine oder nur eine geringe inhibitorische Wirkung gegenüber dem CYP11B2-Enzym und waren somit nicht für eine weitere Optimierung geeignet.

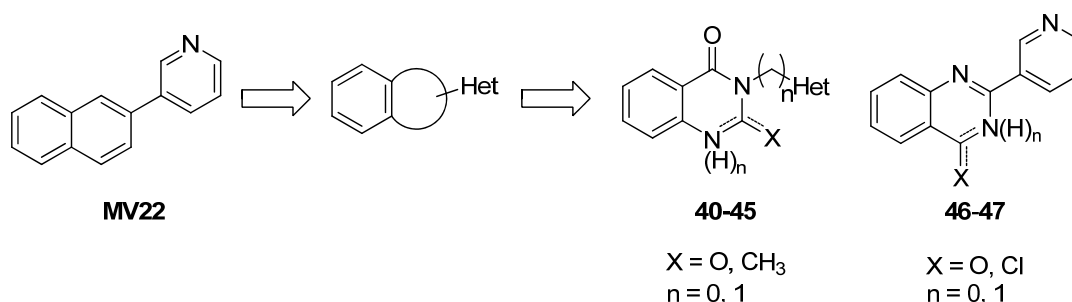


Abbildung 45: In Kap. 3.3 untersuchte potentielle CYP11B2-Hemmstoffe.

Im vierten Teil dieser Arbeit (Kap. 3.4) wurden heterozyklisch substituierte 3,4-Dihydrochinolin-2-one modifiziert, indem eine der Methylenebrücken (C-3 oder C-4) des Dihydropyridinon-Rings („A-Ring“) gegen ein Heteroatom – Sauerstoff oder Stickstoff – oder das Lactam gegen ein Sultam ausgetauscht wurde (Abbildung 46). Die Zielverbindungen

wurden ausgehend von den bromierten Vorstufen über eine *Suzuki*-Kreuzkupplung mit 3-Pyridin- oder 4-Isochinolinboronsäure synthetisiert.

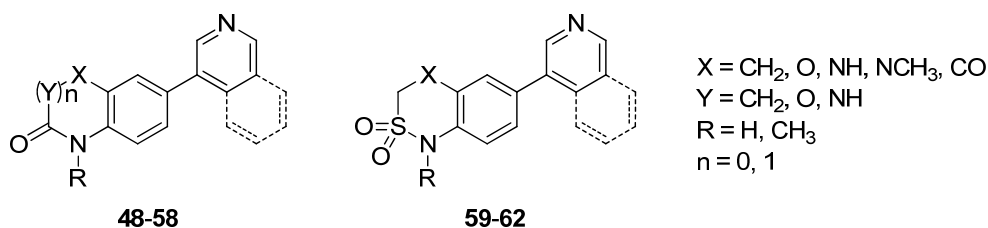


Abbildung 46: In Kap. 3.4 beschriebene Verbindungen.

Die Evaluierung der biologischen Aktivität der Verbindungen ergab folgende Struktur-Wirkungsbeziehungen (Abbildung 47, S. 76):

- Substitution einer Methylenbrücke in Position 3 oder 4 durch einen Wasserstoffbrückenakzeptor (O, NMe) beeinflusst die *h*CYP11B2-Hemmung nicht, senkt aber die Selektivität gegenüber CYP11B1. Ein Wasserstoffbrückendonator reduziert dagegen die inhibitorische Aktivität auf das *h*CYP11B2-Enzym.
- Bioisosterer Austausch der Lactamfunktion durch ein Sultam führt zu einem Verlust der inhibitorischen Wirkung auf das humane CYP11B2-Enzym. Eine mögliche Ursache ist die Änderung der planaren Geometrie der Lactame zur tetraedrischen der Sultame.
- Methylierung des Lactams oder Sultams resultiert in einem Anstieg der inhibitorischen Aktivität auf das *h*CYP11B2. Möglicherweise bewirkt die Methylierung im Vergleich zu den unsubstituierten Amiden eine Verbesserung der Zellgängigkeit. Diese These wird dadurch unterstützt, dass das freie Sultam **61** eine vierfach höhere inhibitorische Wirksamkeit im zellfreien im Vergleich zum zellulären *h*CYP11B2-Assay zeigt (70 % im Vergleich zu 16 %, *c* = 0,5 μM).
- Austausch des 3-Pyridins durch 4-Isochinolin steigert die inhibitorische Wirkung heterozyklisch substituierter Dihydrochinolinone auf das humane CYP11B2-Enzym. Zwei der isochinolyli substituierten Verbindungen (**51** und **56**) hemmen darüber hinaus das CYP11B2-Enzym der Ratte in etwa gleichem Umfang wie die Referenzverbindung **SL242** (50-65 %, *c* = 2 μM), so dass ihre pharmakodynamischen Eigenschaften *in vivo* in Ratten untersucht werden können.

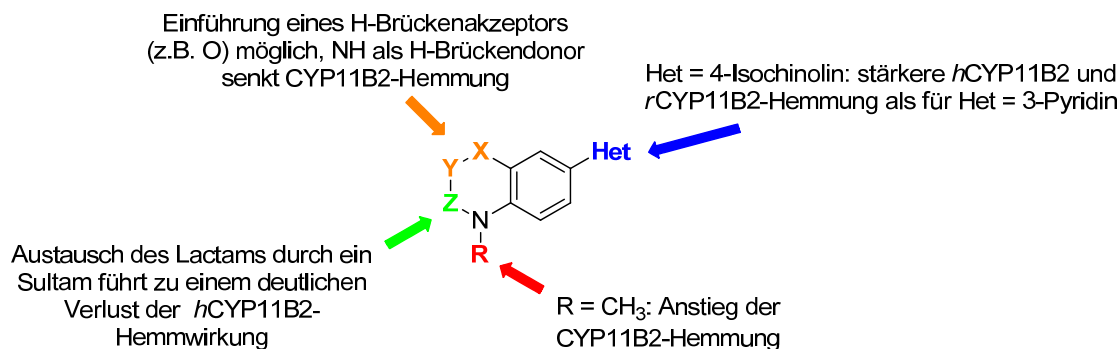


Abbildung 47: Strukturwirkungsbeziehungen der CYP11B2-Inhibitoren des Dihydrochinolinontyps.

Die besten in dieser Klasse neu entwickelten Hemmstoffe sind die 4-isochinoly-substituierten Benzoxazinone **51** und **56** (Abbildung 48). Sie hemmen das humane CYP11B2-Enzym mit IC_{50} -Werten im subnanomolaren Bereich, zeigen eine über 50-fache Selektivität gegenüber CYP11B1, zeigen nur eine geringfügige Hemmwirkung auf die steroidogenen Enzyme CYP17 und CYP19 und sind zudem in der Lage, das CYP11B2 der Ratte zu hemmen (**51**: *hCYP11B2*: $IC_{50} = 0,5$ nM, sf = 58, *ratCYP11B2*: 64 % Hemmung, c = 2 μ M; **56**: *hCYP11B2*: $IC_{50} = 0,3$ nM, sf = 54, *ratCYP11B2*: 51 % Hemmung, c = 2 μ M).

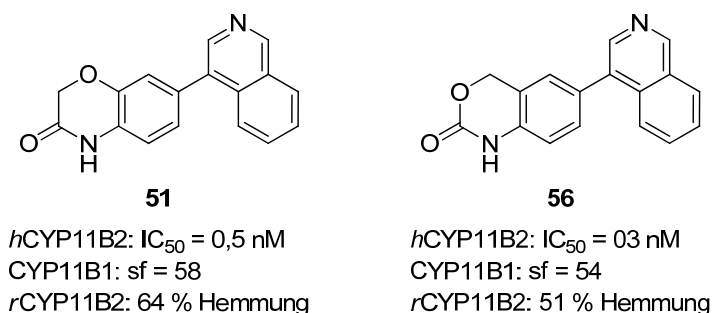


Abbildung 48: Die Verbindungen **51** und **56**.

4.2 Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden in zwei unterschiedlichen Substanzklassen hochwirksame Inhibitoren des CYP11B2-Enzyms entwickelt, die Selektivität gegenüber dem hoch homologen CYP11B1-Enzym und weiteren steroidogenen CYP-Enzymen zeigen.

- In der Hemmstoffklasse der 1-Phenylsulfinyl-3-(3-pyridyl)-2-naphthole (Kap. 3.1) stellt neben weiteren Verbindungen insbesondere das *para*-Chlor- **19** und das *meta*-Trifluormethoxy-Derivat **25** einen interessanten Inhibitor des humanen CYP11B2-Enzyms dar ($IC_{50} = 14$ nM, sf = 415). Allerdings zeigt diese Verbindungsklasse keine inhibitorische Wirkung auf das CYP11B2-Enzym der Ratte. Somit sind für eine Weiterentwicklung der Phenylsulfinylnaphthole zwei Punkte abzuklären:

- Zurzeit wird untersucht, ob die pharmakokinetischen Eigenschaften geeignet sind, um die Verbindungen *in vivo* – vorzugsweise peroral – einzusetzen und auf welche Weise und wie schnell sie metabolisiert werden.
- Weiterhin muss eine Spezies gefunden werden, deren CYP11B2-Enzym von den Phenylsulfinylnaphtholen gehemmt wird und in der die pharmakodynamischen Eigenschaften *in vivo* evaluiert werden können.
- Falls diese Punkte gelöst sind, kann die Verbindungsklasse durch weitere Strukturmodifikationen optimiert werden (Abbildung 49):
 - In der Klasse der Naphthaline wurde gezeigt, dass durch Einfügen von Substituenten am Pyridin an C-4 oder C-5 bzw. durch Austausch des 3-Pyridins durch 4-Isochinolin die inhibitorische Wirkung der Hemmstoffe verändert werden können.¹¹⁵
 - Einfügen von Substituenten, insbesondere von funktionellen Gruppen mit Wasserstoffbrückenakzeptoreigenschaften an C-7 des Naphthalins könnte die inhibitorische Wirksamkeit gegenüber des humanen CYP11B2 erhöhen.

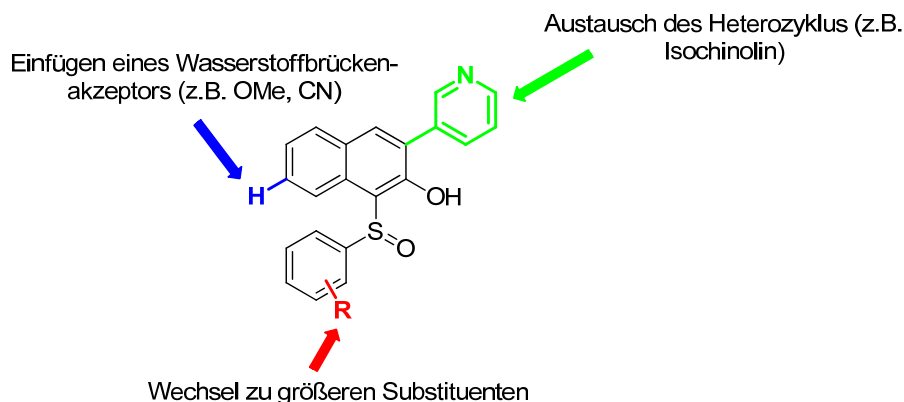


Abbildung 49: Ausblick über mögliche Optimierungen der Phenylsulfinylnaphthole.

- Auch in der Klasse der CYP11B2-Inhibitoren vom Dihydrochinolinon-Typ (Kap. 3.4) wurden hochpotente Hemmstoffe gefunden. Insbesondere die 4-isochinoly-substituierten Benzoxazinone **51** und **56** zeigen IC_{50} -Werte kleiner als 1 nM für das humane CYP11B2-Enzym und hemmen darüber hinaus das CYP11B2 der Ratte. Somit stellen diese Verbindungen – falls ihre pharmakokinetischen Eigenschaften es zulassen – aussichtsreiche Kandidaten dar, um zuerst ihre Fähigkeit zu prüfen, *in vivo* den Aldosteronspiegel im Blut zu senken, und um anschließend auf ihre Effektivität in einem *in-vivo*-Krankheitsmodell für Myokardfibrose oder Herzinsuffizienz (s. Kap. 1.3.2) untersucht zu werden.

5 Experimenteller Teil

5.1 Synthetischer Teil

5.1.1 Chemical and Analytical Methods

Melting points were measured on a Mettler FP1 melting point apparatus and are uncorrected. $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ were recorded on a Bruker AM500 spectrometer at 500 MHz and 125 MHz, respectively, at 300 K. Chemical shifts are reported in parts per million (ppm), by reference to the hydrogenated residues of the deuterated solvent as internal standard. All coupling constants (J) are given in Hertz (Hz). Mass spectra (LC/UV/MS: ESI) were recorded on a SpectraSystem/MSQ Plus (ThermoFinnigan) instrument with a RP18-100-5 column (Macherey-Nagel). A water/acetonitrile gradient was used as eluent system. All compounds submitted to biological assays are > 95 % chemical pure as measured by LC/UV trace at 254 nm. Elemental analyses were performed at the department of Instrumental Analysis and Bioanalysis, Saarland University. Yields refer to purified products and are usually not optimized. Reagents were used as obtained from commercial suppliers without further purification. If necessary, solvents were dried by distillation from appropriate drying reagents prior to use. Flash chromatography was performed on silica gel 40 (35/40–63/70 μM) with petroleum ether/ethyl acetate or CH_2Cl_2 /methanol mixtures as eluents. Reaction progress was monitored by thin-layer chromatography on TLC Silica Gel 60 F_{254} (Merck KGaA). Visualization was accomplished with UV light. Microwave irradiation experiments were carried out in a CEM-Discover monomode microwave apparatus.

The following compounds were prepared as previously described: 3-methoxynaphthalen-2-ylboronic acid (**1d**),¹²¹ 3-(3-methoxynaphthalen-2-yl)pyridine (**1c**),¹¹¹ 3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (**1b**),¹¹⁶ 2-methoxy-3-(phenylsulfonyl)naphthalene (**3c**),¹³² 2-naphthyl trifluoromethanesulfonate (**14a**),¹⁵⁹ 4-mercaptobenzonitrile (**30b**),^{129,130} 3-mercaptobenzonitrile (**31b**),^{129,130} 3-bromo-1-fluoronaphthalene (**37b**),¹³¹ 2-methyl-4*H*-benzo[*d*][1,3]oxazin-4-one (**43a**),¹⁴⁶ 2-(Pyridin-3-yl)quinazolin-4(3*H*)-one (**46**),¹⁴⁷ 4-chloro-2-(pyridin-3-yl)quinazoline (**47**),¹⁴⁹ and (2-Amino-5-bromophenyl)methanol (**55b**).⁴³

5.1.1.1 General Procedures

Procedure A (Used for all reactions in “Tabelle 1”, p. 37, and entries 6-8, 11, and 12 in “Tabelle 2”, p. 38)

Base (0.5 mmol, 2 equivalents) was suspended in 1 ml solvent under an atmosphere of nitrogen. Nucleophile (0.3 mmol, 1.2 equivalents) and subsequently triflate (0.25 mmol, 1 equivalent) dissolved in 1 ml solvent were added. The mixture was stirred at 100 °C for 1 h and subsequently cooled to room temperature, before it was diluted with water. The aqueous layer was extracted four times with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄ and the solvents were removed under reduced pressure. The products were obtained by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 99.5/0.5).

Procedure B (Used for entries 2-5, 9, and 10 in “Tabelle 2”, p. 38, and synthesis of compounds 16a-36a, chapter 3.2.2)

Dry potassium carbonate (2 equivalents) and the appropriate thiol (1.2 equivalents) were subsequently added to a solution of triflate (1 equivalent) in dry DMF under an atmosphere of nitrogen. The mixture was stirred at 100 °C for 0.5 to 3 h, cooled to room temperature, before water was added. The aqueous layer was extracted exhaustively with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and the solvents were removed under reduced pressure. The products were obtained after purification by flash chromatography on silica gel (petroleum ether/ethyl acetate or CH₂Cl₂/methanol mixtures).

Procedure C: Oxidation Sulfide → Sulfoxide

m-CPBA (1 equivalent) was added in portions to a solution of the sulfide (1 equivalent) in CH₂Cl₂. The mixture was stirred at room temperature until the conversion was complete (0.5 to 3 h, monitored by TLC). It was washed with saturated aqueous Na₂CO₃ and subsequently with brine and it was dried over anhydrous MgSO₄. Evaporation of the solvents under reduced pressure and purification by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol mixtures) afforded the sulfoxides.

Procedure D: Suzuki cross coupling reaction with microwave heating¹⁵⁰

Heteroaryl boronic acid (1.3 equivalents), aryl bromide (1 equivalent), and tetrakis(triphenylphosphine) palladium(0) (5 mol %) were suspended in 1.5 ml DMF in a 10 ml septum-capped tube containing a stirring magnet. A solution of sodium bicarbonate (3 equivalents) in 1.5 ml water was added. The tube was flushed with nitrogen and the vial was sealed tightly with a Teflon crimp top. The mixture was irradiated for 15 min at a temperature of 150 °C with an initial irradiation power of 100 W. After cooling to room temperature, the crude mixture was partitioned between ethyl acetate and water and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, concentrated, and purified by flash chromatography and if necessary crystallization.

Procedure E: Suzuki cross coupling reaction with conventional heating

Heteroaryl boronic acid (1.3 equivalents), aryl bromide (1 equivalent), and tetrakis(triphenylphosphine) palladium(0) (5 mol %) were suspended in DME to give a 0.07-0.1 M solution of boronic acid under nitrogen atmosphere. A 0.5 M aqueous solution of sodium carbonate (6 equivalents) was added. The mixture was refluxed for 3.5-14 h, cooled to room temperature, diluted with water and extracted several times with ethyl acetate. The combined extracts were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, concentrated, and purified by flash chromatography and if necessary crystallization.

5.1.1.2 Synthesis of compounds described in chapter 3.1 and 3.2

3-(Pyridin-3-yl)naphthalen-2-yl trifluoromethanesulfonate (**1a**)¹¹⁶

Pyridine (1.6 ml, 19.6 mmol) and subsequently trifluoromethanesulfonic anhydride (3.7 ml, 22.2 mmol) were added dropwise to a solution of crude 3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (**1b**, 3.54 g, 16.0 mmol) in 370 ml CH₂Cl₂ at 0 °C under an atmosphere of nitrogen. The mixture was stirred for 1 h at 0 °C, before it was washed with water and brine. The combined organic layers were dried over anhydrous MgSO₄. Evaporation of the solvent and purification by flash chromatography on silica gel (petroleum ether/ethyl acetate 3.5/1) afforded **1a** as yellow oil (3.57 mg, 10.1 mmol, 63 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.43 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.9 Hz, ⁵*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.60-7.64 (m, 2H), 7.88 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.91-7.94 (m, 4H), 8.70 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.80 (dd, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 118.4 (q, ¹*J* = 320.8 Hz), 120.4, 123.1, 127.8, 127.9, 128.0, 130.1, 131.5, 131.8, 132.4, 132.9, 132.9, 136.9, 144.6, 149.5, 150.1.

3-(Phenylsulfonyl)naphthalen-2-ol (**3b**)

2-Methoxy-3-(phenylsulfonyl)naphthalene (**3c**, 4.21 g, 14.1 mmol) was refluxed in 150 ml 48 % HBr overnight, cooled to 0 °C, dissolved with water and neutralized with Na₂CO₃. The aqueous solution was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄. Removal of solvents under reduced pressure afforded crude **3b** as orange oil (4.1 g) in quantitative yield. The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.36-7.40 (m, 2H), 7.50-7.54 (m, 3H), 7.59 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, 1H), 7.69 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.83 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 2H), 8.38 (s, 1H), 8.70 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.9, 125.0, 126.5, 126.9, 129.0, 129.1, 129.5, 129.6, 129.7, 131.6, 133.7, 127.8, 141.5, 150.7.

3-(Phenylsulfonyl)naphthalen-2-yl trifluoromethanesulfonate (3a)

Pyridine (1.6 ml, 20.0 mmol) and subsequently trifluoromethanesulfonic anhydride (2.8 ml, 17.1 mmol) were added dropwise to a solution of **3b** (4.06 g, 14.3 mmol) in 150 ml CH₂Cl₂ at 0 °C under an atmosphere of nitrogen. The mixture was stirred at 0 °C for 3 h, before an aqueous solution of saturated Na₂CO₃ was added. The layers were separated and the aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were washed with brine and dried over MgSO₄. Evaporation of the solvent and purification by flash chromatography (petroleum ether/ethyl acetate 8/1) afforded **3a** as off-white foam (3.42 g, 8.2 mmol, 58 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.51-7.55 (m, 2H), 7.61 (dd, $^3J = ^3J = 7.6$ Hz, 1H), 7.69-7.75 (m, 2H), 7.80 (s, 1H), 7.88 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 8.03 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 2H), 8.08 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 8.88 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 118.5 (q, $^1J = 320.8$ Hz), 120.5, 128.0, 128.4, 128.7, 129.2, 129.5, 130.6, 130.8, 131.5, 133.1, 133.8, 135.5, 140.4, 142.6.

3-(3-(Phenylsulfonyl)naphthalen-2-yl)pyridine (3)

A 0.5 M solution of ZnCl₂ in THF (6.8 ml, 3.38 mmol) was added to a solution of **3a** (1.28 g, 3.07 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (178 mg, 0.15 mmol, 5 mol %) in THF (10 ml). After stirring for 1 h at room temperature a Grignard solution, freshly prepared from 3-bromopyridine (390 μ l, 4.00 mmol) and 0.96 M *i*-PrMgCl·LiCl solution (4.5 ml, 4.3 mmol) at -10 °C,¹³³ was added slowly at 50 °C. The resulting mixture was stirred at 50 °C for 5 h, then allowed to reach room temperature, before 2 M HCl was added. The organic layer was separated. Then, the aqueous solution was washed with *n*-hexane and afterwards neutralised with aqueous Na₂CO₃ solution, before it was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄ and concentrated. Compound **3** (349 mg, 1.01 mmol, 33 %) was obtained after purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as off-white solid.

Melting point: 152 °C.

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-*d*₄, δ in ppm): δ = 7.30 (d, $^3J = 7.3$ Hz, 2H), 7.36-7.40 (m, 3H), 7.55-7.60 (m, 1H), 7.77-7.80 (m, 2H), 7.83 (s, 1H), 8.02 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1H), 8.09 (d, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 8.26 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 8.54 (dd, $^3J = 4.7$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1H), 9.06 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-*d*₄, δ in ppm): δ = 124.1, 128.6, 129.1, 129.5, 130.1, 130.5, 131.2, 132.0, 133.0, 133.7, 134.2, 134.5, 136.3, 136.4, 138.3, 140.3, 142.2, 149.1, 150.8.

MS *m/z* 346.03 (MH⁺).

1-(Phenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (4)

Compound **4** was obtained according to procedure A using **1a** (88 mg, 0.25 mmol) and thiophenol (31 μ l, 0.3 mmol) in DMF (2 ml) after flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 99.5/0.5) as colorless solid (59 mg, 0.53 mmol, 73 %).

Melting point: 105 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.09 (dd, ³*J* = 7.3 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 2H), 7.13 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, 1H), 7.20 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, 2H), 7.38-7.44 (m, 2H), 7.53 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.87 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.06 (ddd, ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.24 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.94 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 109.6, 122.9, 124.5, 124.8, 126.2, 126.56, 126.61, 128.3, 128.8, 129.25, 129.28, 133.0, 133.5, 134.9, 135.2, 136.9, 148.7, 150.1, 154.5.

MS *m/z* 329.94 (MH⁺).

1-(Phenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (5)

Compound **5** was obtained according to procedure C using **4** (165 mg, 0.50 mmol) and *m*-CPBA (123 mg, 0.50 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as colorless solid (129 mg, 0.37 mmol, 75 %).

Melting point: 142 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.36 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.9 Hz, ⁵*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.42-7.48 (m, 4H), 7.58 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.74-7.76 (m, 2H), 7.83 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.01 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H), 8.04 (dd, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 8.61 (dd, ³*J* = 4.9, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.83 (dd, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 11.99 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.9, 120.3, 122.8, 124.6, 125.2, 128.4, 129.1, 129.6, 129.9, 130.8, 131.7, 132.3, 134.0, 137.1, 142.8, 148.8, 150.1, 158.0.

MS *m/z* 346.01 (MH⁺).

1-(4-Methoxyphenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (6)

Compound **6** was obtained according to procedure B using **1a** (707 mg, 2.00 mmol) and 4-methoxythiophenol (295 μ l, 2.40 mmol) in DMF (20 ml) after flash chromatography on silica gel (petroleum ether/ethyl acetate 2/1) and crystallization from ethanol as colorless solid (303 mg, 0.48 mmol, 42 %).

Melting point: 164 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.72 (s, 3H), 6.76 (ddd, ³*J* = 8.8 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.7 Hz, 2H), 7.11 (ddd, ³*J* = 9.1 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.7 Hz, 2H), 7.38-7.42 (m, 2H), 7.54 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.85 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.06 (ddd, ³*J* = 7.3 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.29 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.63 (dd, ³*J* = 4.9 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.93 (dd, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 55.3, 111.3, 115.0, 122.9, 124.4, 124.8, 125.4, 126.5, 128.2, 128.7, 129.2, 129.3, 132.7, 133.6, 135.0, 136.9, 148.6, 150.0, 154.2, 158.7.

MS *m/z* 360.02 (MH⁺).

1-(3-Methoxyphenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (7)

Compound **7** was obtained according to procedure B using **1a** (707 mg, 2.00 mmol) and 3-methoxythiophenol (297 μ l, 2.40 mmol) in DMF (20 ml) after flash chromatography on silica gel (petroleum ether/ethyl acetate 3/1) and crystallization from ethanol as colorless solid (446 mg, 1.24 mmol, 62 %).

Melting point: 157 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.67 (s, 3H), 6.43-6.66 (m, 3H), 7.09 (dd, ³*J* = ³*J* = 8.0 Hz, 1H), 7.36-7.41 (m, 2H), 7.50-7.53 (m, 2H), 7.84 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 8.04 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.21 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 8.61 (dd, ³*J* = 4.9 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.91 (dd, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 55.2, 109.4, 111.5, 112.5, 118.9, 122.9, 124.5, 124.8, 126.6, 128.3, 128.8, 129.3, 130.1, 133.1, 133.5, 135.2, 136.2, 136.8, 148.7, 150.1, 154.6, 160.2.

MS *m/z* 360.01 (MH⁺).

1-(2-Methoxyphenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (8)

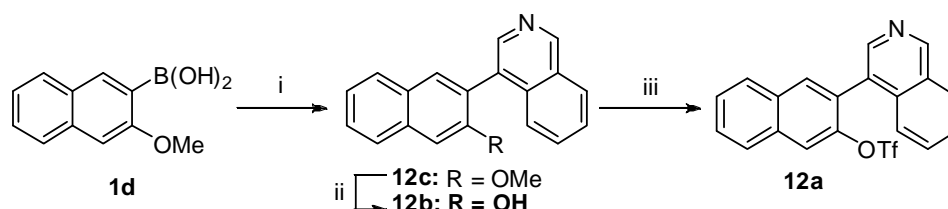
Compound **8** was obtained according to procedure B using **3a** (556 mg, 1.57 mmol) and 2-methoxythiophenol (230 μ l, 1.89 mmol) in DMF (20 ml) after flash chromatography on silica gel (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) and crystallization from ethanol as colorless solid (191 mg, 0.53 mmol, 34 %).

Melting point: 167-168 °C

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 3.99 (s, 3H), 6.73-6.77 (m, 2H), 6.90 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.13-7.17 (m, 1H), 7.37-7.42 (m, 2H), 7.54 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.85 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.05 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 4J = 2.0 Hz, 1H), 8.32 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.62 (dd, 3J = 4.7 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1H), 8.92 (d, 4J = 2.2 Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 56.0, 109.5, 110.8, 121.5, 122.9, 122.9, 124.3, 124.9, 126.7, 127.7, 128.1, 128.6, 128.7, 129.3, 132.7, 133.7, 135.5, 136.8, 148.6, 150.1, 154.8, 156.9.

MS m/z 359.99 (MH^+).

3-(Isoquinolin-4-yl)naphthalen-2-yl trifluoromethanesulfonate (12a)

Reagents and conditions: (i) 4-bromoisoquinoline, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, aq. Na_2CO_3 , toluene/ethanol (4/1 v/v), reflux, 14 h; (ii) aq. HBr (48 %), reflux, 14 h; (iii) Tf_2O , pyridine, CH_2Cl_2 , 0 °C, 1.5 h.

3-Methoxynaphthalen-2-ylboronic acid (**1d**, 4.44 g, 22.0 mmol), 4-bromoisoquinoline (4.58 g, 22.0 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (380 mg, 0.33 mmol, 1.5 mol %) were suspended in 180 ml toluene and 50 ml ethanol under an atmosphere of nitrogen. To this solution, a 0.5 M aqueous solution of Na_2CO_3 (264 ml, 132 mmol) was added. The mixture was refluxed overnight, cooled to room temperature, diluted with saturated aqueous NH_4Cl , and extracted exhaustively with ethyl acetate. Drying of the combined extracts over MgSO_4 and evaporation of the solvents under reduced pressure afforded **12c** as off-white solid (5.82 g, 20.3 mmol, 93 %). The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.82 (s, 3H), 7.31 (s, 1H), 7.41 (ddd, $^3J = ^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H), 7.52 (ddd, $^3J = ^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.2$ Hz, 1H), 7.60-7.62 (m, 3H), 7.79 (s, 1H), 7.82 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 7.85 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 8.03-8.05 (m, 1H), 8.54 (s, 1H), 9.30 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 55.4, 105.6, 124.2, 125.4, 126.5, 126.7, 126.9, 127.6, 127.7, 127.8, 128.2, 128.6, 130.1, 130.2, 131.3, 134.6, 135.1, 143.5, 152.2, 156.0.

A suspension of **12c** (5.82 g, 20.3 mmol) in 250 ml 48 % aqueous HBr was refluxed overnight. The mixture was cooled to 0 °C, neutralized with NaOH and NaHCO₃, extracted exhaustively with ethyl acetate and dried over anhydrous MgSO₄. Removal of the volatiles under reduced pressure afforded crude 3-(isoquinolin-4-yl)naphthalen-2-ol (**12b**) as brown solid (4.27 g, 15.7 mmol, 79 %). The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.33 (ddd, $^3J = ^3J = 7.4$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.46 (ddd, $^3J = ^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.2$ Hz, 1H), 7.58 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H), 7.67-7.73 (m, 2H), 7.79 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 7.84-7.86 (m, 2H), 8.18-8.21 (m, 1H), 8.46 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 9.92 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 109.0, 123.0, 125.1, 125.6, 126.4, 126.6, 127.1, 127.5, 127.6, 127.7, 130.1, 130.3, 130.7, 134.1, 134.4, 142.8, 151.8, 153.6.

Compound **12a** was obtained as described for **1a** by reaction of a solution of **12b** (3.00 g, 11.0 mmol) in 500 ml CH₂Cl₂ with pyridine (1.3 ml, 15.5 mmol) and trifluoromethanesulfonic anhydride (2.2 ml, 13.2 mmol) for 1.5 h. Purification by flash chromatography on silica gel (petroleum ether/CH₂Cl₂ 1/1) afforded **12a** as yellow oil (506 mg, 1.25 mmol, 11 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.59-7.61 (m, 1H), 7.63-7.70 (m, 4H), 7.94 (d, $^3J = 7.7$ Hz, 1H), 7.98-8.00 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 8.09 (dd, $^3J = 6.5$ Hz, $^4J = 2.6$ Hz, 1H), 8.58 (s, 1H), 9.36 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 118.1 (q, $^1J = 320.6$ Hz), 119.9, 120.0, 124.5, 127.1, 127.5, 127.8, 127.91, 127.95, 127.99, 128.1, 128.6, 131.0, 132.3, 132.7, 133.2, 134.6, 144.2, 145.4, 153.3.

3-(Isoquinolin-4-yl)-1-(phenylthio)naphthalen-2-ol (12)

Compound **12** was obtained according to procedure B using **12a** (241 mg, 0.60 mmol) and thiophenol (73 μ l, 0.72 mmol) in DMF (7 ml) after flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow foam (145 mg, 0.38 mmol, 64 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.12-7.17 (m, 3H), 7.24 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, 2H), 7.36 (bs, 1H), 7.45 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.58 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.62-7.68 (m, 3H), 7.87 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.05-8.08 (m, 1H), 8.31 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.61 (s, 1H), 9.32 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 109.2, 124.5, 124.9, 125.2, 125.5, 126.2, 126.6, 127.2, 127.9, 128.2, 128.3, 128.7, 129.2, 129.3, 129.5, 130.4, 134.4, 134.7, 135.1, 135.4, 143.4, 152.7, 155.3.

MS *m/z* 380.05 (MH⁺).

3-(Isoquinolin-4-yl)-1-(3-methoxyphenylthio)naphthalen-2-ol (13)

Compound **13** was obtained according to procedure B using **12a** (250 mg, 0.62 mmol) and 3-methoxythiophenol (92 μ l, 0.74 mmol) in DMF (10 ml) after flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow foam (180 mg, 0.44 mmol, 71 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.71 (s, 3H), 6.68-6.71 (m, 3H), 7.14 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁵*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.35 (bs, 1H), 7.45 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.58 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.62-7.67 (m, 3H), 7.87 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 8.04-8.06 (m, 1H), 8.31 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.59 (s, 1H), 9.32 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 55.2, 109.1, 111.6, 112.4, 118.9, 124.5, 124.9, 125.2, 125.5, 127.3, 127.9, 128.2, 128.3, 128.7, 129.2, 129.6, 130.1, 130.5, 134.5, 134.8, 135.4, 136.4, 143.3, 152.6, 155.3, 160.2.

MS *m/z* 410.01 (MH⁺).

1-(Phenylthio)naphthalen-2-ol (14)

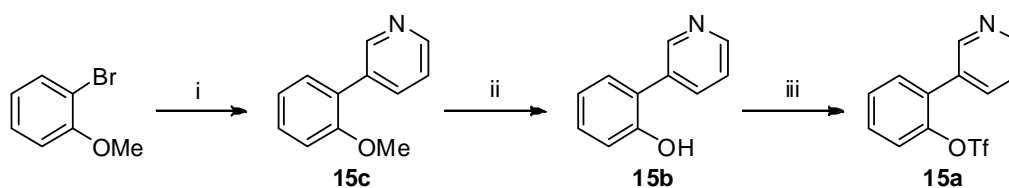
Compound **14** was obtained according to procedure A using **14a** (90 mg, 0.33 mmol) and thiophenol (41 μ l, 0.4 mmol) in DMF (2 ml) after flash chromatography on silica gel (petroleum ether) as colorless solid (48 mg, 0.19 mmol, 58 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.03-7.06 (m, 2H), 7.10-7.13 (m, 1H), 7.16-7.20 (m, 2H), 7.35-7.40 (m, 2H), 7.50 (ddd, ³J = ³J = 6.9 Hz, ⁴J = 1.4 Hz, 1H), 7.83 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H), 7.92 (d, ³J = 8.8 Hz, 1H), 8.23 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 0.9 Hz, 1H), 8.52 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 108.0, 116.8, 123.8, 124.7, 125.9, 126.4, 127.9, 128.5, 129.1, 129.5, 132.8, 135.3, 135.4, 157.0.

MS m/z 252.0 (GC-MS: Trace GC Ultra/AI/AS3000/DSQII (ThermoFinnigan) with a column capillary RTX-5ms, carrier gas: helium).

The spectrum is in accordance to a spectrum for this compound reported by Maeda *et al.*¹⁶⁰

2-(Pyridin-3-yl)phenyl trifluoromethanesulfonate (15a)

Reagents and conditions: (i) Pyridine-3-boronic acid, Pd(PPh₃)₄, aq. Na₂CO₃, toluene/ethanol (4/1 v/v), reflux, 14 h; (ii) aq. HBr (48 %), reflux, 14 h; (iii) Tf₂O, pyridine, CH₂Cl₂, 0 °C, 1 h.

Compound **15c** was obtained as described for **12c** by reaction of pyridine-3-boronic acid (0.96 g, 7.8 mmol), 2-bromoanisole (1.27 ml, 10.1 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) (462 mg, 0.40 mmol, 5 mol %) and a 0.5 M aqueous solution of Na₂CO₃ (72 ml, 28.2 mmol) in 50 ml toluene and 15 ml ethanol overnight. Purification by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 97/3) afforded **15c** as yellow oil (320 mg, 1.73 mmol, 22 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.82 (s, 3H), 7.01 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H), 7.05-7.08 (m, 1H), 7.31-7.33 (m, 2H), 7.36-7.39 (m, 1H), 7.85 (d, ³J = 7.5 Hz, 1H), 8.55 (d, ³J = 5.0 Hz, 1H), 8.77 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 17.9, 73.7, 83.5, 85.3, 89.5, 91.9, 93.1, 96.6, 99.2, 110.4, 112.7, 119.0.

A suspension of **15c** (293 mg, 1.6 mmol) in 20 ml aqueous 48 % HBr was refluxed overnight. Subsequently, the mixture was cooled to 0 °C and neutralized with NaOH and NaHCO₃. The precipitate was collected and dried over silica gel under reduced pressure to afford crude 2-(pyridin-3-yl)phenol (**15b**) (296 mg) in quantitative yield. The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 6.91-6.92 (m, 1H), 6.98 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1H), 7.20-7.23 (m, 1H), 7.30 (dd, ³J = 7.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, 1H), 7.4 -7.43 (m, 1H), 7.95 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H), 8.48 (dd, ³J = 5.0 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, 1H), 8.73 (d, ⁴J = 1.5 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 116.0, 119.4, 123.0, 124.2, 129.2, 130.1, 134.1, 136.2, 147.3, 149.4, 154.5.

To a solution of **15b** (230 mg, 1.4 mmol) in 20 ml CH₂Cl₂ was added pyridine (0.13 ml, 1.62 mmol) and trifluoromethanesulfonic anhydride (0.32 ml, 1.89 mmol) as described for **1a**. Compound **15a** was obtained after purification by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow oil (248 mg, 0.82 mmol, 59 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.39-7.41 (m, 1H), 7.41-7.42 (m, 1H), 7.45-7.50 (m, 3H), 7.79-7.82 (m, 1H), 8.67 (dd, ³J = 5.0 Hz, ⁴J = 1.5 Hz, 1H), 8.71 (d, ⁴J = 1.5 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 117.0 (q, ¹J = 320.2 Hz), 122.3, 123.2, 128.8, 130.0, 131.5, 131.8, 132.0, 136.7, 146.8, 149.5, 149.9.

1-(4-Methoxyphenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (**16**)

Compound **16** was obtained according to procedure C using **6** (145 mg, 0.40 mmol) and *m*-CPBA (100 mg, 0.40 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) and crystallization with HCl (2N in diethyl ether) as colorless solid (117 mg, 0.28 mmol, 71 %).

Melting point: 161 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 3.80 (s, 3H), 6.96 (ddd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = ⁴J = 1.8 Hz, 2H), 7.37-7.42 (m, 2H), 7.52 (dd, ³J = ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H), 7.74 (ddd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = ⁴J = 2.5 Hz, 2H), 7.82 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H), 7.90-7.91 (m, 2H), 8.04 (ddd, ³J = 7.8 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, ⁴J = 1.9 Hz, 1H), 8.63 (dd, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1H), 8.86 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1 H), 12.31 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃): δ = 55.5, 113.5, 115.2, 120.1, 122.9, 124.5, 127.7, 127.9, 128.2, 129.1, 129.9, 130.4, 132.5, 133.8, 134.0, 137.2, 148.8, 150.1, 157.9, 162.6.

MS *m/z* 375.95 (MH⁺).

1-(3-Methoxyphenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (17)

Compound **17** was obtained according to procedure C using **7** (100 mg, 0.29 mmol) and *m*-CPBA (72 mg, 0.29 mmol) in CH₂Cl₂ (5 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as colorless solid (70 mg, 0.19 mmol, 64 %).

Melting point: 126 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.79 (s, 3H), 6.98 (dd, ³*J* = 8.1 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, 1H), 7.24 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.32-7.38 (m, 3H), 7.43 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.58 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.84 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.91 (s, 1H), 8.00 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.05 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.61 (dd, ³*J* = 5.0 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.83 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 11.92 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 55.5, 110.2, 114.0, 117.1, 117.5, 120.3, 122.8, 124.6, 127.8, 128.4, 129.1, 129.8, 130.6, 130.9, 132.4, 134.0, 137.1, 144.1, 148.8, 150.1, 158.0, 160.4.

MS *m/z* 376.12 (MH⁺).

1-(2-Methoxyphenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (18)

Compound **18** was obtained according to procedure C using **8** (100 mg, 0.29 mmol) and *m*-CPBA (72 mg, 0.29 mmol) in CH₂Cl₂ (5 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as colorless solid (92 mg, 0.25 mmol, 84 %).

Melting point: 138 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.71 (s, 3H), 6.91 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 0.95 Hz, 1H), 7.10 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.35-7.41 (m, 2H), 7.42-7.46 (m, 1H), 7.53 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.79 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.85 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 8.01 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.10 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 8.61 (dd, ³*J* = 4.9 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.83 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 11.89 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 55.5, 111.5, 113.5, 121.5, 121.8, 122.8, 124.3, 126.7, 127.5, 127.5, 127.7, 128.6, 129.5, 129.7, 132.6, 133.3, 133.9, 137.1, 148.7, 150.1, 156.5, 158.4.

MS *m/z* 375.98 (MH⁺).

1-(4-Chlorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (19a)

Compound **19a** was obtained according to procedure B using **1a** (530 mg, 1.50 mmol) and 4-chlorothiophenol (260 mg, 1.80 mmol) in DMF (15 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow solid (275 mg, 0.75 mmol, 50 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.01 (ddd, ³*J* = 8.8 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.4 Hz, 2H), 7.16 (ddd, ³*J* = 9.1 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.4 Hz, 2H), 7.40 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.43 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.53-7.56 (m, 2H), 7.88 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.05 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.18 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.93 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 109.2, 123.0, 124.6, 124.6, 126.6, 127.9, 128.5, 128.9, 129.3, 129.4, 132.2, 133.3, 133.4, 133.5, 134.9, 136.8, 148.8, 150.0, 154.6.

1-(4-Chlorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (19)

Compound **19** was obtained according to procedure C using **19a** (143 mg, 0.39 mmol) and *m*-CPBA (97 mg, 0.39 mmol) in CH₂Cl₂ (5 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as colorless foam (101 mg, 0.27 mmol, 68 %).

Melting point: 144 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.37 (dd, ³*J* = 7.7 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, 1H), 7.42-7.46 (m, 3H), 7.59 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.67 (ddd, ³*J* = 8.8 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.2 Hz, 2H), 7.85 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.98-8.02 (m, 2H), 8.62 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.82 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 11.82 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.7, 120.1, 122.9, 124.7, 126.4, 127.9, 128.6, 129.2, 129.9, 130.5, 130.6, 132.2, 134.2, 137.1, 138.0, 141.3, 148.9, 150.0, 158.0.

MS *m/z* 379.93 (M³⁵ClH⁺), 381.66 (M³⁷ClH⁺).

1-(3-Chlorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (20a)

Compound **6a** was obtained according to procedure B using **1a** (353 mg, 1.00 mmol) and 3-chlorothiophenol (140 μ l, 1.20 mmol) in DMF (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as yellow solid (285 mg, 0.78 mmol, 78 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 6.91-6.93 (m, 1H), 7.07-7.08 (m, 1H), 7.11-7.12 (m, 2H), 7.40 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^3J = 5.0$ Hz, $^5J = 0.6$ Hz, 1H), 7.43 (ddd, $^3J = ^3J = 7.4$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.55 (ddd, $^3J = ^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.88 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.06 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = ^4J = 2.0$ Hz, 1H), 8.18 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 0.6$ Hz, 1H), 8.64 (dd, $^3J = 5.0$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1H), 8.94 (d, $^4J = 1.3$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 108.5, 123.0, 124.5, 124.7, 126.3, 126.4, 126.7, 128.6, 128.9, 129.3, 130.3, 133.4, 133.5, 134.9, 135.2, 136.9, 137.0, 148.8, 150.1, 154.7.

1-(3-Chlorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (20)

Compound **20** was obtained according to procedure C using **20a** (272 mg, 0.75 mmol) and *m*-CPBA (184 mg, 0.75 mmol) in CH_2Cl_2 (15 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 98/2) as colorless solid (181 mg, 0.48 mmol, 48 %).

Melting point: 150 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.36-7.40 (m, 2H), 7.42-7.48 (m, 2H), 7.57 (ddd, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = ^4J = 1.4$ Hz, 1H), 7.62 (ddd, $^3J = ^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.73 (dd, $^4J = ^4J = 1.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.99 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 8.05 (ddd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = ^4J = 1.9$ Hz, 1H), 8.62 (dd, $^3J = 4.9$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H), 8.83 (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H), 11.70 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 113.7, 120.1, 122.9, 123.0, 124.8, 124.9, 127.9, 128.7, 129.3, 129.9, 130.8, 131.7, 132.2, 134.4, 135.8, 137.1, 144.7, 147.3, 148.9, 150.1, 158.1.

MS *m/z* 379.83 ($\text{M}^{35}\text{ClH}^+$), 382.00 ($\text{M}^{37}\text{ClH}^+$).

1-(2-Chlorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (21a)

Compound **21a** was obtained according procedure B using **1a** (353 mg, 1.00 mmol) and 2-chlorothiophenol (136 μ l, 1.20 mmol) in DMF (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as yellow solid (317 mg, 0.87 mmol, 87 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 6.47 (dd, $^3J = 8.0$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1H), 6.95 (ddd, $^3J = ^3J = 6.6$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.07 (ddd, $^3J = ^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 7.38-7.46 (m, 4H), 7.55 (ddd, $^3J = ^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.89 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.06 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = ^4J = 2.0$ Hz, 1H), 8.16 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H), 8.67 (dd, $^3J = 5.0$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 8.93 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 0.8$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 108.1, 123.0, 124.6, 124.7, 126.6, 126.8, 126.8, 127.5, 128.6, 128.8, 129.4, 129.8, 131.8, 133.4, 133.4, 134.1, 135.1, 136.9, 148.8, 150.0, 154.9.

1-(2-Chlorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (21)

Compound **21** was obtained according to procedure C using **21a** (302 mg, 0.83 mmol) and *m*-CPBA (205 mg, 0.83 mmol) in CH_2Cl_2 (15 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1 and petroleum ether/ethyl acetate 2/1) and crystallization with HCl (2 N in diethyl ether) as colorless solid (131 mg, 0.31 mmol, 38 %).

Melting point: (HCl salt) 202 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{MeOH-}d_4$, δ in ppm): δ = 7.51-7.55 (m, 2H), 7.59-7.66 (m, 3H), 7.94-7.97 (m, 2H), 8.04 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 8.27 (ddd, $^3J = 8.2$ Hz, $^3J = 5.5$ Hz, $^5J = 0.6$ Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.94 (ddd, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = ^4J = 1.0$ Hz, 1H), 7.97 (ddd, $^3J = 8.2$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 9.32 (d, $^4J = 1.9$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{MeOH-}d_4$, δ in ppm): δ = 113.8, 122.0, 126.6, 128.4, 129.4, 129.8, 129.8, 130.8, 130.9, 132.1, 132.4, 134.7, 135.4, 137.3, 138.0, 141.3, 141.4, 143.5, 144.0, 148.7, 158.5.

MS m/z 379.91 ($\text{M}^{35}\text{ClH}^+$), 381.83 ($\text{M}^{37}\text{ClH}^+$).

1-(4-Fluorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (22a)

Compound **22** was obtained according to procedure B using **1a** (353 mg, 1.00 mmol) and 4-fluorothiophenol (128 μ l, 1.20 mmol) in DMF (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as off-white solid (202 mg, 0.58 mmol, 58 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 6.91 (dd, $^3J = ^3J = 8.7$ Hz, 2H), 7.08 (dd, $^3J = 8.8$ Hz, $^4J = 5.0$ Hz, 2H), 7.38-7.44 (m, 2H), 7.55 (ddd, $^3J = ^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.87 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 8.05 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 8.22 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H), 8.64 (dd, $^3J = 4.9$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H), 8.93 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 110.0, 116.4, 116.5, 123.0, 124.6 (d, $^3J = 10.1$ Hz), 126.6, 128.4, 128.6, 128.8 (d, $^2J = 16.5$ Hz), 129.3, 129.9, 133.1, 133.4, 134.9, 136.8, 148.8, 150.1, 154.4, 161.6 (d, $^1J = 246.5$ Hz).

1-(4-Fluorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (22)

Compound **22** was obtained according to procedure C using **22a** (192 mg, 0.55 mmol) and *m*-CPBA (136 mg, 0.55 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 98/2) as colorless foam (113 mg, 0.31 mmol, 56 %).

Melting point: 132 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.50 (dd, $^3J = ^3J = 8.7$ Hz, 2H), 7.37 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^3J = 4.9$ Hz, $^5J = 0.8$ Hz, 1H), 7.44 (ddd, $^3J = ^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.0$ Hz, 1H), 7.58 (ddd, $^3J = ^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.76 (dd, $^3J = 9.0$ Hz, $^4J = 4.9$ Hz, 2H), 7.84 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.98-8.01 (m, 2H), 8.62 (dd, $^3J = 4.7$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H), 8.83 (d, $^4J = 2.4$ Hz, 1H), 11.96 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 113.7, 117.0 (d, $^2J = 22.9$ Hz), 120.0, 122.9, 124.7, 127.7 (d, $^3J = 8.2$ Hz), 127.8, 128.5, 129.2, 130.0, 130.6, 132.2, 134.2, 137.1, 138.5, 158.9, 150.1, 158.0, 164.6 (d, $^1J = 252.9$ Hz).

MS m/z 364.02 (MH^+).

1-(3-Fluorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (23a)

Compound **23a** was obtained according to procedure B using **1a** (353 mg, 1.00 mmol) and 3-fluorothiophenol (128 μ l, 1.20 mmol) in DMF (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as yellow foam (256 mg, 0.74 mmol, 74 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 6.73 (ddd, $^3J = 9.5$ Hz, $^4J = ^4J = 2.0$ Hz, 1H), 6.82 (dddd, $^3J = ^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, $^5J = 0.8$ Hz, 1H), 6.89 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = 1.8$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, 1H), 7.15-7.20 (m, 1H), 7.40 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^3J = 4.7$ Hz, $^5J = 0.9$ Hz, 1H), 7.44 (ddd, $^3J = ^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.55 (ddd, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = ^4J = 1.4$ Hz, 1H), 7.88 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.06 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = ^4J = 2.0$ Hz, 1H), 8.19 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H), 8.64 (dd, $^3J = 4.7$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 8.94 (d, $^4J = 2.2$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 108.6, 113.2 (d, $^2J = 21.1$ Hz), 113.5 (d, $^2J = 24.7$ Hz), 122.1, 122.1, 123.0, 124.6, 124.6, 126.7, 128.5, 128.9, 129.3, 130.6 (d, $^3J = 8.2$ Hz), 133.4, 133.4 (d, $^3J = 7.3$ Hz), 135.0, 136.8, 148.8, 150.1, 154.7, 163.2 (d, $^1J = 249.3$ Hz).

1-(3-Fluorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (23)

Compound **23** was obtained according to procedure C using **23a** (241 mg, 0.69 mmol) and *m*-CPBA (171 mg, 0.69 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 98/2) as colorless foam (193 mg, 0.53 mmol, 77 %).

Melting point: 141 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.16 (dddd, $^3J = ^3J = 8.2$ Hz, $^4J = 2.5$ Hz, $^5J = 1.0$ Hz, 1H), 7.36 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^3J = 4.7$ Hz, $^5J = 0.9$ Hz, 1H), 7.41-7.51 (m, 3H), 7.61 (ddd, $^3J = ^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.86 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.99 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 8.05 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, 1H), 8.62 (dd, $^3J = 4.9$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H), 8.82 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 0.8$ Hz, 1H), 11.72 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 112.3 (d, $^2J = 23.8$ Hz), 113.8, 118.7 (d, $^2J = 22.0$ Hz), 120.2, 120.6 (d, $^4J = 3.7$ Hz), 122.8, 124.8, 127.9, 128.7, 129.2, 129.9, 130.8, 131.3 (d, $^3J = 8.2$ Hz), 132.2, 134.3, 137.1, 145.1 (d, $^3J = 5.5$ Hz), 148.9, 150.1, 158.0, 162.9 (d, $^1J = 252.9$ Hz).

MS m/z 363.88 (MH^+).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(4-(trifluoromethoxy)phenylthio)naphthalen-2-ol (24a)

Compound **24a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 4-(trifluoromethoxy)thiophenol (145 μ l, 1.02 mmol) in DMF (12 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow foam (269 mg, 0.65 mmol, 77 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.05-7.10 (m, 4H), 7.40 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.9 Hz, ⁵*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.44 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.56 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.88 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.05 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.20 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³*J* = 5.0 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.93 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 109.0, 120.4 (q, ¹*J* = 255.7 Hz), 122.0, 123.0, 124.5, 124.7, 126.7, 127.8, 128.6, 128.9, 129.4, 133.4, 133.6, 134.9, 136.8, 137.0, 147.6, 148.8, 150.1, 154.6.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(4-(trifluoromethoxy)phenylsulfinyl)naphthalen-2-ol (24)

Compound **24** was obtained according to procedure C using **24a** (254 mg, 0.61 mmol) and *m*-CPBA (151 mg, 0.61 mmol) in CH₂Cl₂ (12 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow foam (144 mg, 0.34 mmol, 55 %).

Melting point: 106 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.30 (dd, ³*J* = 9.1 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 2H), 7.37 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.46 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.60 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.78 (d, ³*J* = 8.8 Hz, 2H), 7.86 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 8.00 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.03 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 8.62 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.83 (dd, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 11.81 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.6, 120.0, 121.2 (q, ¹*J* = 259.4 Hz), 121.7, 122.8, 124.8, 127.0, 127.9, 128.7, 129.3, 129.9, 130.7, 132.1, 134.3, 137.0, 141.1, 148.9, 150.0, 151.4, 158.0.

MS *m/z* 429.93 (MH⁺).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(3-(trifluoromethoxy)phenylthio)naphthalen-2-ol (25a)

Compound **25a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 3-(trifluoromethoxy)thiophenol (145 μ l, 1.02 mmol) in DMF (12 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow foam (281 mg, 0.68 mmol, 80 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 6.92-6.95 (m, 2H), 6.97-7.00 (m, 1H), 7.20 (dd, ³J = ³J = 8.0 Hz, 1H), 7.40 (dd, ³J = 7.9 Hz, ³J = 5.0 Hz, 1H), 7.44 (dd, ³J = ³J = 7.6 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.55 (ddd, ³J = ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, 1H), 7.89 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.05 (ddd, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = ⁴J = 2.0 Hz, 1H), 8.18 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1H), 8.93 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 108.3, 118.3, 118.8, 120.3 (q, ¹J = 258.4 Hz), 123.0, 124.4, 124.4, 124.6, 126.8, 128.5, 128.9, 129.3, 130.4, 133.4, 133.5, 134.9, 136.8, 137.5, 148.8, 149.8, 150.0, 154.7.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(3-(trifluoromethoxy)phenylsulfinyl)naphthalen-2-ol (25)

Compound **25** was obtained according to procedure C using **25a** (270 mg, 0.67 mmol) and *m*-CPBA (166 mg, 0.67 mmol) in CH₂Cl₂ (7 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as off-white solid (155 mg, 0.36 mmol, 54 %).

Melting point: 101 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.30-7.32 (m, 1H), 7.37 (ddd, ³J = 7.9 Hz, ³J = 4.7 Hz, ⁵J = 0.8 Hz, 1H), 7.45-7.50 (m, 2H), 7.59-7.64 (m, 3H), 7.86 (d, ³J = 7.9 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.98 (ddd, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 2.2 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1H), 8.06 (dd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = 0.6 Hz, 1H), 8.62 (dd, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1H), 8.82 (dd, ⁴J = 2.2 Hz, ⁴J = 0.6 Hz, 1H), 11.66 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.7, 117.4, 120.1, 120.2 (q, ¹J = 259.0 Hz), 122.9, 123.0, 123.6, 124.8, 127.9, 128.7, 129.3, 129.9, 130.8, 131.1, 132.1, 134.5, 137.0, 145.2, 149.0, 149.8, 150.0, 158.1.

MS *m/z* 430.00 (MH⁺).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(2-(trifluoromethoxy)phenylthio)naphthalen-2-ol (26a)

Compound **26a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 2-(trifluoromethoxy)thiophenol (145 μ l, 1.02 mmol) in DMF (12 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow foam (316 mg, 0.76 mmol, 90 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 6.58 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 6.97-7.01 (m, 1H), 7.15-7.18 (m, 1H), 7.30 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.40 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.44-7.46 (m, 2H), 7.55 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.89 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.05 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.17 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³*J* = 5.0 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.93 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 107.3, 120.7 (q, ¹*J* = 256.6 Hz), 121.2, 123.0, 124.5, 124.7, 126.8, 127.1, 127.5, 127.6, 128.6, 128.87, 128.90, 129.4, 133.3, 133.5, 135.2, 136.9, 146.3, 148.8, 150.0, 155.0.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(2-(trifluoromethoxy)phenylsulfinyl)naphthalen-2-ol (26)

Compound **26** was obtained according to procedure C using **26a** (278 mg, 0.67 mmol) and *m*-CPBA (166 mg, 0.67 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98.5/1.5) as yellow solid (102 mg, 0.24 mmol, 38 %).

Melting point: 118 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.34 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.37 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.40-7.46 (m, 2H), 7.54 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 2H), 7.81 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.86 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.97 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.00 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.03 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.63 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.84 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 11.81 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 112.3, 120.2, 120.5 (q, ¹*J* = 258.4 Hz), 122.9, 124.8, 127.7, 127.8, 127.8, 128.4, 128.8, 129.8, 130.2, 132.3, 133.6, 134.6, 134.7, 137.1, 146.3, 146.3, 148.9, 150.1, 158.6.

MS *m/z* 429.93 (MH⁺).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(4-(trifluoromethyl)phenylthio)naphthalen-2-ol (27a)

Compound **27a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 4-(trifluoromethyl)thiophenol (135 μ l, 1.02 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as yellow foam (287 mg, 0.72 mmol, 85 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.14 (d, 3J = 8.5 Hz, 2H), 7.40 (dd, 3J = 7.9 Hz, 3J = 4.7 Hz, 1H), 7.31-7.47 (m, 4H), 7.55 (dd, 3J = 3J = 7.4 Hz, 1H), 7.90 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 8.05 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 4J = 2.0 Hz, 1H), 8.15 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, 3J = 4.7 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1H), 8.93 (d, 4J = 1.9 Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 107.3, 114.7, 122.8, 123.0, 124.4, 124.8, 126.1 (q, 3J = 4.0 Hz), 126.2, 127.9 (q, 1J = 271.3 Hz), 128.3 (q, 2J = 33.0 Hz), 128.7, 129.4, 133.3, 133.6, 134.9, 136.8, 140.1, 148.8, 150.0, 154.7.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(4-(trifluoromethyl)phenylsulfinyl)naphthalen-2-ol (27)

Compound **27** was obtained according to procedure C using **27a** (238 mg, 0.60 mmol) and *m*-CPBA (148 mg, 0.60 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as yellow solid (123 mg, 0.30 mmol, 50 %).

Melting point: 117 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.36 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 3J = 4.7 Hz, 5J = 0.9 Hz, 1H), 7.48 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 0.9 Hz, 1H), 7.64 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H), 7.71 (d, 3J = 8.2 Hz, 2H), 7.84 (d, 3J = 8.2 Hz, 2H), 7.87 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.97 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 2.2 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1H), 8.11 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.61 (dd, 3J = 4.7 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1H), 8.81 (dd, 4J = 2.2 Hz, 4J = 0.9 Hz, 1H), 11.61 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 113.9, 120.1, 122.9, 123.3 (q, 1J = 273.1 Hz), 124.9, 125.1, 126.6 (q, 3J = 3.7 Hz), 128.0, 128.8, 129.3, 129.9, 130.8, 132.0, 133.4 (q, 2J = 33.0 Hz), 134.5, 137.0, 147.0, 149.0, 150.0, 158.1.

MS m/z 413.98 (MH^+).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(3-(trifluoromethyl)phenylthio)naphthalen-2-ol (28a)

Compound **28a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 3-(trifluoromethyl)thiophenol (138 μ l, 1.02 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as colorless foam (278 mg, 0.70 mmol, 82 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.08 (d, 3J = 7.9 Hz, 1H), 7.28 (dd, 3J = 3J = 7.9 Hz, 1H), 7.38-7.58 (m, 6H), 7.89 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.05 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 4J = 2.0 Hz, 1H), 8.18 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, 3J = 5.0 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1H), 8.93 (d, 4J = 2.2 Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 108.2, 122.9 (q, 3J = 4.0 Hz), 123.0, 123.3 (q, 3J = 4.0 Hz), 123.6 (q, 1J = 271.3 Hz), 124.4, 124.7, 126.7, 128.6, 128.9, 129.2, 129.4, 129.7, 131.7 (q, 2J = 33.0 Hz), 133.3, 133.6, 134.9, 136.6, 136.8, 148.8, 150.0, 154.7.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(3-(trifluoromethyl)phenylsulfinyl)naphthalen-2-ol (28)

Compound **28** was obtained according to procedure C using **28a** (235 mg, 0.59 mmol) and *m*-CPBA (145 mg, 0.59 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as off-white solid (99 mg, 0.24 mmol, 41 %).

Melting point: 124 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.36 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 3J = 4.7 Hz, 5J = 0.8 Hz, 1H), 7.48 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 0.9 Hz, 1H), 7.58 (dd, 3J = 3J = 7.9 Hz, 1H), 7.63 (ddd, 3J = 3J = 7.7 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H), 7.73 (d, 3J = 7.9 Hz, 1H), 7.83 (d, 3J = 7.9 Hz, 1H), 7.87 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.98 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 4J = 2.0 Hz, 1H), 8.08 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.62 (dd, 3J = 4.7 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1H), 8.81 (dd, 4J = 2.2 Hz, 4J = 0.6 Hz, 1H), 11.65 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 113.6, 120.0, 121.9 (q, 3J = 4.0 Hz), 122.9, 123.2 (q, 1J = 273.1 Hz), 124.9, 127.9, 128.0, 128.3 (q, 3J = 4.0 Hz), 128.8, 129.3, 129.9, 130.8, 132.1, 132.2 (q, 2J = 33.0 Hz), 134.5, 137.1, 144.4, 148.9, 150.0, 158.1.

MS m/z 413.98 (MH^+).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(2-(trifluoromethyl)phenylthio)naphthalen-2-ol (29a)

Compound **29a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 2-(trifluoromethyl)thiophenol (135 μ l, 1.02 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as colorless foam (281 mg, 0.77 mmol, 83 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 6.73$ (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1H), 7.17-7.23 (m, 2H), 7.40 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^3J = 5.0$ Hz, $^5J = 0.8$ Hz, 1H), 7.43-7.47 (m, 2H), 7.56 (ddd, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1H), 7.89 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 8.06 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 8.20 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H), 8.64 (dd, $^3J = 5.0$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H), 8.92 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 0.6$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 108.4, 123.0, 124.0$ (q, $^1J = 273.7$ Hz), 124.5, 127.7, 125.8, 126.8, 126.9 (q, $^3J = 5.8$ Hz), 127.8, 128.0 (q, $^2J = 31.2$ Hz), 128.7, 128.8, 129.4, 132.4, 133.3, 133.6, 134.8, 135.2, 136.9, 148.8, 150.0, 155.0.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(2-(trifluoromethyl)phenylsulfinyl)naphthalen-2-ol (29)

Compound **29** was obtained according to procedure C using **29a** (178 mg, 0.45 mmol) and *m*-CPBA (110 mg, 0.45 mmol) in CH_2Cl_2 (5 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as colorless foam (69 mg, 0.17 mmol, 37 %).

Melting point: 62 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 7.39$ (ddd, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1H), 7.40-7.46 (m, 2H), 7.60 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1H), 7.61-7.67 (m, 2H), 7.82 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1H), 7.86-7.87 (m, 1H), 8.00 (s, 1H), 8.07-8.08 (m, 1H), 8.11 (ddd, $^3J = 7.9$ Hz, $^4J = 2.4$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1H), 8.67 (dd, $^3J = 4.7$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1H), 8.94 (dd, $^4J = 2.2$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, 1H), 12.55 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 109.4, 119.7, 122.9, 123.4$ (q, $^1J = 274.9$ Hz), 124.8, 127.0 (q, $^3J = 5.8$ Hz), 127.7, 128.6, 129.1, 129.6, 129.7 (q, $^2J = 32.1$ Hz), 129.7, 130.1, 132.3, 132.9, 134.1, 134.8, 137.2, 141.6, 148.9, 150.1, 159.6.

MS m/z 413.85 (MH^+).

4-(2-Hydroxy-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-1-ylthio)benzotrile (30a)

Compound **30a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 4-mercaptobenzotrile (**30b**, 138 mg, 1.02 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow solid (254 mg, 0.72 mmol, 84 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.10 (ddd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = ⁴J = 2.0 Hz, 2H), 7.39-7.42 (m, 2H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.55 (ddd, ³J = ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H), 7.90 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 8.04 (ddd, ³J = 8.2 Hz, ⁴J = ⁴J = 2.0 Hz, 1H), 8.10 (d, ³J = 7.9 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³J = 5.0 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1H), 8.92 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 107.1, 109.5, 118.4, 123.0, 124.2, 124.9, 126.3, 126.8, 128.8, 129.0, 129.4, 132.7, 133.2, 133.9, 134.7, 136.9, 142.2, 148.8, 150.0, 154.8.

4-(2-Hydroxy-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-1-ylsulfinyl)benzotrile (30)

Compound **30** was obtained according to procedure C using **30a** (215 mg, 0.61 mmol) and *m*-CPBA (150 mg, 0.61 mmol) in CH₂Cl₂ (5 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as off-white solid (103 mg, 0.28 mmol, 46 %).

Melting point: 150 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.37 (ddd, ³J = 7.9 Hz, ³J = 4.9 Hz, ⁵J = 0.7 Hz, 1H), 7.50 (ddd, ³J = ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.0 Hz, 1H), 7.66 (ddd, ³J = ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1H), 7.73 (ddd, ³J = 8.5 Hz, ⁴J = ⁴J = 1.8 Hz, 2H), 7.81 (ddd, ³J = 8.8 Hz, ⁴J = ⁴J = 1.7 Hz, 2H), 7.88 (d, ³J = 8.2 Hz, 1H), 7.95-7.97 (m, 2H), 8.11 (d, ³J = 8.5 Hz, 1H), 8.62 (dd, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1H), 8.80 (d, ⁴J = 2.2 Hz, 1H), 11.44 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.8, 115.2, 117.4, 120.1, 122.9, 125.0, 125.2, 128.0, 129.0, 129.4, 129.9, 130.8, 131.9, 133.1, 134.7, 137.1, 148.1, 148.9, 149.9, 158.1.

MS *m/z* 370.87 (MH⁺).

3-(2-Hydroxy-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-1-ylthio)benzotrile (31a)

Compound **31a** was obtained according to procedure B using **1a** (300 mg, 0.85 mmol) and 3-mercaptobenzotrile (**31b**, 138 mg, 1.02 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as brown oil (152 mg, 0.43 mmol, 50 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.27-7.33 (m, 3H), 7.40-7.43 (m, 3H), 7.46 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.3 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.56 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.91 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 8.06 (ddd, ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.12 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.65 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.94 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 107.5, 113.6, 118.0, 123.0, 124.2, 124.9, 126.8, 128.8, 129.1, 129.2, 129.4, 129.6, 129.9, 130.5, 133.2, 133.9, 134.7, 137.0, 137.5, 148.7, 150.0, 154.8.

3-(2-Hydroxy-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-1-ylsulfinyl)benzotrile (31)

Compound **31** was obtained according to procedure C using **31a** (126 mg, 0.36 mmol) and *m*-CPBA (88 mg, 0.36 mmol) in CH₂Cl₂ (4 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as off-white solid (77 mg, 0.21 mmol, 58 %).

Melting point: 155 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.37 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.50 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.0 Hz, 1H), 7.60 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.65 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.75 (ddd, ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.89 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.93-7.99 (m, 4H), 8.07 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.62 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.84 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 11.48 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.5, 114.1, 117.3, 119.9, 122.9, 125.0, 128.0, 128.2, 128.8, 129.0, 129.4, 129.9, 130.4, 130.8, 132.0, 134.7, 134.8, 137.1, 145.0, 148.9, 150.0, 158.1.

MS *m/z* 370.87 (MH⁺).

1-(3,4-Dichlorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (32a)

Compound **32a** was obtained according to procedure B using **1a** (222 mg, 0.63 mmol) and 3,4-dichlorothiophenol (96 μ l, 0.75 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as yellow foam (202 mg, 0.51 mmol, 80 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 6.85 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 2.2 Hz, 1H), 7.18 (d, 4J = 2.2 Hz, 1H), 7.24 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 7.40 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 3J = 4.7 Hz, 5J = 0.7 Hz, 1H), 7.45 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.1 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.56 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H), 7.89 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.04 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 2.3 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1H), 8.15 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, 3J = 5.0 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1H), 8.93 (dd, 4J = 2.2 Hz, 4J = 0.6 Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 108.3, 123.0, 124.4, 124.8, 125.7, 126.8, 128.0, 128.7, 129.0, 129.4, 130.4, 130.9, 133.3, 133.4, 133.7, 134.8, 135.3, 136.8, 148.8, 150.0, 154.7.

1-(3,4-Dichlorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (32)

Compound **32** was obtained according to procedure C using **32a** (153 mg, 0.38 mmol) and *m*-CPBA (95 mg, 0.38 mmol) in CH_2Cl_2 (8 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 98/2) as yellow foam (86 mg, 0.19 mmol, 51 %).

Melting point: 144 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.37 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 3J = 4.7 Hz, 5J = 0.9 Hz, 1H), 7.46-7.52 (m, 3H), 7.62 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1H), 7.82 (d, 4J = 1.9 Hz, 1H), 7.87 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.98 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 4J = 2.0 Hz, 1H), 8.03 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.62 (dd, 3J = 5.1 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1H), 8.82 (dd, 4J = 2.2 Hz, 4J = 0.9 Hz, 1H), 11.60 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 113.5, 120.0, 122.9, 123.9, 124.9, 126.7, 128.0, 128.8, 129.3, 130.0, 130.7, 131.6, 132.0, 134.3, 134.6, 136.3, 137.1, 142.8, 149.0, 150.1, 158.1.

MS *m/z* 413.84 ($\text{M}^{35}\text{ClH}^+$), 415.45 ($\text{M}^{37}\text{ClH}^+$).

1-(3,5-Bis(trifluoromethyl)phenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (33a)

Compound **33a** was obtained according to procedure B using **1a** (190 mg, 0.54 mmol) and 3,5-bis(trifluoromethyl)thiophenol (109 μ l, 0.64 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow solid (211 mg, 0.45 mmol, 84 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.40-7.42 (m, 2H), 7.45 (s, 2H), 7.47 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.58 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.62 (bs, 1H), 7.92 (d, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 8.02-8.05 (m, 2H), 8.12 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.93 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 106.8, 119.9 (q, ³*J* = 4.0 Hz), 122.8 (q, ¹*J* = 273.1 Hz), 123.0, 124.0, 125.0, 125.9 (q, ³*J* = 3.7 Hz), 126.9, 128.9, 129.1, 129.4, 132.6 (q, ²*J* = 33.0 Hz), 123.1, 134.3, 134.6, 136.8, 139.0, 148.9, 150.0, 154.9.

1-(3,5-Bis(trifluoromethyl)phenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (33)

Compound **33** was obtained according to procedure C using **33a** (169 mg, 0.36 mmol) and *m*-CPBA (90 mg, 0.36 mmol) in CH₂Cl₂ (13 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as yellow solid (70 mg, 0.15 mmol, 40 %).

Melting point: 118 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.37 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 5.0 Hz, ⁵*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.52 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.69 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.90 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.95-7.98 (m, 3H), 8.12-8.13 (m, 3H), 8.63 (dd, ³*J* = 4.9 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.80 (dd, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H), 11.33 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.5, 120.0, 122.7 (q, ¹*J* = 274.3 Hz), 123.2, 125.0 (q, ³*J* = 2.7 Hz), 125.6 (q, ³*J* = 4.0 Hz), 128.3, 129.5, 129.8, 130.3, 131.0, 132.1, 133.5 (q, ²*J* = 33.9 Hz), 135.4, 137.3, 146.7, 149.3, 150.3, 158.4.

MS *m/z* 481.99 (MH⁺).

1-(3,5-Dichlorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (34a)

Compound **34a** was obtained according to procedure B using **1a** (222 mg, 0.63 mmol) and 3,5-dichlorothiophenol (135 mg, 0.75 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as orange foam (217 mg, 0.56 mmol, 88 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 6.92 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 2H), 7.13 (dd, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 7.40-7.42 (m, 2H), 7.46 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 7.57 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.90 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 8.06 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.14 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.65 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.94 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 107.5, 123.0, 124.3, 124.4, 124.8, 126.5, 126.8, 128.8, 129.0, 129.4, 133.3, 133.9, 134.8, 135.8, 136.9, 138.7, 148.8, 150.1, 154.8.

1-(3,5-Dichlorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (34)

Compound **34** was obtained according to procedure C using **34a** (170 mg, 0.43 mmol) and *m*-CPBA (106 mg, 0.43 mmol) in CH₂Cl₂ (7 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as colorless solid (97 mg, 0.24 mmol, 54 %).

Melting point: 124 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.37 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.43 (dd, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.49 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.55 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.65 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.88 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.99 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.05 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.63 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.82 (dd, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 11.44 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.4, 120.0, 122.9, 123.0, 125.0, 128.0, 129.0, 129.4, 129.9, 130.8, 131.6, 132.0, 134.8, 136.4, 137.1, 146.1, 149.0, 150.1, 158.1.

MS *m/z* 413.91 (M³⁵ClH⁺), 415.73 (M³⁷ClH⁺).

1-(3-Chloro-4-fluorophenylthio)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (35a)

Compound **35a** was obtained according to procedure B using **1a** (231 mg, 0.65 mmol) and 3-chloro-4-fluorothio-phenol (93 μ l, 0.79 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as colorless foam (200 mg, 0.52 mmol, 81 %).

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 6.92 (ddd, 3J = 8.7 Hz, 4J = 4.4 Hz, 4J = 2.3 Hz, 1H), 6.97 (dd, 3J = 3J = 8.7 Hz, 1H), 7.16 (dd, 4J = 6.6 Hz, 4J = 2.2 Hz, 1H), 7.41 (dd, 3J = 7.8 Hz, 3J = 5.0 Hz, 1H), 7.44 (ddd, 3J = 3J = 7.5 Hz, 4J = 1.1 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.56 (ddd, 3J = 3J = 7.7 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H), 7.88 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.99 (s, 1H), 8.06 (ddd, 3J = 7.9 Hz, 4J = 4J = 1.9 Hz, 1H), 8.18 (d, 3J = 8.5 Hz, 1H), 8.64 (dd, 3J = 4.9 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1H), 8.93 (d, 4J = 1.9 Hz, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 109.0, 117.4 (d, 2J = 22.0 Hz), 122.1 (d, 2J = 21.1 Hz), 123.0, 124.4, 124.7, 126.5 (d, 3J = 7.3 Hz), 126.7, 128.6, 128.9, 129.4, 130.8, 131.4 (d, 3J = 3.7 Hz), 133.3, 133.5, 134.8, 136.9, 148.7, 150.0, 154.6, 156.9 (d, 1J = 249.3 Hz).

1-(3-Chloro-4-fluorophenylsulfinyl)-3-(pyridin-3-yl)naphthalen-2-ol (35)

Compound **35** was obtained according to procedure C using **35a** (170 mg, 0.43 mmol) and *m*-CPBA (106 mg, 0.43 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 99/1) as colorless solid (104 mg, 0.26 mmol, 61 %).

Melting point: 123 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 7.22 (dd, 3J = 3J = 8.5 Hz, 1H), 7.40 (dd, 3J = 8.2 Hz, 3J = 4.7 Hz, 1H), 7.47 (ddd, 3J = 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.0 Hz, 1H), 7.58 (ddd, 3J = 8.8 Hz, 4J = 4.4 Hz, 4J = 2.4 Hz, 1H), 7.62 (ddd, 3J = 3J = 7.7 Hz, 4J = 1.3 Hz, 1H), 7.81 (dd, 4J = 6.6 Hz, 4J = 2.2 Hz, 1H), 7.87 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.00-8.02 (m, 2H), 8.64 (bs, 1H), 8.84 (bs, 1H), 11.61 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 113.5, 118.0 (d, 2J = 22.0 Hz), 119.9, 122.9, 123.1 (d, 2J = 19.2 Hz), 124.9, 125.2 (d, 3J = 8.2 Hz), 127.6, 127.9, 128.8, 129.3, 129, 130.6, 132.1, 134.5, 137.1, 139.6 (d, 3J = 3.7 Hz), 148.9, 150.0, 158.0, 159.9 (d, 1J = 254.73 Hz).

MS *m/z* 397.74 ($\text{M}^{35}\text{ClH}^+$), 399.91 ($\text{M}^{37}\text{ClH}^+$).

3-(Pyridin-3-yl)-1-(thiophen-2-ylthio)naphthalen-2-ol (36a)

Compound **36a** was obtained according to procedure B using **1a** (263 mg, 0.75 mmol) and thiophene-2-thiol (84 μ l, 0.89 mmol) in DMF (6 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as off-white solid (85 mg, 0.25 mmol, 34 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 6.89 (dd, ³*J* = 5.4 Hz, ³*J* = 3.8 Hz, 1H), 7.17 (dd, ³*J* = 3.8 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.20 (dd, ³*J* = 5.4 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.38-7.44 (m, 2H), 7.62 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.83 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.89 (s, 1H), 8.04 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.49 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.63 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.90 (dd, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.1, 122.9, 124.4, 124.6, 126.6, 127.4, 128.2, 128.3, 128.8, 129.3, 131.2, 132.9, 133.1, 133.5, 134.5, 136.8, 148.7, 150.1, 153.6.

3-(Pyridin-3-yl)-1-(thiophen-2-ylsulfinyl)naphthalen-2-ol (36)

Compound **36** was obtained according to procedure C using **36a** (62 mg, 0.18 mmol) and *m*-CPBA (46 mg, 0.18 mmol) in CH₂Cl₂ (4 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98.5/1.5) as off-white solid (36 mg, 0.10 mmol, 57 %).

Melting point: 107 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.08 (dd, ³*J* = 5.0 Hz, ³*J* = 3.8 Hz, 1H), 7.39-7.40 (m, 2H), 7.49 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 7.58 (dd, ³*J* = 5.0 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.66 (dd, ³*J* = 3.8 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.78-7.82 (m, 2H), 7.92 (s, 1H), 8.05 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.63 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.87 (dd, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz, 1H), 12.10 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 113.7, 119.8, 122.9, 124.6, 127.7, 127.9, 128.4, 129.1, 129.8, 130.0, 132.1, 132.4, 133.0, 134.2, 137.1, 143.9, 148.9, 150.1, 157.9.

MS *m/z* 351.91 (MH⁺).

3-(4-Fluoronaphthalen-2-yl)pyridine (37a)

3-Bromo-1-fluoronaphthalene (**37b**, 1.29 g, 5.73 mmol), 3-pyridineboronic acid (0.92 g, 7.45 mmol), and Pd(PPh₃)₄ (331 mg, 0.29 mmol, 5 mol %) were suspended in 50 ml toluene and 7 ml ethanol under an atmosphere of nitrogen. After addition of 0.5 M aqueous solution of Na₂CO₃ (34 ml, 17.1 mmol), the mixture was refluxed for 3 h, cooled to room temperature, diluted with water and extracted with ethyl acetate. The combined extracts were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄ and concentrated. Purification by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/methanol 99/1) afforded **37a** as yellow oil (532 mg, 2.38 mmol, 42 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.39-7.43 (m, 2H), 7.56-7.61 (m, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.93 (ddd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.8 Hz, 1H), 7.97 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.12-8.14 (m, 1H), 8.64 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.96 (dd, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 108.7 (d, ²*J* = 21.1 Hz), 120.6 (d, ³*J* = 4.6 Hz), 121.8 (d, ⁴*J* = 3.7 Hz), 123.1 (d, ²*J* = 17.4 Hz), 123.7, 126.7 (d, ⁴*J* = 1.8 Hz), 127.6, 127.9 (d, ⁴*J* = 3.7 Hz), 134.5, 135.0 (d, ³*J* = 5.5 Hz), 135.4 (d, ³*J* = 8.2 Hz), 135.7 (d, ⁴*J* = 2.7 Hz), 148.4, 148.9, 159.3 (d, ¹*J* = 252.0 Hz).

3-(4-(Phenylthio)naphthalen-2-yl)pyridine hydrochloride (37)

Compound **37a** (450 mg, 2.02 mmol), thiophenol (227 μ l, 2.22 mmol) and K₂CO₃ (306 mg, 2.22 mmol) in DMF (5 ml) were suspended in a 10 ml septum-capped tube. The mixture was irradiated in the microwave at a temperature of 150 °C and an initial irradiation power of 150 W for 40 min. After cooling to room temperature, the mixture was diluted with water and extracted with ethyl acetate. The combined extracts were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1), crystallization with HCl (2 N in diethyl ether) and recrystallization from ethanol yielded **37** as colorless solid (74 mg, 0.21 mmol, 9 %).

Melting point: (HCl salt) 188 °C.

¹H-NMR (500 MHz, MeOH-*d*₄, δ in ppm): δ = 7.20-7.23 (m, 1H), 7.26-7.31 (m, 4H), 7.63-7.68 (m, 2H), 8.06 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.11 (d, ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 8.20-8.22 (m, 1H), 8.40 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.43 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.88-8.90 (m, 1H), 8.99 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 9.29-9.31 (m, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, MeOH-*d*₄, δ in ppm): δ = 117.1, 118.3, 126.4, 126.6, 127.4, 128.0, 128.9, 129.8, 130.5, 130.7, 130.8, 131.0, 132.4, 134.9, 135.5, 135.8, 137.2, 141.4, 145.7.

MS *m/z* 314.10 (MH⁺).

3-(4-(Phenylsulfinyl)naphthalen-2-yl)pyridine (38)

Compound **38** was obtained according to procedure C using **37** (free base, 142 mg, 0.45 mmol) and *m*-CPBA (112 mg, 0.45 mmol) in CH₂Cl₂ (3 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as colorless solid (61 mg, 0.19 mmol, 41 %).

Melting point: 143 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.38-7.45 (m, 4H), 7.55-7.60 (m, 2H), 7.71-7.75 (m, 2H), 7.97-8.00 (m, 1H), 8.07 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.16 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.20-8.22 (m, 1H), 8.48 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.67 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 9.02 (dd, ⁴*J* = 2.5 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 122.4, 122.7, 123.7, 125.4, 127.4, 127.7, 128.7, 129.3, 129.4, 129.4, 131.3, 134.1, 134.6, 135.2, 135.3, 142.0, 144.9, 148.5, 149.2.

MS *m/z* 330.06 (MH⁺).

3-(4-(Phenylsulfonyl)naphthalen-2-yl)pyridine 1-oxide (39)

Compound **39** was obtained according to procedure C using **37** (free base, 111 mg, 0.35 mmol) and 2 equivalents *m*-CPBA (175 mg, 0.71 mmol) in CH₂Cl₂ (5 ml) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 97/3) and crystallization from ethanol as colorless solid (70 mg, 0.20 mmol, 58 %).

Melting point: 242 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.44 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.3 Hz, 1H), 7.49 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 2H), 7.55 (dd, ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.60-7.66 (m, 3H), 7.96-8.00 (m, 3H), 8.25 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.28 (dd, ³*J* = 6.3 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 8.64 (dd, ⁴*J* = ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.67 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 8.70 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 124.4, 124.5, 126.2, 127.4, 127.9, 128.0, 128.3, 129.3, 129.5, 129.6, 131.3, 132.9, 133.4, 134.5, 137.7, 137.8, 138.4, 138.5, 141.3.

MS *m/z* 362.09 (MH⁺).

5.1.2 Synthesis of compounds described in chapter 3.3

2-Nitro-*N*-(pyridin-3-yl)benzamide (**40b**)

2-Nitrobenzoic acid (**40c**, 836 mg, 5.00 mmol) was heated in 5 ml thionyl chloride and one drop DMF at 70 °C for 4 h. The excess thionyl chloride was evaporated under reduced pressure. The acid chloride thus obtained was dissolved 7 ml dry DMF. Then this solution was added to a solution of 3-aminopyridine (565 mg, 6.00 mmol) and pyridine (485 μ l, 6.00 mmol) in 5 ml DMF. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight, before it was heated to 140 °C for 3 h. After cooling to room temperature, 100 ml water was added and the mixture was extracted exhaustively with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Removal of the solvents and crystallization from ethyl acetate afforded **40b** as off-white solid (1.04 g, 4.27 mmol, 85 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 7.23 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ³*J* = 4.9 Hz, 1H), 7.54-7.58 (m, 2H), 7.66 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, 1H), 8.01 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.09 (d, ³*J* = 3.2 Hz, 1H), 8.19 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.44 (s, 1H), 9.39 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 124.0, 124.6, 128.1, 128.6, 130.9, 132.3, 134.0, 135.0, 141.0, 145.0, 146.0, 165.3.

2-Amino-*N*-(pyridin-3-yl)benzamide (**40a**)¹⁴³

40b (200 mg, 0.82 mmol) and 10 % palladium on charcoal (20 mg) were stirred in 5 ml ethanol at room temperature under an atmosphere of hydrogen overnight. The mixture was filtered through a pad of Celite[®] and the solvent was evaporated under reduced pressure to give **40a** as brown oil (195 mg, 0.91 mmol, quant.). The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 5.53 (s, 2H), 6.72-6.75 (m, 2H), 7.27-7.30 (m, 1H), 7.32 (dd, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, 1H), 7.50 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.20 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.38 (dd, ³*J* = 4.9 Hz, ³*J* = 1.2 Hz, 1H), 8.64 (d, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 115.2, 116.9, 117.7, 123.6, 127.2, 127.7, 133.2, 134.8, 141.8, 145.5, 149.2, 167.7.

3-(Pyridin-3-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione (40)^{138a}

To a solution of **40a** (544 mg, 2.55 mmol) in 15 ml dry dioxane was added triphosgene (757 mg, 2.55 mmol) in portions. The mixture was refluxed for 4 h, before it was cooled to room temperature. Then, 70 ml water was added and the mixture was neutralized with NaHCO₃ and extracted exhaustively with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Removal of the solvents under reduced pressure and purification by crystallization from ethanol yielded **40** as colorless solid (310 mg, 0.64 mmol, 51 %).

Melting point: (decomp.) 272 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 7.06-7.09 (m, 1H), 7.17 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.49 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.57-7.60 (m, 1H), 7.73 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.89 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.47 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 8.55 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 114.3, 117.2, 119.8, 121.1, 123.6, 127.2, 133.3, 134.7, 136.8, 148.3, 149.8, 151.3, 162.8.

MS *m/z* 240.0 (MH⁺).

2-Amino-N-(pyridin-3-ylmethyl)benzamide (41a)¹⁴⁰

To a suspension of isatoic anhydride (**41b**, 4.89 g, 30.0 mmol) in 50 ml dioxane was added triethylamine (5.0 ml, 36.0 mmol) and 3-(aminomethyl)pyridine (3.7 ml, 36.0 mmol). The mixture was refluxed for 1 h, before it was cooled to room temperature. Then, 150 ml water was added and the mixture was extracted exhaustively with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄. Removal of the solvents under reduced pressure and purification by crystallization from ethyl acetate yielded **41a** as colorless solid (6.31 g, 27.8 mmol, 92 %)

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.59 (d, ³*J* = 6.0 Hz, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.60-6.63 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 2H), 7.18-7.21 (m, 1H), 7.25 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, 1H), 7.34 (dd, ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.67 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.49 (dd, ³*J* = 4.9 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.55 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 41.0, 115.3, 116.6, 117.4, 123.5, 127.1, 132.6, 134.1, 135.5, 148.8, 148.9, 149.1, 169.3.

3-(Pyridin-3-ylmethyl)quinazoline-2,4(1*H*,3*H*)-dione (41)^{138b}

Compound **41** was obtained by reacting **41a** (400 mg, 1.76 mmol) with triphosgene (522 mg, 1.76 mmol) as described for **40** as colorless solid (349 mg, 1.38 mmol, 78 %)

Melting point: 237-238 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.11 (s, 2H), 7.21-7.23 (m, 2H), 7.33 (ddd, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 0.7 Hz, 1H), 7.65-7.68 (m, 1H), 7.72 (d, ³*J* = 7.8 Hz, 1H), 7.94 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.46 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.59 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 11.55 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 40.9, 113.6, 115.2, 122.5, 123.4, 127.3, 132.9, 135.1, 135.3, 139.4, 148.3, 149.1, 150.1, 161.9.

MS *m/z* 254.48 (MH⁺).

2-Amino-*N*-(pyridin-4-ylmethyl)benzamide (42a)¹⁴¹

By following the same procedure as for compound **41a**, **42a** was obtained from isatoic anhydride (**41b**, 4.89 g, 30.0 mmol) and 4-(aminomethyl)pyridine (3.7 ml, 36.0 mmol) as colorless solid (6.30 g, 27.8 mmol, 92 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.61 (d, ³*J* = 6.0 Hz, 2H), 5.56 (s, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.64-6.67 (m, 1H), 6.70 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.22-7.25 (m, 3H), 7.37 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.55 (dd, ³*J* = 4.6 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 42.4, 115.1, 116.6, 117.5, 122.2, 127.0, 132.7, 147.6, 149.0, 150.1, 169.4.

3-(Pyridin-4-ylmethyl)quinazoline-2,4(1*H*,3*H*)-dione (42)^{138c}

Compound **42** was obtained by reacting **42a** (200 mg, 0.88 mmol) with triphosgene (261 mg, 0.88 mmol) following the procedure described for **40** as colorless solid (161 mg, 0.64 mmol, 71 %).

Melting point: 243-245 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.10 (s, 2H), 7.22-7.24 (m, 2H), 7.26 (dd, ³*J* = 4.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 2H), 7.67-7.71 (m, 1H), 7.94 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.48 (dd, ³*J* = 4.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 2H), 11.59 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 42.3, 113.5, 115.2, 121.8, 122.6, 127.4, 135.2, 139.5, 146.1, 149.5, 150.0, 161.9.

MS *m/z* 254.40 (MH⁺).

2-Methyl-3-(pyridin-3-yl)quinazolin-4(3*H*)-one (**43**)^{144a}

A solution of 3-aminopyridine (321 mg, 3.41 mmol) and **43a** (500 mg, 3.10 mmol) in 2 ml DMF was stirred at 140 °C for 4 h, before it was cooled to room temperature. Then, 50 ml water was added and the mixture was exhaustively extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Removal of the solvents under reduced pressure, purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol, 96/4), and crystallization from ethyl acetate/hexane yielded **43** as colorless solid (293 mg, 1.23 mmol, 40 %).

Melting point: 99-100 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 2.25 (s, 3H), 7.47-7.49 (m, 1H), 7.53 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ³*J* = 5.0 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 7.66 (ddd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.69 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.79 (d, ³*J* = 7.3 Hz, 1H), 8.26 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 8.57 (dd, ⁴*J* = 2.2 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 8.77 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 24.5, 120.5, 124.4, 127.00, 127.02, 127.06, 134.5, 134.9, 136.0, 147.4, 149.2, 150.4, 153.2, 162.2.

MS *m/z* 238.3 (MH⁺).

2-Methyl-3-(pyridin-3-ylmethyl)quinazolin-4(3*H*)-one (**44**)^{144b}

Compound **44** was obtained by reacting 3-(aminomethyl)pyridine (348 μ l, 3.41 mmol) and **43a** (500 mg, 3.10 mmol) following the procedure described for **43**. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol, 95/5) and crystallization from ethyl acetate/petroleum ether yielded **44** as colorless solid (283 mg, 1.13 mmol, 36 %).

Melting point: 120-121 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 2.58 (s, 3H), 5.40 (s, 2H), 7.26 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 5.0 Hz, ⁵*J* = 0.7 Hz, 1H), 7.46-7.50 (m, 1H), 7.56 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.64 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.74-7.77 (m, 1H), 8.30 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.55 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.58 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 23.4, 45.0, 120.2, 123.8, 126.8, 126.9, 127.0, 131.7, 134.60, 134.64, 147.2, 148.5, 149.4, 153.8, 162.4.

MS *m/z* 252.2 (MH⁺).

2-Methyl-3-(pyridin-4-ylmethyl)quinazolin-4(3*H*)-one (**45**)^{144b}

Compound **45** was obtained by reacting 4-(aminomethyl)pyridine (347 μ l, 3.41 mmol) and **43a** (500 mg, 3.10 mmol) following the procedure described for **43**. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol, 95/5) and crystallization from ethyl acetate/petroleum ether yielded **45** as colorless solid (319 mg, 1.27 mmol, 41 %).

Melting point: 128 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 2.52 (s, 3H), 5.39 (s, 2H), 7.10 (d, ³*J* = 6.0 Hz, 2H), 7.48-7.51 (m, 1H), 7.66 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.76-7.9 (m, 1H), 8.29 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 8.57 (dd, ³*J* = 4.4 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 23.3, 46.3, 120.1, 121.2, 126.86, 126.91, 127.1, 134.7, 144.9, 147.3, 150.4, 153.8, 162.2.

MS *m/z* 252.47 (MH⁺).

5.1.3 Synthesis of compounds described in chapter 3.4

2-(4-Bromo-2-fluorophenylamino)-2-oxoethyl acetate (**48c**)

Acetoxyacetyl chloride (7.5 g, 55.0 mmol) was added drop wise to a solution of 4-bromo-2-fluoroaniline (**48d**, 9.5 g, 50.0 mmol) in 150 ml dry CHCl_3 under an atmosphere of nitrogen. The mixture was stirred at room temperature for 0.5 h, water was added and the solution was extracted several times with CH_2Cl_2 . The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO_4 , affording crude **48c** as colorless solid (15.2 g) in quantitative yield. The compound was used in the next step without further purification.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 2.23$ (s, 3H), 4.71 (s, 2H), 7.28-7.31 (m, 2H), 8.03 (s, 1H), 8.22-8.26 (m, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 20.6$, 63.2, 116.6 (d, $^3J = 9.7$ Hz), 118.5 (d, $^2J = 22.6$ Hz), 122.7, 124.6 (d, $^2J = 10.7$ Hz), 127.9 (d, $^3J = 4.3$ Hz), 152.1 (d, $^1J = 249.3$ Hz), 165.0, 169.1.

N-(4-Bromo-2-fluorophenyl)-2-hydroxyacetamide(**48b**)¹⁵¹

A 2 M aqueous solution of sodium hydroxide (49 ml, 97.9 mmol) was added to a solution of **48c** (14.2 g, 49.0 mmol) in 150 ml ethanol at 0 °C. The mixture was stirred at room temperature for 0.5 h, before water was added. Acidification with 3 M HCl afforded **48b** as colorless solid (9.1 g, 36.6 mmol, 75 %). The compound was used in the next step without further purification.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 2.59$ (t, $^3J = 5.4$ Hz, 1H), 4.29 (d, $^3J = 5.4$ Hz, 1H), 7.27-7.30 (m, 2H), 8.26-8.29 (m, 1H), 8.56 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): $\delta = 62.6$, 116.4 (d, $^3J = 8.6$ Hz), 118.6 (d, $^2J = 22.6$ Hz), 122.5, 124.7 (d, $^2J = 10.7$ Hz), 127.8 (d, $^3J = 3.2$ Hz), 152.2 (d, $^1J = 249.3$ Hz), 169.8.

7-Bromo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-one (48a)¹⁵¹

A solution of *N*-(4-bromo-2-fluorophenyl)-2-hydroxyacetamide (8.0 g, 32.3 mmol) in 50 ml dry DMF was added drop wise to a suspension of sodium hydride (5.2 g, 129 mmol) in 30 ml dry DMF. The mixture was stirred for 2 h under an atmosphere of nitrogen at 140 °C. After cooling to room temperature, water was added and the mixture was extracted several times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 97/3) yielded **48a** as off-white solid (2.3 g, 10.1 mmol, 31 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.59 (s, 2H), 6.83 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.12 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 7.16 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 10.79 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 66.6, 113.6, 117.1, 118.8, 124.9, 126.7, 144.1, 164.3.

7-(Pyridin-3-yl)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-one (48)

Compound **48** was obtained according to general procedure D using **48a** (342 mg, 1.5 mmol) and 3-pyridineboronic acid (242 mg, 1.95 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 95/5) as pale yellow solid (121 mg, 0.53 mmol, 36 %).

Melting point: 256 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.63 (s, 2H), 7.00 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.32-7.34 (m, 2H), 7.44 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.8 Hz, 1H), 8.00-8.03 (m, 1H), 8.52 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.85 (d, ⁴*J* = 2.5 Hz, 1H), 10.82 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 66.7, 114.3, 116.3, 120.7, 123.7, 127.2, 131.9, 133.5, 134.6, 143.7, 147.2, 148.1, 164.6.

MS *m/z* 227.7 (MH⁺).

6-(Pyridin-3-yl)benzo[d]oxazol-2(3H)-one (49)

Compound **49** was obtained according to general procedure E using 6-bromo-benzo[d]oxazol-2(3H)-one (428 mg, 2.0 mmol) and 3-pyridineboronic acid (320 mg, 2.6 mmol) with cesium carbonate as base instead of sodium carbonate after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 95/5) and flash chromatography (ethyl acetate) as colorless solid (99 mg, 0.47 mmol, 23 %).

Melting point: 265 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 7.20 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.46 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.51 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1H), 7.71 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.04-8.07 (m, 1H), 8.54 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.88 (d, ⁴*J* = 2.5 Hz, 1H), 11.73 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 108.0, 110.1, 122.5, 123.7, 130.4, 131.1, 133.8, 135.1, 144.0, 147.4, 148.1, 154.3.

MS *m/z* 212.97 (MH⁺).

7-Bromo-4-methyl-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-one (50a)

Potassium *tert*-butoxide (336 mg, 0.30 mmol) was added to a solution of **48a** (342 mg, 1.50 mmol) in 2 ml dry DMF under a nitrogen atmosphere. After stirring for 0.5 h at room temperature, iodomethane (187 μ l, 3.00 mmol) was added drop wise and stirring was continued for 24 h. 100 ml water was added. The mixture was extracted three times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Purification by flash chromatography (petroleum ether/ethyl acetate 4/1) afforded **50a** as pale yellow solid (264 mg, 1.09 mmol, 73 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.34 (s, 3H), 4.61 (s, 2H), 6.82 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.14-7.17 (m, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 28.1, 67.5, 115.9, 116.0, 120.1, 125.6, 128.8, 145.7, 163.9.

4-Methyl-7-(pyridin-3-yl)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-one (50)

Compound **50** was obtained according to general procedure E using **50a** (225 mg, 0.93 mmol) and 3-pyridineboronic acid (149 mg, 1.21 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as off-white solid (70 mg, 0.29 mmol, 31 %).

Melting point: 149-150 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 3.41 (s, 3H), 4.67 (s, 2H), 7.07 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.22 (d, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 7.27 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.35 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.8 Hz, 1H), 7.83 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.59 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.82 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 28.1, 67.6, 115.32, 115.35, 131.3, 123.6, 129.4, 133.7, 133.9, 135.3, 145.6, 148.0, 148.6, 164.3.

MS *m/z* 241.20 (MH⁺).

7-(Isoquinolin-4-yl)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-one (51)

Compound **51** was obtained according to general procedure D using **48a** (242 mg, 1.95 mmol) and 4-isoquinolineboronic acid (337 mg, 1.95 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 97/3) as off-white solid (177 mg, 0.64 mmol, 43 %).

Melting point: mp 266 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.66 (s, 2H), 7.08 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.12-7.13 (m, 2H), 7.71-7.74 (m, 1H), 7.80-7.81 (m, 1H), 7.89 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.21 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.88 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 66.7, 115.9, 117.4, 123.9, 124.0, 127.1, 127.4, 127.9, 128.0, 131.0, 131.1, 131.7, 133.1, 142.3, 143.3, 151.7, 164.7.

MS *m/z* 276.6 (MH⁺).

***N*-(4-Bromo-2-nitrophenyl)-2-chloroacetamide (52c)**¹⁵²

2-Chloroacetyl chloride (9.4 g, 82.9 mmol) was added drop wise to a solution of 4-bromo-2-nitroaniline (**52d**, 15.0 g, 69.1 mmol) in 140 ml toluene under an atmosphere of nitrogen. After refluxing for 1.5 h, the reaction mixture was cooled to room temperature. Toluene was removed under reduced pressure. Crystallization from ethyl acetate/hexane afforded **52c** as yellow needles (19.4 g, 66.1 mmol, 96 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.24 (s, 2H), 7.78 (dd, ³*J* = 9.0 Hz, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H), 8.40 (d, ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H), 8.71 (d, ³*J* = 9.1 Hz, 1H), 11.31 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 43.1, 116.5, 123.4, 128.5, 132.7, 137.1, 138.7, 165.3.

***N*-(2-Amino-4-bromophenyl)-2-chloroacetamide (52b)**¹⁵²

Ferrous powder (19.8 g, 354 mmol), ammonium chloride (1.1 g, 19.7 mmol) and acetic acid (4.9 ml, 86.5 mmol) were suspended in 300 ml water and stirred at 50 °C for 15 min. Then, **52c** (11.5 g, 39.3 mmol) in 100 ml DMF was added. After stirring for 15 min, the mixture was basified (pH 9) with saturated aqueous sodium carbonate solution. The remaining solids were filtered and washed with water and ethyl acetate. Extraction of the water layer with ethyl acetate, washing of the combined organic layers with brine, drying over anhydrous MgSO₄, and purification by flash chromatography (petroleum ether/ethyl acetate 1/1) yielded **52b** as off-white solid (4.5 g, 17.0 mmol, 43 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.84 (s, 2H), 4.21 (s, 2H), 6.92 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 6.95 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 7.14 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.16 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 42.8, 120.6, 120.7, 122.0, 122.4, 126.5, 141.9, 164.7.

6-Bromo-3,4-dihydroquinoxalin-2(1H)-one (52a)¹⁵²

A mixture of *N*-(2-amino-4-bromophenyl)-2-chloroacetamide (4.5 g, 17.0 mmol), sodium iodide (101 mg, 2.0 mmol), and sodium carbonate (3.6 g, 33.8 mmol) in 300 ml acetonitrile was refluxed overnight under a nitrogen atmosphere. The acetonitrile was removed under reduced pressure. The resulting solid was suspended in 150 ml water and acidified (pH 5-6) with 1 N HCl. Extraction with ethyl acetate, washing of the combined organic layers with brine, drying over anhydrous MgSO₄ and purification by flash chromatography (petroleum ether/ethyl acetate 3/2) yielded **52a** (1.3 g, 5.8 mmol, 34 %) as yellow solid.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 3.74 (d, ³*J* = 1.5 Hz, 2H), 6.20 (s, 1H), 6.63 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 6.71 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H), 6.79 (d, ⁴*J* = 1.8 Hz, 1H), 10.33 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 45.7, 114.1, 115.1, 116.2, 119.6, 125.3, 136.4, 165.4.

6-(Pyridin-3-yl)-3,4-dihydroquinoxalin-2(1H)-one (52)

Dihydroquinoxalinone **52a** (340 mg, 1.50 mmol) and 3-pyridineboronic acid (240 mg, 1.95 mmol) were coupled according to general procedure D. Hydration over 10 % Pd/C at room temperature overnight and purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 95/5) afforded **52** as yellow solid (74 mg, 0.33 mmol, 22 %).

Melting point: (decomp.) 182 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.77 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 6.83 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 6.95 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 6.97 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.43 (dd, ³*J* = 7.7 Hz, ³*J* = 4.6 Hz, 1H), 7.91 (dt, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.50 (dd, ³*J* = 4.6 Hz, ⁴*J* = 1.1 Hz, 1H), 8.75 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 10.34 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 46.1, 111.2, 115.4, 116.3, 123.7, 126.2, 131.5, 133.3, 135.3, 135.7, 147.0, 147.7, 165.8.

MS *m/z* 226.15 (MH⁺).

6-Bromo-4-methyl-3,4-dihydroquinoxalin-2(1H)-one (53a)

A solution of 37 % formaldehyde in water (146 μ l, 1.95 mmol) and acetic acid (186 μ l, 3.26 mmol) was added to a solution of **52a** (370 mg, 1.63 mmol) in 10 ml methanol. The mixture was stirred at room temperature for 2 h, before it was refluxed for 1 h. After addition of sodium cyanoborohydride (307 mg, 4.89 mmol) stirring was continued for 2.5 h at room temperature. Methanol was removed under vacuum. Water was added, then the mixture was basified (pH 8-9) with a saturated aqueous solution of sodium hydrogen carbonate and extracted several times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO_4 to afford **53a** as off-white solid (369 mg, 1.53 mmol, 94 %). The compound was used in the next step without further purification.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 2.84 (s, 3H), 3.79 (s, 2H), 6.61 (d, 3J = 8.2 Hz, 1H), 6.77 (d, 4J = 1.9 Hz, 1H), 6.87 (dd, 3J = 8.2 Hz, 4J = 2.2 Hz, 1H), 8.87 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3 , δ in ppm): δ = 37.3, 54.3, 114.5, 116.3, 116.9, 121.5, 125.2, 137.2, 166.6.

4-Methyl-6-(pyridin-3-yl)-3,4-dihydroquinoxalin-2(1H)-one (53)

Compound **53** was obtained according to general procedure D using **53a** (342 mg, 1.42 mmol) and 3-pyridineboronic acid (229 mg, 1.86 mmol) after flash chromatography (CH_2Cl_2 /methanol 97/3) and crystallization from acetone as pale yellow solid (55 mg, 0.23 mmol, 16 %).

Melting point: >300 $^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ in ppm): δ = 2.87 (s, 3H), 3.70 (s, 2H), 6.90 (d, 3J = 7.9 Hz, 1H), 6.98 (s, 1H), 7.06 (d, 3J = 7.9 Hz, 1H), 7.43 (dd, 3J = 7.6 Hz, 3J = 5.0 Hz, 1H), 8.02 (dd, 3J = 7.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1H), 8.51 (d, 3J = 4.7 Hz, 1H), 8.86 (d, 4J = 2.2 Hz, 1H), 10.52 (s, 1H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ in ppm): δ = 36.8, 54.0, 109.7, 115.1, 117.0, 123.6, 127.4, 131.9, 133.6, 135.8, 136.7, 147.3, 147.7, 165.9.

MS m/z 240.0 (MH^+).

6-(Isoquinolin-4-yl)-3,4-dihydroquinoxalin-2(1H)-one (54)

Compound **7** was obtained according to general procedure D using **52a** (340 mg, 1.5 mmol) and 4-isoquinolineboronic acid (337 mg, 1.95 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 95/5) and crystallization from ethanol as yellow solid (148 mg, 0.54 mmol, 36 %).

Melting point: >300 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 3.82 (d, ⁴*J* = 1.8 Hz, 2H), 6.14 (s, 1H), 6.75 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 6.82 (d, ⁴*J* = 1.8 Hz, 1H), 6.90 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 7.69-7.73 (m, 1H), 7.76-7.80 (m, 1H), 7.93 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.19 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.37 (s, 1H), 9.28 (s, 1H), 10.42 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 46.1, 114.4, 115.0, 119.2, 124.2, 126.0, 127.3, 127.9, 127.9, 130.7, 130.7, 132.7, 133.2, 134.9, 142.0, 151.4, 165.9.

MS *m/z* 276.0 (MH⁺).

6-Bromo-1H-benzo[*d*][1,3]oxazin-2(4H)-one (55a)

Triphosgene was added (1.03 g, 3.8 mmol) to a solution of (2-amino-5-bromophenyl)-methanol (**55b**, 772 mg, 3.8 mmol) in 15 ml THF under an atmosphere of nitrogen. After precipitation of a colorless solid, stirring was continued for 20 min prior to addition of 20 ml water. The solution was extracted several times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄ to yield **55a** as colorless solid (830 mg, 3.64 mmol, 96 %). The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 5.29 (s, 2H), 6.76 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.25 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (dd, ³*J* = 8.3 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.76 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 68.0, 115.8, 117.6, 119.8, 127.3, 132.1, 134.6, 153.1.

6-(Pyridin-3-yl)-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2(4H)-one (55)

Compound **55** was obtained according to general procedure E using **55a** (342 mg, 1.50 mmol) and 3-pyridineboronic acid (240 mg, 1.95 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 97/3) and crystallization from acetone as colorless solid (85 mg, 0.38 mmol, 25 %).

Melting point: 211 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.35 (s, 2H), 7.00 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.46 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.64 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 8.00-8.02 (m, 1H), 8.53 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.85 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 10.29 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 67.4, 114.2, 119.2, 122.9, 123.7, 125.1, 127.2, 131.0, 133.4, 136.4, 147.1, 148.0, 151.5.

MS *m/z* 227.32 (MH⁺).

6-(Isoquinolin-4-yl)-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2(4H)-one (56)

Compound **56** was obtained according to general procedure E using **55a** (255 mg, 1.12 mmol) and 4-isoquinolineboronic acid (232 mg, 1.34 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) and crystallization from acetone as colorless solid (74 mg, 0.27 mmol, 24 %).

Melting point: 215 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.38 (s, 2H), 7.08 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.44 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.72-7.75 (m, 1H), 7.78-7.81 (m, 1H), 7.88 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.21 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.41 (s, 1H), 9.32 (s, 1H), 10.34 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 67.4, 113.8, 118.9, 124.0, 125.9, 127.4, 127.9, 128.0, 130.2, 130.2, 131.0, 131.8, 133.1, 136.3, 142.3, 151.6, 151.7.

MS *m/z* 277.18 (MH⁺).

3,4-dihydroquinazolin-2(1H)-one (57b)

Triphosgene (3.31 g, 12.3 mmol) was added to a solution of 2-(aminomethyl)aniline (**57c**, 1.50 g, 12.3 mmol) in 30 ml THF under an atmosphere of nitrogen. After precipitation of a colorless solid, stirring was continued for 30 min before water was added. The solution was extracted several times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄ to afford **57b** as colorless solid (1.80 g, 12.2 mmol, 99 %). The compound was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.30 (s, 2H), 6.75-6.77 (m, 2H), 6.84 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 7.06 (d, ³*J* = 7.3 Hz, 1H), 7.09 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, 1H), 8.98 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 42.4, 113.4, 118.0, 120.8, 125.5, 127.4, 138.0, 154.5.

6-Bromo-3,4-dihydroquinazolin-2(1H)-one (57a)¹⁵⁴

A solution of *N*-bromosuccinimide (2.26 g, 12.7 mmol) in 30 ml dry DMF was added drop wise to a solution of **57b** (1.79 g, 12.1 mmol) in 35 ml dry DMF at 0 °C. The mixture was stirred at 0 °C for 2 h. Water was added and the solution was extracted with ethyl acetate. The organic layer was washed with brine, and dried over anhydrous MgSO₄. The resulting yellow solid was purified by crystallization from acetone to afford **57a** as off-white solid (1.37 g, 6.00 mmol, 50 %).

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.29 (s, 2H), 6.71 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 7.27 (dd, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 9.13 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 41.9, 112.0, 115.3, 120.7, 128.2, 130.1, 137.5, 154.1.

6-(Pyridin-3-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2(1H)-one (57)

Compound **57** was obtained according to general procedure E using **57a** (341 mg, 1.50 mmol) and 3-pyridineboronic acid (221 mg, 1.80 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 93/7) as colorless solid (331 mg, 1.47 mmol, 98 %).

Melting point: (decomp.) 170 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.39 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 6.88 (d, ³*J* = 8.8 Hz, 1H), 7.43 (dd, ³*J* = 7.7 Hz, ³*J* = 4.9 Hz, 1H), 7.49-7.51 (m, 2H), 7.98 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.49 (dd, ³*J* = 4.4 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 8.82 (d, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 9.14 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 42.5, 114.1, 118.9, 123.7, 124.2, 126.1, 129.6, 133.2, 135.1, 138.2, 147.0, 147.7, 154.3.

MS *m/z* 226.16 (MH⁺).

6-(Isoquinolin-4-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2(1H)-one (58)

Compound **58** was obtained according to general procedure E using **57a** (454 mg, 2.00 mmol) and 4-isoquinolineboronic acid (450 mg, 2.60 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 95/5) and crystallization from ethanol as yellow solid (345 mg, 1.25 mmol, 63 %).

Melting point: (decomp.) 221 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.41 (s, 2H), 6.88 (s, 1H), 6.96 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.29-7.30 (m, 2H), 7.72 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, 1H), 7.79 (dd, ³*J* = ³*J* = 7.4 Hz, 1H), 7.90 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 8.20 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 9.20 (s, 1H), 9.30 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 42.4, 113.7, 118.6, 124.1, 127.1, 127.3, 127.9, 128.0, 129.2, 133.2, 138.0, 141.4, 142.2, 147.0, 151.4, 151.5, 154.4.

MS *m/z* 276.05 (MH⁺).

1-Chloro-*N*-(2-methoxyphenyl)methanesulfonamide (59d)

Chloromethanesulfonyl chloride (2.56 ml, 28.1 mmol) was added drop wise to a solution of *ortho*-anisidine (**59e**, 2.89 ml, 25.6 mmol) and triethylamine (5.88 ml, 42.3 mmol) in 75 ml CH₂Cl₂ under an atmosphere of nitrogen. After stirring at 0 °C for 1.5 h, the reaction mixture was washed with 0.2 N HCl and dried over anhydrous MgSO₄. Crude **59d** was obtained as orange solid (5.61 g, 23.8 mmol, 93 %) and was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.90 (s, 3H), 4.48 (s, 2H), 6.93 (dd, ³*J* = 8.2 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 6.96 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1H), 7.14-7.18 (m, 2H), 7.54 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 53.5, 55.9, 111.0, 120.6, 121.3, 125.1, 126.1, 149.5.

1-Chloro-*N*-(2-hydroxyphenyl)methanesulfonamide (59c)

A 1 M solution of BBr₃ in dichloromethane (25 ml, 25 mmol) was added drop wise to a solution of **59d** (1.96 g, 8.33 mmol) in 40 ml CH₂Cl₂ at 0 °C. The mixture was stirred for 1.5 h. Then water was added and the mixture was extracted with CH₂Cl₂. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄ and purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1), affording **59c** as brown oil (1.24 g, 5.59 mmol, 67 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.53 (s, 2H), 6.24 (s, 1H), 6.84 (s, 1H), 6.93-6.98 (m, 2H), 7.18 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.38 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 53.0, 117.2, 121.6, 122.2, 124.8, 128.6, 149.8.

1*H*,3*H*-4,2,1-Benzoxathiazine-2,2-dioxide (59b)

A solution of **59c** (882 mg, 3.98 mmol) in 16 ml methanol and 12 ml 1 M aqueous NaOH solution were stirred at 50 °C for 5 h. The reaction mixture was cooled to room temperature and neutralized with saturated aqueous NH₄Cl solution. The mixture was extracted several times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) yielded **59b** as off-white solid (522 mg, 3.30 mmol, 83 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.94 (s, 2H), 6.45 (s, 1H), 6.84 (d, ³*J* = 7.0 Hz, 1H), 7.04-7.10 (m, 3H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 77.3, 119.0, 120.7, 124.2, 125.4, 125.5, 142.5.

6-Bromo-1*H*-4,2,1-benzoxathiazine-2,2-dioxide (59a)

Bromine (102 μ l, 2.00 mmol) was added drop wise to a solution of **59b** (316 mg, 2.00 mmol) in 10 ml CHCl₃ at 0 °C. After stirring at room temperature for 4 h, the solvent was removed under reduced pressure. Crude **59a** was obtained as off-white solid (485 mg, 1.84 mmol, 92 %) and was used in the next step without further purification.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.24 (s, 2H), 6.79 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 1H), 7.23 (dd, ³*J* = 8.7 Hz, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1H), 7.32 (d, ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H), 10.77 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 76.2, 114.3, 121.1, 126.7, 129.7, 142.6, 146.5.

6-(Pyridin-3-yl)-1*H*-4,2,1-benzoxathiazine-2,2-dioxide (59)

Compound **59** was obtained according to general procedure E using **59a** (154 mg, 0.58 mmol) and 3-pyridineboronic acid (93 mg, 0.76 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as colorless solid (53 mg, 0.20 mmol, 35 %).

Melting point: (decomp.) 214 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.23 (s, 2H), 6.95 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.41-7.46 (m, 2H), 8.03 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.53 (dd, ³*J* = 4.8 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1H), 8.85 (d, ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 76.6, 116.5, 120.5, 122.1, 123.9, 127.4, 132.6, 133.9, 134.5, 142.5, 147.4, 148.4.

MS *m/z* 262.92 (MH⁺).

6-Bromo-1-methyl-1*H*-4,2,1-benzoxathiazine-2,2-dioxide (60a)

Potassium carbonate (180 mg, 1.30 mmol) and iodomethane (51 μ l, 0.81 mmol) were successively added to a solution of **59a** (168 mg, 0.64 mmol) in 2 ml DMF under an atmosphere of nitrogen. After stirring at 50 °C for 3 h water was added. The mixture was extracted several times with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Purification by flash chromatography (petroleum ether/ethyl acetate 9/1) afforded **60a** as pale yellow solid (154 mg, 0.55 mmol, 87 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.28 (s, 3H), 4.95 (s, 2H), 6.82 (d, ³*J* = 9.1 Hz, 1H), 7.21-7.23 (m, 2H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 32.1, 76.3, 116.6, 119.5, 121.7, 126.9, 129.3, 143.6.

1-Methyl-6-(pyridin-3-yl)-1*H*-4,2,1-benzoxathiazine-2,2-dioxide (60)

Compound **60** was obtained according to general procedure E using **60a** (46 mg, 0.52 mmol) and 3-pyridineboronic acid (84 mg, 0.68 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 99/1) as off-white solid (103 mg, 0.37 mmol, 72 %).

Melting point: 128 °C.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.34 (s, 3H), 5.01 (s, 2H), 7.06 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.29 (d, ⁴*J* = 2.1 Hz, 1H), 7.33 (dd, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 7.36 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.9 Hz, ⁵*J* = 0.6 Hz, 1H), 7.82 (d, ³*J* = 7.9 Hz, 1H), 8.59 (dd, ³*J* = 4.8 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz, 1H), 8.80 (d, ⁴*J* = 1.8 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 31.6, 76.6, 117.1, 118.7, 122.5, 123.6, 129.9, 134.0, 134.2, 134.8, 143.4, 148.0, 148.8.

MS *m/z* 276.93 (MH⁺).

6-(Isoquinolin-4-yl)-1*H*-4,2,1-benzoxathiazine-2,2-dioxide (61)

Compound **61** was obtained according to general procedure E using **59a** (169 mg, 0.64 mmol) and 4-isoquinolineboronic acid (144 mg, 0.83 mmol) after flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 98/2) as off-white solid (30 mg, 0.10 mmol, 15 %).

Melting point: (decomp.) 213 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 5.30 (s, 2H), 7.02 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 7.23 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 2.0 Hz, 1H), 7.27 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 7.74 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1H), 7.81 (ddd, ³*J* = ³*J* = 7.6 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz, 1H), 7.87 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1H), 8.22 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 9.34 (s, 1H), 10.84 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 76.4, 119.3, 119.9, 123.8, 125.1, 127.0, 127.4, 127.9, 128.0, 131.1, 131.2, 131.6, 133.0, 141.9, 142.3, 151.9.

MS *m/z* 313.01 (MH⁺).

Methyl 5-bromo-2-(methylsulfonamido)benzoate (62d)

Pyridine (2.3 ml, 29.2 mmol) and chloromethanesulfonyl chloride (3.9 ml, 48.7 mmol) were successively added drop wise to a solution of methyl 2-amino-5-bromobenzoate (**55c**, 5.60 g, 24.3 mmol) in 50 ml CH₂Cl₂ under an atmosphere of nitrogen at 0 °C. After stirring at room temperature overnight, the reaction mixture was washed with 1 N HCl and brine, dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under reduced pressure. Crystallization from ethyl acetate afforded **62d** as off-white solid (6.00 g, 19.4 mmol, 80 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 3.06 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 7.63-7.67 (m, 2H), 8.18 (s, 1H), 10.35 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 40.2, 52.9, 115.5, 119.5, 119.8, 134.1, 137.7, 139.9, 167.2.

Methyl 2-(*N*-benzylmethylsulfonamido)-5-bromobenzoate (62c)

Potassium carbonate (4.54 g, 32.8 mmol) and benzyl bromide (2.5 ml, 20.5 mmol) were successively added to a solution of **62d** (4.94 g, 16.0 mmol) in 15 ml DMF under an atmosphere of nitrogen at 0 °C. After stirring at 50 °C for 4 h water was added. The mixture was extracted several times with diethyl ether. The combined organic layers were washed with brine and dried over anhydrous MgSO₄. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂) afforded **62c** as off-white solid (6.16 g, 15.5 mmol, 97 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 2.99 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 4.71 (s, 2H), 6.95 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.22-7.29 (m, 5H), 7.50 (dd, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 2.6 Hz, 1H), 8.03 (d, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 40.5, 52.7, 55.4, 122.3, 128.1, 128.5, 129.2, 131.8, 134.5, 134.8, 135.6, 135.8, 137.2, 164.8.

***N*-Benzyl-6-bromo-3,4-dihydrobenzothiazin-4-one-2,2-dioxide (62b)**

A solution of **62c** (6.06 g, 15.2 mmol) in 10 ml DMF was added drop wise to a suspension of sodium hydride (1.22 g, 30.4 mmol) in 5 ml DMF at 0 °C under an atmosphere of nitrogen. After stirring at room temperature for 24 h, the solution was diluted with water and approximately 60 ml 1 N HCl were added until precipitation of a yellow solid. Recrystallization from ethanol yielded **62b** as green solid (3.17 g, 8.66 mmol, 57 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.24 (s, 3H), 5.14 (s, 2H), 7.16 (d, ³*J* = 8.8 Hz, 1H), 7.30-7.38 (m, 5H), 7.64 (dd, ³*J* = 8.8 Hz, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H), 8.22 (d, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 51.3, 61.6, 117.7, 121.5, 125.3, 127.0, 128.4, 129.2, 131.9, 134.8, 139.0, 142.5, 183.0.

***N*-Benzyl-6-(pyridin-3-yl)-3,4-dihydrobenzothiazin-4-one-2,2-dioxide (62a)**

3-Pyridineboronic acid (639 mg, 5.20 mmol), **62b** (1.47 g, 4.00 mmol) and Pd(PPh₃)₄ (231 mg, 0.20 mmol) were suspended in 40 ml toluene and 10 ml ethanol under an atmosphere of nitrogen. To this mixture was added aqueous 1 M sodium carbonate solution (24 ml, 24 mmol) and it was refluxed overnight. Work-up as described in procedure E and Purification by crystallization from acetone/diethyl ether afforded **62a** as off-white solid (1.15 g, 3.16 mmol, 79 %).

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 4.32 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 7.26 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.31-7.35 (m, 1H), 7.36-7.40 (m, 5H), 7.78 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 7.86 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, ⁵*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.34 (ddd, ⁴*J* = 1.9 Hz, 1H), 8.62 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.82 (dd, ⁴*J* = 2.4 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃, δ in ppm): δ = 51.0, 61.8, 120.4, 123.7, 124.3, 127.0, 127.7, 128.3, 129.2, 133.9, 134.1, 134.2, 134.6, 135.1, 143.3, 147.9, 149.2, 183.8.

6-(Pyridin-3-yl)-3,4-dihydrobenzothiazin-4-one-2,2-dioxide (62)

Compound **62a** (273 mg, 0.75 mmol) and 10 % Pd/C (273 mg) were refluxed in 10 ml methanol overnight under a hydrogen atmosphere. The suspension was filtered over charcoal and the solvent evaporated. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/methanol 97/3) afforded **62** as colorless solid (33 mg, 0.12 mmol, 16 %).

Melting point: (decomp.) 172 °C.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 4.85 (s, 2H), 7.23 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1H), 7.50 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz, ⁵*J* = 0.9 Hz, 1H), 8.05 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 8.08 (ddd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 2.5 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.16 (d, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1H), 8.59 (dd, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 8.90 (d, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1H), 11.67 (s, 1H).

¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆, δ in ppm): δ = 61.4, 119.4, 120.7, 123.9, 125.6, 131.5, 133.9, 134.0, 134.7, 142.3, 147.2, 148.5, 185.4.

MS *m/z* 274.75 (MH⁺).

5.2 Pharmakologische Arbeitsmethoden

Die in dieser Arbeit verwendeten pharmakologischen Arbeitsmethoden sind Bestandteil der Dissertationsschriften von Fr. Dr. U. Müller-Viera,¹⁶¹ Fr. Dr. Christina Zimmer,¹⁶² Hr. Dr. P. Ehmer¹⁶³ und der in der Vorbereitung befindlichen Dissertationsschrift von Fr. S. Rau. Im Folgenden werden diese Arbeitsmethoden kurz vorgestellt. Weitergehende experimentelle Details sind den genannten Arbeiten und den angegebenen Publikationen zu entnehmen.

5.2.1 Test auf Hemmung der CYP11B-Enzyme

Zelluläre Assays in V79MZ-Zellen – humane CYP11B-Enzyme^{161,vi}

Die inhibitorische Wirkung der potentiellen *h*CYP11B1- oder *h*CYP11B2-Hemmstoffe wird in V79MZ-Zellen, die entweder das humane CYP11B1 oder CYP11B2 exprimieren,^{69,109} untersucht. Die Hemmung der Enzymaktivität durch die Inhibitoren wird durch Ermittlung des Umsatzes von [1,2-³H]-11-Deoxycorticosteron (*c* = 100 nM, 0,15 µCi) zu den Produkten nach Inkubation von 20 min (CYP11B1) bzw. 45 min (CYP11B2) mit und ohne Hemmstoff bestimmt. Dabei katalysiert CYP11B1 die Umsetzung des Substrats zu Corticosteron und CYP11B2 zu Corticosteron, 18-Hydroxycorticosteron und Aldosteron. Der jeweilige Anteil der Steroide wird nach chromatographischer Auftrennung mittels HPLC mit einem Radiodetektor bestimmt. Die im CYP11B2-Test entstehenden Produkte werden zur Quantifizierung zusammengefasst.

Alle zu untersuchenden Hemmstoffe werden in einer Konzentration von 0,5 µM getestet. Für die Bestimmung von IC₅₀-Werten werden mindestens drei unterschiedliche geeignete Konzentrationen gewählt.

Als literaturbekannte Referenzverbindung dient das racemische Fadrozol. Die *in-house* ermittelten IC₅₀-Werte betragen 0,8 nM für *h*CYP11B2 und 6,3 nM für *h*CYP11B1.

^{vi} Der V79MZ-Zelltest wurde von Fr. Dr. U. Müller-Viera während ihrer Dissertation entwickelt.¹⁶¹ Die publizierten Testbedingungen wurden von Fr. Dr. C. Zimmer modifiziert: [1,2-³H]-11-Deoxycorticosteron wird anstelle von [4-¹⁴C]-11-Deoxycorticosteron verwendet und die Auftrennung des Produktgemischs wurde von einer dünnschichtchromatographischen (HPTLC) zu einer säulenchromatographischen (HPLC) Methode umgestellt (unpublizierte Ergebnisse).

Zellfreier *h*CYP11B2-Assay^{vii}

Dieser Test wird analog zu dem im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Assay durchgeführt, jedoch dient als Enzymquelle Homogenat von V79MZ*h*CYP11B2-Zellen und die Inkubationszeit beträgt 90 min. Die Hemmstoffe werden in einer Konzentration von 0,5 µM getestet.

Zellulärer Assay in V79MZ*rat*CYP11B2-Zellen

Die Hemmung der Enzymaktivität am *rat*CYP11B2 wird in V79MZ-Zellen untersucht, die das CYP11B2 der Ratte exprimieren.¹¹⁸ Die Vorgehensweise bei diesem Assay ist ähnlich der Testung am humanen CYP11B2. Abweichend ist die Verwendung einer Substratkonzentration von 0,5 µM (0,15 µCi) und einer Inkubationszeit von 7 h. Die zur Bestimmung der prozentualen Hemmung eingesetzte InhibitorKonzentration wurde auf 2 µM festgelegt.

5.2.2 Test auf Hemmung des humanen CYP17-Enzyms

Für die Bestimmung der inhibitorischen Aktivität gegenüber CYP17 wird als Enzymquelle das 50000-g Sediment eines Homogenats eines *Escherichia-coli*-Stamms verwendet, der humanes CYP17 rekombinant exprimiert.⁷⁴ Als Substrat dient Progesteron ($c = 25 \mu\text{M}$), das unter den verwendeten Testbedingungen zu 17 α -Hydroxyprogesteron umgesetzt wird. Um den Substratumsatz zu berechnen werden die Steroide chromatographisch aufgetrennt und photometrisch detektiert. Die prozentuale Hemmung der Enzymaktivität wurde bei einer InhibitorKonzentration von 0,5 µM bestimmt.

5.2.3 Test auf Hemmung des humanen CYP19-Enzyms

Die Bestimmung der Selektivität gegenüber CYP19 erfolgt nach einer im Arbeitskreis Hartmann etablierten Methode von Thompson und Siiteri.¹⁶⁴ Als Enzymquelle werden dabei humane Plazenta-Mikrosomen und als Substrat [1 β -³H]Androstendion ($c = 0,5 \mu\text{M}$, 0,08 µCi) verwendet. Zur Bestimmung des Substratumsatzes wird das bei der Reaktion entstehende ³H₂O detektiert. Bei den angegebenen Hemmwerten handelt es sich um die prozentuale Hemmung der Enzymaktivität bei einer InhibitorKonzentration von 2 µM.

^{vii} Die Entwicklung des zellfreien *h*CYP11B2-Tests ist Bestandteil der parallel zu dieser Arbeit durchgeführten Promotionsarbeit von Fr. S. Rau.

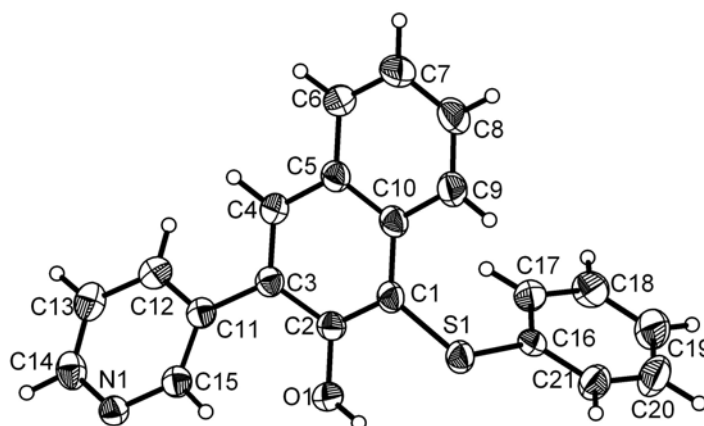
6 Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin converting enzyme
ACTH	Adrenocorticotropin
Ang II	Angiotensin II
aq.	wässrig
ASI	Aldosteron-Synthase-Inhibitor
BuLi	Butyllithium
c	Konzentration
°C	Grad Celsius
Ci	Curie
cLogP	berechneter LogP
CYP	Cytochrome P450
CYP11B1	11 β -Hydroxylase
CYP11B2	Aldosteron-Synthase
CYP17	17 α -Hydroxylase-C17/20-Lyase
CYP19	Aromatase
d	täglich
DC	Dünnschichtchromatographie
DiBAI-H	Diisobutylaluminiumhydrid
DIPEA	Ethyldiisopropylamin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DOC	11-Deoxycorticosteron
EPHESUS	Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study
ER	endoplasmatisches Retikulum
ESI	Elektronensprayionisation
ETO	<i>R</i> -Etomidat
FAD286	<i>R</i> -Fadrozol
g	Gramm
GR	Glucocorticoid-Rezeptor
<i>h</i>	human

h	Stunde
HTMP	2,2,6,6-Tetramethylpiperidine
IC ₅₀	InhibitorKonzentration, die 50 % der Enzymaktivität hemmt
kb	Kilobase
K _d	Dissoziationskonstante
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LC	Flüssigkeitschromatographie
M	molar
<i>m</i> -CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
MR	Mineralocorticoid-Rezeptor
MS	Massenspektrometrie
NADPH	reduziertes Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
nb	Wert nicht bestimmt
NCI-H295R	Nebennieren-Karzinom-Zelllinie
PA	primärer Hyperaldosteronismus
PK	Pharmakokinetik
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RALES	Randomized Aldactone Evaluation Study
RSS	11-Deoxycortisol
rt	Raumtemperatur
s.i.	Sequenzidentität
sf	Selektivitätsfaktor: IC ₅₀ (CYP11B1)/IC ₅₀ (CYP11B2)
S _{N,Ar}	nukleophile aromatische Substitution
Tf ₂ O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
THF	Tetrahydrofuran
Triflat	Trifluormethansulfon
Triphosgen	Kohlensäure-bis-trichlormethylester
UV	Ultraviolett
v/v	Volumenverhältnis
V79MZ	von Lungenfibroblasten des chinesischen Hamsters abgeleitete Zelllinie
W	Watt
ZNS	Zentrales Nervensystem

7 Anhang: Röntgenstrukturdaten

7.1 1-(Phenylsulfanyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (4)



Crystal data and structure refinement

Identification code	sh2613	
Empirical formula	C ₂₁ H ₁₅ N O S	
Formula weight	329.40	
Temperature	200(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	I2/a	
Unit cell dimensions	a = 17.419(4) Å	α = 90°.
	b = 5.9493(12) Å	β = 105.14(3)°.
	c = 32.403(7) Å	γ = 90°.
Volume	3241.5(11) Å ³	
Z	8	
Density (calculated)	1.350 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.206 mm ⁻¹	
F(000)	1376	
Crystal size	0.2 x 0.31 x 0.5 mm ³	

Theta range for data collection	2.43 to 24.10°.
Index ranges	-19<=h<=19, -6<=k<=6, -37<=l<=37
Reflections collected	9665
Independent reflections	2530 [R(int) = 0.0283]
Completeness to theta = 24.10°	98.5 %
Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2530 / 0 / 277
Goodness-of-fit on F ²	1.025
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0280, wR2 = 0.0745
R indices (all data)	R1 = 0.0354, wR2 = 0.0773
Largest diff. peak and hole	0.147 and -0.196 e.Å ⁻³

Atomic coordinates (x 10⁴) and equivalent isotropic displacement parameters (Å²x 10³) for sh2613 (4). U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U^{ij} tensor.

	x	y	z	U(eq)
N(1)	9224(1)	8579(2)	-412(1)	36(1)
O(1)	9946(1)	4932(2)	656(1)	37(1)
S(1)	9785(1)	1221(1)	1252(1)	35(1)
C(1)	9115(1)	3499(2)	1081(1)	31(1)
C(2)	9266(1)	4995(2)	784(1)	30(1)
C(3)	8699(1)	6718(2)	597(1)	30(1)
C(4)	8035(1)	6946(3)	748(1)	33(1)
C(5)	7875(1)	5516(3)	1066(1)	34(1)
C(6)	7193(1)	5811(3)	1222(1)	42(1)
C(7)	7031(1)	4338(3)	1513(1)	49(1)
C(8)	7538(1)	2505(3)	1657(1)	48(1)
C(9)	8208(1)	2181(3)	1518(1)	41(1)
C(10)	8405(1)	3695(3)	1224(1)	33(1)
C(11)	8801(1)	8176(2)	240(1)	30(1)
C(12)	8490(1)	10365(3)	180(1)	34(1)
C(13)	8545(1)	11604(3)	-173(1)	39(1)
C(14)	8920(1)	10673(3)	-458(1)	39(1)

C(15)	9159(1)	7387(3)	-71(1)	32(1)
C(16)	10332(1)	1971(2)	1777(1)	30(1)
C(17)	10241(1)	3966(3)	1984(1)	37(1)
C(18)	10706(1)	4346(3)	2397(1)	45(1)
C(19)	11258(1)	2764(3)	2602(1)	53(1)
C(20)	11346(1)	782(3)	2395(1)	55(1)
C(21)	10882(1)	375(3)	1985(1)	43(1)

Bond lengths [Å] and angles [°] for sh2613 (4)

N(1)-C(15)	1.341(2)	C(15)-N(1)-C(14)	117.71(14)
N(1)-C(14)	1.347(2)	C(16)-S(1)-C(1)	104.49(7)
O(1)-C(2)	1.3554(18)	C(2)-C(1)-C(10)	120.55(13)
S(1)-C(16)	1.7766(16)	C(2)-C(1)-S(1)	118.45(11)
S(1)-C(1)	1.7794(15)	C(10)-C(1)-S(1)	120.84(11)
C(1)-C(2)	1.386(2)	O(1)-C(2)-C(1)	122.38(13)
C(1)-C(10)	1.434(2)	O(1)-C(2)-C(3)	116.61(13)
C(2)-C(3)	1.442(2)	C(1)-C(2)-C(3)	121.01(13)
C(3)-C(4)	1.375(2)	C(4)-C(3)-C(2)	117.85(13)
C(3)-C(11)	1.495(2)	C(4)-C(3)-C(11)	119.99(14)
C(4)-C(5)	1.419(2)	C(2)-C(3)-C(11)	122.12(13)
C(5)-C(6)	1.419(2)	C(3)-C(4)-C(5)	122.90(15)
C(5)-C(10)	1.429(2)	C(6)-C(5)-C(4)	121.84(15)
C(6)-C(7)	1.368(2)	C(6)-C(5)-C(10)	119.27(14)
C(7)-C(8)	1.404(3)	C(4)-C(5)-C(10)	118.87(14)
C(8)-C(9)	1.369(3)	C(7)-C(6)-C(5)	120.53(17)
C(9)-C(10)	1.416(2)	C(6)-C(7)-C(8)	120.13(17)
C(11)-C(15)	1.397(2)	C(9)-C(8)-C(7)	121.03(17)
C(11)-C(12)	1.404(2)	C(8)-C(9)-C(10)	120.59(16)
C(12)-C(13)	1.384(2)	C(9)-C(10)-C(5)	118.38(14)
C(13)-C(14)	1.379(3)	C(9)-C(10)-C(1)	123.12(14)
C(16)-C(21)	1.392(2)	C(5)-C(10)-C(1)	118.50(13)
C(16)-C(17)	1.393(2)	C(15)-C(11)-C(12)	116.13(14)
C(17)-C(18)	1.390(2)	C(15)-C(11)-C(3)	122.00(13)

C(18)-C(19)	1.385(3)	C(12)-C(11)-C(3)	121.71(13)
C(19)-C(20)	1.385(3)	C(13)-C(12)-C(11)	120.05(15)
C(20)-C(21)	1.383(3)	C(14)-C(13)-C(12)	119.08(15)
		N(1)-C(14)-C(13)	122.56(15)
		N(1)-C(15)-C(11)	124.46(15)
		C(21)-C(16)-C(17)	119.91(14)
		C(21)-C(16)-S(1)	114.98(12)
		C(17)-C(16)-S(1)	125.11(12)
		C(18)-C(17)-C(16)	119.44(16)
		C(19)-C(18)-C(17)	120.51(17)
		C(18)-C(19)-C(20)	119.81(17)
		C(21)-C(20)-C(19)	120.26(18)
		C(20)-C(21)-C(16)	120.06(16)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms.

Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for sh2613 (4). The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
N(1)	34(1)	40(1)	33(1)	5(1)	7(1)	-7(1)
O(1)	32(1)	42(1)	39(1)	8(1)	14(1)	7(1)
S(1)	43(1)	35(1)	27(1)	0(1)	7(1)	7(1)
C(1)	33(1)	36(1)	23(1)	0(1)	3(1)	0(1)
C(2)	28(1)	36(1)	25(1)	-4(1)	5(1)	-1(1)
C(3)	29(1)	32(1)	27(1)	-1(1)	5(1)	-2(1)
C(4)	30(1)	38(1)	30(1)	2(1)	5(1)	2(1)
C(5)	30(1)	42(1)	28(1)	1(1)	5(1)	-2(1)
C(6)	32(1)	56(1)	39(1)	6(1)	10(1)	5(1)
C(7)	36(1)	69(1)	46(1)	9(1)	18(1)	0(1)
C(8)	46(1)	60(1)	41(1)	14(1)	17(1)	-3(1)
C(9)	40(1)	46(1)	36(1)	10(1)	10(1)	0(1)
C(10)	31(1)	40(1)	25(1)	-1(1)	5(1)	-3(1)
C(11)	24(1)	32(1)	30(1)	-1(1)	4(1)	-6(1)
C(12)	30(1)	32(1)	38(1)	-5(1)	5(1)	-4(1)

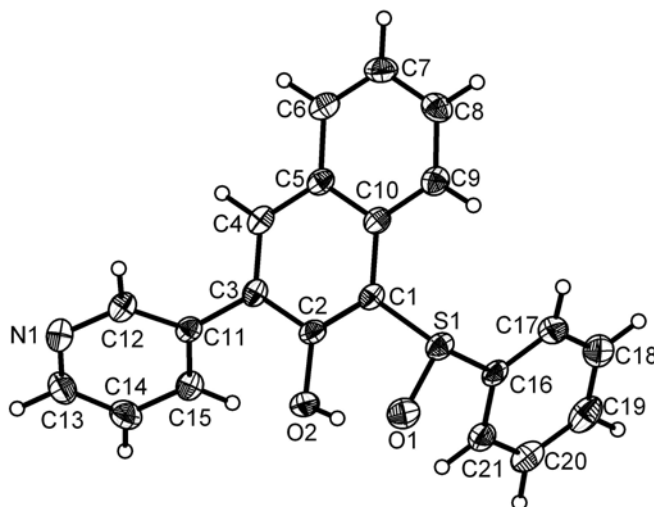
Anhang: Röntgenstrukturdaten

C(13)	38(1)	29(1)	44(1)	5(1)	3(1)	-6(1)
C(14)	39(1)	39(1)	37(1)	8(1)	5(1)	-10(1)
C(15)	29(1)	34(1)	32(1)	1(1)	6(1)	-3(1)
C(16)	29(1)	35(1)	28(1)	3(1)	11(1)	0(1)
C(17)	38(1)	36(1)	36(1)	0(1)	11(1)	4(1)
C(18)	49(1)	46(1)	38(1)	-12(1)	8(1)	-1(1)
C(19)	49(1)	65(1)	36(1)	-8(1)	-2(1)	3(1)
C(20)	51(1)	59(1)	45(1)	0(1)	-4(1)	18(1)
C(21)	46(1)	42(1)	38(1)	-2(1)	5(1)	12(1)

Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for sh2613 (4)

	x	y	z	U(eq)
H(1)	10167(13)	3540(40)	703(7)	69(7)
H(4)	7639(11)	8070(30)	629(5)	41(4)
H(6)	6848(11)	7050(30)	1115(6)	47(5)
H(7)	6576(13)	4570(30)	1614(6)	61(6)
H(8)	7414(12)	1470(30)	1845(6)	55(5)
H(9)	8551(11)	940(30)	1611(6)	43(5)
H(12)	8234(10)	11020(30)	382(5)	37(4)
H(13)	8316(11)	13120(30)	-220(6)	54(5)
H(14)	8974(11)	11480(30)	-704(6)	51(5)
H(15)	9378(10)	5880(30)	-50(5)	35(4)
H(17)	9867(11)	5090(30)	1838(5)	42(5)
H(18)	10635(12)	5720(30)	2530(6)	55(5)
H(19)	11568(13)	3060(30)	2878(7)	63(6)
H(20)	11727(15)	-390(40)	2545(7)	76(7)
H(21)	10921(11)	-1040(30)	1841(6)	52(5)

7.2 1-(Phenylsulfinyl)-3-(3-pyridyl)-2-naphthol (5)



Crystal data and structure refinement

Identification code	sh2614	
Empirical formula	C ₂₁ H ₁₅ N O ₂ S	
Formula weight	345.40	
Temperature	200(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	Pbca	
Unit cell dimensions	a = 10.788(2) Å	α = 90°.
	b = 14.233(3) Å	β = 90°.
	c = 21.535(4) Å	γ = 90°.
Volume	3306.8(11) Å ³	
Z	8	
Density (calculated)	1.388 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.210 mm ⁻¹	
F(000)	1440	
Crystal size	0.13 x 0.25 x 0.44 mm ³	
Theta range for data collection	1.89 to 23.95°.	
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 12, -16 ≤ k ≤ 15, -24 ≤ l ≤ 24	
Reflections collected	18552	

Independent reflections	2560 [R(int) = 0.0543]
Completeness to theta = 23.95°	98.8 %
Absorption correction	None
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2560 / 0 / 286
Goodness-of-fit on F ²	0.980
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0322, wR2 = 0.0749
R indices (all data)	R1 = 0.0464, wR2 = 0.0787
Largest diff. peak and hole	0.211 and -0.238 e.Å ⁻³

Atomic coordinates (x 10⁴) and equivalent isotropic displacement parameters (Å² x 10³) for sh2614 (5). U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U^{ij} tensor.

	x	y	z	U(eq)
S(1)	5350(1)	5866(1)	1921(1)	27(1)
O(1)	4768(1)	6827(1)	1995(1)	37(1)
O(2)	4369(1)	6963(1)	808(1)	32(1)
N(1)	5720(1)	8280(1)	-1166(1)	36(1)
C(1)	5883(2)	5814(1)	1129(1)	24(1)
C(2)	5342(1)	6384(1)	683(1)	24(1)
C(3)	5822(2)	6410(1)	63(1)	24(1)
C(4)	6805(2)	5844(1)	-80(1)	27(1)
C(5)	7385(2)	5248(1)	364(1)	25(1)
C(6)	8417(2)	4685(1)	203(1)	31(1)
C(7)	8988(2)	4134(1)	639(1)	33(1)
C(8)	8554(2)	4126(1)	1255(1)	32(1)
C(9)	7553(2)	4663(1)	1428(1)	29(1)
C(10)	6932(1)	5239(1)	987(1)	24(1)
C(11)	5303(1)	7064(1)	-410(1)	23(1)
C(12)	6085(2)	7677(1)	-725(1)	30(1)
C(13)	4522(2)	8272(2)	-1314(1)	38(1)
C(14)	3664(2)	7694(1)	-1026(1)	35(1)
C(15)	4052(2)	7089(1)	-567(1)	30(1)
C(16)	4097(2)	5037(1)	1891(1)	25(1)

C(17)	4345(2)	4110(1)	2055(1)	33(1)
C(18)	3394(2)	3466(2)	2065(1)	39(1)
C(19)	2196(2)	3744(2)	1906(1)	40(1)
C(20)	1962(2)	4666(2)	1743(1)	36(1)
C(21)	2906(2)	5325(2)	1739(1)	31(1)

Bond lengths [Å] and angles [°] for sh2614 (5)

S(1)-O(1)	1.5128(14)	O(1)-S(1)-C(16)	106.56(8)
S(1)-C(16)	1.7962(18)	O(1)-S(1)-C(1)	105.71(7)
S(1)-C(1)	1.8012(17)	C(16)-S(1)-C(1)	100.33(7)
O(2)-C(2)	1.361(2)	C(13)-N(1)-C(12)	116.68(16)
N(1)-C(13)	1.331(2)	C(2)-C(1)-C(10)	121.44(15)
N(1)-C(12)	1.340(2)	C(2)-C(1)-S(1)	119.81(13)
C(1)-C(2)	1.385(2)	C(10)-C(1)-S(1)	118.53(12)
C(1)-C(10)	1.430(2)	O(2)-C(2)-C(1)	122.84(15)
C(2)-C(3)	1.433(2)	O(2)-C(2)-C(3)	116.58(14)
C(3)-C(4)	1.367(2)	C(1)-C(2)-C(3)	120.55(15)
C(3)-C(11)	1.489(2)	C(4)-C(3)-C(2)	118.34(15)
C(4)-C(5)	1.422(2)	C(4)-C(3)-C(11)	120.43(14)
C(5)-C(6)	1.415(2)	C(2)-C(3)-C(11)	121.18(15)
C(5)-C(10)	1.429(2)	C(3)-C(4)-C(5)	122.82(16)
C(6)-C(7)	1.370(3)	C(6)-C(5)-C(4)	121.27(15)
C(7)-C(8)	1.407(3)	C(6)-C(5)-C(10)	119.62(15)
C(8)-C(9)	1.375(3)	C(4)-C(5)-C(10)	119.09(15)
C(9)-C(10)	1.421(2)	C(7)-C(6)-C(5)	120.66(16)
C(11)-C(12)	1.390(2)	C(6)-C(7)-C(8)	120.08(17)
C(11)-C(15)	1.391(2)	C(9)-C(8)-C(7)	120.84(18)
C(13)-C(14)	1.385(3)	C(8)-C(9)-C(10)	120.66(17)
C(14)-C(15)	1.377(3)	C(9)-C(10)-C(5)	118.13(15)
C(16)-C(21)	1.389(2)	C(9)-C(10)-C(1)	124.14(15)
C(16)-C(17)	1.391(3)	C(5)-C(10)-C(1)	117.72(14)
C(17)-C(18)	1.376(3)	C(12)-C(11)-C(15)	117.03(16)
C(18)-C(19)	1.395(3)	C(12)-C(11)-C(3)	119.83(15)

C(19)-C(20)	1.381(3)	C(15)-C(11)-C(3)	123.12(15)
C(20)-C(21)	1.385(3)	N(1)-C(12)-C(11)	124.73(17)
		N(1)-C(13)-C(14)	123.17(18)
		C(15)-C(14)-C(13)	119.33(18)
		C(14)-C(15)-C(11)	119.03(18)
		C(21)-C(16)-C(17)	121.20(18)
		C(21)-C(16)-S(1)	120.70(15)
		C(17)-C(16)-S(1)	118.03(14)
		C(18)-C(17)-C(16)	119.49(19)
		C(17)-C(18)-C(19)	119.9(2)
		C(20)-C(19)-C(18)	120.1(2)
		C(19)-C(20)-C(21)	120.72(19)
		C(20)-C(21)-C(16)	118.61(19)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms.

Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for sh2614 (5). The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
S(1)	26(1)	36(1)	20(1)	-1(1)	2(1)	1(1)
O(1)	45(1)	35(1)	30(1)	-6(1)	7(1)	4(1)
O(2)	29(1)	38(1)	28(1)	3(1)	7(1)	10(1)
N(1)	39(1)	35(1)	34(1)	8(1)	6(1)	-1(1)
C(1)	21(1)	28(1)	24(1)	1(1)	3(1)	-3(1)
C(2)	19(1)	25(1)	28(1)	-1(1)	4(1)	-2(1)
C(3)	22(1)	26(1)	24(1)	1(1)	2(1)	-5(1)
C(4)	26(1)	31(1)	23(1)	-1(1)	5(1)	-4(1)
C(5)	21(1)	27(1)	27(1)	-1(1)	3(1)	-4(1)
C(6)	26(1)	35(1)	32(1)	-2(1)	7(1)	0(1)
C(7)	22(1)	33(1)	44(1)	-2(1)	3(1)	3(1)
C(8)	25(1)	32(1)	38(1)	3(1)	-6(1)	1(1)
C(9)	24(1)	35(1)	28(1)	2(1)	-1(1)	-3(1)
C(10)	18(1)	26(1)	27(1)	-1(1)	0(1)	-5(1)
C(11)	25(1)	23(1)	22(1)	-4(1)	3(1)	-1(1)

Anhang: Röntgenstrukturdaten

C(12)	28(1)	32(1)	28(1)	0(1)	3(1)	-5(1)
C(13)	49(1)	32(1)	34(1)	7(1)	2(1)	9(1)
C(14)	30(1)	35(1)	40(1)	3(1)	-4(1)	6(1)
C(15)	27(1)	29(1)	33(1)	3(1)	3(1)	-3(1)
C(16)	25(1)	35(1)	16(1)	0(1)	5(1)	2(1)
C(17)	34(1)	36(1)	29(1)	1(1)	5(1)	7(1)
C(18)	51(1)	30(1)	35(1)	-3(1)	12(1)	3(1)
C(19)	43(1)	44(1)	32(1)	-10(1)	11(1)	-14(1)
C(20)	28(1)	53(2)	29(1)	-1(1)	4(1)	-2(1)
C(21)	28(1)	40(1)	25(1)	5(1)	4(1)	3(1)

Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for sh2614 (5)

	x	y	z	U(eq)
H(4)	7119(15)	5850(12)	-503(8)	31(5)
H(6)	8703(16)	4694(12)	-239(8)	28(5)
H(9)	7285(17)	4656(13)	1852(8)	33(5)
H(8)	8939(17)	3731(13)	1555(9)	34(5)
H(12)	6957(17)	7688(12)	-633(8)	36(5)
H(15)	3494(17)	6704(13)	-365(8)	36(5)
H(21)	2737(18)	5973(14)	1636(8)	40(5)
H(20)	1100(20)	4861(14)	1641(9)	46(6)
H(7)	9672(17)	3736(14)	522(9)	44(6)
H(13)	4252(18)	8704(15)	-1633(10)	51(6)
H(19)	1502(19)	3280(16)	1910(9)	50(6)
H(17)	5160(20)	3910(15)	2170(10)	48(6)
H(18)	3567(17)	2831(15)	2181(8)	38(5)
H(14)	2843(19)	7705(14)	-1146(9)	47(6)
H(1)	4330(20)	6981(17)	1216(12)	65(8)

8 Referenzen

- (1) Denisov, I. G.; Makris, T. M.; Sligar, S. G.; Schlichting, I. Structure and chemistry of cytochrome P450. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2253-2278.
- (2) (a) Lewis, D. F. V.; Ito, Y.; Goldfarb, P. S. Cytochrome P450 structures and their substrate interactions. *Drug Dev. Res.* **2005**, *66*, 19-24. (b) Estabrook, R. W. A passion for P450s (remembrances of the early history of research on cytochrome P450). *Drug Metab. Dispos.* **2003**, *31*, 1461-1473.
- (3) Miller, W. L. Minireview: Regulation of steroidogenesis by electron transfer. *Endocrinology* **2005**, *146*, 2544-2550.
- (4) Rainey, W. E. Adrenal zonation: clues from 11 β -hydroxylase and aldosterone synthase. *Mol. Cell. Endocrinol.* **1999**, *151*, 151-160.
- (5) Arnold, J. Ein Beitrag zu der feineren Structur und dem Chemismus der Nebennieren. *Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. (Vir. Arch.)* **1866**, *35*, 64-107.
- (6) Nishimoto, K.; Nakagawa, K.; Li, D.; Kosaka, T.; Oya, M.; Mikami, S.; Shibata, H.; Itoh, H.; Mitani, F.; Yamazaki, T.; Ogishima, T.; Suematsu, M.; Mukai, K. Adrenocortical zonation in humans under normal and pathological conditions. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2010**, *95*, 2296-305.
- (7) Hardy, R.; Cooper, M. S. Adrenal gland and bone. *Arch. Biochem. Biophys.* **2010**, *503*, 137-145.
- (8) Rone, M. B.; Fan, J.; Papadopoulos, V. Cholesterol transport in steroid biosynthesis: Role of protein-protein interactions and implications in disease states. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* **2009**, *1791*, 646-658.
- (9) Connell, J. M. C.; Davies, E. The new biology of aldosterone. *J. Endocrinol.* **2005**, *186*, 1-20.
- (10) Hasler, J. A.; Estabrook, R.; Murray, M.; Pikuleva, I.; Waterman, M.; Capdevila, J.; Holla, V.; Helvig, C.; Falck, J. R.; Farrell, G.; Kaminsky, L. S.; Spivack, S. D.; Boitier, E.; Beaune, P. Human cytochromes P450. *Mol. Aspects Med.* **1999**, *20*, 1-137.
- (11) Kawamoto, T.; Mitsuuchi, Y.; Toda, K.; Yokoyama, Y.; Miyahara, K.; Miura, S.; Ohnishi, T.; Ichikawa, Y.; Nakao, K.; Imura, H. Role of steroid 11 β -hydroxylase and

- steroid 18-hydroxylase in the biosynthesis of glucocorticoids and mineralocorticoids in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, *89*, 1458-62.
- (12) Bureik, M.; Lisurek, M.; Bernhardt, R. The human steroid hydroxylases CYP11B1 and CYP11B2. *Biol. Chem.* **2002**, *383*, 1537-51.
- (13) Mellon, S. H.; Bair, S. R.; Monis, H. P450c11B3 mRNA, transcribed from a third P450c11 gene, is expressed in a tissue-specific, developmentally, and hormonally regulated fashion in the rodent adrenal and encodes a protein with both 11-hydroxylase and 18-hydroxylase activities. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 1643-1649.
- (14) Mornet, E.; Dupont, J.; Vitek, A.; White, P. C. Characterization of two genes encoding human steroid 11 β -hydroxylase (P-450_{11 β}). *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 20961-7.
- (15) Taymans, S. E.; Pack, S.; Pak, E.; Torpy, D. J.; Zhuang, Z.; Stratakis, C. A. Human CYP11B2 (aldosterone synthase) maps to chromosome 8q24.3. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1998**, *83*, 1033-1036.
- (16) Belkina, N. V.; Lisurek, M.; Ivanov, A. S.; Bernhardt, R. Modelling of three-dimensional structures of cytochromes P450 11B1 and 11B2. *J. Inorg. Biochem.* **2001**, *87*, 197-207.
- (17) Ulmschneider, S.; Müller-Vieira, U.; Mitrenga, M.; Hartmann, R. W.; Oberwinkler-Marchais, S.; Klein, C. D.; Bureik, M.; Bernhardt, R.; Antes, I.; Lengauer, T. Synthesis and evaluation of imidazolylmethylenetetrahydronaphthalenes and imidazolyl-methyleneindanes: potent inhibitors of aldosterone synthase. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1796-805.
- (18) Roumen, L.; Sanders, M. P.; Pieterse, K.; Hilbers, P. A.; Plate, R.; Custers, E.; de Gooyer, M.; Smits, J. F.; Beugels, I.; Emmen, J.; Ottenheijm, H. C.; Leysen, D.; Hermans, J. J. Construction of 3D models of the CYP11B family as a tool to predict ligand binding characteristics. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2007**, *21*, 455-471.
- (19) (a) Simpson, S.; Tait, J.; Wettstein, A.; Neher, R.; Euw, J.; Reichstein, T. Isolierung eines neuen kristallisierten Hormons aus Nebennieren mit besonders hoher Wirksamkeit auf den Mineralstoffwechsel. *Cell. Mol. Life Sci.* **1953**, *9*, 333-335. (b) Simpson, S. A.; Tait, J. F.; Wettstein, A.; Neher, R.; Euw, J. v.; Schindler, O.; Reichstein, T. Aldosteron. Isolierung und Eigenschaften. Über Bestandteile der Nebennierenrinde und verwandte Stoffe. 91. Mitteilung. *Helv. Chim. Acta* **1954**, *37*, 1163-1200.

-
- (20) (a) Verrey, F. Early aldosterone action: toward filling the gap between transcription and transport. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **1999**, *277*, F319-327. (b) Kitamura, K.; Tomita, K. Regulation of renal sodium handling through the interaction between serine proteases and serine protease inhibitors. *Clin. Exp. Nephrol.* **2010**, *14*, 405-410.
- (21) Williams, J. S.; Williams, G. H. 50th anniversary of aldosterone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2003**, *88*, 2364-2372.
- (22) (a) Wehling, M. Specific, nongenomic actions of steroid hormones. *Annu. Rev. Physiol.* **1997**, *59*, 365-93. (b) Funder, J. W. The nongenomic actions of aldosterone. *Endocr. Rev.* **2005**, *26*, 313-21. (c) Lösel, R.; Wehling, M. Nongenomic actions of steroid hormones. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 46-56.
- (23) Romagni, P.; Rossi, F.; Guerrini, L.; Quirini, C.; Santiemma, V. Aldosterone induces contraction of the resistance arteries in man. *Atherosclerosis* **2003**, *166*, 345-349.
- (24) Moura, A. M.; Worcel, M. Direct action of aldosterone on transmembrane ²²Na efflux from arterial smooth muscle. Rapid and delayed effects. *Hypertension* **1984**, *6*, 425-430.
- (25) (a) Barbato, J. C.; Mulrow, P. J.; Shapiro, J. I.; Franco-Saenz, R. Rapid effects of aldosterone and spironolactone in the isolated working rat heart. *Hypertension* **2002**, *40*, 130-135. (b) Boldyreff, B.; Wehling, M. Aldosterone: refreshing a slow hormone by swift action. *News Physiol. Sci.* **2004**, *19*, 97-100.
- (26) Vinson, G. P.; Coghlan, J. P. Expanding view of aldosterone action, with an emphasis on rapid action. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2010**, *37*, 410-416.
- (27) Quinn, S. J.; Williams, G. H. Regulation of aldosterone secretion. *Annu. Rev. Physiol.* **2003**; **1988**, *50*, 409-426.
- (28) Williams, G. H. Aldosterone biosynthesis, regulation, and classical mechanism of action. *Heart Fail. Rev.* **2005**, *10*, 7-13.
- (29) Bassett, M. H.; White, P. C.; Rainey, W. E. The regulation of aldosterone synthase expression. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2004**, *217*, 67-74.
- (30) Hakki, T.; Bernhardt, R. CYP17- and CYP11B-dependent steroid hydroxylases as drug development targets. *Pharmacol. Ther.* **2006**, *111*, 27-52.
- (31) Spät, A.; Hunyady, L. Control of aldosterone secretion: a model for convergence in cellular signaling pathways. *Physiol. Rev.* **2004**, *84*, 489-539.

-
- (32) Himathongkam, T.; Dluhy, R. G.; Williams, G. H. Potassium-aldosterone-renin interrelationships. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1975**, *41*, 153-159.
- (33) Delaunay, F.; Khan, A.; Cintra, A.; Davani, B.; Ling, Z.-C.; Andersson, A.; Östenson, C.-G.; Gustafsson, J.-A.; Efendic, S.; Okret, S. Pancreatic beta cells are important targets for the diabetogenic effects of glucocorticoids. *J. Clin. Invest.* **1997**, *100*, 2094-2098.
- (34) Hu, X.; Bolten, C. W. Adrenal corticosteroids, their receptors and hypertension. *Drug Dev. Res.* **2006**, *67*, 871-883.
- (35) Schoorlemmer, R. M. M.; Peeters, G. M. E. E.; Schoor, N. M. v.; Lips, P. Relationships between cortisol level, mortality and chronic diseases in older persons. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* **2009**, *71*, 779-786.
- (36) Chai, W.; Danser, A. Why are mineralocorticoid receptor antagonists cardioprotective? *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* **2006**, *374*, 153-162.
- (37) Funder, J. W. Aldosterone and mineralocorticoid receptors: orphan questions. *Kidney Int.* **2000**, *57*, 1358-1363.
- (38) Gekle, M.; Grossmann, C. Actions of aldosterone in the cardiovascular system: the good, the bad, and the ugly? *Pflugers Arch. - Eur. J. Physiol.* **2009**, *458*, 231-246.
- (39) (a) Redwood, H. Hypertension, society, and public policy. *Eur. Heart J.* **2007**, *9*, B13-B18. (b) Paulis, L.; Unger, T. Novel therapeutic targets for hypertension. *Nat. Rev. Cardiol.* **2010**, *7*, 431-441.
- (40) Conn, J. W.; Louis, L. H. Primary aldosteronism, a new clinical entity. *Ann. Intern. Med.* **1956**, *44*, 1-15.
- (41) Stowasser, M. Update in primary aldosteronism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2009**, *94*, 3623-3630.
- (42) Milliez, P.; Girerd, X.; Plouin, P.; Blacher, J.; Safar, M. E.; Mourad, J. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2005**, *45*, 1243-1248.
- (43) (a) Catena, C.; Colussi, G.; Nadalini, E.; Chiuch, A.; Baroselli, S.; Lapenna, R.; Sechi, L. A. Cardiovascular outcomes in patients with primary aldosteronism after treatment. *Arch. Intern. Med.* **2008**, *168*, 80-85. (b) Vogt, B.; Burnier, M. Aldosterone and cardiovascular risk. *Curr. Hypertens. Rep.* **2009**, *11*, 450-455.

- (44) (a) Stowasser, M. New perspectives on the role of aldosterone excess in cardiovascular disease. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2001**, *28*, 783-791. (b) Conn, J. W.; Cohen, E. L.; Rovner, D. R. Suppression of plasma renin activity in primary aldosteronism: distinguishing primary from secondary aldosteronism in hypertensive disease. *J. Am. Med. Assoc.* **1964**, *190*, 213-221.
- (45) Swedberg, K.; Cleland, J.; Dargie, H.; Drexler, H.; Follath, F.; Komajda, M.; Tavazzi, L.; Smiseth, O. A.; Gavazzi, A.; Haverich, A.; Hoes, A.; Jaarsma, T.; Korewicki, J.; Lévy, S.; Linde, C.; Lopez-Sendon, J.; Nieminen, M. S.; Piérard, L.; Remme, W. J. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005). *Eur. Heart J.* **2005**, *26*, 1115-1140.
- (46) Oedra, K.; Ferro, A. Neurohormones and heart failure: the importance of aldosterone. *Int. J. Clin. Pract.* **2006**, *60*, 835-846.
- (47) http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Presse/pm/2008/03/PD08__095__231.psm1, (23.08.2010).
- (48) Askoxylakis, V.; Thieke, C.; Pleger, S.; Most, P.; Tanner, J.; Lindel, K.; Katus, H.; Debus, J.; Bischof, M. Long-term survival of cancer patients compared to heart failure and stroke: A systematic review. *BMC Cancer* **2010**, *10*, 105.
- (49) (a) Latini, R.; Masson, S.; Anand, I.; Salio, M.; Hester, A.; Judd, D.; Barlera, S.; Maggioni, A. P.; Tognoni, G.; Cohn, J. N. The comparative prognostic value of plasma neurohormones at baseline in patients with heart failure enrolled in Val-HeFT. *Eur. Heart J.* **2004**, *25*, 292-299. (b) Güder, G.; Bauersachs, J.; Frantz, S.; Weismann, D.; Allolio, B.; Ertl, G.; Angermann, C. E.; Störk, S. Complementary and incremental mortality risk prediction by cortisol and aldosterone in chronic heart failure. *Circulation* **2007**, *115*, 1754-1761.
- (50) Williams, G. H. Aldosterone and heart failure: the rest of the story. *Heart Fail. Rev.* **2005**, *10*, 5-6.
- (51) Brem, A. S. The Janus effect: two faces of aldosterone. *Kidney Int.* **2009**, *75*, 137-139.
- (52) Lijnen, P.; Petrov, V. Induction of cardiac fibrosis by aldosterone. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2000**, *32*, 865-879.
- (53) (a) Bunda, S.; Liu, P.; Wang, Y.; Liu, K.; Hinek, A. Aldosterone induces elastin production in cardiac fibroblasts through activation of insulin-like growth factor-I receptors in a mineralocorticoid receptor-independent manner. *Am. J. Pathol.* **2007**,

- 171, 809-819. (b) Sundström, J.; Evans, J. C.; Benjamin, E. J.; Levy, D.; Larson, M. G.; Sawyer, D. B.; Siwik, D. A.; Colucci, W. S.; Sutherland, P.; Wilson, P. W. F.; Vasan, R. S. Relations of plasma matrix metalloproteinase-9 to clinical cardiovascular risk factors and echocardiographic left ventricular measures: the framingham heart study. *Circulation* **2004**, *109*, 2850-2856.
- (54) The consensus trial study group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. *N. Engl. J. Med.* **1987**, *316*, 1429-1435.
- (55) Solomon, S. D.; Wang, D.; Finn, P.; Skali, H.; Zornoff, L.; McMurray, J. J. V.; Swedberg, K.; Yusuf, S.; Granger, C. B.; Michelson, E. L.; Pocock, S.; Pfeffer, M. A. Effect of candesartan on cause-specific mortality in heart failure patients: the candesartan in heart failure assessment of reduction in mortality and morbidity (CHARM) program. *Circulation* **2004**, *110*, 2180-2183.
- (56) http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Summary_for_the_public/human/000780/WC500047005.pdf, (26.08.2010).
- (57) (a) Struthers, A. D. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in chronic heart failure. *J. Card. Failure* **1996**, *2*, 47-54. (b) Staessen, J.; Lijnen, P.; Fagard, R.; Verschueren, L. J.; Amery, A. Rise in plasma concentration of aldosterone during long-term angiotensin II suppression. *J. Endocrinol.* **1981**, *91*, 457-465. (c) Sato, A.; Saruta, T. Aldosterone escape during angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in essential hypertensive patients with left ventricular hypertrophy. *J. Int. Med. Res.* **2001**, *29*, 13-21.
- (58) Pitt, B.; Zannad, F.; Remme, W. J.; Cody, R.; Castaigne, A.; Perez, A.; Palensky, J.; Wittes, J. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *N. Engl. J. Med.* **1999**, *341*, 709-17.
- (59) Zannad, F.; Alla, F.; Dousset, B.; Perez, A.; Pitt, B. Limitation of excessive extracellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone therapy in patients with congestive heart failure : insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). *Circulation* **2000**, *102*, 2700-2706.
- (60) Juurlink, D. N.; Mamdani, M. M.; Lee, D. S.; Kopp, A.; Austin, P. C.; Laupacis, A.; Redelmeier, D. A. Rates of hyperkalemia after publication of the randomized aldactone evaluation study. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *351*, 543-551.

- (61) Pitt, B.; Remme, W.; Zannad, F.; Neaton, J.; Martinez, F.; Roniker, B.; Bittman, R.; Hurley, S.; Kleiman, J.; Gatlin, M. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1309-21.
- (62) (a) Garthwaite, S. M.; McMahon, E. G. The evolution of aldosterone antagonists. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2004**, *217*, 27-31. (b) Weinberger, M. H.; Roniker, B.; Krause, S. L.; Weiss, R. J. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in mild-to-moderate hypertension. *Am. J. Hypertens.* **2002**, *15*, 709-716.
- (63) Meyers, M. J.; Hu, X. Non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonists. *Expert Opin. Ther. Pat.* **2007**, *17*, 17-23.
- (64) Bell, M. G.; Gernert, D. L.; Grese, T. A.; Belvo, M. D.; Borromeo, P. S.; Kelley, S. A.; Kennedy, J. H.; Kolis, S. P.; Lander, P. A.; Richey, R.; Sharp, V. S.; Stephenson, G. A.; Williams, J. D.; Yu, H.; Zimmerman, K. M.; Steinberg, M. I.; Jadhav, P. K. (S)-N-{3-[1-Cyclopropyl-1-(2,4-difluoro-phenyl)-ethyl]-1H-indol-7-yl}-methanesulfonamide: a potent, nonsteroidal, functional antagonist of the mineralocorticoid receptor. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6443-6445.
- (65) Fagart, J.; Hillisch, A.; Huyet, J.; Baerfacker, L.; Fay, M.; Pleiss, U.; Pook, E.; Schaefer, S.; Rafestin-Oblin, M.; Kolkhof, P. A new mode of mineralocorticoid receptor antagonism by a potent and selective non-steroidal molecule. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 29932-29940.
- (66) Meyers, M. J.; Arhancet, G. B.; Hockerman, S. L.; Chen, X.; Long, S. A.; Mahoney, M. W.; Rico, J. R.; Garland, D. J.; Blinn, J. R.; Collins, J. T.; Yang, S.; Huang, H.; McGee, K. F.; Wendling, J. M.; Dietz, J. D.; Payne, M. A.; Homer, B. L.; Heron, M. I.; Reitz, D. B.; Hu, X. Discovery of (3*S*,3*aR*)-2-(3-chloro-4-cyanophenyl)-3-cyclopentyl-3,3*a*,4,5-tetrahydro-2*H*-benzo[*g*]indazole-7-carboxylic acid (PF-3882845), an orally efficacious mineralocorticoid receptor (MR) antagonist for hypertension and nephropathy. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5979-6002.
- (67) Silvestre, J. S.; Robert, V.; Escoubet, B.; Heymes, C.; Oubenaissa, A.; Desopper, C.; Swynghedauw, B.; Delcayre, C. Different regulation of cardiac and renal corticosteroid receptors in aldosterone-salt treated rats: effect of hypertension and glucocorticoids. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2000**, *32*, 1249-63.

- (68) Hartmann, R. W. Selective inhibition of steroidogenic P450 enzymes: Current status and future perspectives. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1994**, *2*, 15-16.
- (69) Ehmer, P. B.; Bureik, M.; Bernhardt, R.; Müller, U.; Hartmann, R. W. Development of a test system for inhibitors of human aldosterone synthase (CYP11B2): screening in fission yeast and evaluation of selectivity in V79 cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2002**, *81*, 173-9.
- (70) Hartmann, R. W.; Müller, U.; Ehmer, P. B. Discovery of selective CYP11B2 (aldosterone synthase) inhibitors for the therapy of congestive heart failure and myocardial fibrosis. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 363-6.
- (71) (a) Hartmann, R. W.; Bayer, H.; Gruen, G.; Sergejew, T.; Bartz, U.; Mitrenga, M. Pyridyl-substituted tetrahydrocyclopropa[a]naphthalenes: highly active and selective inhibitors of P450 arom. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2103-2111. (b) Hartmann, R. W.; Frotscher, M.; Ledergerber, D.; Wächter, G. A.; Grün, G. L.; Sergejew, T. F. Synthesis and evaluation of azole-substituted tetrahydronaphthalenes as inhibitors of P450 arom, P450 17, and P450 TxA₂. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1996**, *329*, 251-261. (c) Le Borgne, M.; Marchand, P.; Duflos, M.; Delevoye-Seiller, B.; Piessard-Robert, S.; Baut, G. L.; Hartmann, R. W.; Palzer, M. Synthesis and *in vitro* evaluation of 3-(1-azolylmethyl)-1*H*-indoles and 3-(1-azolyl-1-phenylmethyl)-1*H*-indoles as inhibitors of P450 arom. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1997**, *330*, 141-145. (d) Jacobs, C.; Frotscher, M.; Dannhardt, G.; Hartmann, R. W. 1-Imidazolyl(alkyl)-substituted di- and tetrahydroquinolines and analogues: syntheses and evaluation of dual inhibitors of thromboxane A₂ synthase and aromatase. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1841-1851.
- (72) Schuster, D.; Laggner, C.; Steindl, T. M.; Paluszczak, A.; Hartmann, R. W.; Langer, T. Pharmacophore modeling and *in silico* screening for new P450 19 (aromatase) inhibitors. *J. Chem. Inf. Model.* **2006**, *46*, 1301-1311.
- (73) (a) Wachall, B. G.; Hector, M.; Zhuang, Y.; Hartmann, R. W. Imidazole substituted biphenyls: a new class of highly potent and *in vivo* active inhibitors of P450 17 as potential therapeutics for treatment of prostate cancer. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1913-1924. (b) Hartmann, R. W.; Hector, M.; Wachall, B. G.; Paluszczak, A.; Palzer, M.; Huch, V.; Veith, M. Synthesis and evaluation of 17-aliphatic heterocycle-substituted steroidal inhibitors of 17-Hydroxylase/C17-20-Lyase (P450 17). *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4437-4445. (c) Zhuang, Y.; Wachall, B. G.; Hartmann, R. W. Novel

- imidazolyl and triazolyl substituted biphenyl compounds: synthesis and evaluation as nonsteroidal inhibitors of human 17 α -hydroxylase-C17, 20-Lyase (P450 17). *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 1245-1252. (d) Hartmann, R. W.; Ehmer, P. B.; Haidar, S.; Hector, M.; Jose, J.; Klein, C. D. P.; Seidel, S. B.; Sergejew, T. F.; Wachall, B. G.; Wächter, G. A.; Zhuang, Y. Inhibition of CYP 17, a new strategy for the treatment of prostate cancer. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2002**, *335*, 119-128. (e) Haidar, S.; Ehmer, P. B.; Barassin, S.; Batzl-Hartmann, C.; Hartmann, R. W. Effects of novel 17 α -hydroxylase/C17, 20-lyase (P450 17, CYP 17) inhibitors on androgen biosynthesis in vitro and in vivo. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2003**, *84*, 555-562.
- (74) Hutschenreuter, T. U.; Ehmer, P. B.; Hartmann, R. W. Synthesis of hydroxy derivatives of highly potent non-steroidal CYP 17 inhibitors as potential metabolites and evaluation of their activity by a non cellular assay using recombinant human enzyme. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 17-32.
- (75) Hille, U. E.; Hu, Q.; Vock, C.; Negri, M.; Bartels, M.; Müller-Vieira, U.; Lauterbach, T.; Hartmann, R. W. Novel CYP17 inhibitors: synthesis, biological evaluation, structure-activity relationships and modelling of methoxy- and hydroxy-substituted methyleneimidazolyl biphenyls. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2765-2775.
- (76) Steele, R. E.; Mellor, L. B.; Sawyer, W. K.; Wasvary, J. M.; Browne, L. J. In vitro and in vivo studies demonstrating potent and selective estrogen inhibition with the non-steroidal aromatase inhibitor CGS 16949A. *Steroids* **1987**, *50*, 147-161.
- (77) Lamberts, S. W. J.; Bruining, H. A.; Marzouk, H.; Zuiderwijk, J.; Uitterlinden, P.; Blijd, J. J.; Hackeng, W. H. L.; Jong, F. H. D. The new aromatase inhibitor CGS-16949A suppresses aldosterone and cortisol production by human adrenal cells in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1989**, *69*, 896-901.
- (78) (a) Häusler, A.; Monnet, G.; Borer, C.; Bhatnagar, A. S. Evidence that corticosterone is not an obligatory intermediate in aldosterone biosynthesis in the rat adrenal. *J. Steroid Biochem.* **1989**, *34*, 567-570. (b) Demers, L. M.; Melby, J. C.; Wilson, T. E.; Lipton, A.; Harvey, H. A.; Santen, R. J. The effects of CGS 16949A, an aromatase inhibitor on adrenal mineralocorticoid biosynthesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1990**, *70*, 1162-6.
- (79) Browne, L. J.; Gude, C.; Rodriguez, H.; Steele, R. E.; Bhatnager, A. Fadrozole hydrochloride: a potent, selective, nonsteroidal inhibitor of aromatase for the treatment of estrogen-dependent disease. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 725-736.

- (80) Rigel, D. F.; Fu, F.; Beil, M.; Hu, C.; Liang, G.; Jeng, A. Y. Pharmacodynamic and pharmacokinetic characterization of the aldosterone synthase inhibitor FAD286 in two rodent models of hyperaldosteronism: comparison with the 11β -hydroxylase inhibitor metyrapone. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2010**, *334*, 232-243.
- (81) Menard, J.; Gonzalez, M. F.; Guyene, T. T.; Bissery, A. Investigation of aldosterone-synthase inhibition in rats. *J. Hypertens.* **2006**, *24*, 1147-55.
- (82) Fiebeler, A.; Nussberger, J.; Shagdarsuren, E.; Rong, S.; Hilfenhaus, G.; Al-Saadi, N.; Dechend, R.; Wellner, M.; Meiners, S.; Maser-Gluth, C.; Jeng, A. Y.; Webb, R. L.; Luft, F. C.; Muller, D. N. Aldosterone synthase inhibitor ameliorates angiotensin II-induced organ damage. *Circulation* **2005**, *111*, 3087-94.
- (83) Mulder, P.; Mellin, V.; Favre, J.; Vercauteren, M.; Remy-Jouet, I.; Monteil, C.; Richard, V.; Renet, S.; Henry, J. P.; Jeng, A. Y.; Webb, R. L.; Thuillez, C. Aldosterone synthase inhibition improves cardiovascular function and structure in rats with heart failure: a comparison with spironolactone. *Eur. Heart J.* **2008**, *29*, 2171-2179.
- (84) Lea, W. B.; Kwak, E. S.; Luther, J. M.; Fowler, S. M.; Wang, Z.; Ma, J.; Fogo, A. B.; Brown, N. J. Aldosterone antagonism or synthase inhibition reduces end-organ damage induced by treatment with angiotensin and high salt. *Kidney Int.* **2009**, *75*, 936-44.
- (85) Minnaard-Huiban, M.; Emmen, J. M.; Roumen, L.; Beugels, I. P.; Cohuet, G. M.; van Essen, H.; Ruijters, E.; Pieterse, K.; Hilbers, P. A.; Ottenheijm, H. C.; Plate, R.; de Gooyer, M. E.; Smits, J. F.; Hermans, J. J. Fadrozole reverses cardiac fibrosis in spontaneously hypertensive heart failure rats: discordant enantioselectivity versus reduction of plasma aldosterone. *Endocrinology* **2008**, *149*, 28-31.
- (86) (a) Weindel, K.; Lewicka, S.; Vecsei, P. Interference of C17-spirosteroids with late steps of aldosterone biosynthesis. Structure-activity studies. *Arzneim. Forsch.* **1991**, *41*, 1082-1091. (b) Weindel, K.; Lewicka, S.; Vecsei, P. Inhibitory effects of the novel anti-aldosterone compound mespirenone on adrenocortical steroidogenesis in vitro. *Arzneim. Forsch.* **1991**, *41*, 946-949.
- (87) (a) Johnston, J. O.; Wright, C. L.; Holbert, G. W. Enzyme-activated inhibitors of steroidal hydroxylases. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1995**, *52*, 17-34. (b) Delorme, C.; Piffeteau, A.; Viger, A.; Marquet, A. Inhibition of bovine cytochrome P-450_{11 β} by 18-unsaturated progesterone derivatives. *Eur. J. Biochem.* **1995**, *232*, 247-256. (c) Davioud, E.; Piffeteau, A.; Delorme, C.; Coustal, S.; Marquet, A. 18-Vinyldeoxy-

- corticosterone: a potent inhibitor of the bovine cytochrome P-450_{11 β} . *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1781-1788.
- (88) Delorme, C.; Piffeteau, A.; Sobrio, F.; Marquet, A. Mechanism-based inactivation of bovine cytochrome P-450_{11 β} by 18-unsaturated progesterone derivatives. *Eur. J. Biochem.* **1997**, *248*, 252-260.
- (89) Bureik, M.; Hübel, K.; Dragan, C.; Scher, J.; Becker, H.; Lenz, N.; Bernhardt, R. Development of test systems for the discovery of selective human aldosterone synthase (CYP11B2) and 11 β -hydroxylase (CYP11B1) inhibitors.: Discovery of a new lead compound for the therapy of congestive heart failure, myocardial fibrosis and hypertension. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2004**, *217*, 249-254.
- (90) Bureik, M.; Mion, A.; Kenyon, C. J.; Bernhardt, R. Inhibition of aldosterone biosynthesis by staurosporine. *Biol. Chem.* **2005**, *386*, 663-9.
- (91) Schöneshofer, M.; Schefzig, B.; Oelkers, W. Evidence of adrenal 18-hydroxylase inhibition by metyrapone in man. *Horm. Metab. Res.* **1979**, *11*, 306-308.
- (92) (a) Dörr, H. G.; Kuhnle, U.; Holthausen, H.; Bidlingmaier, F.; Knorr, D. Etomidate: a selective adrenocortical 11 β -hydroxylase inhibitor. *J. Mol. Med.* **1984**, *62*, 1011-1013. (b) Wagner, R. L.; White, P. F.; Kan, P. B.; Rosenthal, M. H.; Feldman, D. Inhibition of adrenal steroidogenesis by the anesthetic etomidate. *N. Engl. J. Med.* **1984**, *310*, 1415-1421.
- (93) Roumen, L.; Peeters, J. W.; Emmen, J. M. A.; Beugels, I. P. E.; Custers, E. M. G.; de Gooyer, M.; Plate, R.; Pieterse, K.; Hilbers, P. A. J.; Smits, J. F. M.; Vekemans, J. A. J.; Leysen, D.; Ottenheijm, H. C. J.; Janssen, H. M.; Hermans, J. J. R. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of 1-benzyl-1*H*-imidazoles as selective inhibitors of aldosterone synthase (CYP11B2). *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1712-1725
- (94) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Marti, C.; Jelakovic, S.; Stutz, S. Preparation of imidazo compounds as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2007116099, 2007.
- (95) (a) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Schumacher, C.; Quirnbach, M. Preparation of tetrahydroimidazo[1,5-*a*]pyridines as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2005118581, 2005. (b) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Schumacher, C.; Quirnbach, M. Preparation of imidazopyridines and related analogs as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2005118557, 2005. (c) Herold, P.; Mah, R.;

- Tschinke, V.; Schumacher, C.; Behnke, D.; Quirnbach, M. Preparation of nitrogen-containing heterobicyclic compounds as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2005118541, 2005. (d) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Schumacher, C.; Marti, C.; Quirnbach, M. Preparation of fused heterocycles as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2006005726, 2006. (e) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Quirnbach, M.; Marti, C.; Stojanovic, A.; Stutz, S. Preparation of fused imidazoles as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2007065942, 2007.
- (96) (a) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Marti, C.; Jotterand, N.; Schumacher, C.; Quirnbach, M. Preparation of heterocyclic spiro compounds as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2006128853, 2006. (b) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Marti, C.; Jotterand, N.; Schumacher, C.; Quirnbach, M. Preparation of fused imidazoles as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2006128851, 2006. (c) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Marti, C.; Jotterand, N.; Schumacher, C.; Quirnbach, M. Preparation of heterocyclic spiro compounds as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2006128852, 2006. (d) Herold, P.; Mah, R.; Stutz, S.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Jotterand, N.; Bennacer, B. Heterocyclic-spiro derivatives as aldosterone synthase inhibitors and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of diseases. PCT Int. Appl. WO2008119744, 2008. (e) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Marti, C.; Jelakovic, S.; Bennacer, B.; Stutz, S. Preparation of spiro-imidazo derivatives as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2007116098, 2007.
- (97) Herold, P.; Mah, R.; Tschinke, V.; Stojanovic, A.; Marti, C.; Stutz, S. Preparation of imidazo compounds as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2007116097, 2007.
- (98) (a) Firooznia, F. Preparation of imidazo[1,5-a]pyridine derivatives for treatment of aldosterone synthase mediated diseases. PCT Int. Appl. WO2004046145, 2004. (b) Ksander, G. M.; Meredith, E.; Monovich, L. G.; Papillon, J.; Firooznia, F.; Hu, Q. Preparation of condensed imidazole derivatives for the inhibition of aldosterone synthase and aromatase. PCT Int. Appl. WO2007024945, 2007.
- (99) McKenna, J. Preparation of imidazopyrazines and imidazodiazepines as agents for the treatment of aldosterone mediated conditions. PCT Int. Appl. WO2004014914, 2004.

- (100) (a) Ksander, G.; Hu, Q. Preparation of fused imidazole derivatives for the treatment of disorders mediated by aldosterone synthase and 11 β -hydroxylase and aromatase. PCT Int. Appl. WO2008027284, 2008. (b) Papillon, J.; Ksander, G. M.; Hu, Q. Preparation of tetrahydroimidazo[1,5-*a*]pyrazine derivatives as aldosterone synthase and/or 11 β -hydroxylase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2007139992, 2007.
- (101) (a) Adams, C.; Papillon, J.; Ksander, G. M. Preparation of imidazole derivatives as aldosterone synthase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2007117982, 2007. (b) Adams, C.; Hu, Q.; Ksander, G. M.; Papillon, J. Preparation of imidazole derivatives as inhibitors of CYP11B2, CYP11B1 and/or aromatase. PCT Int. Appl. WO2008076336, 2008. (c) Hu, Q.; Ksander, G. M. Preparation of 4-imidazolyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline derivatives as aldosterone/11 β -hydroxylase inhibitors. PCT Int. Appl. WO2008076860, 2008.
- (102) Adams, C. M.; Hu, C.; Jeng, A. Y.; Karki, R.; Ksander, G.; LaSala, D.; Leung-Chu, J.; Liang, G.; Liu, Q.; Meredith, E.; Rao, C.; Rigel, D. F.; Shi, J.; Smith, S.; Springer, C.; Zhang, C. The discovery of potent inhibitors of aldosterone synthase that exhibit selectivity over 11- β -hydroxylase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 4324-4327.
- (103) Hu, Q.; Ksander, G. M. Preparation of imidazoles as inhibitors of aldosterone synthase. PCT Int. Appl. WO2008076862, 2008.
- (104) Adams, C.; Hu, Q.; McGuire, L. W.; Papillon, J. Preparation of pyridinylindole derivatives for use as aldosterone synthase modulators. PCT Int. Appl. WO2009156462, 2009.
- (105) Amar, L.; Azizi, M.; Menard, J.; Peyrard, S.; Watson, C.; Plouin, P. Aldosterone synthase inhibition with LCI699. A proof-of-concept study in patients with primary aldosteronism. *Hypertension* **2010**, *56*, 831-838.
- (106) Menard, J.; Watson, C.; Rebello, S.; Zhang, Y. M.; Dole, W. P. Hormonal and electrolyte responses to the aldosterone synthase inhibitor LCI699 in sodium depleted healthy subjects. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2010**, *55*, A61.E583-A61.E583.
- (107) White, W. B.; Calhoun, D. A.; Krum, H.; Guo, W.; Trapani, A. J.; Lefkowitz, M.; Menard, J. Blockade of aldosterone production as a novel approach to the management of high blood pressure: efficacy and tolerability of the aldosterone synthase inhibitor LCI699 in patients with stage 1-2 hypertension. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2010**, *55*, A61.E582-A61.E582.

- (108) http://www.novartis.com/downloads/investors/sales-results/Q1-2010-media-release_DE.pdf, (16.09.2010).
- (109) Denner, K.; Doehmer, J.; Bernhardt, R. Cloning of CYP11B1 and CYP11B2 from normal human adrenal and their functional expression in COS-7 and V79 Chinese hamster cells. *Endocr. Res.* **1995**, *21*, 443-8.
- (110) Ulmschneider, S.; Müller-Vieira, U.; Klein, C. D.; Antes, I.; Lengauer, T.; Hartmann, R. W. Synthesis and evaluation of (pyridylmethylene)tetrahydronaphthalenes/-indanes and structurally modified derivatives: potent and selective inhibitors of aldosterone synthase. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1563-75.
- (111) Voets, M.; Antes, I.; Scherer, C.; Müller-Vieira, U.; Biemel, K.; Barassin, C.; Marchais-Oberwinkler, S.; Hartmann, R. W. Heteroaryl-substituted naphthalenes and structurally modified derivatives: selective inhibitors of CYP11B2 for the treatment of congestive heart failure and myocardial fibrosis. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6632-42.
- (112) Voets, M.; Antes, I.; Scherer, C.; Müller-Vieira, U.; Biemel, K.; Marchais-Oberwinkler, S.; Hartmann, R. W. Synthesis and evaluation of heteroaryl-substituted dihydronaphthalenes and indenes: potent and selective inhibitors of aldosterone synthase (CYP11B2) for the treatment of congestive heart failure and myocardial fibrosis. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2222-31.
- (113) Ulmschneider, S.; Negri, M.; Voets, M.; Hartmann, R. W. Development and evaluation of a pharmacophore model for inhibitors of aldosterone synthase (CYP11B2). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 25-30.
- (114) Dissertationsschrift Marieke Voets: Synthesis and evaluation of selective inhibitors of aldosterone synthase (CYP11B2) of the naphthalene and dihydronaphthalene type for the treatment of congestive heart failure and myocardial fibrosis. Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2006**.
- (115) Heim, R.; Lucas, S.; Grombein, C. M.; Ries, C.; Schewe, K. E.; Negri, M.; Müller-Vieira, U.; Birk, B.; Hartmann, R. W. Overcoming undesirable CYP1A2 inhibition of pyridyl-naphthalene-type aldosterone synthase inhibitors: influence of heteroaryl derivatization on potency and selectivity. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5064-74.
- (116) Lucas, S.; Heim, R.; Negri, M.; Antes, I.; Ries, C.; Schewe, K. E.; Bisi, A.; Gobbi, S.; Hartmann, R. W. Novel aldosterone synthase inhibitors with extended carbocyclic

- skeleton by a combined ligand-based and structure-based drug design approach. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 6138-49.
- (117) Lucas, S.; Heim, R.; Ries, C.; Schewe, K. E.; Birk, B.; Hartmann, R. W. In vivo active aldosterone synthase inhibitors with improved selectivity: lead optimization providing a series of pyridine substituted 3,4-dihydro-1*H*-quinolin-2-one derivatives. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 8077-87.
- (118) Ries, C.; Lucas, S.; Heim, R.; Birk, B.; Hartmann, R. W. Selective aldosterone synthase inhibitors reduce aldosterone formation *in vitro* and *in vivo*. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2009**, *116*, 121-6.
- (119) Eaton, D. L.; Gallagher, E. P.; Bammler, T. K.; Kunze, K. L. Role of cytochrome P4501A2 in chemical carcinogenesis: implications for human variability in expression and enzyme activity. *Pharmacogenetics* **1995**, *5*, 259-274.
- (120) Dissertationsschrift Simon Lucas: Tackling aldosterone-mediated disorders: lead optimization providing a series of 3-pyridine-based aldosterone synthase inhibitors with improved pharmacological properties. Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2008**.
- (121) Chowdhury, S.; Georghiou, P. E. Synthesis and properties of a new member of the calixnaphthalene family: a *C*(2)-symmetrical *endo*-calix[4]naphthalene. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 6808-11.
- (122) Miyaura, N.; Suzuki, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.
- (123) Itoh, T.; Mase, T. A general palladium-catalyzed coupling of aryl bromides/triflates and thiols. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4587-90.
- (124) Tsukamoto, H.; Kondo, Y. Palladium(II)-catalyzed annulation of alkynes with *ortho*-ester-containing phenylboronic acids. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 4227-30.
- (125) Xu, S. L.; Moore, H. W. Rearrangement of 4-chloro-4-aryl (or alkenyl)cyclobutenones to *p*-chlorophenols. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4024-4026.
- (126) Janz, K.; Kaila, N. Bromodecarboxylation of quinoline salicylic acids: increasing the diversity of accessible substituted quinolines. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8874-8877.
- (127) Kauch, M.; Hoppe, D. Synthesis of substituted phenols by directed *ortho*-lithiation of in situ *N*-silyl-protected *O*-aryl *N*-monoalkylcarbamates. *Can. J. Chem.* **2001**, *79*, 1736-1746.

- (128) Jung, M. E.; Kim, C.; von, d. B. Vicarious nucleophilic aromatic substitution via trapping of an α -ketosulfonium ion generated by Pummerer-type rearrangement of 2-(phenylsulfinyl)phenols: preparation of biaryls. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3248-3249.
- (129) Newman, M. S.; Karnes, H. A. The conversion of phenols to thiophenols via dialkylthiocarbamates. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3980-3984.
- (130) Krishnamurthy, S.; Aimino, D. Rapid and selective reduction of functionalized aromatic disulfides with lithium tri-tert-butoxyaluminumhydride. A remarkable steric and electronic control. Comparison of various hydride reagents. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4458-4462.
- (131) Leroux, F.; Mangano, G.; Schlosser, M. The abnormal behavior of an atropisomer: 3,3'-dibromo-1,1'-difluoro-2,2'-binaphthyl reacting with alkyl lithium compounds. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *2005*, 5049-5054.
- (132) Li, X.; Hewgley, J. B.; Mulrooney, C. A.; Yang, J.; Kozlowski, M. C. Enantioselective oxidative biaryl coupling reactions catalyzed by 1,5-diazadecalin metal complexes: efficient formation of chiral functionalized BINOL derivatives. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5500-5511.
- (133) Krasovskiy, A.; Knochel, P. A LiCl-mediated Br/Mg exchange reaction for the preparation of functionalized aryl- and heteroarylmagnesium compounds from organic bromides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3333-3336.
- (134) Paiocchi, M.; Ponizini, F.; Nicolini, M. Process for the preparation of pyridyl-aryl-sulphonic compounds. PCT Int. Appl. WO2004039779, 2004.
- (135) Bordwell, F. G.; McKellin, W. H. The reduction of sulfones to sulfides. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 2251-2253.
- (136) Gardner, J. N.; Kaiser, S.; Krubiner, A.; Lucas, H. A Facile reduction of sulfones to sulfides. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1419-1421.
- (137) Korhonen, L. E.; Rahnasto, M.; Mähönen, N. J.; Wittekindt, C.; Poso, A.; Juvonen, R. O.; Raunio, H. Predictive three-dimensional quantitative structure-activity relationship of cytochrome P450 1A2 inhibitors. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3808-3815.
- (138) (a) Steiger, W.; Kappe, T.; Ziegler, E. Synthesen von Heterocyclen, 123. Mitt.: über Reaktionen des Isatosäureanhydrids mit Anilen. *Mh. Chem.* **1969**, *100*, 146-149. (b) Hayao, S.; Havera, H. J.; Strycker, W. G.; Leipzig, T. J.; Kulp, R. A.; Hartzler, H. E. New sedative and hypotensive 3-substituted 2,4(1*H*,3*H*)-quinazolinediones. *J. Med.*

- Chem.* **1965**, *8*, 807-811. (c) Nieduzak, T. R.; Dudley, M. W.; Kehne, J. H. 4-imido-methyl-1-(2'-phenyl-2'-oxoethyl-)piperidines as serotonin 5HT₂-antagonists, their preparation and use in therapy. PCT Int. Appl. WO9322309, 1993.
- (139) Cortez, R.; Rivero, I. A.; Somanathan, R.; Aguirre, G.; Ramirez, F.; Hong, E. Synthesis of quinazolinedione using triphosgene. *Synth. Commun.* **1991**, *21*, 285.
- (140) Gadekar, S. M.; Kotsen, A. M.; Cohen, E. Anthranilamides as intermediates for 3-substituted quinazoline-2,4-diones. *J. Chem. Soc.* **1964**, 4666-4668.
- (141) Yale, H. L.; Kalkstein, M. Substituted 2,3-dihydro-4(1H)-quinazolinones. A new class of inhibitors of cell multiplication. *J. Med. Chem.* **1967**, *10*, 334-336.
- (142) Clark, R. H.; Wagner, E. C. Isatoic anhydride. I. Reactions with primary and secondary amines and with some amides. *J. Org. Chem.* **1944**, *09*, 55-67.
- (143) Hulinska, H.; Polivka, Z.; Jilek, J.; Sindelar, K.; Holubek, J.; Svatek, E.; Matousova, O.; Budesinsky, M.; Frycova, H.; Protiva, M. Experimental antiulcer agents: *N*-substituted 2-(4-methyl-1-piperazinyl)acetamides as pirenzepine models and some related compounds. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1988**, *53*, 1820-1844
- (144) (a) Boltze, K. H.; Dell, H. D.; Lehwald, H.; Lorenz, D.; Rueberg-Schweer, M. Substituted 4-quinazolinones as hypnotics and anticonvulsants. *Arzneim. -Forsch.* **1963**, *13*, 688-701. (b) Kishor, K.; Kumar, R.; Parmar, S. S. Some 2,3-disubstituted quinazolones. *J. Med. Chem.* **1964**, *7*, 831-832.
- (145) Nagase, T.; Mizutani, T.; Ishikawa, S.; Sekino, E.; Sasaki, T.; Fujimura, T.; Ito, S.; Mitobe, Y.; Miyamoto, Y.; Yoshimoto, R.; Tanaka, T.; Ishihara, A.; Takenaga, N.; Tokita, S.; Fukami, T.; Sato, N. Synthesis, structure-activity relationships, and biological profiles of a quinazolinone class of histamine H₃ receptor inverse agonists. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 4780-4789.
- (146) Errede, L. A. Acylantranils. I. The pathway of quinazolone formation in the reaction of acylantranils with anilines. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1763-1765.
- (147) Zentmyer, D. T.; Wagner, E. C. The so-called acylantranils (3,1,4-benzoxazones). I. Preparation; reactions with water, ammonia, and aniline; structure. *J. Org. Chem.* **1949**, *14*, 967-981.
- (148) Lipford, G. B.; Forsbach, A.; Zepp, C. M. Small molecule toll-like receptor (TLR) antagonists. PCT Int. Appl. WO2005007672, 2010.

- (149) (a) Lee, S. J.; Konishi, Y.; Yu, D. T.; Miskowski, T. A.; Riviello, C. M.; Macina, O. T.; Frierson, M. R.; Kondo, K.; Sugitani, M. Discovery of potent cyclic GMP phosphodiesterase inhibitors. 2-Pyridyl- and 2-imidazolylquinazolines possessing cyclic GMP phosphodiesterase and thromboxane synthesis inhibitory activities. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3547-3557. (b) Giammanco, L.; Invidiata, F. P. Thermolysis of 4-azidopyrimidines and 4-azidoquinazolines. *Heterocycles* **1985**, *23*, 1459-1464.
- (150) Appukkuttan, P.; Orts, A. B.; Chandran, R. P.; Goeman, J. L.; van der Eycken, J.; Dehaen, W.; van der Eycken, E. Generation of a small library of highly electron-rich 2-(hetero)aryl-substituted phenethylamines by the Suzuki-Miyaura reaction: A short synthesis of an Apogalanthamine analogue. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3277-3285.
- (151) Varnes, J. G.; Wacker, D. A.; Jacobson, I. C.; Quan, M. L.; Ellis, C. D.; Rossi, K. A.; He, M. Y.; Luetgen, J. M.; Knabb, R. M.; Bai, S.; He, K.; Lam, P. Y. S.; Wexler, R. R. Design, structure–activity relationship, and pharmacokinetic profile of pyrazole-based indoline factor Xa inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 6481-6488.
- (152) Li, X.; Hu, Q. P.; Cui, X. G.; Wang, D. H. An efficient approach to 6,7-disubstituted 2(1*H*)-quinoxalinones. *Chin. Chem. Lett.* **2004**, *15*, 1400-1402.
- (153) Snider, B. B.; Ahn, Y.; O'Hare, S. M. Total synthesis of (±)-martinellic acid. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4217-4220.
- (154) Arhancet, G. B.; Casimiro-Garcia, A.; Chen, X.; Hepworth, D.; Meyers, M. J.; Piotrowski, D. W.; Raheja, R. K. 4,5-Dihydro-1*H*-pyrazole compounds and their pharmaceutical use. PCT Int. Appl. WO2010116282, 2010.
- (155) Apfel, C.; Banner, D. W.; Bur, D.; Dietz, M.; Hubschwerlen, C.; Locher, H.; Marlin, F.; Masciadri, R.; Pirson, W.; Stalder, H. 2-(2-Oxo-1,4-dihydro-2*H*-quinazolin-3-yl)- and 2-(2,2-dioxo-1,4-dihydro-2*H*-2λ⁶-benzo[1,2,6]thiadiazin-3-yl)-*N*-hydroxy-acetamides as potent and selective peptide deformylase inhibitors. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1847-1852.
- (156) (a) Martinez, G. R.; Walker, K. A. M.; Hirschfeld, D. R.; Bruno, J. J.; Yang, D. S.; Maloney, P. J. 3,4-Dihydroquinolin-2(1*H*)-ones as combined inhibitors of thromboxane A₂ synthase and cAMP phosphodiesterase. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 620-628. (b) Loev, B.; Kormendy, M. F. Sulfostyryl (2,1-benzothiazine 2,2-dioxide). I. Preparation and reactions of 3,4-dihydrosulfostyryl. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 3163-3166.

- (157) Volovenko, Y.; Volovnenko, T.; Popov, K. *N*-Alkyl-4-chloro-1*H*-benzo[*c*][1,2]thiazine-3-carbaldehyde-2,2-dioxides - new functional benzothiazine derivatives. *J. Heterocycl. Chem.* **2007**, *44*, 1413-1419.
- (158) Hille, U. E.; Zimmer, C.; Vock, C. A.; Hartmann, R. W. First selective CYP11B1 inhibitors for the treatment of cortisol-dependent diseases. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, DOI: 10.1021/ml100071j.
- (159) Kwong, F. Y.; Lai, C. W.; Yu, M.; Tian, Y.; Chan, K. S. Palladium-catalyzed phosphination of functionalized aryl triflates. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 10295-10305.
- (160) Maeda, Y.; Koyabu, M.; Nishimura, T.; Uemura, S. Vanadium-catalyzed sulfenylation of indoles and 2-naphthols with thiols under molecular oxygen. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 7688-7693.
- (161) Dissertationschrift Ursula Müller-Vieira: Selektive Inhibition der Aldosteronsynthase (CYP11B2) als neues Therapiekonzept bei Herzinsuffizienz und Myokard-Fibrose: Entwicklung und Evaluierung einer Teststrategie unter besonderer Berücksichtigung der Adrenocorticalen Tumorzelllinie NCI-H295R. Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2005**.
- (162) Dissertationschrift Christina Zimmer: Erweiterung der Testplattform zur Charakterisierung von Aldosteronsynthase-Inhibitoren unter besonderer Berücksichtigung von Speziesunterschieden. Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2010**.
- (163) Dissertationschrift Peter Bernhardt Ehmer: Etablierung zellulärer Testverfahren für Inhibitoren der Cytochrom-P450-Enzyme CYP17 (17 α -Hydroxylase-C17/20-Lyase) und CYP11B2 (Aldosteronsynthase) durch rekombinante Expression der Humanenzyme. Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, **2001**.
- (164) (a) Thompson, E. A.; Siiteri, P. K. Utilization of oxygen and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate by human placental microsomes during aromatization of androstenedione. *J. Biol. Chem.* **1974**, *249*, 5364-5372. (b) Hartmann, R. W.; Batzl, C. Aromatase inhibitors. Synthesis and evaluation of mammary tumor inhibiting activity of 3-alkylated 3-(4-aminophenyl)piperidine-2,6-diones. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1362-1369.