Trispyrimidonamide als neuartige α-Helixmimetika: Design, Synthese und biologische Evaluierung

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Lukas Spanier

aus Viersen

Düsseldorf, März 2014

aus dem Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. Thomas Kurz

Korreferent: Prof. Dr. Holger Gohlke

Tag der mündlichen Prüfung: 28.05.2014

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Juni 2010 bis März 2014 am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Thomas Kurz, dem ich für die Überlassung des Themas, seine wertvollen Anregungen und seine engagierte Betreuung herzlich danke.

Herrn Prof. Dr. Holger Gohlke möchte ich herzlich für die Übernahme des Korreferats danken.

Für die bioinformatischen Untersuchungen möchte ich Herrn Emanuele Ciglia und Herrn Alexander Metz aus der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Holger Gohlke danken.

Für die Durchführung der biologischen Untersuchungen danke ich Frau Ana Rodrigues-Moita aus der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Matthias U. Kassack.

Für die Aufnahme der Röntgenstruktur möchte ich Herrn Prof. Dr. Walter Frank vom Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie danken.

Herrn Peter Behm und Herrn Dr. Peter Tommes vom Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie sowie Frau Maria Beuer vom Institut für Organische Chemie danke ich für die Aufnahme der NMR- und Massenspektren.

Bei Frau Gabriele Zerta vom Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie bedanke ich mich für die Anfertigung der Elementaranalysen.

Frau Krystina Kuna danke ich herzlich für die Weitergabe ihres Wissens, die moralische Unterstützung und ihren Einsatz bei der Synthese von Ausgangsverbindungen.

Bei Herrn Dr. Finn K. Hansen möchte ich mich für seine Hilfe bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit und die produktiven Zusammenarbeit bedanken.

Herrn Dr. Michael Leven möchte ich für die vielen motivierenden Gespräche, die moralische Unterstützung in schwierigen Phasen und seine Hilfe bei der Korrektur der vorliegenden Arbeit danken.

Bei allen weitern Mitgliedern der Arbeitsgruppe möchte ich mich von Herzen für ihre Freundschaft, die konstruktive Atmosphäre und den regen (wissenschaftlichen) Gedankenaustausch bedanken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und meiner Freundin Gisa für ihre Unterstützung und ihr Verständnis.

The area of organic chemistry is such a beautiful one, because you can be both, an artist and an explorer at the same time.

Phil S. Baran, 2013

INHALTSVERZEICHNIS

Abbildungsverzeichnis III
Verzeichnis der Schemata V
Tabellenverzeichnis VII
Abkürzungsverzeichnis VIII
1. Einleitung 1
1.1 Protein-Protein-Wechselwirkungen 1
1.2 Alpha-Helix 4
1.3 α-Helix-Mimetika 7
2. Zielsetzung 15
3. Retrosynthetische Analyse 17
4. Literaturübersicht 19
4.1 Methoden zur Darstellung von Pyrimidonen vom Typ 1 19
4.2 Methoden zur Darstellung von Pyrimidonen mit Esterfunktion und deren Hydrolyse (Molekülregion A) 19
4.3 Methoden zur Darstellung von Pyrimidonen mit Substituenten am Lactamstickstoff (Molekülregion B) 22
4.4 Methoden zur Darstellung von 5-Aminopyrimidonen und deren geschützten Vorstufen (Molekülregion C) 25
4.5 Zusammenfassung Literaturrecherche 29
5. Synthese der Trispyrimidonamide 31
5.1 Orientierende Experimente zur Monomersynthese 31
5.2 Darstellung der Amidinhydrochloride 43
5.3 Darstellung der Monomere 1a-q 45
5.4 Darstellung der 5-Aminoderivate und ihre physikochemischen Eigenschaften 52
5.5 Literaturrecherche zur Darstellung von Pyrimidon-2-carboxamiden 53
5.6 Darstellung der Lithiumcarboxylate und ihre Eigenschaften 56
5.7 Darstellung der dimeren Pyrimidonamide 58
5.8 Darstellung der dimeren 5-Aminopyrimidonamide 61
5.9 Darstellung der trimeren Pyrimidonamide 63
5.10 Fazit der Synthese der Trimere 65
6. Konformationsanalyse 66
7. Inhibitordesign und Synthese 72
7.1 Hitze-Schock-Protein 90 (HSP90) 72

7.2 RUNX1/ETO 84
7.3 Fazit Inhibitordesign und Synthese 90
8. Biologische Evaluierung 91
8.1 Hitze-Schock-Protein 90 (HSP90) 91
8.2 NHR2-Tetramerisierung 95
9. Zusammenfassung 96
10. Abstract 104
11. Experimenteller Teil 112
Literaturverzeichnis XII

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: A) *Bcl-xl/Bad-Heterodimer (Oberflächenansicht von Bcl-xl mit Bad-Protein in grün) und* ***B)*** *wechselwirkende Seitenketten auf α-Helices von Bcl-xl (Tyr, Ala, Phe) und Bad (Met, Leu, Tyr) (PDB: 2BZW).* *3*

Abbildung 2: A) *gerade Helix,* ***B)*** *gebogene Helix aus dem Granulozyten-stimulierenden-Faktor (PDB: 1BGC) und* ***C)*** *gewinkelte Helix aus dem Fertilisationsprotein Lysin (PDB: 1LIS).* *4*

Abbildung 3: A) *Primärsequenz eines Decaalaninpeptids,* ***B)*** *Primärstruktur mit Wasserstoffbrückenbindungen zwischen i und i+4 und* ***C)*** *α-helicale Sekundärstruktur des Peptids.* *5*

Abbildung 4: *α-Helix mit markierten Positionen:* ***A)*** *Ansicht von der Seite,* ***B)*** *Ansicht vom N-Terimus in die Helix und* ***C)*** *Ansicht vom N-Terimus schräg auf die Helix.* *6*

Abbildung 5: *kanonische α-Helix (links) und Indan-Grundkörper (rechts).* *8*

Abbildung 6: A) *Terphenyl- und* ***B)*** *Terpyridinyl-Grundkörper.* *9*

Abbildung 7: A) *Pyridazin- und* ***B)*** *5-6-5 Imidazol-Phenyl-Thiazol-Grundkörper.* *11*

Abbildung 8: *Kanonische α-Helix (links) und Terephtal-Grundkörper (rechts).* *12*

Abbildung 9: A) *Trisbenzamid-,* ***B)*** *Bogers Benzamid- und* ***C)*** *Trispyridinamid-Grundkörper.* *13*

Abbildung 10: *Optimierung des Trispyridin-Grundgerüst* ***I*** *mit Vergleich der cLogP-Werte.* *15*

Abbildung 11: *Retrosynthetische Analyse der Trispyrimidonamide* ***5*** *(R = Aminoschutzgruppe oder -vorstufe: Nitro, Carbamat, Amid, etc.).* *18*

Abbildung 12: *Positionen und Einteilung des Pyrimidonrings (R^1 = Aminosäureseitenkettensurrogat, R^2 = Nitro, Carbamat, Amid, etc.).* *19*

Abbildung 13: *Darstellung der Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate* ***V, VII A)*** *nach Hagmann; i) $AgNO_3$, H_2O, MeOH und* ***B)*** *nach Riva; ii) Isobutylamin, THF.* *20*

Abbildung 14: *Hydrolyse der Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate nach Hagmann et al. i) TMSI, $CHCl_3$; ii) H_2O; iii) LiSMe, DMF.* *21*

Abbildung 15: *Decarboxylierung eines N-substituierten Alkyl Pyrimidon-2-carboxylat* ***XIII*** *unter basischen Bedingungen nach Riva et al.* *22*

Abbildung 16: *Retrosynthetische Analyse der N-Alkylpyrimidone.* *23*

Abbildung 17: A) *Pyrimidon-Pyrimidinol-Tautomerie und* ***B)*** *stellungsisomere Produkte* ***XIX*** *und* ***XX*** *bei der Alkylierung von resonanzstabilisierten Anionen.* *23*

Abbildung 18: *Schutzgruppen und Vorstufen von Aminogruppen in der organischen Synthese.* *25*

Abbildung 19: *Postulierter Mechanismus der Ringtransformationsreaktion nach Hansen.* .. *29*

Abbildung 20: *Retrosynthetische Analyse des 5-Nitropyrimidon* ***XLIII.*** *31*

Abbildung 21: A) *Synthese von Pyrimidin-4(3H)-on* ***XLVI*** *und* ***B)*** *möglicher Mechanismus der Decarboxylierung; i) a) MeOH, NaOH, RT, 5h, b) HCl.* *33*

Abbildung 22: *Retrosynthese des 5-Nitropyrimidon* ***LIII.*** *34*

Abbildung 23: *Versuche zur Synthese des Aldehyd- oder Carbonsäurederivats mittels Oxidation des 2-Methylpyrimidons* ***LVII.*** *36*

Abbildung 24: *Infrarotspektroskopisches Verhalten der Verbindung* ***9*** *(KBr, Bereich von 4000-500 cm^{-1}).* *38*

Abbildung 25: *Retrosynthetische Analyse des N-benzylgeschützten Monomere* ***1****..... 42*
Abbildung 26: *Infrarotspektroskopischer Vergleich der Verbindung* ***1n*** *und des Nebenprodukts* ***1na*** *(KBr, Bereich von 3500-500 cm^{-1}).... 49*
Abbildung 27: *Magnetresonanzspektroskopische Unterscheidung der Stellungsisomere* ***1h*** *und* ***12*** *($CDCl_3$, 500 MHz).... 51*
Abbildung 28: *Infrarotspektroskopischer Vergleich der Verbindungen* ***1d*** *und* ***15c*** *(KBr, Bereich von 3500-400 cm^{-1}).... 56*
Abbildung 29: *Verglichene Kupplungsreagenzien.... 60*
Abbildung 30: *COMU-vermittelte Amidkupplung nach Montalbetti und Falque.... 61*
Abbildung 31: *Hydrolyseverhalten der dimeren 5-Benzaminopyrimidonamide* ***3*** *unter basischen Bedingungen.... 63*
Abbildung 32: *Decarboxyliertes Nebenprodukt* ***LXVIV*** *der Synthese von* ***5a****.... 65*
Abbildung 33: *Strukturanalyse von Verbindung* ***5a, A)*** *röntgendiffraktometrische Analyse und* ***B)*** *^{1}H-^{1}H-ROESY (Region zwischen 9.18 - 8.84 ppm, 600 MHz, $CDCl_3$) mit markierten Wechselwirkungen in Rot.... 67*
Abbildung 34: *1H-1H-ROESY Spektrum von* ***19·TFA*** *(Region zwischen 0.97 - 0.79 ppm, 600 MHz, MeOH-d_4) mit markierten Wechselwirkungen in Rot.... 69*
Abbildung 35: *Räumlicher Vergleich des Konformers A2 mit der kanonischen Dexaalaninhelix.... 70*
Abbildung 36: *Schematische Darstellung der Proteinfaltung durch HSP90,* ***A)*** *Bindung von Klientprotein und ATP,* ***B)*** *ATP-Hydrolyse und Proteinfaltung,* ***C)*** *Freisetzung des gefalteten Proteins und* ***D)*** *Abspaltung von ADP und Ausbildung der Grundkonformation.... 73*
Abbildung 37: *Inhibitoren der ATP-Bindungstasche von HSP90.... 75*
Abbildung 38: *Inhibitoren des C-Terminus von HSP90.... 76*
Abbildung 39*: HSP90-Dimer (links) und C-terminales „four helix bundle" mit Tyr 689, Ile 688, Ile 692 und Leu 696 (rechts).... 78*
Abbildung 40: *Design potentieller Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung.... 79*
Abbildung 41: *Die RUNX/ETO-assoziierte AML-Kaskade.... 84*
Abbildung 42: *NHR2-Tetramer des AML/ETO Proteins,* ***A)*** *NHR2-Tetramer mit Tetramerisationsdomäne (Asp 533, Glu 536, Trp 540),* ***B)*** *Aufsicht auf die Tetramerisationsdomäne und* ***C)*** *Inhibitoren nach Metz et al.... 86*
Abbildung 43: *Design von potentiellen Inhibitoren der NHR2-Tetramerisierung.... 87*
Abbildung 44: *Farbreaktion des MTT-Assays.... 91*
Abbildung 45: *Ausgewählte Testverbindungen.... 92*
Abbildung 46: *D-Luciferin-Luciferase-Reaktion.... 94*
Abbildung 47: *Optimierung des Trispyridin-Grundgerüst* ***I*** *mit Vergleich der cLogP-Werte.96*
Abbildung 48: *Design potentieller Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung.... 101*

Figure 1: *Modification of the trispyridine-backbone* ***I*** *and comparison of calculated logP-values.... 104*
Figure 2: *Design of potential HSP90-dimerization inhibitors.... 110*

VERZEICHNIS DER SCHEMATA

Schema 1: *Darstellung von 5-Nitropyrimidone* ***XXX****; i) HNO_3, H_2SO_4; ii) Na, MeOH. 26*
Schema 2: *Synthese von 5-Benzyloxycarbamoylpyrimidonen; i) Benzylalkohol, Diphenylphosphorylazid, TEA, 1,4-Dioxan. 27*
Schema 3: *Synthese von 5-Benzamidopyrimidon* ***XXXVII****; i) ACN. 28*
Schema 4: *Synthese der 5-Nitropyrimidone* ***XXXII*** *nach de la Cuesta und Avendaño; i) Na, EtOH, 0°C, 18h; ii) HAc. 32*
Schema 5: *Synthese des 5-Nitropyrimidon* ***6****; i) a) Na, EtOH, 0°C, 18h, b) HCl. 32*
Schema 6: *Synthese des primären Alkohols 7; i) EtOH, HCl (g), 0°C, 48h; ii) a) NH_3, MeOH, 0°C, 1h, b) HCl; iii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h, b) HCl. 35*
Schema 7: *Synthese des Acetale* ***8a,b****; i) TMSCN, $BF_3{\cdot}Et_2O$, 0°C, 3h; ii) NaOMe, MeOH, NH_4Cl, 0°C, 2h, RT, 18h; iii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h, b) HCl. 37*
Schema 8: *Synthese des 1,3-Dioxolan* ***9****; i) TMSCN, $CoCl_2$, DCM, 0°C, 3h; ii) NaOMe, MeOH, NH_4Cl, 0°C, 1h, RT, 18h; iii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h, b) HCl. 38*
Schema 9: *Synthese des 5-Aminopyrimidons* ***10*** *und Versuch der anschließenden Hydrolyse; i) H_2 (atm.), Pd(C), MeOH, RT, 3h. 39*
Schema 10: *Synthese des Styrylderivats* ***11****; i) a) EtOH, HCl (g), 0°C, 48h b) NH_3, RT, 1h; ii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h b) HCl. 40*
Schema 11: *Synthese der Amidinhydrochloride* ***LXVIa-p****; i) a) R-OH, HCl (g), Et_2O, 0°C, 24h; ii) K_2CO_3, 0°C; iii) R-NH_3Cl, MeOH, 0°C, 1h, RT, 18h. 43*
Schema 12: *Synthese der Monomere* ***1a-q****; i) TEA, ACN, 80°C, 3-6h. 46*
Schema 13: *Nebenreaktion an der Esterfunktion der Verbindung 1m in Gegenwart von 2-Phenylethylamin. 48*
Schema 14: *Synthese der Monomere* ***1h,s*** *durch Alkylierung; i) NaH, R-X (tert-Butylbromoacetat, 4-Methoxybenzylchlorid), DMF, RT, 18h. 50*
Schema 15: *Erste Versuche zur Hydrolyse des Benzamids an der Modellsubstanz* ***1q****; i) NaOH, MeOH, 80°C, 8h. 52*
Schema 16: *Untersuchungen zur Reaktivität der Esterfunktion von* ***1q****; i) NH_3, H_2O, EtOH, RT, 5h; ii) $MeNH_2$, H_2O, EtOH, RT, 5h; iii) $N_2H_4{\cdot}H_2O$, EtOH, RT, 5h; iv) $NH_2OH{\cdot}HCl$, NaOH, MeOH, 0°C, 1h, RT, 3h. 54*
Schema 17: *Regioselektive Hydrolyse der 5-Benzamidopyrimidone* ***15b,c****; i) $MeNH_2$, H_2O, EtOH, RT, 5h; ii) NaOH, MeOH, 80°C, 6h. 55*
Schema 18: *Nebenreaktion der Hydrolyse von* ***1h****; i) a) $LiOH{\cdot}H_2O$, H_2O, MeOH, RT, 18h, b) HCl. 57*
Schema 19: *Darstellung der Lithiumcarboxylate* ***LXIXa-j****; i) $LiOH{\cdot}H_2O$, MeOH, RT, 6h. 58*
Schema 20: *Darstellung der Dimere* ***3a,b****; i) COMU, DMF, RT, 18h 59*
Schema 21: *Darstellung der dimeren 5-Aminopyrimidonamide* ***4a,b****; i) NaOH, MeOH, 80°C, 6h. 62*
Schema 22: *Darstellung der Trispyrmidonamide* ***5a,b****; i) COMU, DMF, RT, 18h. 64*
Schema 23: *Darstellung der Trispyrmidonamide* ***5c-e****; i) COMU, DMF, RT, 18h. 80*
Schema 24: *Versuch der lewissäurevermittelten Desmethylierung von* ***5c****; i) BBr_3, DCM, -78°C, 1h, RT, 1h. 81*

Schema 25: *Darstellung der phenolischen Endprodukte* ***21a,b****; i)* H_2*, Pd(C), MeOH, DCM, RT, 1h. 82*
Schema 26: *Synthese des potentiellen HSP90-Dimerisierungsinhibitors* ***5a****; i) COMU, DMF, RT, 18h. 83*
Schema 27: *Darstellung der Dimere* ***3c,d****; i) COMU, DMF, RT, 18h. 88*
Schema 28: *Darstellung der Endprodukte* ***22a,b****; i) TFA, DCM, 0°C 1h, RT, 3h. 89*
Schema 29: *Darstellung des Dimers* ***3e****; i) COMU, DMF, RT, 18h. 90*
Schema 30: *Synthese der Monomere* ***1a-q****; i) TEA, ACN. 97*
Schema 31: *Darstellung der 5-Aminopyrimidone* ***2a,b****; i)* $MeNH_2$*,* H_2O*, EtOH; ii) NaOH, MeOH. 97*
Schema 32: *Hydrolyse der Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate zu den korrespondierenden Lithiumcarboxylaten* ***LXIXa-j****; i)* $LiOH \cdot H_2O$*, MeOH. 98*
Schema 33*: Darstellung der Dimere* ***3a-e****; i) COMU, DMF. 99*
Schema 34: *Darstellung der Trispyrmidonamide* ***5a-e****; i) COMU, DMF. 100*
Schema 35: *Potentielle Inhibitoren* ***22a,b****. 102*

Scheme 1: *Synthesis of monomers* ***1a-q****; i) TEA, ACN. 105*
Scheme 2: *Synthesis of 5-aminopyrimidones* ***2a,b****; i)* $MeNH_2$*,* H_2O*, EtOH, ii) NaOH, MeOH. 106*
Scheme 3: *Synthesis of lithium carboxylates* ***LXIXa-j****; i)* $LiOH \cdot H_2O$*, MeOH. 107*
Scheme 4: *Synthesis of dimers* ***3a-e****; i) COMU, DMF. 108*
Scheme 5: *Synthesis of trimers* ***5a-e****; i) COMU, DMF. 109*
Scheme 6: *Potential inhibitors* ***22a,b****. 111*

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: *Synthetisierte Amidinhydrochloride* ***LXVIa-p****.* *44*
Tabelle 2: *Synthetisierte Monomere* ***1a-q*** *und ihre Ausbeuten.* *46*
Tabelle 3: *Ergebnisse der Kupplungsoptimierung.* *60*
Tabelle 4: *Biologische Daten der getesteten Verbindungen.* *92*

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

°

°C Grad Celsius

µ

µM Mirkomol/Liter

Å

Å Ångström (0,1 nm)

A

abs. absolut
ACN Acetonitril
ADP Adenosindiphosphat
$AgNO_3$ Silbernitrat
ATP Adenosintriphosphat

B

BBr_3 Bortribromid
$BF_3 \cdot Et_2O$ Bortrifluoridetherat, Bortrifluoridetherat
BOC *tert*-Butyloxycarbonyl

C

$CDCl_3$ deuteriertes Chloroform
$CHCl_3$ Chloroform
cLogP kalkulierter Oktanol-Wasser-Koeffizient
cm^{-1} Wellenzahl
$CoCl_2$ Kobalt(II)chlorid
COMU 1-[(1-(Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminooxy)-dimethylamino-morpholinomethylen)]-methanaminiumhexafluorophosphat

D

d Dublett
DCC Dicyclohexylcarbodiimid
DCM Dichlormethan
dd Dublett vom Dublett
DIC Diisopropylcarbodiimid
DMF Dimethylformamid
DMSO-d_6 deuteriertes Dimethylsulfoxid
DNA *engl.* Desoxyribonukleinsäure
dt Dublett vom Triplett

E

EENA Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat
Et_2O Diethylether
EtOH Ethanol, Ethanol

H

h Stunde
H_2 Wasserstoff
H_2O Wasser, Wasser
H_2SO_4 Schwefelsäure
HAc Essigsäure
HATU 1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxid hexafluorophosphat
HBTU *N,N,N′,N′*-Tetramethyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphat
HCl Salzsäure
HDM2 human double minute oncogen 2
HIV Humanes Immundefizienz Virus
HNO_3 Salpetersäure
HSP90 Hitze-Schock-Protein 90 kDa

I

IC_{50} mittlere inhibitorische Konzentration

J

J Kupplungskonstante

K

K_2CO_3 Kaliumcarbonat
KBr Kaliumbromid, Kaliumbromid, Kaliumbromid
KI Kaliumiodid

L

$LiOH \cdot H_2O$ Lithiumhydroxidhydrat
LiSMe Lithiummercaptid
LogP Oktanol-Wasser-Koeffizient

M

m Multiplett
MDM2 murine double minute oncogen 2
MENA Methyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat
$MeNH_2$ Methylamin
MeOH Methanol
MeOH-d_4 deuteriertes Methanol

mg Milligramm
MHz Megahertz
min Minute
ml Milliliter
mmol Millimol
MTT 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid

N

$N_2H_4 \cdot H_2O$ Hydrazinhydrat
Na Natrium
NaH Natriumhydrid
NaOH Natriumhydroxid
NaOMe Natriummethanolat
$NH_2OH \cdot HCl$ Hydroxylammoniumchlorid
NH_3 Ammoniak
NH_4Cl Ammoniumchlorid
NH_4OAc Ammoniumacetat
nm Nanometer
NMR Kernspinresonanzspektroskopie *(englisch nuclear magnetic resonance)*
NSG Aminschutzgruppe

O

Oxyma Ethyl (hydroxyimino)cyanoacetat

P

Pd(C) Palladium-Kohle-Katalysator
ppm parts per million
PyBOP (Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphat

Q

q Quartett

R

RMSD Root-mean-square deviation
RNA *engl.* Ribonukleinsäure
ROESY Rotating-Frame Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
RP reverse Phase
RT Raumtemperatur

S

s Singulett

T

TEA Triethylamin
TFA Trifluoressigsäure
THF Tetrahydrofuran
TMSCN Trimethylsilylcyanid
TMSI Trimethylsilyliodid
TOF ESI-HRMS Time Of Flight Electrospray Ionization High Resolution Mass Spectrometry

1. EINLEITUNG

Die Wechselwirkungen zwischen Proteinen kontrollieren eine Vielzahl von essenziellen zellulären Prozessen.[1-7] Es ist bekannt, dass eine Fehlregulierung dieser Protein-Protein-Interaktionen (PPI) zu Krankheitsgeschehen wie z. B. Tumoren, neurodegenerativen Erkrankungen und Immundefiziten führt.[8-10]

Trotz des Wissens um diese wichtige Funktion ist es bislang nicht gelungen, dies für die Entwicklung von Arzneistoffen zu nutzen. Eine der größten Hürden stellt hierbei die häufig sehr große und flache Oberfläche der interagierenden Proteine dar (1000-3000 $Å^2$),[11, 12] welche die gezielte Adressierung des Gesamtproteins erschwert.[13, 14]

Deshalb ist es sinnvoll, die Rolle von Proteinsekundärstrukturen (PSS) bei den Wechselwirkungen zwischen Proteinen auszunutzen. Untersuchungen zeigen, dass sich trotz der großen Oberfläche die signifikanten Interaktionsbereiche auf einige wesentliche Orte, so genannte „hot spots“, beschränken. Bei der Organisation und Präsentation dieser „hot-spots“ spielen Proteinsekundärstrukturen, wie α-Helices oder β-Faltblätter, eine essenzielle Rolle.[15, 16]

Es konnte gezeigt werden, dass synthetische Moleküle, welche diese Sekundärstrukturen räumlich nachbilden können, in der Lage sind, PPI mit hoher Affinität und Spezifität zu inhibieren.[17-21] Somit stellt die Synthese von maßgeschneiderten α-Helixmimetika ein wertvolles Werkzeug für das Verständnis physiologischer Vorgänge und die Entwicklung neuartiger Arzneistoffe dar.

1.1 PROTEIN-PROTEIN-WECHSELWIRKUNGEN

Ein Großteil aller Proteine in einem Organismus besteht aus mehr als einem Proteinstrang.[22] Dies bedeutet, dass diese Proteine aus mehreren Peptidketten bestehen, welche auf der Ebene ihrer Quartärstrukturen nichtkovalente Wechselwirkungen eingehen. Diese Wechselwirkungen werden als Protein-Protein-Interaktionen bezeichnet.

Man unterscheidet systematisch zwischen Homo- und Heteropolymeren, wobei erstere über zwei oder mehr Einheiten desselben Proteins verfügen und letztere aus verschiedenen Proteinen bestehen.[12, 23] Homopolymere sind in der Regel permanente Komplexe, die in dieser Form ihre Funktion ausführen, ein Beispiel ist das Hitze-Schock-Protein 90 (HSP90), das als Homodimer vorliegt.[24] Heteropolymere sind häufig nicht für eine dauerhafte Interaktion vorgesehen und können durch externe Faktoren leicht wieder in ihre Einzelbestandteile zerfallen.

Ein Beispiel hierfür ist der Komplex aus dem Transkriptionsfaktor p53 und MDM2 (murine double minute oncogen 2).[25]

Die PPI in einer lebenden Zelle sind mit der Funktion einer Vielzahl von physiologischen und pathologischen Prozessen verknüpft.[1, 3, 4] Hierzu zählen Chemotaxis, Differenzierung, Signaltransduktion, Zellproliferation, Genexpression und Zelltod.[26] Dahingegen bewirkt eine Fehlregulierung oftmals das Entstehen von Krankheiten wie Diabetes, Krebs sowie neurodegenerative Erkrankungen.[8, 10]

Die oben beschriebenen Interaktionen zwischen Proteinen sind nicht mit denen „klassischer" Protein-Ligand-Interaktionen, wie sie zum Beispiel zwischen Enzymen oder Rezeptoren und ihren Liganden vorkommen, vergleichbar.[20] Im Gegensatz zu den kleinen und strukturell konservierten Bindungsstellen von Rezeptoren weisen PPI deutlich größere Interaktionsbereiche auf (Abb. 1, A). Während Bindungsstellen in klassischen Protein-Ligand-Interaktionen einen Raum von 300-1000 $Å^2$ einnehmen, kann sich dieser bei PPI verdreifachen. Auch die Morphologie der Bindungsstellen unterscheidet sich häufig enorm. Sind bei Enzymen und Rezeptoren oft Bindungstaschen Ort der Interaktion, fehlen diese bei PPI. Ihre Bindungsregionen zeichnen sich häufig durch eine flachere Geometrie aus (Abb. 1, A). Zudem sind die essenziellen Punkte der Interaktion bei PPI oft weit über diese Oberfläche verteilt und ergeben eine diskontinuierliche Kontaktfläche.

Es konnte experimentell gezeigt werden, dass nicht alle Aminosäuren (AS) der Interaktionsdomänen die gleiche Relevanz für die PPI aufweisen. In der Regel sind nur einige auf der Oberfläche verteilte Aminosäuren für die erwähnten Wechselwirkungen verantwortlich.[27, 28] Diese „hot spots" befinden sich häufig in strukturell konservierten Regionen und sind so lokalisiert, dass sie eine enge räumliche Nähe zu den „hot spots" des wechselwirkenden Proteinstrangs einnehmen können (Abb. 1, B).[29]

Weiterhin verdient die Rolle der Umgebung der „hot-spots" Beachtung. Bezugnehmend auf die Arbeiten von *Bogan et al.* können auch die benachbarten Aminosäuren eine Rolle in der Abschirmung der „hot-spots" gegen Wassermoleküle, welche die Ausbildung der Wechselwirkungen stören, spielen.[27]

Vor dem Hintergrund des starken Einflusses hydrophober Bereiche auf die Ausbildung der PPI ist eine Analyse der „hot-spot"-Aminosäuren interessant. Analysen zeigen, dass unter allen interagierenden AS aliphatische und aromatische ungefähr 60% einnehmen, wobei L-Phenylalanin, L-Tryptophan, L-Leucin und L-Isoleucin am häufigsten vertreten sind.[15] Dies

lässt den Schluss zu, dass nichtkovalente Effekte wie Wasserstoffbrückenbindungen, van-der-Waals-Kräfte und π-π-Wechselwirkungen eine wichtige Rolle spielen.[30-32] Aber auch polare Effekte können relevant sein, wie das Vorkommen von L-Tyrosin und L-Arginin zeigt (Abb. 1, B).[33, 34]

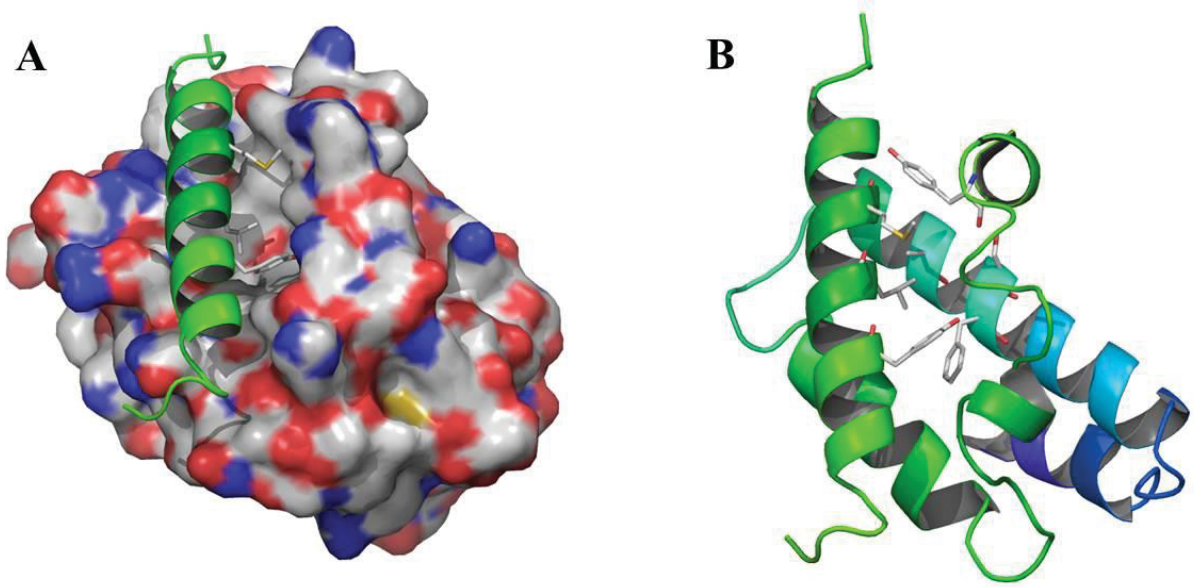


Abbildung 1: A) *Bcl-xl/Bad-Heterodimer (Oberflächenansicht von Bcl-xl mit Bad-Protein in grün) und* ***B)*** *wechselwirkende Seitenketten auf α-Helices von Bcl-xl (Tyr, Ala, Phe) und Bad (Met, Leu, Tyr) (PDB: 2BZW).*

Die Präsentation der „hot-spot"-Aminosäuren wird durch PSS wie α-Helices, β-Faltblätter und β-Schleifen maßgeblich gewährleistet.[13] Interessanterweise konnten *Arora et al.* durch Analyse der Kristallstrukturen aller in der Proteindatenbank (PDB) hinterlegten Multiproteinkomplexe[a] und deren Interaktionsbereichen zeigen, dass ca. 62% aller „hot-spots" in α-helikalen Domänen liegen.[15] Somit sind diese helikalen Bereiche von besonderer Bedeutung für die Ausbildung von PPI und tragen damit maßgeblich zur Funktion der Zelle bei.

[a] Stand 2009

1.2 ALPHA-HELIX

Die α-Proteinhelix wurde erstmals 1951 von *Pauling et al.* beschrieben und stellt die am weitesten verbreitete Proteinsekundärstruktur dar.[15, 35] Sie kann in drei strukturelle Kategorien unterteilt werden: lineare, gebogene und gewinkelte Helix (Abb. 2, A-C).[36]

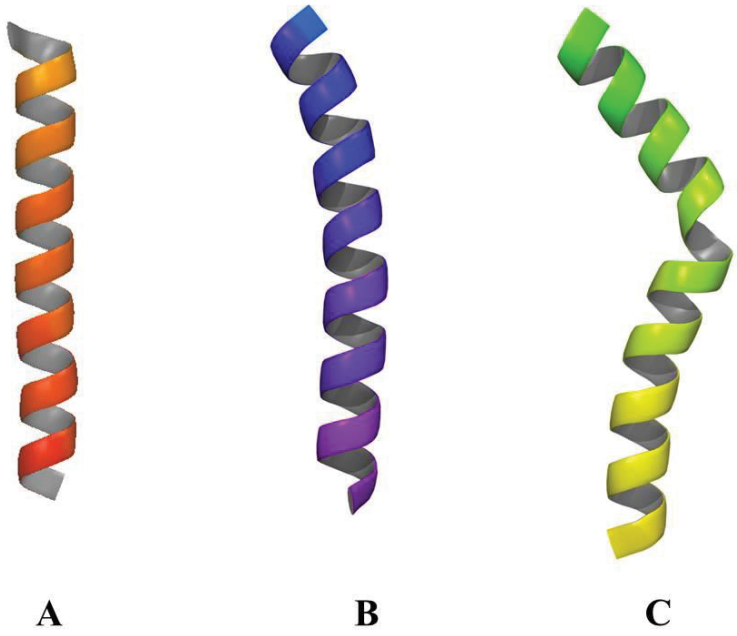


Abbildung 2: A) *gerade Helix,* ***B)*** *gebogene Helix aus dem Granulozyten-stimulierenden-Faktor (PDB: 1BGC) und* ***C)*** *gewinkelte Helix aus dem Fertilisationsprotein Lysin (PDB: 1LIS).*

Ihre Aufgabe in Peptiden hängt von ihrer Lokalisation ab. Während sie im hydrophoben Proteininneren die Tertiärstruktur stabilisiert, ist sie an der Oberfläche häufig für die Interaktion mit anderen Proteinen, DNA und RNA verantwortlich.[13]

Isolierte Polypeptide (14-20 Einheiten) liegen in wässriger Umgebung selten helikal vor. Dies bedeutet, dass α-Helices trotz ihrer großen Verbreitung und Relevanz als metastabil einzuschätzen sind, denn sowohl die Primärsequenz als auch ihre Lage und Umgebung beeinflussen ihre Stabilität. Grund dafür ist die energetische Hürde bei der Bildung der helikalen Konformation, welche nur unzureichend durch die intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung des Rückgrats zwischen der Carbonylgruppe des Amids an *i* und dem Proton an *i*+4 Position

ausgeglichen werden kann.[b] Weitere Stabilisation erfährt die Sekundärstruktur durch ionische Bindungen, hydrophobe Effekte und π-π-Wechselwirkungen, welche sich zwischen den Aminosäureseitenketten ausbilden (Abb. 3, A-C).[13]

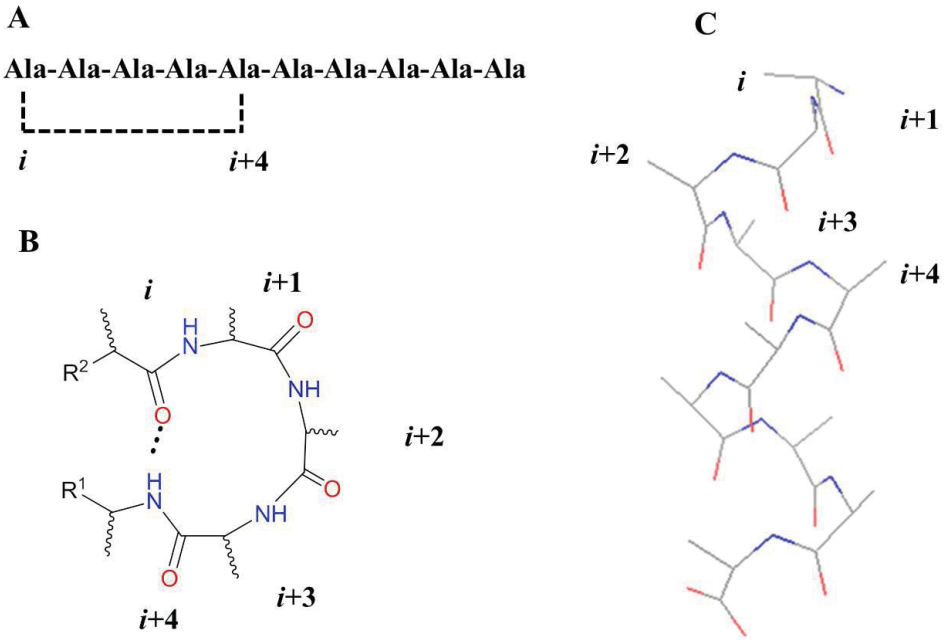


Abbildung 3: A) *Primärsequenz eines Decaalaninpeptids,* ***B)*** *Primärstruktur mit Wasserstoffbrückenbindungen zwischen i und i+4 und* ***C)*** *α-helicale Sekundärstruktur des Peptids.*

Typischerweise sind Helices in Peptiden mindestens zehn Aminosäureeinheiten lang. Dies bedeutet drei Windungen, 3,6 Aminosäuren pro Windung und eine Länge von 15 Å. Wie beschrieben, wird die helikale Struktur durch die Wasserstoffbrückenbindungen des Rückgrats stabilisiert und bildet eine rechtsdrehende Spirale, wobei die Reste der Aminosäuren nach außen zeigen. Diese Faltung ist der Grund, weshalb Seitenketten von Aminosäuren, welche in der Primärstruktur drei oder vier Positionen auseinander liegen, in der Sekundärstruktur benachbarte Plätze einnehmen und sich der Interaktionsbereich von PPI über die gesamte Länge der Helix erstrecken kann (Abb. 4, A-C).[13]

[b] In der Nomenklatur von Proteinen ist es gebräuchlich, vom aminoterminalen Ende der Peptidkette, auch N-Terminus genannt, zum carboxyterminalen Ende, oder C-Terminus, zu zählen. Die erste Aminosäure des Peptids wird mit *i*, die zweite mit *i*+1, usw. beziffert.

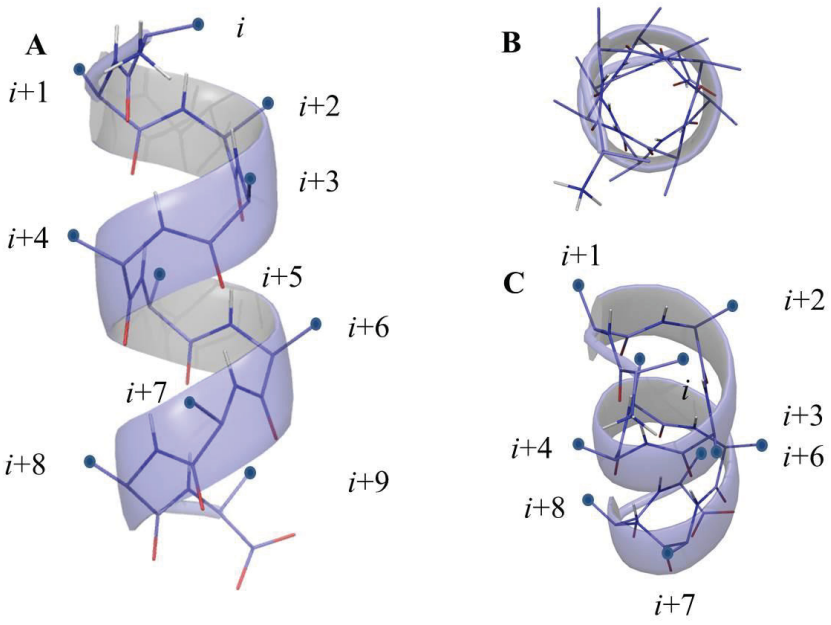


Abbildung 4: *α-Helix mit markierten Positionen:* ***A)*** *Ansicht von der Seite,* ***B)*** *Ansicht vom N-Terimus in die Helix und* ***C)*** *Ansicht vom N-Terimus schräg auf die Helix.*

Wie bereits beschrieben, identifizierten *Arora et al.* α-Helices als die vorrangigsten PSS zur Präsentation von „hot-spots“.[15] Die Wissenschaftler beschäftigten sich in ihrer Analyse der Proteinkomplexe auch mit weiteren Eigenschaften der Interaktionsbereiche. So konnte ermittelt werde, dass in den meisten Fällen die „hot-spots“ nur auf einer α-Helix liegen und es eine signifikant erhöhte Anzahl der wechselwirkenden Aminosäuren an den Positionen *i*+1, *i*+3, *i*+4, *i*+7 und *i*+8 gibt. Dies bedeutet, dass tatsächlich die Interaktionsbereiche über das gesamte helikale Profil verteilt vorliegen.

Aus diesen Fakten ergibt sich die Bedeutung von α-Helices als Strukturgeber von Proteinen, welche in der Präsentation von Interaktionsbereichen für PPI eine besondere Betrachtung verdienen.

1.3 α-HELIX-MIMETIKA

Im Jahr 2012 waren über 60 peptidische Arzneimittel auf den amerikanischen Markt zugelassen.[37] In den meisten Fällen werden diese parenteral, nasal oder bukkal appliziert. Die orale Gabe von Peptidarzneistoffen ist aufgrund ihrer schnellen Metabolisierung durch die Enzyme des Verdauungstrakts und der Leber sowie ihrer schlechten Resorbierbarkeit eingeschränkt.[38,c]

Zur Adressierung von Proteinsekundärstrukturen bieten sich somit synthetische niedermolekulare α-Helixmimetika an. Die Entwicklung dieser kleinen synthetischen Moleküle, welche räumlich die α-Helix nachempfinden und Substituenten in die Positionen der Aminosäurereste dirigieren, befindet sich mittlerweile in der dritten Dekade.[36, 39]

Die ersten Vertreter der α-Helixmimetika wurden 1992 von *Nolan et al.* publiziert.[40] Die Forscher vom angesehenen Park-Davis Neuroscience Research Center in Cambridge entwickelten auf der Basis von 1,6-disubstituierten sowie in späteren Arbeiten 1,1,6-trisubstituierten Indanen als erste bioaktive Moleküle.[41, 42] Die sowohl durch computergestützte als auch durch Kristallstruktur bestätigte Struktur der Indane erlaubt eine Abdeckung der *i*-1, *i* und *i*+1 Positionen der kanonischen α-Helix (Abb. 5).

[c] Die schlechte Resorption von langkettigen Proteinen basiert auf dem Fehlen eines Transportsystems für Peptide mit mehr als drei Aminosäurebausteinen.

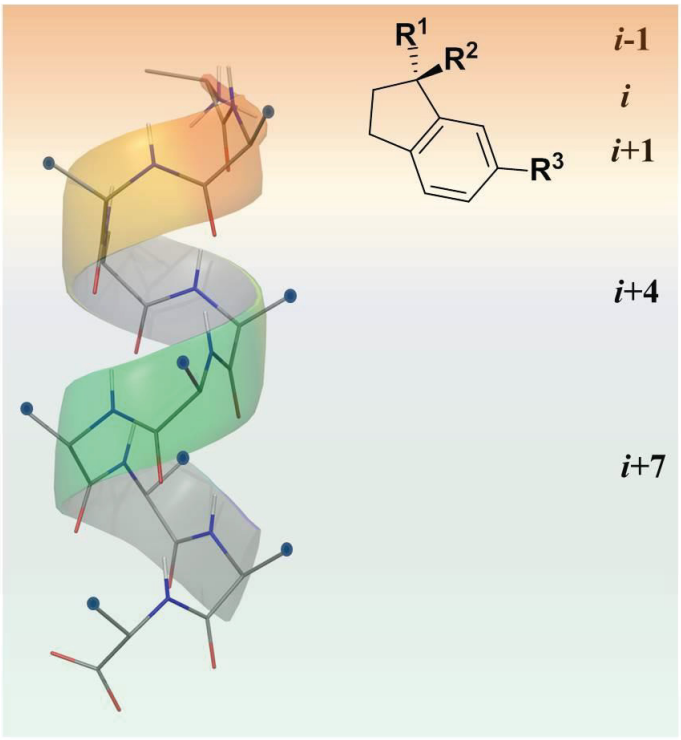


Abbildung 5: *kanonische α-Helix (links) und Indan-Grundkörper (rechts).*

In späteren Studien konnten die Wissenschaftler dann eine Inhibition der Aktivität von Neurokinin A (NK A) an Neuropeptidrezeptoren ($NK_{1\text{-}3}$) für einige Inhibitoren nachweisen.[42] Das Substitutionsmuster der Inhibitoren war in diesen Fällen dem bekannter Peptide nachempfunden, welche die NK A/$NK_{1\text{-}3}$ PPI vermitteln. In keinem Fall war eine dem nativen Protein überlegene Aktivität zu beobachten.

Mit wachsender Kenntnis über die Morphologie der PPI wurde auch die Notwendigkeit der Adressierung von „hot spots“ über einen größeren Bereich der Helix immer deutlicher. Da dies mit den bis dato bekannten Grundkörpern nicht möglich war, entwickelten *Hamilton und Mitarbeiter* von der Universität Yale die ersten *i*, *i*+3/*i*+4 und *i*+7 α-Helixmimetika.[43, 44]

Die Wissenschaftler berichten in ihren Arbeiten ab 2001 von der Synthese und biologischen Aktivität von tris-*ortho*-substituierten Terphenylen (Abb. 6, B).[43] Durch Röntgenstrukturanalyse und *in-silico*-Vergleiche konnte eine gute Übereinstimmung des Grundkörpers mit dem Volumen und der Orientierung der Aminosäurereste der kanonischen α-Helix ermittelt werden.

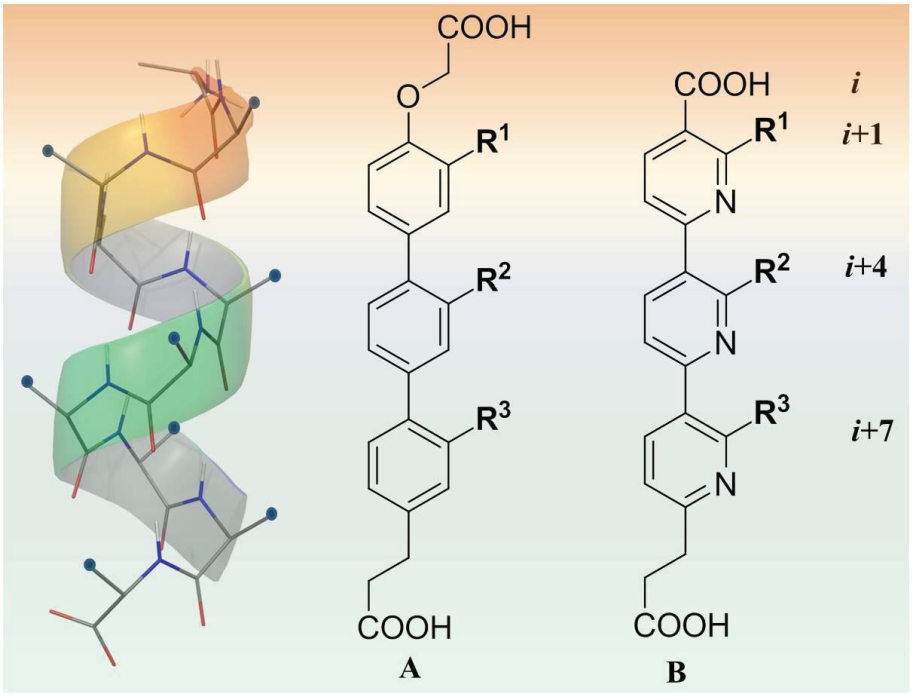


Abbildung 6: ***A)*** *Terphenyl- und* ***B)*** *Terpyridinyl-Grundkörper.*

Die ersten biologischen Untersuchungen konzentrierten sich auf die Wechselwirkung zwischen Calmodulin (CaM) und Phosphodiesterase (PDE). Den Forschern gelang es, mittels eines entsprechend dekorierten Terphenyls die interagierende α-Helix der „smooth muscle myosin light chain kinase“ (smMLCK) nachzuahmen und damit CaM zu binden. Als Folge nahm die Aktivierung der PDE durch CaM signifikant ab.

Weitere Anwendungen fanden die Terphenyle in der Modulation der Interaktion zwischen B-Zell-Lymphom-x_L (Bcl-x_L)/Bak PPI.[44] Die Substanzen agierten als Mimetika der Bak-Proteindomäne BH3 und konnten den BH3-Interaktionsbereich auf Bcl-x_L nachstellen. Dies ist von therapeutischem Interesse, da die Konzentration von Bcl-x_L in diversen Malignomen erhöht ist und somit die Apoptose der entarteten Zellen verhindert. Das proapoptotische Protein Bak wechselwirkt via die Interaktionsdömane BH3 mit Bcl-x_L und leitet dadurch die Apotose ein.[13]

Ein weiteres Target stellte die Modulation der Interaktion des Transkriptionsfaktors p53 mit HDM2 (human double minute oncogen 2) dar, bei dem die Konzentration von freiem p53 erhöht werden konnte.[45] Da die Konzentration von p53 in über der Hälfte aller entarteten Zellen unter dem Niveau gesunder Zellen liegt, kann dies als ein wichtiger Therapieansatz zur Bekämpfung maligner Entartungen betrachtet werden.[46]

Dank dieser positiven Ergebnisse stellt die Gruppe der Terphenyle die ersten funktionierenden Werkzeuge zur Adressierung von *i*, *i*+4 und *i*+7 PPI dar und war Startpunkt vieler Weiterentwicklungen.

Im Laufe der Optimierungszyklen hinsichtlich des Einsatzes als Therapeutikum beschäftigten sich weitere Arbeiten mit der Verbesserung der Wasserlöslichkeit und der Vereinfachung der Synthese. In der Folge wurde ein Ersatz der Phenylringe durch Heterocyclen erprobt. Als erste Vertreter dieser neuartigen Stoffklasse wurden die Terpyridine von *Davis et al.* beschrieben (Abb. 6, C).[47] Ihre errechnete Hydrophilie war im Vergleich zu den Terphenylen deutlich verbessert (cLogP 3,4 versus 7,3), jedoch wurde dieser Ansatz von den Forschern nicht weiter verfolgt.

Gleichzeitig entwickelten Forscher des Scripps Research Institute in San Diego um *Julius Rebek* mehrere heterozyklische Grundgerüste.[48-52] Den Forschern gelang es, auf Basis von Pyridazinen, Piperazinen und Oxazol-Pyrrol-Piperazinen verschiedene Typen von Inhibitoren zu entwickeln (Abb. 7, B). Eine Besonderheit stellt vor allem das amphiphile Design der Moleküle dar. Die Seite, welche den „hot spots“ zugewandt liegt, wurde hydrophob gestaltet, ihr Gegenstück, die sogenannte „wet edge“, welche zur Lösung weist, dagegen hydrophil.[48, 52] Damit berücksichtigten die Forscher die Erkenntnis um die Amphiphilie von PPI. Die synthetisierten Mimetika waren sowohl in ihrer Löslichkeit verbessert als auch synthetisch leichter zugänglich als die Terphenyle. Leider erwiesen sich die getesteten Pyridazine am System des Bcl- x_L/Bak Heterodimers als weniger potent als das vergleichbare Trephenylanalogon.[48]

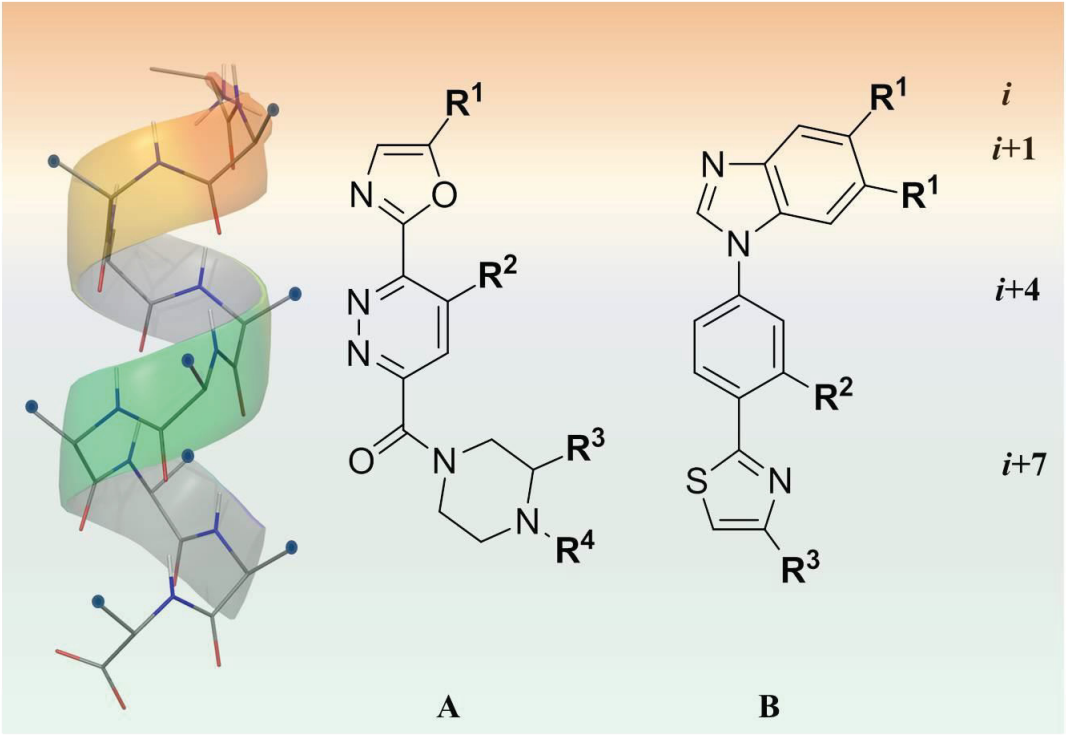


Abbildung 7: A) *Pyridazin- und* ***B)*** *5-6-5 Imidazol-Phenyl-Thiazol-Grundkörper.*

Hamiltons eigene Bemühungen im Bereich der heterozyklischen α-Helixmimetika resultierten in der Entwicklung und biologischen Testung von 5-6-5 Imidazol-Phenyl-Thiazolen (Abb. 7, C).[53, 54] Bei diesem Optimierungszyklus sollte der Austausch der endständigen hydrophoben aromatischen Ringe der Tephenyle gegen hydrophilere Heterozyklen wie Imidazole oder Benzimidazole geprüft werden. Röntgenstrukturanalyse und computergestützte Auswertung ergaben eine gute Adressierung der *i*, *i*+4 und *i*+7 Positionen der kanonischen α-Helix. Als Maß dieser Überlagerung konnte ein „root-mean-square-deviation"-Wert (RMSD-Wert) von 1,014 Å ermittelt werden.[53] Der RMSD-Wert ist ein Maß für die Übereinstimmung verschiedener Strukturen oder Geometrien.[d] Der berechnete Oktanol-Wasser-Koeffizient (cLogP) eines allmethylsubstituierten Vertreters war im Vergleich zum entsprechend dekorierten Terphenyl deutlich verbessert (2,3 versus 7,3). Die biologische Evaluation wurde an der Unterbrechung der Guanin-Nucleotid-Triphosphatase (GTPase) Cdc42/„guanine nucleotide exchange factor" Dbs PPI durchgeführt.[53] Ein entsprechend dekorierter Inhibitor konnte die Aktivierung von Cdc42 durch Dbs via PPI inhibieren. Cdc42 ist eine GTPase, welche die Re-

[d] Basierend auf den berichteten RMSD-Werten für die Überlagerung von α-Helixmimetikagrundgerüste und der idealisierten L-Alanin-α-Helix sind Werte im Bereich von 0,5 - 1,5 Å akzeptabel.

sistenz von Tumorzellen erhöht und auch im Krankheitsgeschehen von Diabetes und Herz-Kreislauf-Erkrankungen eine Rolle spielt.[55, 56]

Neben der Überlegung, die Wasserlöslichkeit des Terphenylgrundkörpers durch die Einführung von Heteroaromaten zu steigern, wurde auch an der Entwicklung des Grundgerüstes mit stark ausgebildeten intramolekularen Wasserstoffbrücken geforscht. Wiederum waren es *Hamilton und Mitarbeiter*, die Terephtalamide als Grundgerüst entwickelten (Abb. 8).[57] Somit wurde auch hier die Grundidee der 5-6-5 Imidazol-phenyl-thiazole, die Substitution der endständigen hydrophoben Aromaten, angewandt, indem die Phenylringe durch Carboxamide ausgetauscht wurden, welche Wasserstoffbrücken vom Amidstickstoffproton zum Alkoxysauerstoffatom ausbilden können. Dies führt sowohl zu einer planaren, starren Konfiguration als auch zu einer erhöhten Wasserlöslichkeit. Auch hier ergab die computergestützte Auswertung eine gute Adressierung der *i*, *i*+4 und *i*+7 Positionen der kanonischen α-Helix (RMSD-Wert: 1,03 Å, vgl. S. 11, Fußnote). Die Verbesserung der Löslichkeit wurde mit 4,4 versus 7,3 berechnet (cLogP allmethylsubstituiertes Terephtalamid versus allmethylsubstituiertes Terphenyl), wobei die Inhibition der Interaktion der Bcl-x_L/Bak PPI jedoch hinter der des entsprechenden Terphenyls zurückblieb.

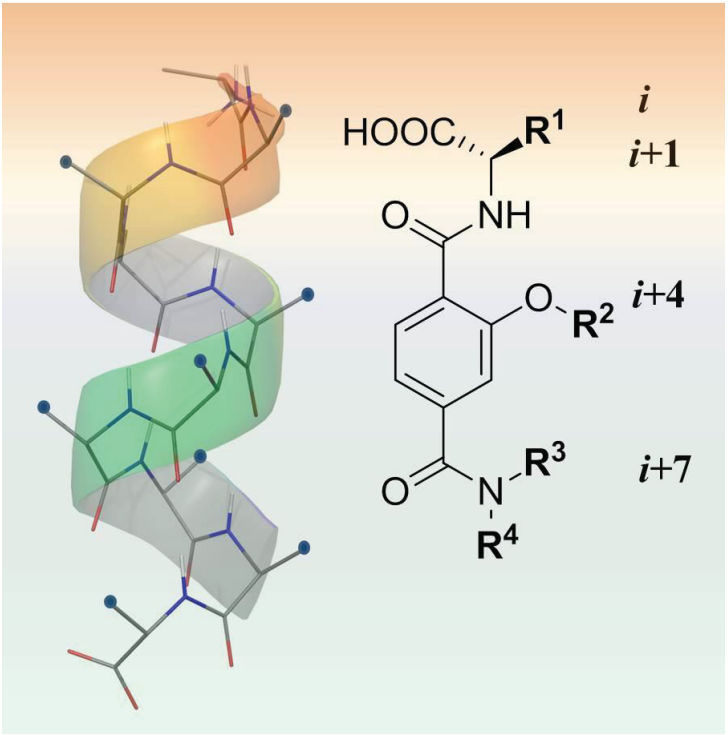


Abbildung 8: *Kanonische α-Helix (links) und Terephtal-Grundkörper (rechts).*

Die Suche nach einfacheren Synthesewegen zur Darstellung längerer Proteomimetika führte zur Entwicklung der Oligobenzamiden (Abb. 9, B).[58-60] Kristallstrukturanalyse und *in-silico* Methoden ergaben eine gute räumliche Übereinstimmung mit den *i*, *i*+4 und *i*+7 Resten einer kanonischen α-Helix (RMSD-Wert: 0,94 Å, vgl. S. 11, Fußnote).[59] Auch hier konnte eine Konformationsrigidisierung durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Carboxamidstickstoff und den Alkoxysauerstoff beobachtet werden. Die Substanzen wurden hinsichtlich ihrer biologischen Aktivität auf die Störung der Interaktion von p53/HDM2 getestet und inhibierten diese. *Ahn und Mitarbeiter* berichteten kürzlich von der erfolgreichen, festphasengestützten Parallelsynthese von Trisbenzamiden.[61]

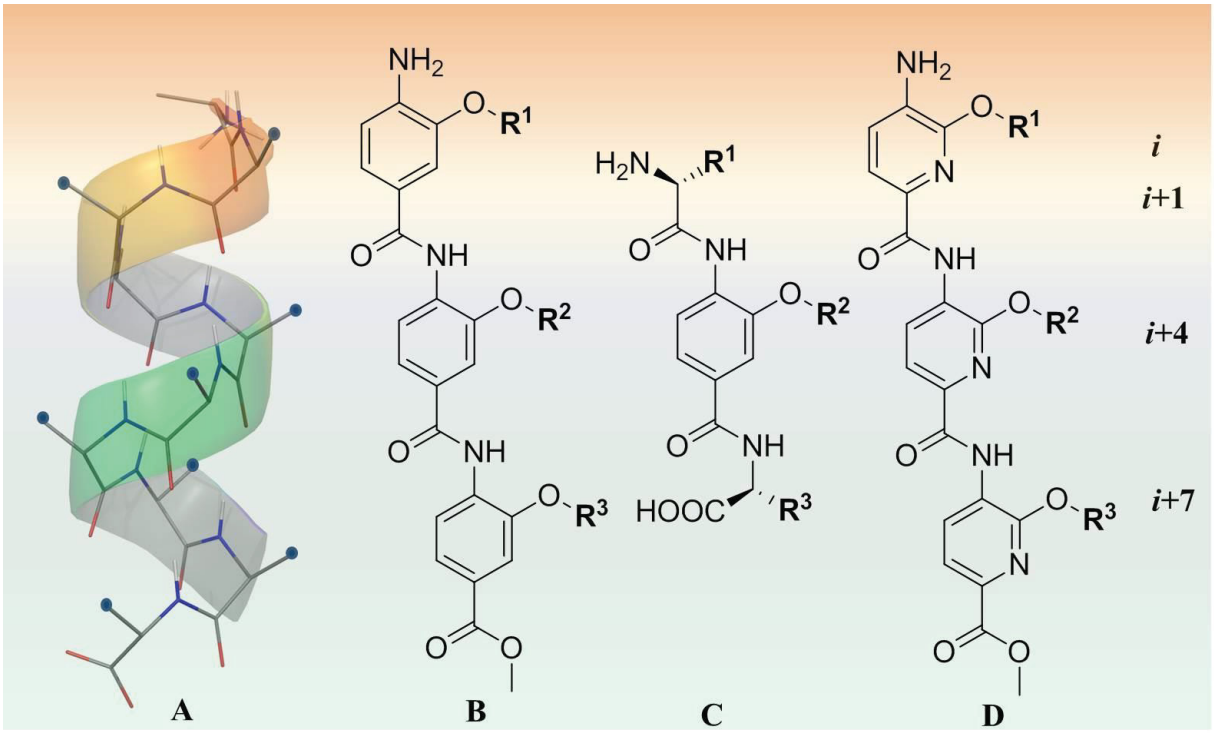


Abbildung 9: A) *Trisbenzamid-,* ***B)*** *Bogers Benzamid- und* ***C)*** *Trispyridinamid-Grundkörper.*

Besondere Beachtung verdient die Arbeit von *Boger und Mitarbeitern*, die ausgehend von *Hamiltons* Trisbenzamidgrundgerüst via Parallelsynthese eine Bibliothek mit 8000 Proteomimetika entwickelten. Ziel war die Entwicklung eines potenten p53/MDM2 Inhibitors. Durch eine gezielte Änderung der Struktur konnten so die Oligobenzamide hin zu L-Aminosäure-Benzamid-Konjugaten mit einer um den Faktor zehn gesteigerten Aktivität verbessert werden (Abb. 9, C).[62]

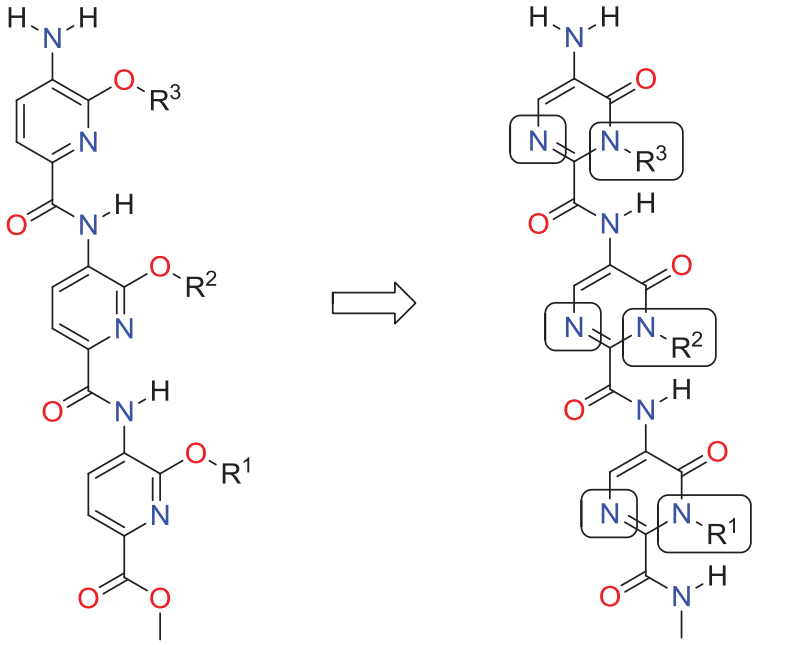
Der Versuch, die natürlichen Winkel und die Größe der nativen α-Helices noch exakter nachzuahmen, führte zur Entwicklung von Proteomimetika mit komplexeren Wasserstoffbrückensystemen. Wiederum waren es *Hamilton et al.*, welche diesen Ansatz in der Entwicklung von Oligopyridinamiden berücksichtigten (Abb. 9, D).[63, 64] Die oben bereits beschriebenen Wasserstoffbrücken werden dabei um eine weitere Akzeptorstelle in Form des Pyridinstickstoffs ergänzt. Dies führt zu einer gebogenen Konformation, welche der nativen ähnelt (Abb. 2, B). Zur Untersuchung der biologischen Aktivität wurden Vertreter dieser Stoffklasse auf die Störung der Bcl-x_L/Bak PPI getestet und als potente Modulatoren der Interaktion charakterisiert.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass seit der bahnbrechenden Entdeckung der Terphenyle durch *Hamilton und Mitarbeiter* große Anstrengungen unternommen wurden, um die Schwachstellen dieser Mimetikagruppe, also die geringe Wasserlöslichkeit und den schlechten synthetischen Zugang, zu optimieren.

Wie berichtet, konnten zwar auf beiden Gebieten Fortschritte erzielt werden, jedoch mangelt es noch immer an Synthesekonzepten, die den Zugang zu Analoga mit Seitenketten von L-Tryptophan, L-Tyrosin und L-Arginin ermöglichen. Die Bedeutung von synthetisch komplexeren Surrogaten steigt mit der Erkenntnis über die Wichtigkeit dieser AS für die Stabilität und Funktion von therapeutisch interessanten Zielproteinen, wie beispielsweise HSP90 und AML/ETO. Dies zeigt, wie wichtig die Entwicklung weiterer hochdiverser α-Helixmimetika zum Studium des menschlichen Interaktoms und zur Adressierung pathophysiologisch relevanter Proteine ist.

2. ZIELSETZUNG

Ausgehend von den Arbeiten über Trispyridinamide **I** von *Hamilton und Mitarbeitern* sollten Trispyrimidonamide **II** als α-Helixmimetika zur Inhibition der Oligomerisierung der Zielproteine HSP90 und AML/ETO dargestellt werden (Abb. 10).[63] Da die bisher bekannten Verbindungen hauptsächlich aliphatische AS nachahmen und zudem eine schlechte Wasserlöslichkeit aufweisen, sollten im Rahmen dieser Arbeit durch gezielte Änderungen des Synthesekonzepts Derivate hergestellt werden, die sowohl über polare und funktionalisierte Seitenkettenanaloga als auch über verbesserte Arzneistoffeigenschaften, wie z. B. Wasserlöslichkeit, verfügen.



I (cLogP: 0,6) **II** (cLogP: -2,23)

Abbildung 10: *Optimierung des Trispyridin-Grundgerüst* ***I*** *mit Vergleich der cLogP-Werte.*

Durch formale Insertion eines zweiten Stickstoffatoms und dem Wechsel der Verknüpfungsstelle des Substituenten zum Lactamstickstoff sollte der Pyridinring in ein Pyrimidon umgewandelt und die für die Solvatisierung unvorteilhafte Aromatizität verhindern werden (Abb. 10).

Die resultierenden *N*-substituierten Trispyrimidonamide könnten durch die verstärkte Ausbildung von intramolekulare Wasserstoffbrücken und einer erhöhten polarisierbaren Oberfläche

in ihrer Wasserlöslichkeit verbessert sein. Diese Überlegung wird durch die zuvor berechneten LogP-Werte unterstützt (Abb. 10).

Um synthetisch schwieriger zugängliche funktionalisierte Aminosäureseitenketten, wie z. B. von L-Tyrosin, L-Tryptophan, L-Lysin, L-Glutamin- oder L-Asparaginsäure, nachzuahmen, sollte ein vielseitig nutzbares Syntheseprotokoll entwickelt werden. Dieses Konzept sollte den synthetischen Zugang zu α-Helixmimetika für ein breites Targetspektrum ermöglichen.

Die Konformation des Trispyrimidonamidgrundkörpers, die Orientierung der Seitenketten und die Frage, welche Positionen auf der α-Helix nachgeahmt werden können, sollte geklärt werden. Hierfür sollten in Zusammenarbeit mit verschiedenen Kooperationspartnern Kristallstrukturanalysen (Arbeitsgruppe *Prof. Dr. Walter Frank*), zweidimensionale NMR-Spektren (Lukas Spanier) und Molekulardynamik-Untersuchungen (Arbeitsgruppe *Prof. Dr. Holger Gohlke*) ausgewertet werden.

Ausgewählte Testverbindungen sollten von kooperierenden Arbeitsgruppen auf ihre Zytotoxizität und die Inhibition der Proteinaktivität geprüft werden.

3. RETROSYNTHETISCHE ANALYSE

Für die erfolgreiche Synthese des Trispyrimidonamidgrundgerüsts **5** war es notwendig, dieses zuerst retrosynthetisch zu analysieren.

Folgt man der retrosynthetischen Auswertung, so könnten sich die trimeren Verbindungen **5** durch Acylierung der dimeren 5-Aminopyrimidonamide **4** mit Pyrimidon-2-carbonsäuren **III** darstellen lassen. Die Aminoderivate **4** sollten aus den geschützten Vorstufen **3** zu gewinnen sein. Diese Synthone könnten das Produkt der Acylierung von 5-Amino-*N*-methyl-pyrimidon-2-carboxamiden **2** mit Pyrimidon-2-carbonsäuren **III,** welche eine geschützte Aminogruppe oder eine Nitrogruppe an Position 5 tragen, sein. Die gemeinsame Vorstufe der Aminoverbindungen **2** und der Carbonsäuren **III** könnten die Monomere vom Typ **1** bilden. (Abb. 11).

Diese Analyse zeigt, dass die Darstellung der *N*-substituierten Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate **1** mit geschützter Aminogruppe oder einer entsprechenden Vorstufe in 5-Position die Basis der Synthesesequenz darstellt. Neben der Frage nach dem synthetischen Zugang zu diesen Derivaten ist die Synthese der Derivate **2** und **III** aus dem Monomer **1** von Interesse.

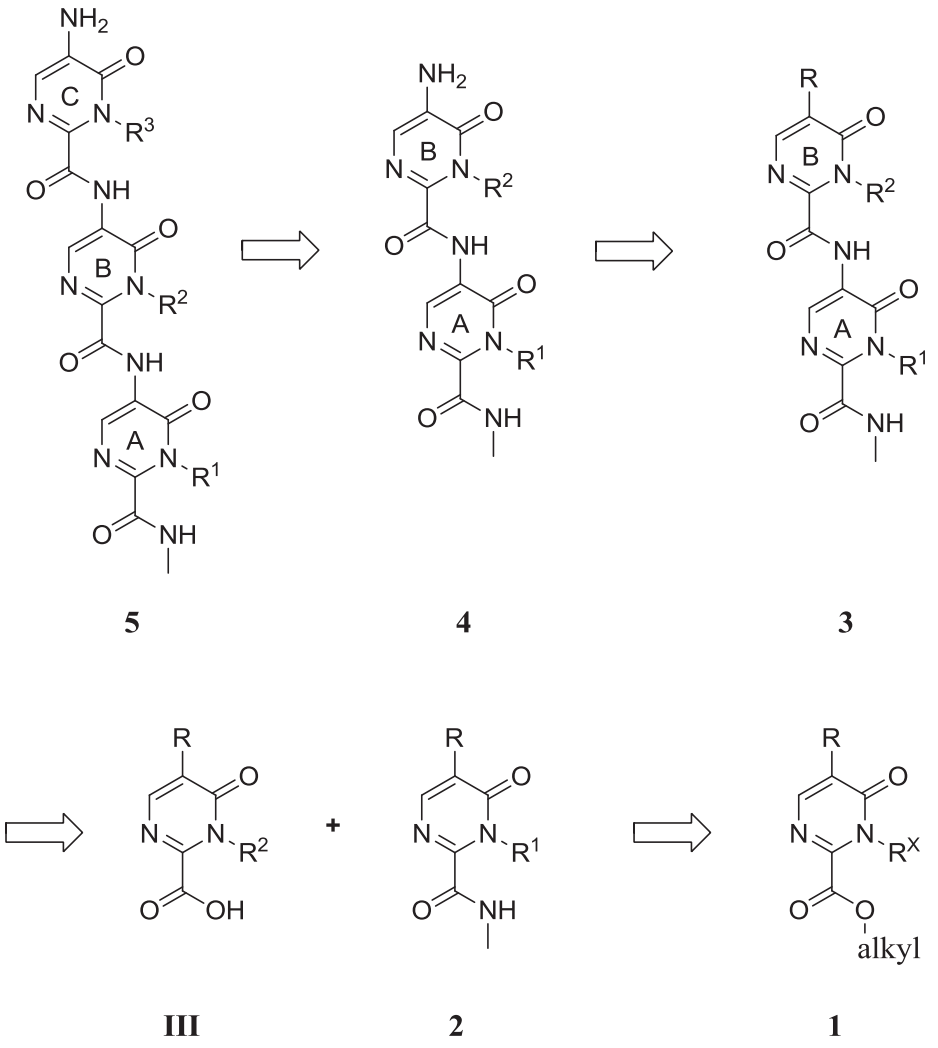


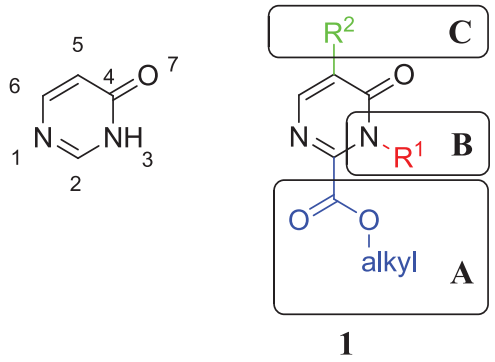
Abbildung 11: *Retrosynthetische Analyse der Trispyrimidonamide* ***5*** *(R = Aminoschutzgruppe oder -vorstufe: Nitro, Carbamat, Amid, etc.).*

4. LITERATURÜBERSICHT

Es folgt eine Literaturübersicht zur Synthese von *N*-substituierten Alkyl 5-Amino-pyrimidon-2-carboxylaten vom Typ **1**, 5-Amino-*N*-methyl-pyrimidon-2-carboxamiden **2** und Pyrimidon-2-carbonsäuren **III**.

4.1 METHODEN ZUR DARSTELLUNG VON PYRIMIDONEN VOM TYP 1

N-substituierte Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate **1** mit geschützter Amino- oder Nitrogruppe in 5-Position wurden in der Literatur bisher nicht beschrieben. Es finden sich jedoch Berichte über strukturverwandte Pyrimidone, die nachfolgend wiedergegeben werden. Zur Vereinfachung lässt sich das Monomer **1** in drei Molekülregionen einteilen: die Esterfunktion in Position 2 (A), den Substituenten am Lactamstickstoff (B) und die geschützte Aminogruppe in Ringposition 5 (C) (Abb. 12).



1

Abbildung 12: *Positionen und Einteilung des Pyrimidonrings (R^1 = Aminosäureseitenkettensurrogat, R^2 = Nitro, Carbamat, Amid, etc.).*

4.2 METHODEN ZUR DARSTELLUNG VON PYRIMIDONEN MIT ESTERFUNKTION UND DEREN HYDROLYSE (MOLEKÜLREGION A)

In der Literatur finden sich mehrere Berichte über die Darstellung von Alkyl Pyrimidon-2-carboxylaten. So berichten *Hagmann et al.* in ihrer 1981 veröffentlichten Arbeit zum Zytostatikum Bleomycin von der Umsetzung eines tribrommethylsubstituierten Pyrimidons **IV** zum korrespondierenden Methylester **V** mittels Reaktion mit Silbernitrat und Methanol (Abb. 13, A).[65] Einen anderen Ansatz beschreiben *Riva et al.* in ihrer Arbeit mit der Umsetzung von Ethyl Oxazinon-2-carboxylaten **VI** mit primären Aminen, welcher direkt zu *N*-substituierten Ethyl Pyrimidon-2-carboxylaten **VII** führt (Abb. 13, B).[66]

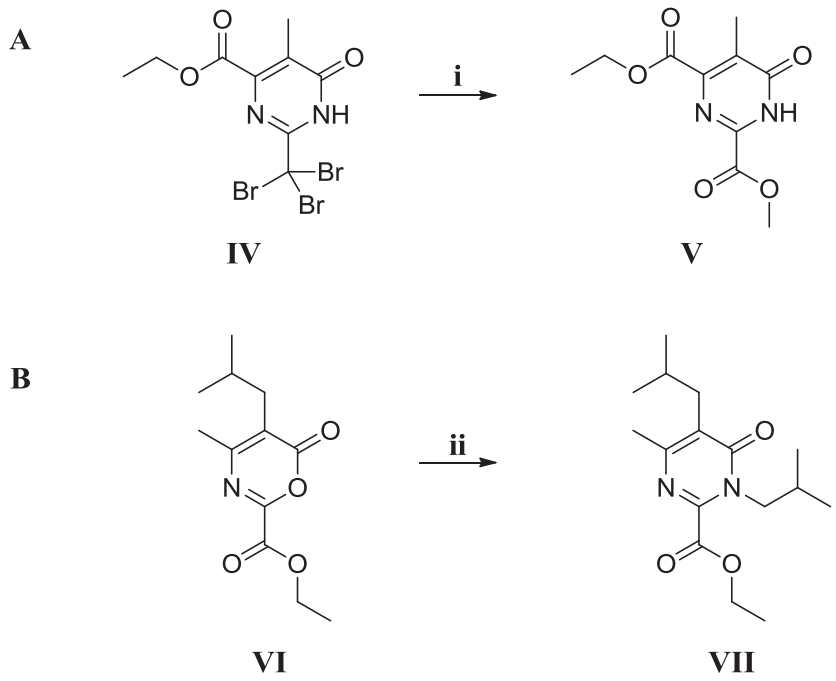


Abbildung 13: *Darstellung der Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate* ***V, VII A)*** *nach Hagmann; i)* $AgNO_3$, H_2O, *MeOH und* ***B)*** *nach Riva; ii) Isobutylamin, THF.*

Interessanterweise existieren nur wenige Berichte über die erfolgreiche Hydrolyse von Alkyl Pyrimidon-2- carboxylaten. Als Grund für den erschwerten Zugang zu dieser Stoffklasse wird von mehreren Wissenschaftlern eine starke Decarboxylierungsneigung angegeben. So konnten *Hagmann et al.* durch Einsatz von Trimethylsilyliodid ein Methyl Pyrimidon-2-carboxylat **VIII** zwar zum korrespondierenden Silylester **IX** umestern, die anschließende Hydrolyse durch wässrige Aufarbeitung lieferte jedoch nur decarboxyliertes Produkt **X** (Abb. 14, A). Der Einsatz von Lithiummetyhlmercaptid resultierte in der unvollständigen Umsetzung zum Lithiumcarboxylat **XII** bei gleichzeitiger Bildung des Methylthioesters **XI** (Abb. 14, B).[65]

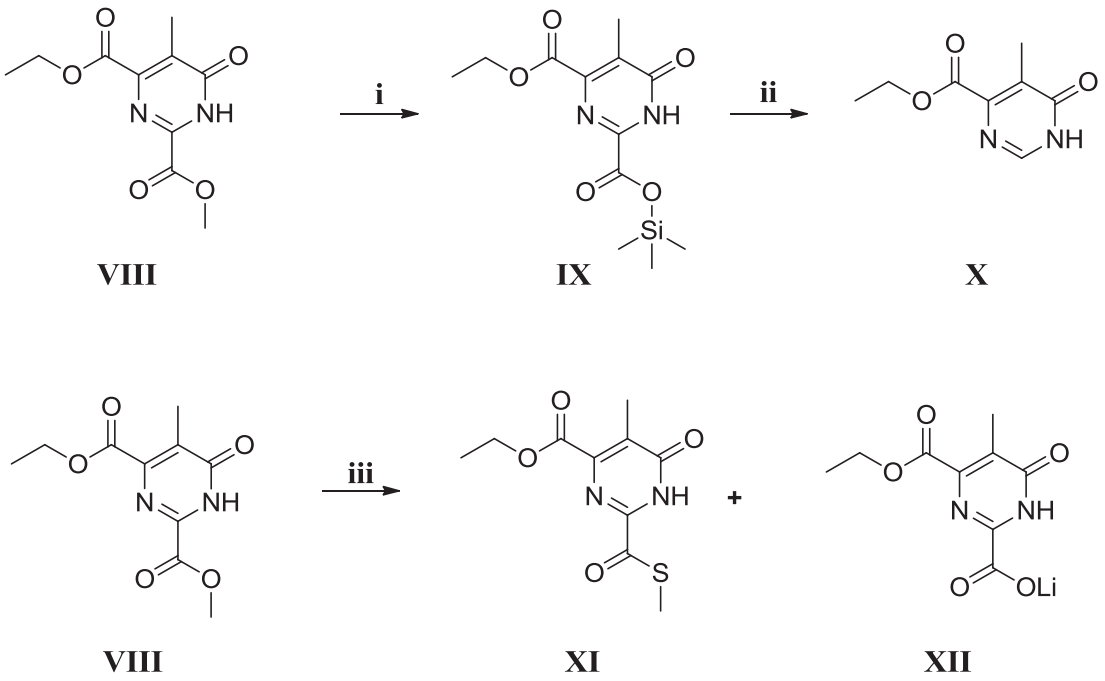


Abbildung 14: *Hydrolyse der Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate nach Hagmann et al. i) TMSI, $CHCl_3$; ii) H_2O; iii) LiSMe, DMF.*

Erwähnung verdient auch die ausführliche Studie von *Riva et al.*, welche die selektive Decarboxylierung der Verbindung **XIII** unter basischen Bedingungen beinhaltet.[e]

Die Autoren stellen die Hypothese auf, dass es durch Deprotonierung der Modellverbindung zur Bildung eines resonanzstabilisierten Anions **XIV** kommt. Durch Austritt des Ethanolats nach E_{1cb}-Mechanismus bildet sich ein stabilisiertes Keten **XV**, welches stark elektrophilen Charakter aufweist und durch Addition von Wasser zur korrespondierenden Carbonsäure **XVI** reagiert. Diese unterliegt im Anschluss einer schnellen Umwandlung zum decarboxylierten Produkt **XVII** (Abb. 15).

Während der Reaktion beobachten die Wissenschaftler einen Farbwechsel von gelb zu tiefrot, der für einige Minuten anhält. Für dieses Phänomen könnte das resonanzstabilisierte Anion **XIV** verantwortlich sein. Nach der Deprotonierung verändert sich das π-Elektronensystem des Moleküls und lässt dieses in der Folge farblich intensiver erscheinen. Nach der Abspaltung des Ethanolats bildet sich der Chromophor zurück und erscheint in der Folge wieder in der ursprünglichen Farbe.

[e] Es wurden sowohl Kalium *tert*-Butoxid als auch Natriumhydrid als Basen verwendet.

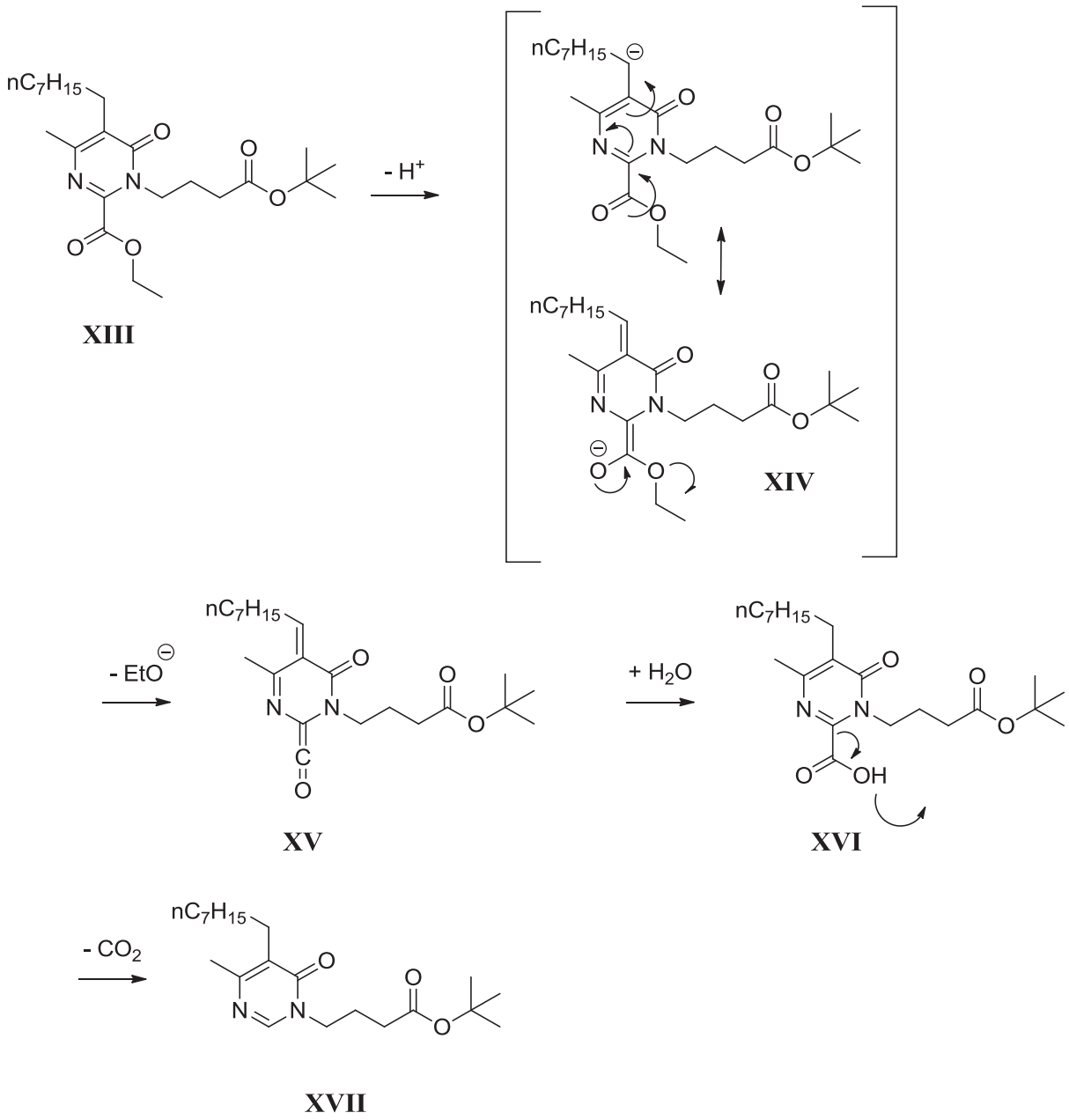
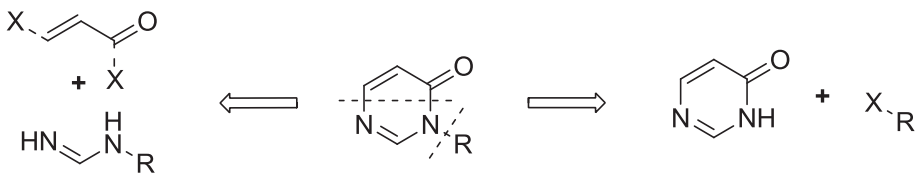


Abbildung 15: *Decarboxylierung eines N-substituierten Alkyl Pyrimidon-2-carboxylat* ***XIII*** *unter basischen Bedingungen nach Riva et al.*

4.3 METHODEN ZUR DARSTELLUNG VON PYRIMIDONEN MIT SUBSTITUENTEN AM LACTAMSTICKSTOFF (MOLEKÜLREGION B)

Die Darstellung von Pyrimidonen mit Substituenten am Lactamstickstoff ist in der Literatur wiederholt beschrieben worden. Ihre Synthese ist auf verschiedene Weisen möglich. So werden die Substituenten, neben der oben beschriebenen Methode von *Riva et al.* (vgl. Abb. 13, B), in der Regel durch die Alkylierung des unsubstituierten Lactamstickstoffs oder durch Einsatz eines substituierten Amidins beim *de novo*-Ringaufbau eingeführt (Abb. 16).



***de-novo* Ringaufbau** **Alkylierung**

Abbildung 16: *Retrosynthetische Analyse der N-Alkylpyrimidone.*

Die letztgenannte Option ist oftmals die eleganteste, da hier das Problem stellungsisomerer Produktgemische aus *N*-substituierten Pyrimidon **XIX** und *O*-substituierten Pyrimidin **XX** ausgeschlossen ist. Diese Nebenreaktion wurde für die Alkylierung der Lactamstruktur des Pyrimidonrings häufig beschrieben.

Da das Pyrimidon für die Alkylierung in sein nukleophiles Anion **XVIII** überführt wird, kann die negative Ladung sowohl am Lactamstickstoff als auch am Pyrimidinolsauerstoff lokalisiert sein (Abb. 17, A und B). Beide Strukturen sind durch Resonanzstabilisierung gleich wahrscheinlich und führen somit zu den beschriebenen Produktgemischen (Abb. 17, B). Jedoch nehmen sowohl das Gegenkation, das Lösungsmittel, das verwendete Alkylanz und die weitere Substitution des Heterozyklus Einfluss auf die Regioselektivität der Alkylierung.[67, 68]

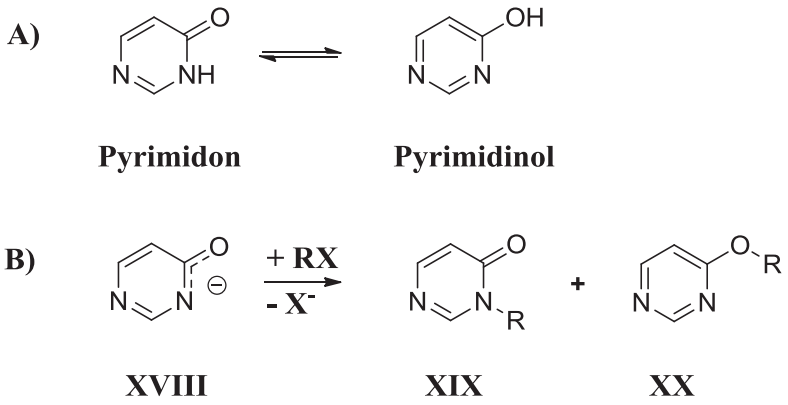


Abbildung 17: ***A)*** *Pyrimidon-Pyrimidinol-Tautomerie und* ***B)*** *stellungsisomere Produkte* ***XIX*** *und* ***XX*** *bei der Alkylierung von resonanzstabilisierten Anionen.*

Die Regioselektivität der Alkylierung von ambidenten Nukleophilen kann gut mit dem HSAB-Konzept vorhergesagt werden.[f] Danach alkylieren harte Elektrophile, wie Alkyltriflate, Alkylsulfate und Trialkyloxoniumsalze, ambidente Nukleophile am härtesten Zentrum. Für 2-Pyridone und 4-Pyrimidone stellt dieses aufgrund der erhöhten Ladungsdichte die 2- bzw. 4-Carbonylgruppe dar. Darüber hinaus wird nach dem HSAB-Konzept verständlich, dass die Edukte aufgrund ihres thermodynamisch bevorzugten aromatischen Charakters leichter als die entsprechenden Amide oder Lactame *O*-alkyliert werden.

Die resultierende Erkenntnis, dass durch den Einsatz von weichen Elektrophilen, wie Alkylbromiden und -iodiden sowie elektronenarmen Alkenen, eine selektive *N*-Alkylierung erreicht werden kann, konnte mehrfach experimentell bestätigt werden.[g, h]

---

[f] HSAB = Hard and Soft Acids and Bases

[g] Einen guten Überblick über die Alkylierung von ambidenten Nukleophilen findet man in „Side Reactions in Organic Synthesis: A Guide to Successful Synthesis Design“, Florencio Zaragoza Dörwald, 2004, John Wiley & Sons, ISBN: 978-3-527-31021-0.

[h] Es sind zur Alkylierung von Pyrimidin-4(3*H*)-onen keine ausführlichen experimentellen Studien bekannt, deshalb werden in der Folge Studienergebnisse zu den vergleichbaren Pyridin-2(1*H*)-onen zusammengefasst.
Hopkins et al. berichten in ihrer Untersuchung zur Alkylierung von Pyridonen vom Einfluss des Gegenkations des heterozyklischen Anions. So fanden die Forscher heraus, dass das Silbersalz von Pyridin-2(1*H*)-on in unpolaren Lösungsmitteln (Benzen, Hexan, Pentan) fast ausschließlich am Sauerstoff alkyliert wurde (Alkylanzien: Methyliodid, Ethyliodid, Benzylbromid, 2-Propyliodid). Dieses Resultat erklärten sich die Wissenschaftler mit der Eigenschaft des Silberkations, die elektronegativere Hydroxylat-Form des Anions zu bevorzugen. Des Weiteren beobachteten die Autoren, dass die *O*-Alkylierung in selben Maß abnahm, in der das Silbersalz während der Reaktion im Lösungsmittel gelöst war. Ein Einfluss der Ionensolvatisierung wurde als Grund für dieses Phänomen postuliert. Im Gegensatz dazu konnte eine Selektivität zu Gunsten der *N*-Alkylierung bei Einsatz der harten Gegenkationen Natrium und Kalium und die Verwendung von polar-protischen Lösungsmitteln (DMF) beobachtet werden. Diese Beobachtungen konnten in einer Studie für sterisch wenig anspruchsvolle Alkylanzien bestätigt werden. Einzig bei der Verwendung von 2-Propyliodid störten die sterischen Effekte die Selektivität der *N*-Alkylierung und es trat die *O*-Alkylierung in den Vordergrund.
Über diese Beobachtungen hinaus konnten *Kislyi und Semenov* einen Einfluss des Substituenten an C6 der von ihnen untersuchten 3-Nitropyridonen detektieren. Im Fall von 3-Nitropyridin-2(1*H*)-on und 4,6-Dimethyl-3-nitropyridin-2(1*H*)-on konnte nur N-Alkylierungsprodukt isoliert werden (Natriummethoxid in Methanol, Methyliodid). Wurde jedoch ein sterisch anspruchsvolleres Edukt, 3-Nitro-6-phenylpyridin-2(1*H*)-on eingesetzt, wurde eine verstärkte Bildung des *O*-Alkylproduktes beobachtet.

4.4 METHODEN ZUR DARSTELLUNG VON 5-AMINOPYRIMIDONEN UND DEREN GESCHÜTZTEN VORSTUFEN (MOLEKÜLREGION C)

Aminogruppen werden in mehrstufigen Synthesesequenzen häufig geschützt eingesetzt, um unerwünschte Nebenreaktionen zu vermeiden. Aufgrund ihrer Basizität und Nukleophilie können sie die Selektivität von chemischen Modifikationen stören. Deshalb ist die Verwendung von Schutzgruppen für Reaktionen, in denen die Aminofunktion nicht involviert sein soll, sinnvoll. Ideale Aminschutzgruppen besitzen die Eigenschaft, die geplanten Reaktionen unverändert zu durchlaufen und anschließend selektiv und vollständig entfernbar zu sein. Diese Attribute findet man bei Carbamatschutzgruppen (Benzyloxycarbonyl (Z) **XXI**, *tert*-Butyloxycarbonyl (BOC) **XXII** und Fluoren-9-ylmethyloxycarbonyl (FMOC) **XXIII**), Nitroverbindungen **XXIV,** Phthalimiden **XXV**, Sulfonamiden **XXVI**, Triphenylmethylaminen **XXVII** und Benzamiden **XXVIII** (Abb. 18) .[i]

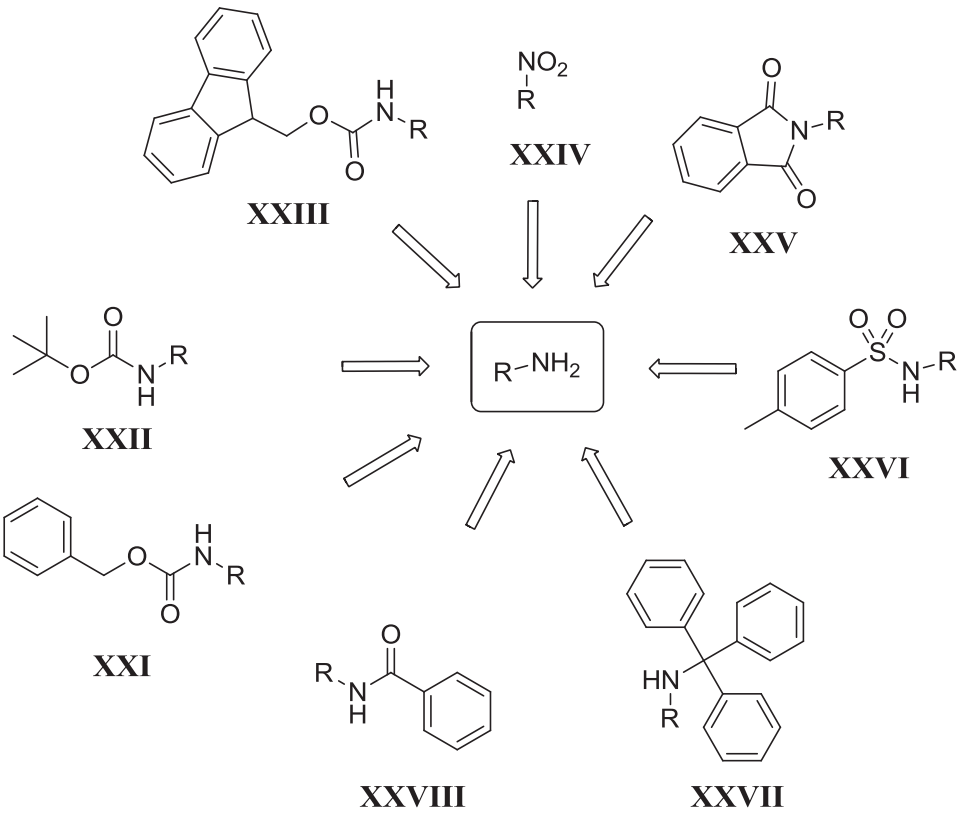
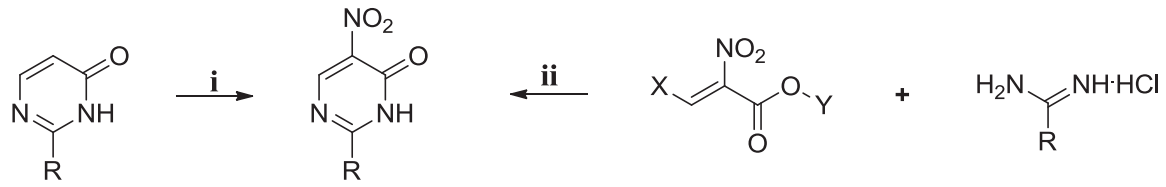


Abbildung 18: *Schutzgruppen und Vorstufen von Aminogruppen in der organischen Synthese.*

[i] Einen guten Einblick in die Schutzgruppenchemie der Amine bietet „Greene's Protecting Groups In Organic Synthesis", P.G.M. Wuts, T.W. Greene, 4. Auflage, 2007, John Wiley & Sons, ISBN: 0471697540.

Die häufigste vorkommende Enaminvorstufe in 5-Position des Pyrimidonrings ist die Nitrogruppe **XXIV**. Diese kann durch elektrophile Substitution an den Pyrimidonring **XXIX** angefügt werden oder direkt bei der *de novo*-Synthese durch Einsatz eines Nitroacrylsäurederivates **XXXI**/**MENA** eingeführt werden. So berichten mehrere Forschergruppen von der Nitrierung von Pyrimidonen an dieser Position mittels eines Gemischs aus konzentrierter Schwefelsäure und konzentrierter Salpetersäure (Schema 1).[69-72] Die Nitrogruppe ließ sich im Anschluss durch katalytische Hydrierung in guten Ausbeuten zum Amin reduzieren.

Eine Möglichkeit der *de novo*-Synthese von 5-Nitropyrimidonen **XXX** berichten *de la Cuesta und Avendaño* in ihrer 1985 erschienenen Publikation.[73] Hierbei ermöglicht die Umsetzung von Methyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (**MENA**) mit verschiedenen 1,3-Dinukleophilen **XXXII** den direkten Zugang zu 5-Nitropyrimidonen **XXX**. Eine modifizierte Methode ausgehend von Amidinhydrochloriden **XXXII** und Ethyl 3-(Dimethylamino)-2-nitroacrylat **XXXI** wurde auch zur Synthese von 5-Nitropyrimidonen von Wissenschaftlern der Firmen Boehringer-Ingelheim, Merck Sharp and Dohme sowie Almirall genutzt.[74-76] Allerdings wurden auf beiden Wegen hauptsächlich 2-Alkyl-, 2-Aryl- und 2-Hetreoaryl-substituierte Pyrimidone dargestellt (Schema 1).[77] Die Synthese eines Derivats mit einer Estergruppe in Ringposition 2 wurde nicht beschrieben.



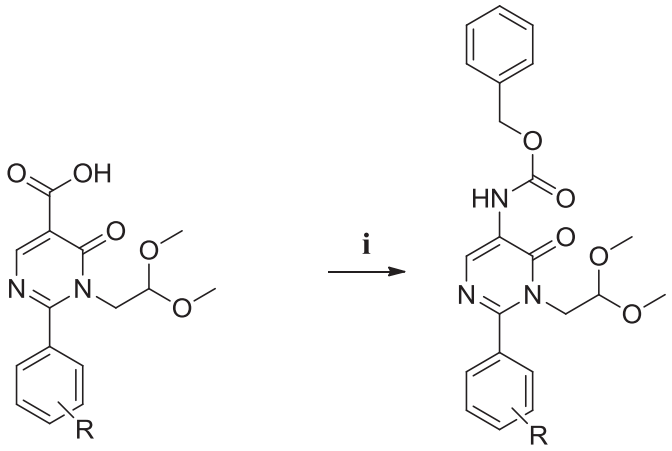
XXIX **XXX** **MENA:** X = OEt, Y = Me **XXXII**
XXXI: X = $N(Me)_2$, Y = Et

R = Phenyl, Cyclopropyl, Methyl, Ethyl, 3-Pyridazin, 3-Pyrazolo[1,5-*a*]pyrazin, 3-Pyrazol

Schema 1: *Darstellung von 5-Nitropyrimidone **XXX**; i) HNO_3, H_2SO_4; ii) Na, MeOH.*

Im Gegensatz zu der Nitrogruppe werden klassische Carbamatschutzgruppen wie die Benzyloxycarbonyl- (Z) **XXI** oder die *tert*-Butyloxycarbonylschutzgruppe (BOC) **XXII** in dieser Molekülregion selten beschrieben. Einzig *Veale und Mitarbeiter* berichteten im Rahmen ihrer Forschung an Elastase-Inhibitoren von einem Z-geschützten 5-Aminopyrimidon **XXXIV**.[78]

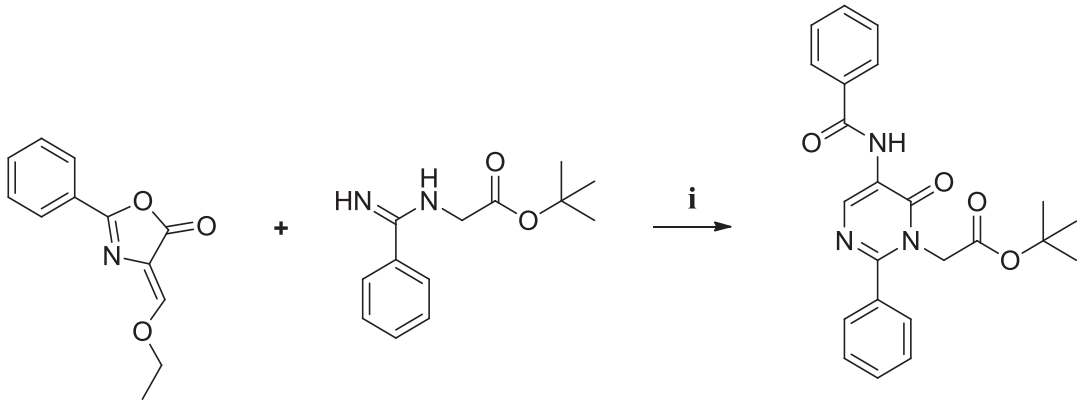
Die geschützten 5-Aminopyrimidone waren durch eine modifizierte Curtius-Umlagerung aus der korrespondierenden Carbonsäure **XXXIII**, Diphenylphosphorylazid und Benzylalkohol darstellbar (Schema 2). Folgearbeiten nutzten dieselbe Methode, um weitere Derivate darzustellen.[79, 80] Auch hier bezogen sich die Berichte nur auf Derivate ohne Esterfunktion in Ringposition 2. Die Entschützung des Amins gelang den Wissenschaftlern in guten Ausbeuten durch katalytische Hydrierung.



XXXIII **XXXIV**

Schema 2: *Synthese von 5-Benzyloxycarbamoylpyrimidonen; i) Benzylalkohol, Diphenylp-hosphorylazid, TEA, 1,4-Dioxan.*

Eine weitere erwähnenswerte Schutzgruppe für Aminogruppen stellt die Benzoylschutzgruppe dar. *Takahashi und Mitarbeiter* berichten von der Synthese von *N*-substituierten 5-Benzamidopyrimidonen **XXXVII** durch Umlagerung von 4-(Ethoxymethylen)-2-phenyloxazol-5(4*H*)-on **XXXV** mit *N*-substituierten Amidinbasen **XXXVI** (Schema 3).[81-83] Die Benzoylschutzgruppe war im Anschluss durch basische Hydrolyse gut entfernbar. Auch in diesen Berichten wurden nur von der Darstellung von Derivaten mit 2-Alkyl- und 2-Aryl-Substitutenten berichtet.



XXXV **XXXVI** **XXXVII**

Schema 3: *Synthese von 5-Benzamidopyrimidon **XXXVII**; i) ACN.*

Das Produkt der Reaktion kann als Ergebnis einer zweistufigen Umlagerungsreaktion verstanden werden. Im ersten Reaktionsschritt wird die Ethoxygruppe von **XXXV** durch das 1,3-Distickstoffnukleophil **XXXVIII** substituiert. Das entstandenen Oxazolonderivat **XXXIX** tautomerisiert in Form eines 5-Hydroxyoxazolderivats **XL.** Die eigentliche Umlagerung erfolgt im zweiten Reaktionsschritt, in welchem in Form einer konzertierten Reaktion der Pyrimidinringschluss unter Öffnung des Oxazolrings erfolgt. Das entstandene 4-Hydroxypyrimidin **XLI** kann als Tautomer des Produkts **XLII** verstanden werden. Die untenstehende Abbildung gibt einen allgemeinen, denkbaren Reaktionsmechanismus wieder (Abb. 19).[84]

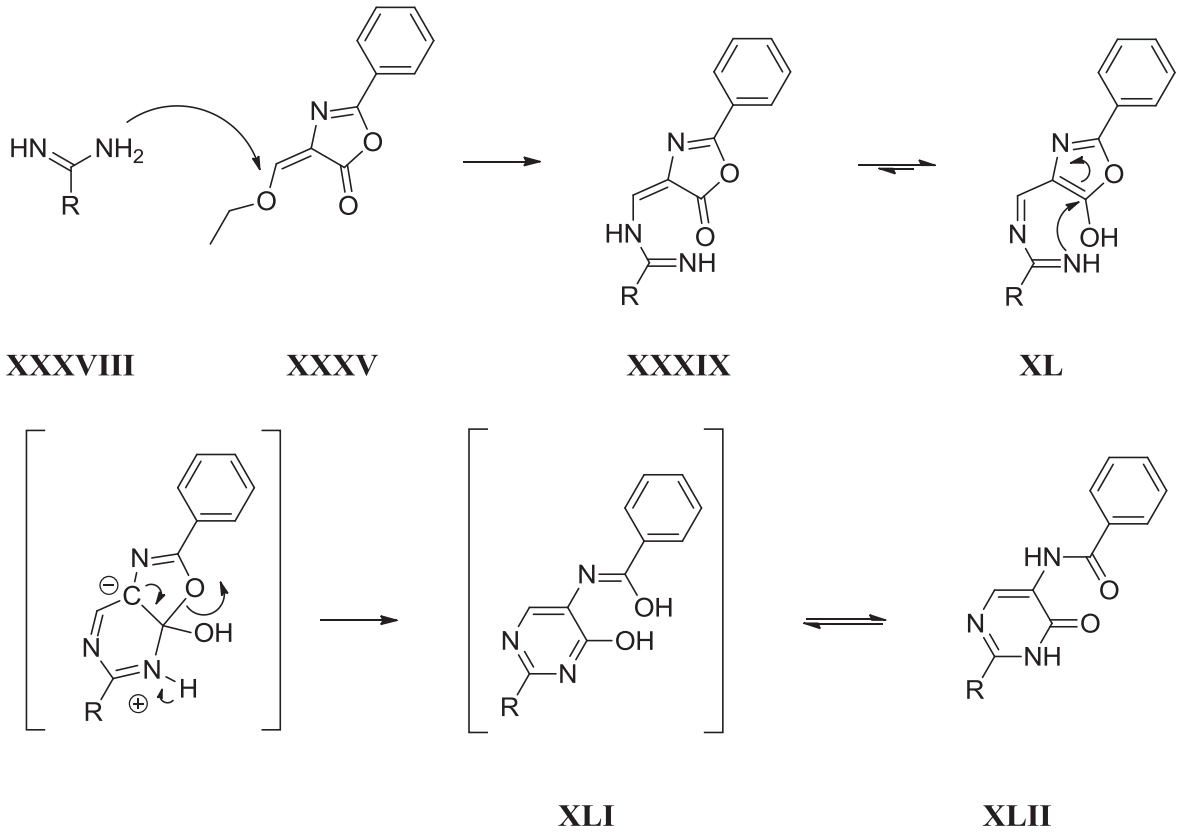


Abbildung 19: *Postulierter Mechanismus der Ringtransformationsreaktion nach Hansen.*

4.5 ZUSAMMENFASSUNG LITERATURRECHERCHE

Als Ergebnis der Literaturrecherche kann festgehalten werden, dass es sich bei den Monomeren **1** um einen unbekannten Strukturtyp handelt. Es konnten jedoch Berichte über die Synthese von strukturverwandten Pyrimidonen in der Literatur gefunden werden.

So berichten *Riva et al.* von der Synthese von *N*-substituierten Alkyl Pyrimidon-2-carboxylaten ohne Aminogruppe oder geschützter Vorstufe an Ringposition 5. *Takahashi et al.* beschreiben zwar die Synthese von *N*-substituierten 5-Benzamidopyrimidonen, jedoch ohne Hinweis auf den synthetischen Zugang zu einer Esterfunktionalität in Position 2. Somit ist festzuhalten, dass nach unserem besten Wissen kein Bericht über ein Pyrimidonderivat mit dem geforderten Substitutionsmuster der Verbindung **1** existiert.

Die Arbeiten von *de la Cuesta und Avendaño* sowie von *Takahashi et al.* eröffnen jedoch die Möglichkeit der Synthese von **1** durch den Einsatz entsprechend funktionalisierter Amidine. Das anschließende Entfernen der entsprechenden Schutzgruppe an C5 ermöglicht den Zugang zu den korrespondierenden 5-Aminopyrimidonen **2**. Um unerwünschte Reaktionen auszu-

schließen, muss jedoch an dieser Stelle ein orthogonales Schutzgruppenkonzept etabliert werden.

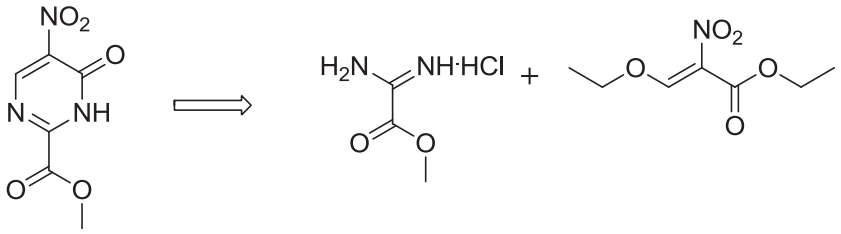
N-substituierte Pyrimidon-2-carbonsäuren **III** sind in der Literatur als schwer zugänglich und instabil beschrieben. Die Recherche zeigt, dass es sich im Fall der Ester um reaktive Verbindungen handelt, welche mit Nukleophilen rasch zu den entsprechenden Carbonsäureamiden und Hydroxamaten reagieren. Bei der Behandlung der Ester mit starken Basen oder der Umwandlung in die reaktiveren Thioester wurde von einer ausgeprägten Decarboxylierungsneigung der entstandenen Carbonsäuren und ihrer Derivate berichtet.

5. SYNTHESE DER TRISPYRIMIDONAMIDE

Im Anschluss an die Ergebnisse der Literaturrecherche werden im Folgenden die Experimente zur Synthese der Trispyrimidonamide **5** wiedergegeben (vgl. Abb. 11).

5.1 ORIENTIERENDE EXPERIMENTE ZUR MONOMERSYNTHESE

In orientierenden Experimenten wurde zunächst untersucht, ob die Methode von *de la Cuesta und Avendaño* einen Zugang zu der Verbindung vom Typ **1** bieten könnte (Abb. 20).[73]



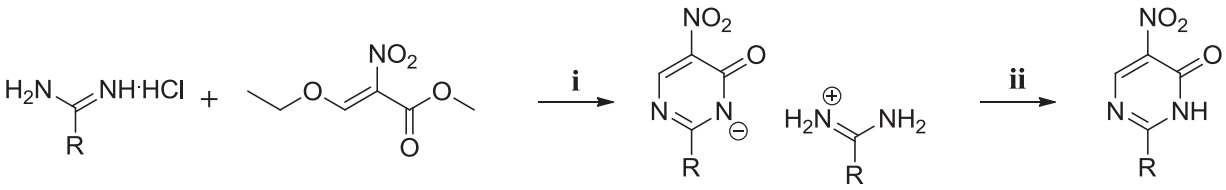
XLIII **XLIV** **EENA**

Abbildung 20: *Retrosynthetische Analyse des 5-Nitropyrimidon* ***XLIII****.*

Dieses Synthesekonzept erschien erfolgsversprechend, da die Darstellung der Derivate **XXXII** mit der in Molekülregion C geforderten Nitrogruppe durch die Wissenschaftler bereits ausführlich untersucht wurde und die benötigten Edukte **EENA** und **XLIV** nach Literaturvorschriften gut zugänglich waren.

Wie bereits beschrieben, sind die Verbindungen **XXX** ohne Esterfunktion in Position 2 durch die Umsetzung eines Amidin- oder Guanidinhydrochlorids **XXXII** mit **MENA** in Anwesenheit von Natriumethanolat zugänglich (vgl. Schema 1).[73] Die Verbindungen **XXX** fallen zuerst in Form ihrer Amidinatsalze **XXXVII** an und können durch Neutralisation mit Essigsäure gewonnen werden (Schema 4).[j]

[j] Die Wissenschaftler berichten nur von einer Neutralisation des Reaktionsansatzes ohne Angabe eines pH-Werts. Bei den nachfolgend dargestellten Experimenten wurde ein pH-Wert von 3 eingestellt.



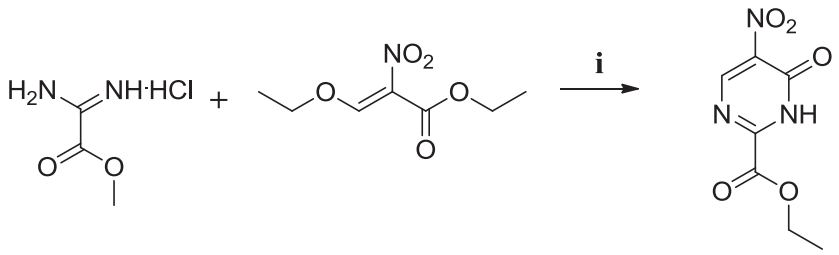
XXXII **MENA** **XXXVII** **XXX**

R = NH_2, Me, Ph

Schema 4: *Synthese der 5-Nitropyrimidone **XXXII** nach de la Cuesta und Avendaño; i) Na, EtOH, 0°C, 18h; ii) HAc.*

Aufgrund der leichteren Zugänglichkeit wurde Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (**EENA**) anstelle von **MENA** in den durchgeführten Experimenten verwendet. **EENA** ließ sich nach der Vorschrift von *Phillion et al.* durch Kondensation von Ethyl 2-Nitroacetat mit Orthoameisensäuretriethylester in Anwesenheit von Essigsäureanhydrid gewinnen.[85] Für die Synthese des Amidinsynthons **XLIV** wurde die Methode von *Martinu und Dailey* verwendet.[86]

Aus der anschließenden Reaktion von **XLIV** und **EENA** konnte trotz zahlreicher Modifikationen nur der Ethylester **6** in geringer Ausbeute als Produkt isoliert werden (Schema 5).



XLIV **EENA** **6** (7%)

Schema 5: *Synthese des 5-Nitropyrimidon **6**; i) a) Na, EtOH, 0°C, 18h, b) HCl.*

Die beobachtete Umesterung ist durch die Anwesenheit des nukleophilen Natriumethanolats gut erklärbar. Jedoch konnte zu diesem Zeitpunkt kein Hinweis für den Grund der schlechten Ausbeute gefunden werden.

Zum besseren Verständnis der Ringschlussreaktion wurde auch die Umsetzung von **XL** und Natrium 3-Ethoxy-3-oxoprop-1-en-1-olat X**LV** untersucht. Aus dem isolierten Produkt der Reaktion, dem Pyrimidin-4(3*H*)-on **L**, konnten erste Erkenntnisse zum Reaktionsverhalten

von **XLIV** gewonnen werden (Abb.21, A): das Produkt beweist, dass der *de novo*-Ringaufbau initial stattfindet sowie dass der Ester **XLVII** im stark basischen Milieu vermutlich hydrolysiert und die Säure **XLVIII** bei der sauren Aufarbeitung (pH 3) einer raschen Decarboxylierung unterliegt (Abb. 21, B).

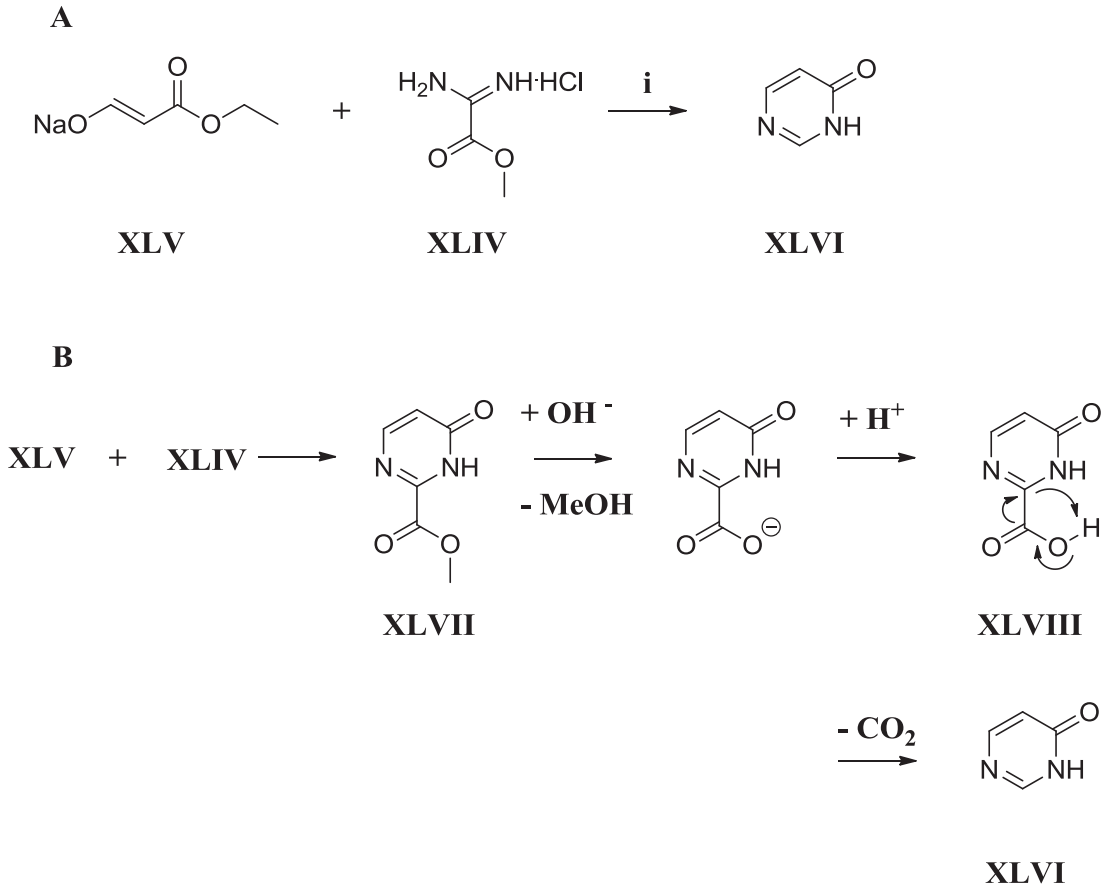
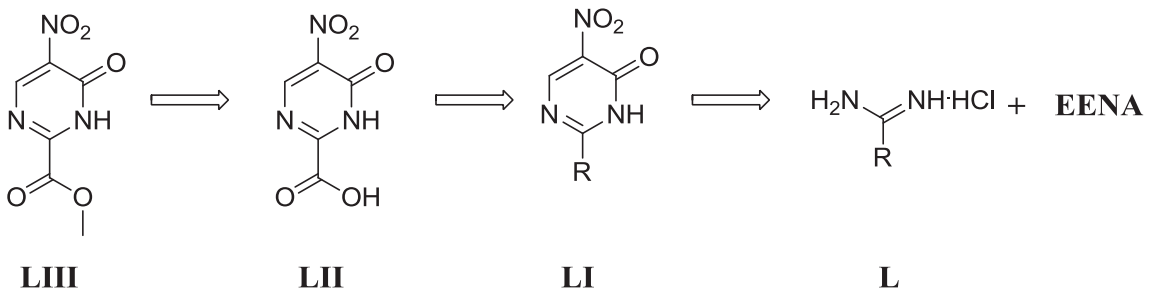


Abbildung 21: A) *Synthese von Pyrimidin-4(3H)-on* ***XLVI*** *und* ***B)*** *möglicher Mechanismus der Decarboxylierung; i) a) MeOH, NaOH, RT, 5h, b) HCl.*

Als Folge der gewonnenen Erkenntnisse wurde der Austausch des ungeeigneten Natriumethanolats durch starke organische Basen untersucht.[k] Jedoch zeigte schon die Reaktion zwischen Acetamidinhydrochlorid und **EENA**, dass sich unter den geänderten Bedingungen kein Produkt bildete. Leider blieb auch die Reaktion mit dem Amidinbaustein **XLIV** ohne Erfolg.

[k] In den Experimenten wurde 1,1,3,3-Tetramethylguanidin, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,4-Diazabicyclo [2.2.2]octan (DABCO), Diisopropylethylamin (DIPEA) und Pyridin eingesetzt.

Alternativ wurde die Synthesestrategie derart variiert, dass mittels der Methode von *de la Cuesta und Avendaño* aus entsprechenden Amidinsynthonen **L** 5-Nitropyrimidone mit Carbonsäure- oder Estervorstufen in der 2-Position **LI** dargestellt werden sollten. Diese könnten in einem Folgeschritt unter geeigneten Bedingungen in den Ester **LIII** oder die Carbonsäure **LII** überführt werden (Abb. 22).



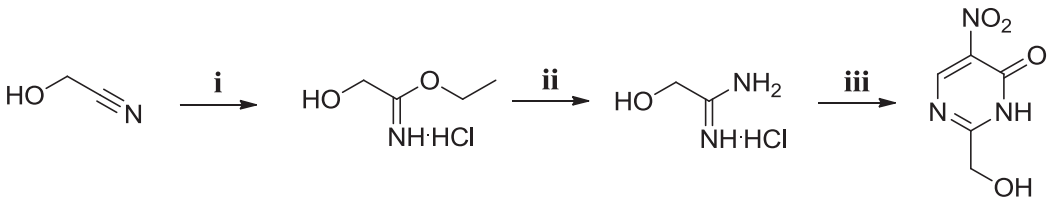
LIII **LII** **LI** **L**

R = CHO, CH_2OH, CH_3, CN, $CH(OR)_2$, $CH(O_2R)$

Abbildung 22: *Retrosynthese des 5-Nitropyrimidon **LIII**.*

In der Literatur sind einige Methoden zur schonenden Darstellung von Carbonsäuren beschrieben, unter ihnen die Oxidation primärer Alkohole sowie die Hydrolyse von Alkylacetalen oder 1,3-Dioxolanen mit anschließender Oxidation zur Carbonsäure. Beide Syntheserouten beinhalten als letzten Schritt die Veresterung der zuvor synthetisierten Carbonsäure **LII** (Abb. 22).

In orientierenden Versuchen wurde zuerst die Oxidation des primären Alkohols **7** untersucht. Dieser war durch eine dreistufige Synthese ausgehend von 2-Hydroxyacetonitril **LIV** zugänglich. Mittels Pinner-Reaktion unter Verwendung von absolutem Ethanol und Chlorwasserstoffgas konnte ausgehend von **LIV** nach der Methode von *Shigeru et al.* Ethyl 2-Hydroxyacetimidathydrochlorid **LV** synthetisiert werden.[87] Das Imidathydrochlorid **LV** wurde durch Behandlung mit Ammoniak und anschließender Fällung unter Verwendung von etherischer Hydrogenchloridlösung in das 2-Hydroxyacetimidamidhydrochlorid **LVI** überführt. Die Reaktion mit **EENA** lieferte anschließend in befriedigenden Ausbeuten den primären Alkohol **7** (Schema 6).



LIV **LV** **LVI** **7** (47%)

Schema 6: *Synthese des primären Alkohols 7; i) EtOH, HCl (g), 0°C, 48h; ii) a) NH_3, MeOH, 0°C, 1h, b) HCl; iii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h, b) HCl.*

Das 5-Nitropyrimidon **7** war über einen Zeitraum von drei Jahren bei 8°C lagerstabil. Auf die infrarotspektroskopischen Eigenschaften der 5-Nitropyrimidone wird zu einem späteren Zeitpunkt eingegangen.

Im Anschluss an die erfolgreiche Synthese wurde die Oxidation von **7** zum Aldehyd **LI** nach *Swern* und durch den Einsatz von Dess-Martin-Periodinan untersucht.[l] Die Oxidation des Alkohols **7** zur Carbonsäure **LII** wurde durch den Einsatz von klassischen Oxidationsmitteln wie Kaliumpermanganat, Wasserstoffperoxid, Selendioxid oder Chromtrioxid (Jones-Oxidation[m]) erprobt. Trotz des großen Aufwands konnte aus keinem Reaktionsansatz ein Produkt gewonnen werden.

Parallel zu diesen Experimenten wurden Versuche zur Oxidation des 2-Methylpyrimidonderivats **LVII** unternommen. Das Derivat war ausgehend von Acetamidinhydrochlorid und **EENA** gut darstellbar.[73]

In der Literatur findet man ausführliche Berichte über die Oxidation vergleichbarer methylgruppentragender Heteroaromaten zu den entsprechenden Aldehydderivaten durch die Behandlung mit Selendioxid.[n] Jedoch konnte aus keinem Experiment das gewünschte Produkt

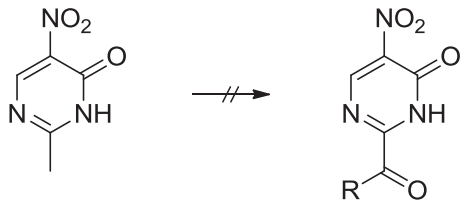
---

[l] Die Swern-Oxidation basiert auf einem Gemisch aus Dimethylsulfoxid und Oxalylchlorid, welches *in situ* ein Dimethylchlorsulfoniumion als reaktives Agens bildet.

[m] Als Jones-Oxidation wird die Oxidation von primären Alkoholen zu Carbonsäuren unter Einsatz von Chromtrioxid in Schwefelsäure bezeichnet. Hierbei bildet die *in situ* generierte Chromsäure mit dem korrespondierenden Alkohol einen Chromatester, welcher in Gegenwart von Wasser zum Aldehyd zerfällt. Die Reaktion stoppt nicht auf dieser Stufe, sondern kann in der Hydratform des Aldehyds erneut ablaufen. Endprodukt ist im Anschluss die Carbonsäure.

[n] Vgl. „Namen- und Schlagwortreaktionen in der Organischen Chemie; Selendioxid-Oxidation“, W. Uhl, A. Kyriatsoulis, Springer Verlag, **1984**, S. 233-234

gewonnen werden. Auch weitergehende Oxidationsexperimente unter Verwendung von Wasserstoffperoxid, Kaliumpermanganat und Chromtrioxid ermöglichten keinen Zugang zu den entsprechenden Derivaten (Abb. 23).



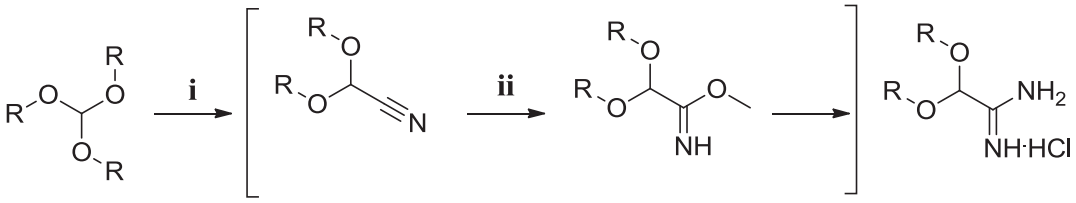
LVII **LI** (R = H)
LII (R = OH)

Abbildung 23: *Versuche zur Synthese des Aldehyd- oder Carbonsäurederivats mittels Oxidation des 2-Methylpyrimidons* ***LVII****.*

Als Alternative zur Oxidation des Alkohols **7** wurde in der Folge die bereits skizzierte Syntheseroute über ein Acetal- oder Dioxolanderivat untersucht. In der Literatur sind diese funktionellen Gruppen als Vorstufen oder Schutzgruppen von Aldehyden bekannt und können mittels säurekatalysierter Hydrolyse entschützt werden.[o]

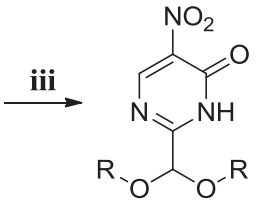
Für die Synthese der Acetale **8a,b** wurden 2,2-Diethoxyacetimidamidhydrochlorid **LIXa** und sein Dimethylanalogon **LIXb** als Synthone ausgewählt. Die beiden Amidinhydrochloride **LIXa,b** waren aus dem korrespondierenden Orthoameisensäuretriethyl- oder Orthoameisensäuretrimethylester **LVIIIa,b** durch Reaktion mit Cyanotrimethylsilan unter Katalyse durch Bortrifluoridetherat nach der Vorschrift von *Utimoto et al.* und anschließender Pinner-analogen Reaktion nach *Sato et al.* zugängig.[88, 89] Die Zyklisierung von **LIXa,b** mittels **EE-NA** ergab im Anschluss in guten Ausbeuten die Acetale **8a,b** (Schema 7).

[o] Im Vergleich zu den Acetalen gelten die 1,3-Dioxolane aufgrund der Ringspannung als leichter hydrolysierbar.



LVIIIa (R = Me)
LVIIIb (R = Et)

LIXa (R = Me)
LIXb (R = Et)

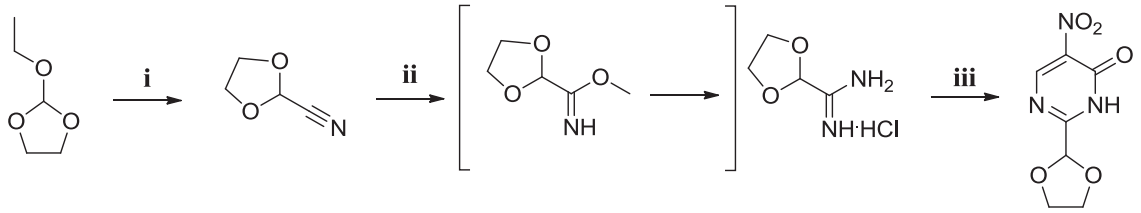


8a (R = Me, 77%)
8b (R = Et, 78%)

Schema 7: *Synthese des Acetale* ***8a,b****; i) TMSCN, $BF_3{\cdot}Et_2O$, 0°C, 3h; ii) NaOMe, MeOH, NH_4Cl, 0°C, 2h, RT, 18h; iii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h, b) HCl.*

Das Dioxolanderivat **9** konnte über drei Reaktionsschritte ausgehend von 1,3-Dioxolan-2-carbonitril **LXI** synthetisiert werden. **LXI** war zuvor aus 2-Ethoxy-1,3-dioxolan **LX**, Cyanotrimethylsilan und Kobaltchlorid dargestellt worden.[90, 91, p] Die Pinner-analoge Reaktion im mit Natriummethanolat und Ammoniumchlorid in Anlehnung an das Protokoll von *Sato et al.* ergab das Amidinhydrochlorid **LXII**, welches mit **EENA** in sehr guten Ausbeuten zum Produkt **9** zyklisierte (Schema 8).

[p] Durch Korrespondenz mit den Autoren konnten die Reaktionsbedingungen geklärt werden. Diese sind in der Publikation nicht erwähnt. Eine aktuell veröffentlichte Publikation beschreibt als Alternative den Einsatz von Indium Trifluormethansulfonat als Katalysator.



LX **LXI** **LXII** **9** (85%)

Schema 8: *Synthese des 1,3-Dioxolan* ***9****; i) TMSCN, $CoCl_2$, DCM, 0°C, 3h; ii) NaOMe, MeOH, NH_4Cl, 0°C, 1h, RT, 18h; iii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h, b) HCl.*

Die 5-Nitropyrimidone **8a,b** und **9** waren über einen Zeitraum von drei Jahren bei 8°C lagerstabil. Nachfolgend sollen am Beispiel des Dioxolanderivats **9** die infrarotspektroskopischen Eigenschaften der 5-Nitropyrimidone studiert werden. Alle Derivate weisen ein breites Signal im Bereich von 1700-1690 cm^{-1} für die Valenzschwingung der Carbonylgruppe des Lactams auf. Darüber hinaus sind die Valenzschwingungen bei 1568 cm^{-1} und 1346 cm^{-1} charakteristisch für die Nitrogruppe. Im abgebildeten Spektrum ist auch das Absorbtionsverhalten des Dioxolanrings gut zu beobachten. Die C-H Valenzschwingung drückt sich in dem Signal bei 2976 cm^{-1} aus, die C-O Valenzschwingung erscheint bei 1091 cm^{-1} (Abb. 24).

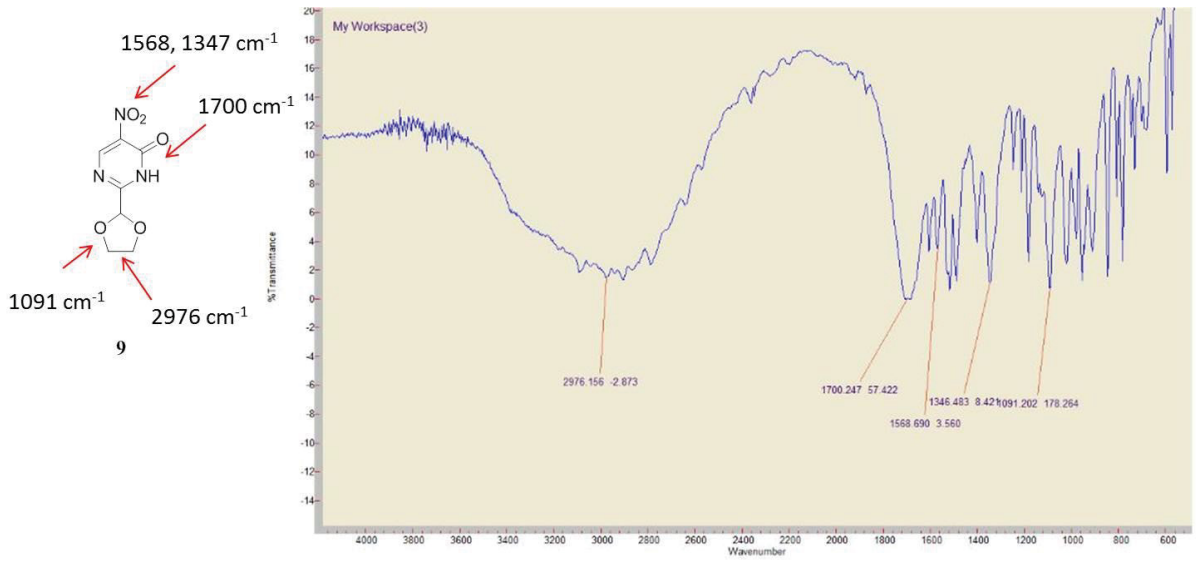
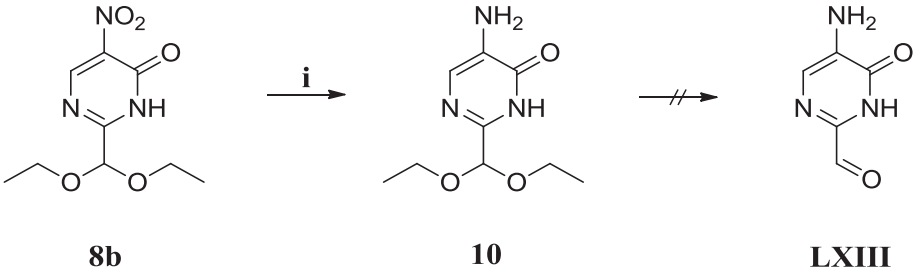


Abbildung 24: *Infrarotspektroskopisches Verhalten der Verbindung* ***9*** *(KBr, Bereich von 4000-500 cm^{-1}).*

Durch die erfolgreiche Darstellung der Acetal- bzw. Dioxolanderivate **8a,b** und **9** war es nun möglich, deren Hydrolyse zu untersuchen. Als Standardmethode zur Entschützung gilt die saure Hydrolyse. Der Einsatz von Trifluoressigsäure, Essigsäure, Schwefel- sowie Salzsäure

erbrachte jedoch bei Raumtemperatur kein Ergebnis. Es konnte dünnschichtchromatographisch beobachtet werden, dass bei Raumtemperatur keine Umwandlung des Startmaterials stattfand und ein Erwärmen des Reaktionsansatzes zu einem Zersetzung der Edukte führte. Auch neu entwickelte Protokolle, welche beispielsweise in der Naturstoffsynthese Verwendung finden, führten zu keinem Ergebnis.[q]

Da in der Literatur Berichte über die Beeinträchtigung von Acetalhydrolysen durch den elektronenziehenden Effekt einer konjungierten Nitrogruppe existieren [92], wurde die Verbindung **8b** hydrogenolytisch mittels Wasserstoffgas quantitativ zum 5-Aminopyrimidon **10** reduziert. Jedoch konnte ein störender Einfluss der Nitrogruppe auf die Hydrolyse des Acetals ausgeschlossen werden, da die anschließenden Hydrolyseexperimente am Aminoderivat **10** ebenfalls keinen Zugang zu dem Aldehyd **LXIII** erlaubten (Schema 9).



8b **10** **LXIII**

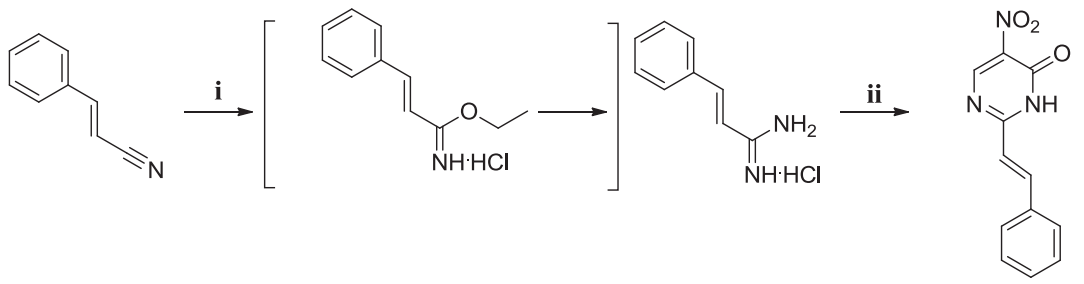
Schema 9: *Synthese des 5-Aminopyrimidons **10** und Versuch der anschließenden Hydrolyse; i) H_2 (atm.), Pd(C), MeOH, RT, 3h.*

Da auf diesem Weg ebenfalls kein Zugang zu der Carbonsäure **LII** gewonnen werden konnte, wurde ein alternatives Protokoll zur Synthese von Aldehyden oder Carbonsäuren untersucht.

Es ist gut dokumentiert, dass Pyrimidin-2-carboxylate durch Behandlung von Pyrimidin-2-styrylderivaten mit Kaliumpermanganat dargestellt werden können.[93] Neben dieser Syntheseoption besteht auch die Möglichkeit, aus derselben Vorstufe durch Ozonolyse den korrespondierenden Aldehyd zu gewinnen.[94] Vor diesem Hintergrund bot das Styrylderivat **5** zwei Möglichkeiten zur Synthese der Carbonsäure **LII**.

[q] Es wurde der Einsatz von Iod in Aceton, Anionenaustauscherharze (Dowex 50, Amberlyst 15) und 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) erprobt.

Die Synthese von Cinnamimidamidhydrochlorid **LXV** gelang ausgehend von Zimtsäurenitril **LXIV** nach der Vorschrift von *Brooks et al.* .[95, r] Durch Reaktion von **LXV** mit **EENA** konnte im Anschluss in befriedigenden Ausbeuten das 2-Styrylderivat **11** gewonnen werden (Schema 10).



LXIV **LXV** **11** (56%)

Schema 10: *Synthese des Styrylderivats **11**; i) a) EtOH, HCl (g), 0°C, 48h b) NH_3, RT, 1h; ii) a) Na, EtOH, EENA, 0°C, 18h b) HCl.*

Das Styrylderivat **11** war über einen Zeitraum von drei Jahren bei 8°C lagerstabil.

Alle in der Folge durchgeführten Versuche, das Derivat **11** oxidativ mittels Kaliumpermanganat in die Säure **LII** zu überführen, blieben ohne Ergebnis. Deshalb konzentrierten sich die weiteren Versuche auf die Möglichkeit der Ozonolyse von **11**.

Mehrere Experimente wurden im Arbeitskreis von *Prof. Dr. Manfred Braun* (Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) unternommen. Die Generierung und der Einsatz von Ozon sind in der organischen Chemie als ein Standardverfahren zu bewerten, trotzdem ist diese Art von Experimenten sehr geräteaufwendig und erfordert ein hohes Maß an Vorkehrungen zur Arbeitssicherheit.

Die Experimente wurden hinsichtlich ihrer Dauer und der Durchführung der reduktiven Aufarbeitung mehrfach variiert.[s] Es konnte organoleptisch in einigen Fällen auch der charakteristische Geruch von Benzaldehyd, dem Nebenprodukt der Ozonolyse, festgestellt werden. Jedoch resultierte trotz des großen Aufwandes aus keinem der durchgeführten Experimente das gewünschte Produkt.

---

[r] Laut Hersteller hauptsächlich trans-Zimtsäurenitril.

[s] Die reduktive Aufarbeitung des Sekundärozonids erfolgte durch die Zugabe von Dimethylsulfid.

Zu den Untersuchungen ist als Fazit festzuhalten, dass es nur in schlechten Ausbeuten möglich war, ein Pyrimidon **6** mit einer Estergruppe in Position 2 vom Typ **XLIII** aus der Reaktion von **XLIV** und **EENA** zu gewinnen. Durch einen Modellversuch konnten Hinweise gewonnen werden, die vermuten lassen, dass die gewählten Bedingungen zu einem Verlust der Estergruppe führen. Alle Versuche, das dafür verantwortliche Natriumhydroxid zu ersetzen, blieben ohne Erfolg.

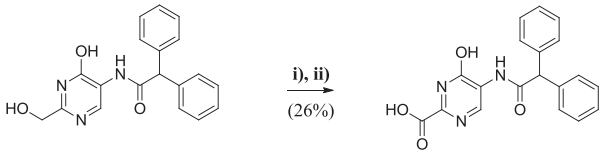
Der Wechsel der Synthesestrategie zu 5-Nitropyrimidonen mit Carbonsäurevorstufen in Molekülregion A erbrachte ebenfalls nicht das gewünschte Reaktionsprodukt. Es konnten mehrere Vertreter, unter ihnen ein primärer Alkohol **7**, zwei Acetale **8a,b** und ein 1,3-Dioxolan **9**, synthetisiert werden, jedoch erlaubte kein Derivat den Zugang zur Carbonsäure **LII** oder dem korrespondierenden Aldehyd **LI**.[t, 96] Auch die Oxidation eines Styrylderivats **11** misslang.

Da die modifizierte Methode von *de la Cuesta und Avendaño* keinen Zugang zu den Monomeren **1** ermöglichte, wurde nach alternativen Synthesekonzepten gesucht.

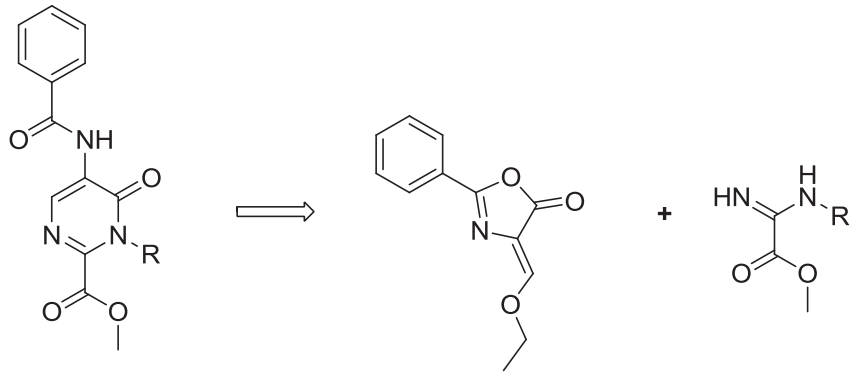
In der Folge wurde intensiv untersucht, ob die Arbeiten von *Takahashi et al.* eine Möglichkeit bieten, zu den *N*-benzoylgeschützten Monomeren **1** zu gelangen (vgl. Schema 3, Seite 28). Die Wissenschaftler berichten in ihren Arbeiten von der Synthese von strukturverwandten Derivaten, die in den Molekülregionen B und C den im Rahmen der vorliegenden Arbeit darzustellenden Verbindungen entsprechen, jedoch an Position 2 des Heterozyklus nur einfache Alkyl- und Arylsubstituenten tragen. In der Folge sollte untersucht werden, ob durch den Einsatz eines *N*-substituierten Amidins **LXVI** auch der Strukturtyp **1** zugänglich sein könnte (Abb. 25).

---

[t] Nach Abschluss der berichteten Experimente wurde in einer Patentschrift der Firma Merck Sharp and Dohme die Oxidation eines *N*-(4-Hydroxy-2-(hydroxymethyl)pyrimidin-5-yl)-acetamids mittels Dess-Martin-Periodinan zum 2-Formylderivat und anschließende Oxidation zur Carbonsäure durch Behandlung mit Natriumchlorit und Natriumdihydrogenphosphat in 26% Ausbeute über beide Reaktionsschritte berichtet (Schema 11). Die Synthese einer Estergruppe war nicht Bestandteil des Patents. Ebenso wenig die Darstellung von *N*-substituierten Pyrimidonen mit einer dem Substitutionsmuster von Typ **1** analogen Dekorierung.



***Schema**: Synthese der Carbonsäure nach Hou et al., i) Dess-Martin-Reagenz; ii) $NaClO_2$.*



1 **XXXV** **LXVI**

Abbildung 25: *Retrosynthetische Analyse des N-benzylgeschützten Monomere **1**.*

Weiterhin könnten durch diese Synthesestrategie Stellungsisomere durch die nachträgliche Alkylierung vermieden werden (vgl. Abb.17).[u]

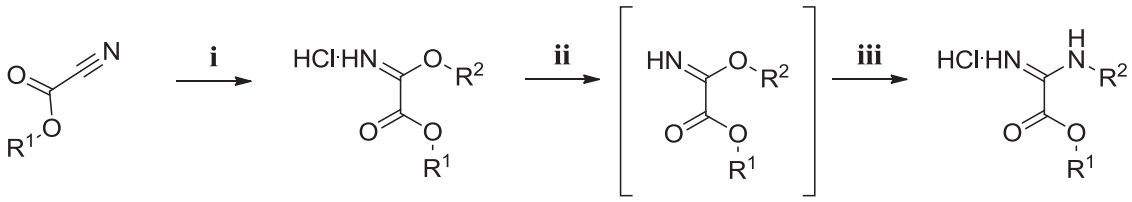
Für die Überprüfung des Synthesekonzepts stand somit zunächst die Synthese von Amidinen des Typs **LXVI** im Vordergrund. Diese sollten am Amidinstickstoff mit Resten substituiert sein, welche die Seitenketten von L-Aminosäuren nachahmen. Im Fall von Substituenten mit labilen oder reaktiven funktionellen Gruppen, wie Aminen oder Carbonsäuren, sollten diese mit geeigneten Schutzgruppen versehen werden.

[u] Zwar konzentriert sich die vorliegende Arbeit ausschließlich auf die Synthese der Monomere vom Typ **1**, jedoch sind die stellungsisomeren *O*-Alkylderivate als Monomere für die Synthese von α-Helixmimetika ebenfalls interessant und könnten Thema einer Folgearbeit sein.

5.2 DARSTELLUNG DER AMIDINHYDROCHLORIDE

Basierend auf den Arbeiten von *Martinu und Dailey* waren das bereits bekannte Derivat **XLIV** und die bisher nicht beschriebenen *N*-substituierten Derivate **LXVIa-p**, ausgehend von Cyanameisensäuremethyl- oder Cyanameisensäureethylester **LXVIIa,b**, über zwei Reaktionsschritte zugänglich. Durch eine Pinner-Reaktion mit den entsprechenden Alkoholen, 2-Propanol respektive Ethanol, in Gegenwart von Hydrogenchlorid wurden die Nitrile **LXVII-a,b** zu den korrespondierenden Imidoesterhydrochloriden **LXVIIIa,b HCl** umgesetzt (Schema 11).[86]

Die kristallinen Imidoesterhydrochloride **LXVIIIa,b HCl** waren bis zu sechs Monate unter Stickstoffatmosphäre bei -20°C lagerstabil. Der Kontakt mit Wasser oder eine längere Lagerung bei Raumtemperatur resultierten jedoch in einem Qualitätsverlust.



LXVIIa: R^1 =Methyl
LXVIIb: R^1 = Ethyl

LXVIIIa HCl:
R^1 = Methyl, R^2 = 2-Propyl
LXVIIIb HCl:
R^1 = Ethyl, R^2 = Ethyl

LXVIIIa
LXVIIIb

LXVIa-p

Schema 11: *Synthese der Amidinhydrochloride **LXVIa-p**; i) a) R-OH, HCl (g), Et_2O, 0°C, 24h; ii) K_2CO_3, 0°C; iii) R-NH_3Cl, MeOH, 0°C, 1h, RT, 18h.*

Tabelle 1: Synthetisierte Amidinhydrochloride **LXVIa-p**.

Substanz	R^1	R^2
XLIV	Methyl	H
LXVIa	Ethyl	Ethyl
LXVIb	Ethyl	2-Propyl
LXVIc	Ethyl	Isobutyl
LXVId	Ethyl	*sec*-Butyl
LXVIe	Ethyl	Prop-2-in-1-yl
LXVIf	Ethyl	Benzyloxy-2-oxopropyl
LXVIg	Methyl	*tert*-Butoxy-2-oxoethyl
LXVIh	Ethyl	*tert*-Butoxy-2-oxopropyl
LXVIi	Ethyl	4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl
LXVIj	Ethyl	4-Hydroxybenzyl
LXVIk	Ethyl	4-Methoxybenzyl
LXVIl	Ethyl	4-Benzyloxybenzyl
LXVIm	Methyl	2-Phenylethyl
LXVIn	Ethyl	4-Hydroxyphenylethyl
LXVIo	Ethyl	4-Methoxyphenylethyl
LXVIp	Methyl	Indolylethyl

Die freien Basen der Imidoester **LXVIIIa,b** wurden durch Extraktion aus der wässrigen, basischen Lösung ihrer Hydrochloride **LXVIIIa,b HCl** gewonnen und konnten anhand ihrer infrarotspektroskopischen Eigenschaften charakterisiert werden.[86, v] Im Anschluss fand durch Reaktion mit primären Aminhydrochloriden unter Eiskühlung eine Überführung in die korrespondierenden Amidinhydrochloride **XLIV, LXVIa-p** statt (Schema 11, Tabelle 1).[86]

Hierbei bewährte sich eine Reduzierung der von *Martinu und Dailey* für die Synthese von **XLVI** vorgeschlagenen äquimolaren Menge Aminhydrochlorid auf 0,6 Äquivalente. Qualitätsuntersuchungen hatten zuvor eine Verunreinigung der Produkte **LXVIa-p** mit nicht vollständig abreagierten Aminhydrochloriden ergeben. Diese führte im nachfolgenden Synthese-

[v] Estervalenzschwingung bei 1755-1745 cm^{-1} und Imidoestervalenzschwingung bei 1655-1650 cm^{-1} (Film) der freien Basen.

schritt zur unerwünschten Bildung eines Amids durch Reaktion mit der Esterfunktion des Syntheseprodukts (vgl. Schema 13).[w]

Wie die aufgenommenen NMR-Spektren deutlich machten, waren die im weiteren Verlauf synthetisierten Amidinhydrochloride **LXVIa-p** trotz der oben beschriebenen Modifikation weiterhin mit geringen Anteilen anAminhydrochlorid verunreinigt, jedoch konnte die Reinheit deutlich verbessert werden. Aufgrund der schweren Interpretierbarkeit der NMR-Spektren wurden die Produkte in der Folge ausschließlich infrarotspektroskopisch untersucht und im nächsten Reaktionsschritt als Rohprodukte eingesetzt.[x, y]

5.3 DARSTELLUNG DER MONOMERE 1a-q

Die erstmalige Darstellung der benötigten Monomere **1a-q** gelang im Anschluss nach einer modifizierten Vorschrift von *Takahashi et al.* Wie beschrieben, stellten die Wissenschaftler *N*-substituierte 5-Benzamidopyrimidone mit Alkyl- oder Arylsubstituent in 2-Position durch Umlagerung des Azlactons **XXXV** mit *N*-substituierten Amidinbasen nach mehrstündigem Erhitzen in Toluol oder Isopropanol dar.[81-83] Da erste Versuche zur Freisetzung der Amidinbasen aus ihren Hydrochloriden **LXVIa-p** jedoch zur Zersetzung derselben führten, wurde die Synthese nach dem Beispiel von *Hansen und Geffken* [97] dergestalt modifiziert, dass das Amidinhydrochlorid und die zugesetzte Hilfsbase eine *in situ*-Freisetzung der Amidinbase gewährleisteten. Ein Lösungsmittelwechsel von Toluol zu Acetonitril resultierte in einer verbesserten Ausbeute, wohingegen sich die vorgeschlagene Temperatur von 80°C als ideal erwies (Schema 12).

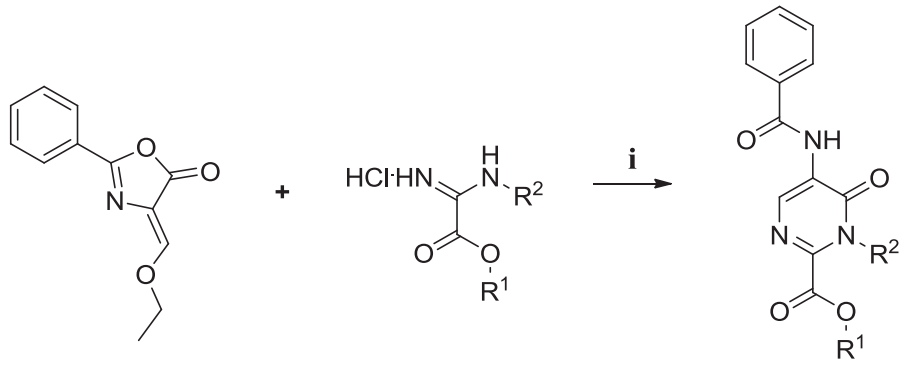
Der Einsatz von Mikrowellenstrahlung, wie ihn *Hansen und Geffken* berichten, verkürzte zwar die Reaktionszeit, erbrachte aber im Experiment zur Synthese der Verbindung **1e** keine gesteigerten Ausbeuten im Vergleich zur konventionellen Methode. Wegen des großen Monomerbedarfs wurden die Synthesen in der Folge mit guten bis mäßigen Ausbeuten nach konventioneller Art durchgeführt (Tabelle 2).

---

[w] Diese Nebenreaktion wird im folgenden Kapitel behandelt.

[x] Alle Amidinhydrochloride **LXVIa-p** zeigten eine typische Estercarbonylschwingung bei 1780-1760 cm^{-1} und eine Schwingung bei 1700-1690 cm^{-1}, welche für das Amidin spezifisch ist (Film).

[y] Die Verbindungen **LXVIa-p**, die in der Regel einen öligen oder amorphen Habitus aufwiesen, konnten bei Raumtemperatur ohne Qualitätsverlust über einen Zeitraum von drei Monaten gelagert werden.



Schema 12: *Synthese der Monomere* ***1a-q****; i) TEA, ACN, 80°C, 3-6h.*

Tabelle 2: Synthetisierte Monomere **1a-q** und ihre Ausbeuten.[z]

Substanz	R^1	R^2	Ausbeute (%)
1a	Methyl	H	50
1b	Ethyl	Ethyl	62
1c	Ethyl	2-Propyl	30
1d	Ethyl	Isobutyl	31
1e	Ethyl	*sec*-Butyl	22
1f	Ethyl	Prop-2-in-1-yl	57
1g	Ethyl	Benzyloxy-2-oxopropyl	22
1h	Methyl	*tert*-Butoxy-2-oxoethyl	49
1i	Ethyl	*tert*-Butoxy-2-oxopropyl	50
1j	Ethyl	4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl	33
1k	Ethyl	4-Hydroxybenzyl	52
1l	Ethyl	4-Methoxybenzyl	81
1m	Ethyl	4-Benzyloxybenzyl	77
1n	Methyl	2-Phenylethyl	35
1o	Ethyl	4-Hydroxyphenylethyl	55

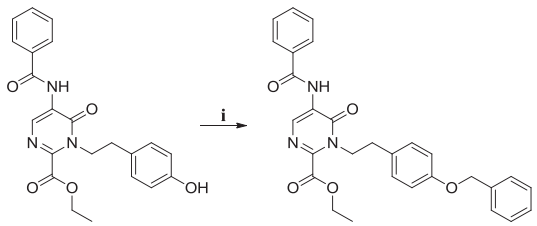
[z] Die tert Butylester **1h,i** sowie das BOC-geschützte Amin **1j** ließen sich durch Behandlung mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan in guten Ausbeuten in ihre entschützten Derivate **23a,b** und **24** überführen (vgl. AAV 14).

1p	Ethyl	4-Methoxyphenylethyl	41
1q	Methyl	Indolylethyl	65[aa]
1r	Ethyl	4-Benzyloxyphenylethyl	90[bb]
1s	Methyl	4-Methoxybenzyl	64[cc]

Die zuvor berichtete Nebenreaktion an der Estergruppe konnte bei der Reaktion von Azlacton **XXXV** mit durch 2-Phenylethylaminhydrochlorid verunreinigten Amidinhydrochlorid **LXVIm** beobachtet werden.[dd] Es konnte neben dem Produkt **1n** auch das Amid **1na** isoliert und charakterisiert werden (Schema 13).

[aa] Verbindung **1q** wurde durch die Reaktion von **XXXV** mit der Base des Amidins **LXVIp** ohne Zugabe von Triethylamin dargestellt. Hierfür wurde das Amidinhydrochlorid zuvor durch Behandlung mit wässriger, gesättigter Kaliumcarbonatlösung in seine Base überführt und mittels Ethylacetat extrahiert. (vgl. AAV 4.1)

[bb] Im Fall der Verbindung **1r** wurde die Benzylschutzgruppe der phenolischen Funktion nachträglich durch Alkylierung des Phenolats **1o** in sehr guten Ausbeuten unter Verwendung von Kaliumcarbonat, Kaliumjodid und Benzylbromid in Acetonitril bei 60°C unter Schutzgasatmosphäre eingeführt (siehe Schema).

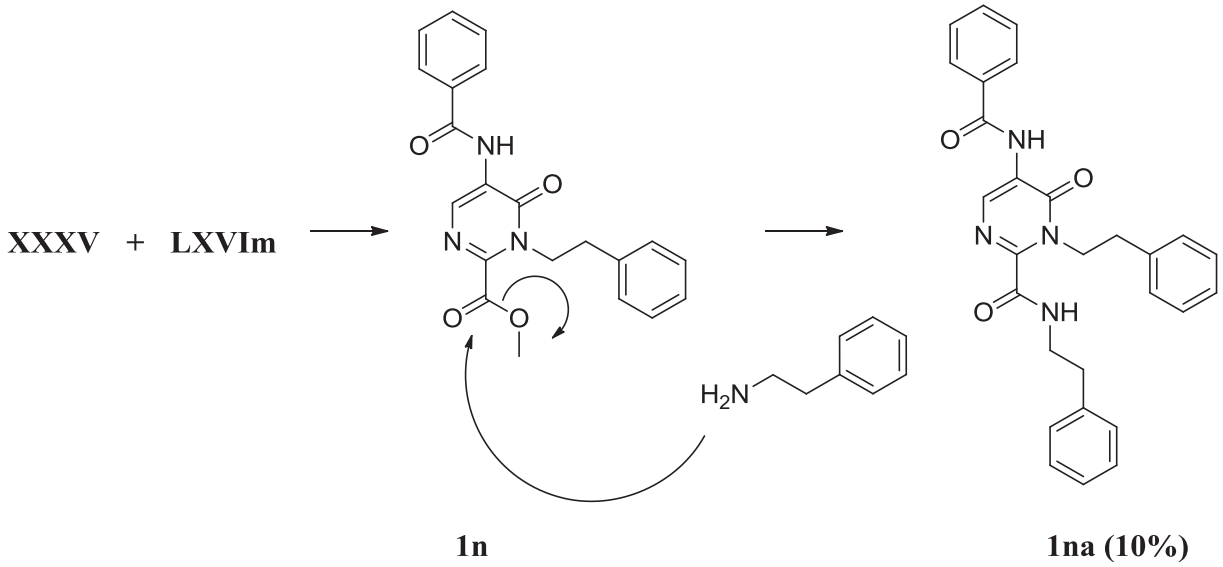


1o **1r** (90%)

Schema: *Synthese der Verbindung 1r durch Alkylierung; i) K_2CO_3, KI, Benzylbromid, ACN, 80°C, 4h.*

[cc] Durch Alkylierung von **1a** mit Benzylchlorid (vgl. AAV 7)

[dd] Das mit Aminhydrochlorid verunreinigte Amidinhydrochlorid **XLn** war in diesem Experiment vor der Reaktion mit dem Azlacton **IV** durch Extraktion aus einer gesättigten, wässrigen Kaliumcarbonatlösung in seine Base überführt worden. Die anschließende Reaktion wurde ohne Zugabe der Hilfsbase durchgeführt.



Schema 13: *Nebenreaktion an der Esterfunktion der Verbindung 1m in Gegenwart von 2-Phenylethylamin.*

Wie die Abbildung zeigt, kann die Bildung des Amids **1na** als eine Folgereaktion der Bildung des Produkts **1n** verstanden werden. Die Esterfunktion von **1n** reagiert mit dem anwesenden 2-Phenylethylamin zum Carboxamid **1na**. Nach der zuvor beschriebenen Optimierung der Amidinsynthese wurden keine weiteren amidischen Nebenprodukte isoliert (Schema 13).

Die Bildung des Nebenprodukts kann auch anhand der infrarotspektroskopischen Eigenschaften der Produkte studiert werden (Abb. 26).

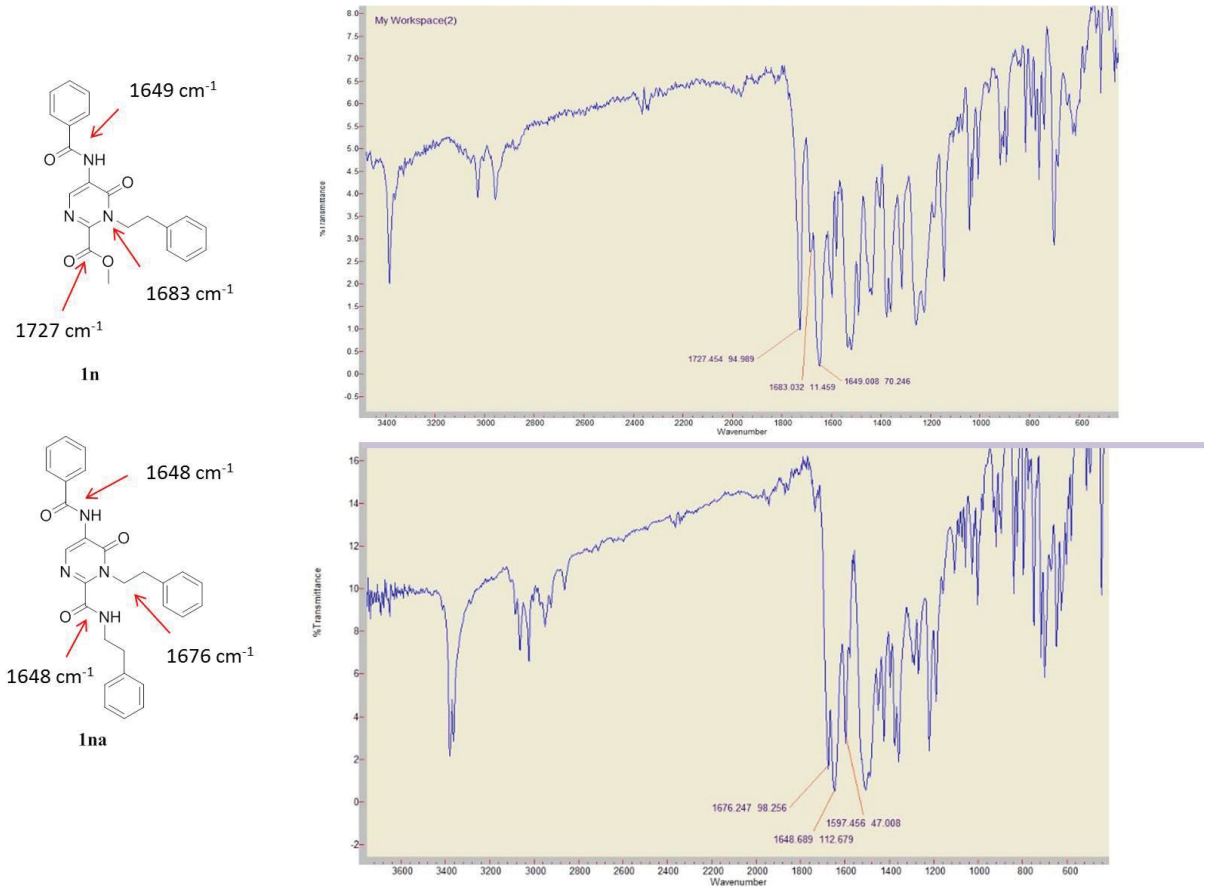


Abbildung 26: *Infrarotspektroskopischer Vergleich der Verbindung* ***1n*** *und des Nebenprodukts* ***1na*** *(KBr, Bereich von 3500-500 cm^{-1}).*

Die Bildung des Amids **1na** geht mit der Intensitätsabnahme der Estervalenzschwingung bei 1727 cm^{-1} der Verbindung **1n** einher.

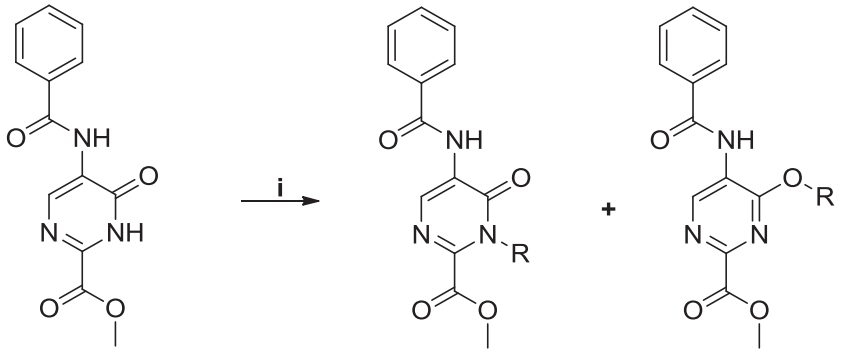
Die infrarotspektroskopischen Charakteristika des gebildeten *N*-Phenylethyl-2-carboxamids **1na** werden aus dem abgebildeten Spektrum ersichtlich. Die Amidbildung resultiert in einer neuen doppelten, breiten Amidvalenzschwingung bei 1676-1648 cm^{-1}, welche die Valzenzschwingung der Carbonylgruppe des Lactams (1676 cm^{-1}) und der Carbonylgruppe des Benzamids sowie des *N*-Phenylethylamids (1648 cm^{-1}) beinhalten (Abb. 26).

Eine alternative Möglichkeit zur Synthese der Monomere vom Typ **1** bietet die Alkylierung des unsubstituierten Derivats **1a**. Basierend auf den Erkenntnissen von *Hopkins et al.* wurde bei der Synthese Natriumhydrid als Base und Dimethylformamid als Lösungsmittel verwendet.[ee] Die Experimente ergaben in Abhängigkeit vom eingesetzten Alkylanz entweder ein *N*-

[ee] Diese Auswahl folgte den Erkenntnissen von *Hopkins et al.*, welche auch in der Literaturübersicht zusammengefasst wurden.

alkyliertes Hauptprodukt **1s** mit nicht isolierbaren Spuren des *O*-Alkylderivat oder ein Gemisch aus *N*- und *O*-alkylierten Produkten **1h** und **12** (Schema 14).

Die Bildung des Isomerengemischs überrascht nicht, da nach dem HSAB-Konzept für die Alkylierung des ambidenten Nukleophils **1a** mit den verwendeten Alkylanzien die Bildung des *N*-Alkylprodukts zwar favorisiert ist, jedoch Pyrimidin-4(3*H*)-one aufgrund ihrer aromatischen Tautomere vergleichsweise schonend am harten Sauerstoffzentrum alkyliert werden können.[ff]



1a **1h,s** **12**

1h: R = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl (32%)
1s: R = 4-Methoxybenzyl (64%)
12: R = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl (30%)

Schema 14: *Synthese der Monomere **1h,s** durch Alkylierung; i) NaH, R-X (tert-Butylbromoacetat, 4-Methoxybenzylchlorid), DMF, RT, 18h.*

Im Fall der Isomere **1h** und **12** ließen sich beide Produkte in Reinform isolieren und basierend auf der beobachteten chemischen Verschiebung der Signale der Methylenprotonen des Acetylrests und dem Vergleich mit dem authentischen *N*-Alkylderivat **1h**, welches aus der Umlagerung von **XLh** mit dem Azlacton **XXXV** gewonnen wurde, charakterisieren.

Das ^{1}H-NMR der *N*-alkylsubstituierten Verbindung **1h** weist ein Signal bei 5,21 ppm auf, wohingegen das entsprechende Signal des *O*-alkylierten Derivates **12** hochfeldverschoben bei 5,05 ppm erscheint. Auffällig ist auch die Differenz der chemischen Verschiebungen der

[ff] Zur selektiven *O*-Alkylierung von nicht aromatischen Amiden und Lactamen müssen in der Regel sehr harte Alkylanzien wie Trialkyloxoniumsalze eingesetzt werden.

Benzamidprotonen. Im Spektrum des *N*-alkylierten Derivats **1h** erscheint dieses bei 9,25 ppm, wohingegen es bei der isomeren Substanz **12** bei 9,87 ppm auftritt (Abb. 27).

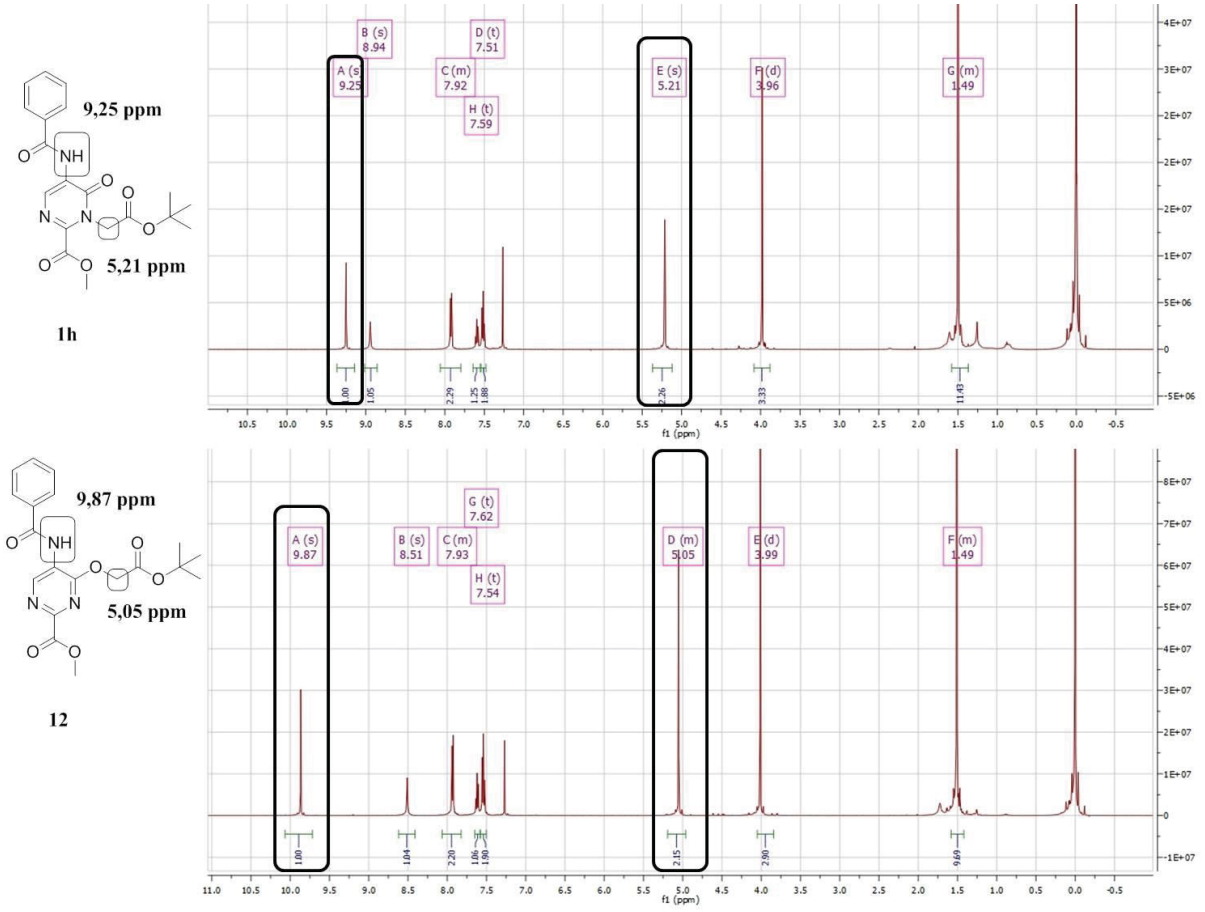


Abbildung 27: *Magnetresonanzspektroskopische Unterscheidung der Stellungsisomere* ***1h*** *und* ***12*** *($CDCl_3$, 500 MHz).*

Die beobachteten chemischen Verschiebungen überraschen vor dem Hintergrund der berichteten Daten für vergleichbare Substanzen.[gg] *Kislyi und Semenov* geben für die Methylenprotonen des analogen *N*-carboxymethylsubstituierten Derivats eine Hochfeldverschiebung an (*N*-Alkylderivat 4,87 ppm, *O*-Alkylderivat 4,95 ppm, 250 MHz, DMSO-d_6), wohingegen dieses bei **1h** tieffeldverschoben ist. Wodurch diese Besonderheit der Isomere hervorgerufen wird, kann ohne weitergehende Untersuchungen nicht erklärt werden.

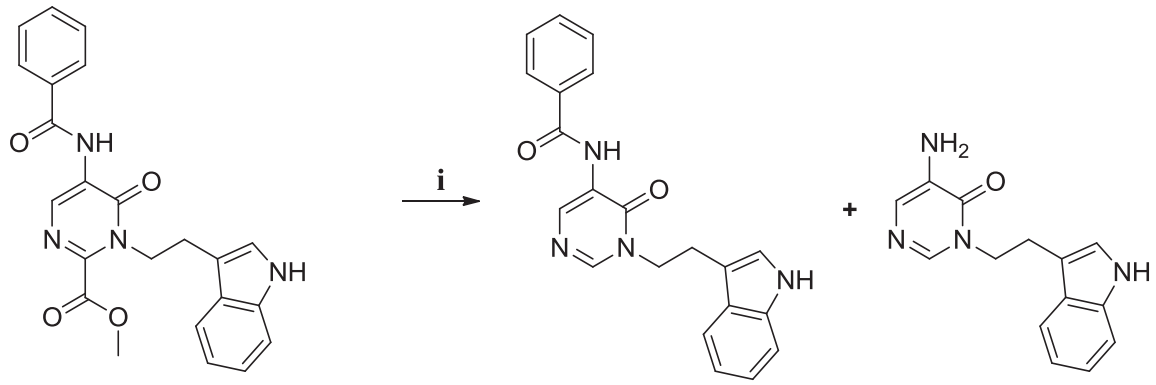
[gg] *Kislyi und Semenov* berichten bei der vergleichbaren *N*-Alkylierung von 4,6-Dimethyl-3-nitropyridin-2(1*H*)-on mit Ethylbromoacetat in Methanol und DMF in Gegenwart von Natriummethoxid.

5.4 DARSTELLUNG DER 5-AMINODERIVATE UND IHRE PHYSIKOCHEMISCHEN EIGENSCHAFTEN

Nach der erfolgreichen Synthese der Monomere vom Typ **1** wurde deren Umwandlung in die Bausteine **III** und **2** geprüft (vgl. Abb. 11). Als erstes wurde die Entschützung der Aminogruppe in 5-Position untersucht.

Die aus der Darstellung der Derivate **1a-q** stammende Benzoylschutzgruppe eignet sich besonders für die Schützung von aromatischen und heteroaromatischen Aminen und findet deshalb in der Nukleotidchemie breiten Einsatz. Dabei wird sie in der Regel durch Behandlung mit Ammoniak oder Methylamin entfernt.[hh] Für die Entschützung an der Position 5 des Pyrimidonrings ist nach unseren Recherchen bisher nur das Protokoll von *Takahashi et al.* mittels methanolischer Natriumhydroxidlösung bekannt.

Erste Versuche zur Entschützung der *N*-Benzoylderivate nach diesem Protokoll wurden an der Verbindung **1q** durchgeführt. Die Analyse der Reaktionsprodukte ergab interessanterweise ein Gemisch aus dem decarboxylierten Produkt **13** und durch Benzamidhydrolyse entschützten Verbindung **14** (Schema 15).



1q **13** (21%) **14** (71%)

Schema 15: *Erste Versuche zur Hydrolyse des Benzamids an der Modellsubstanz* ***1q****;*
i) NaOH, MeOH, 80°C, 8h.

[hh] Kapitel 7, S. 785 „Greene's Protecting Groups In Organic Synthesis", P.G.M. Wuts, T.W. Greene, 4. Auflage, 2007, John Wiley & Sons, ISBN: 0471697540.

Um den erneuten Verlust der Esterfunktion zu verhindern, sollte **1q** zunächst mit Methylaminlösung in das stabilere *N*-Methylcarboxamid überführt werden.

Als theoretische Grundlage wurde eine Literaturrecherche bezüglich der Darstellung von Pyrimidon-2-carboxamiden aus den korrespondierenden Estern durchgeführt, welche in der Folge wiedergegeben wird.

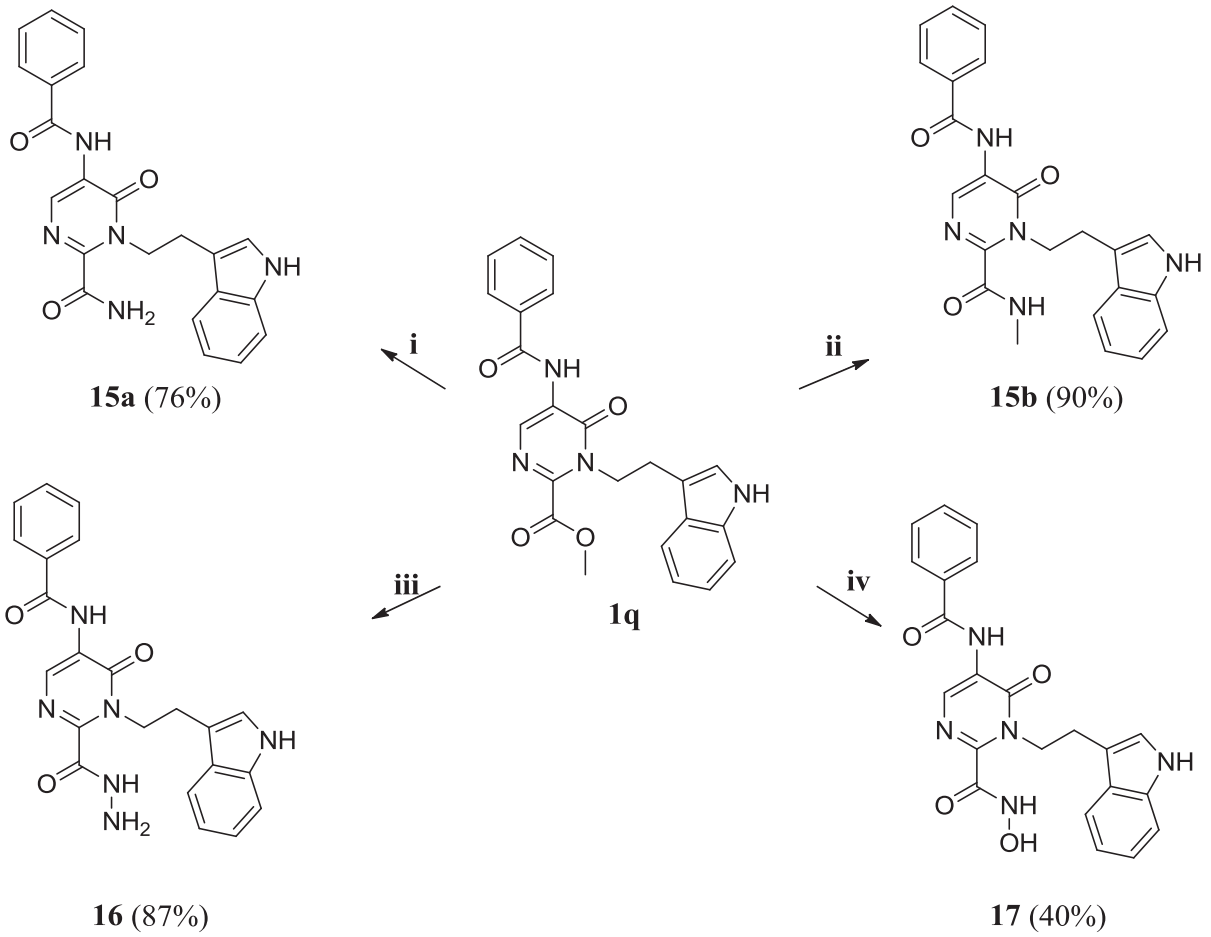
5.5 LITERATURRECHERCHE ZUR DARSTELLUNG VON PYRIMIDON-2-CARBOXAMIDEN

Die Darstellung von Pyrimidon-2-carboxamiden ist vereinzelt für einfache Derivate beschrieben worden. *Hagmann et al.* gelang es, einige Derivate durch die Umsetzung des Esters mit primären und sekundären aliphatischen Aminen zu erhalten.[65] Hierbei verglichen die Autoren die Reaktivität der Estergruppe mit der eines Carbonsäurechlorids, da in den durchgeführten Studien ein rascher Austausch des Alkohols mit verschiedenen Nukleophilen beobachtet werden konnte (vgl. Abb. 14). Die Wissenschaftler identifizierten darüber hinaus auch einen sterischen Einfluss. So konnte beobachtet werden, dass sekundäre Amine bei Raumtemperatur nur unvollständig reagierten und bei Erwärmen Nebenreaktionen in den Vordergrund traten.

Auch *Riva et al.* erkannten in ihren Arbeiten ebenfalls die hohe Reaktivität der Esterfunktion in 2-Position des Pyrimidonrings.[66] Sie synthetisierten nach der zuvor von *Hagmann et al.* postulierten Methode Amide und Hydroxamate durch direkte Umsetzung des Esters mit den entsprechenden Stickstoffnukleophilen. Eine Modifikation wurde durch den Einsatz von Trimethylaluminium vorgenommen. Die *in situ* aus der Reaktion von Trimethylaluminium und Amin gebildete Aluminiumspezies reagierte aufgrund ihrer erhöhten Nukleophilie deutlich schneller als nicht aktivierte Amine. In der Studie fanden ausschließlich sterisch wenig anspruchsvolle, primäre Amine und *O*-Benzylhydroxylamin Verwendung.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass über die Synthese von Pyrimidon-2-carboxamiden bereits mehrfach in der Literatur berichtet wurde und die direkte Synthese aus dem Ester somit möglich ist.

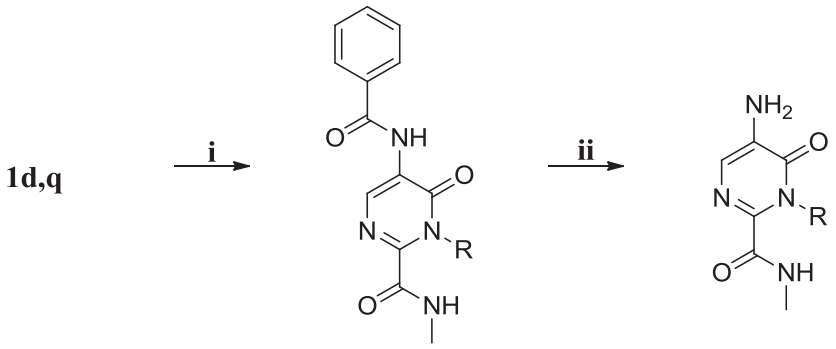
Basierend auf den geschilderten Erkenntnissen wurde im Anschluss die Reaktivität der Estergruppe von **1q** untersucht. Die Studie ergab, dass sich der Ester **1q** in befriedigenden bis sehr guten Ausbeuten durch Reaktion mit verschiedenen Stickstoffnukleophilen wie Ammoniak, Methylamin, Hydrazin und Hydroxylamin in die entsprechenden Amid- **15a,b**, Hydrazid- **16** und Hydroxamsäurederivate **17** umwandeln ließ (Schema 16).



Schema 16: *Untersuchungen zur Reaktivität der Esterfunktion von* ***1q****; i)* NH_3*,* H_2O*, EtOH, RT, 5h; ii)* $MeNH_2$*,* H_2O*, EtOH, RT, 5h; iii)* $N_2H_4 \cdot H_2O$*, EtOH, RT, 5h; iv)* $NH_2OH \cdot HCl$*, NaOH, MeOH, 0°C, 1h, RT, 3h.*

Darüber hinaus muss jedoch auch festgehalten werden, dass die Reaktivität der Esterfunktion von **1q** keineswegs der eines Carbonsäurechlorids entspricht. So konnte keine Reaktion zwischen der Modellsubstanz **1q** und dem weniger nukleophilen Anilin beobachtet werden. Auch die direkte Umsetzung von **1q** mit der 5-Aminoverbindung **14**, welches den ökonomischsten Zugang zu den Dimeren **3** bedeuten würde (vgl. Schema 15), blieb trotz Behandlung mittels Mikrowellenstrahlung und dem Einsatz von Trimethylaluminium ohne Erfolg.

Basierend auf der durchgeführten Studie wurden die Ester **1d,q** in der Folge durch Reaktion mit wässriger Methylaminlösung zuerst in sehr guten Ausbeuten in die *N*-Methylcarboxamide **15b,c** überführt (Schema 17). Im Anschluss an die Darstellung der *N*-Methylcarboxamide **15b,c** gelang die Synthese der 5-Aminopyrimidone **2a,b** durch optimierte basische Hydrolyse mittels Natriumhydroxid in Methanol in guten Ausbeuten.[81] Eine Reduzierung der berichteten vier Äquivalente Base auf drei resultierte dabei in verbesserten Ergebnissen (Schema 17).



15b: R = Indolylethyl (90%) **2a**: R = Isobutyl (88%)
15c: R = Isobutyl (89%) **2b**: R = Indolylethyl (92%)

Schema 17: *Regioselektive Hydrolyse der 5-Benzamidopyrimidone* ***15b,c****; i) $MeNH_2$, H_2O, EtOH, RT, 5h; ii) NaOH, MeOH, 80°C, 6h.*

Der Fortschritt der Reaktion konnte gut infrarotspektroskopisch verfolgt werden. Während der Reaktion konnte eine Abnahme der Intensität der Estercarbonylschwingung bei 1737 cm^{-1} und die Intensitätsverstärkung des Amidvalenzsignals bei 1681 cm^{-1} detektiert werden (Abb. 28).

Darüber hinaus können die abgebildeten Spektren als Beispiel für einige infrarotspektroskopische Charakteristika der Derivate **1d** und **15c** dienen. Die Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate, hier am Beispiel der Verbindung **15c**, weisen neben dem charakteristischen Valenzsignal für die Carbonylgruppe der Esterfunktion im Bereich von 1740-1730 cm^{-1} zwei C=O Amidvalenzsignale im Bereich von 1700-1690 cm^{-1} (Lactam) und 1660-1640 cm^{-1} (Benzamid) auf (Abb. 28).

Die infrarotspektroskopischen Charakteristika der korrespondierenden *N*-Metyl-2-carboxamide können dem Spektrum von **15c** entnommen werden. Die Präsenz eines weiteren Amids führt zu einem charakteristischen doppelten, breiten Amidvalenzsignal bei 1690-1640 cm^{-1}, welches die C=O Valenzschwingung des Lactams (1681 cm^{-1}) und die C=O Valenzschwingung der Amide (1641 cm^{-1}) beinhaltet (Abb. 28).

In beiden Spektren können ebenfalls gut die C-H Valenzschwingungen des Isobutylsubstituenten im Bereich von 2960-2780 cm^{-1} beobachtet werden (Abb. 28).

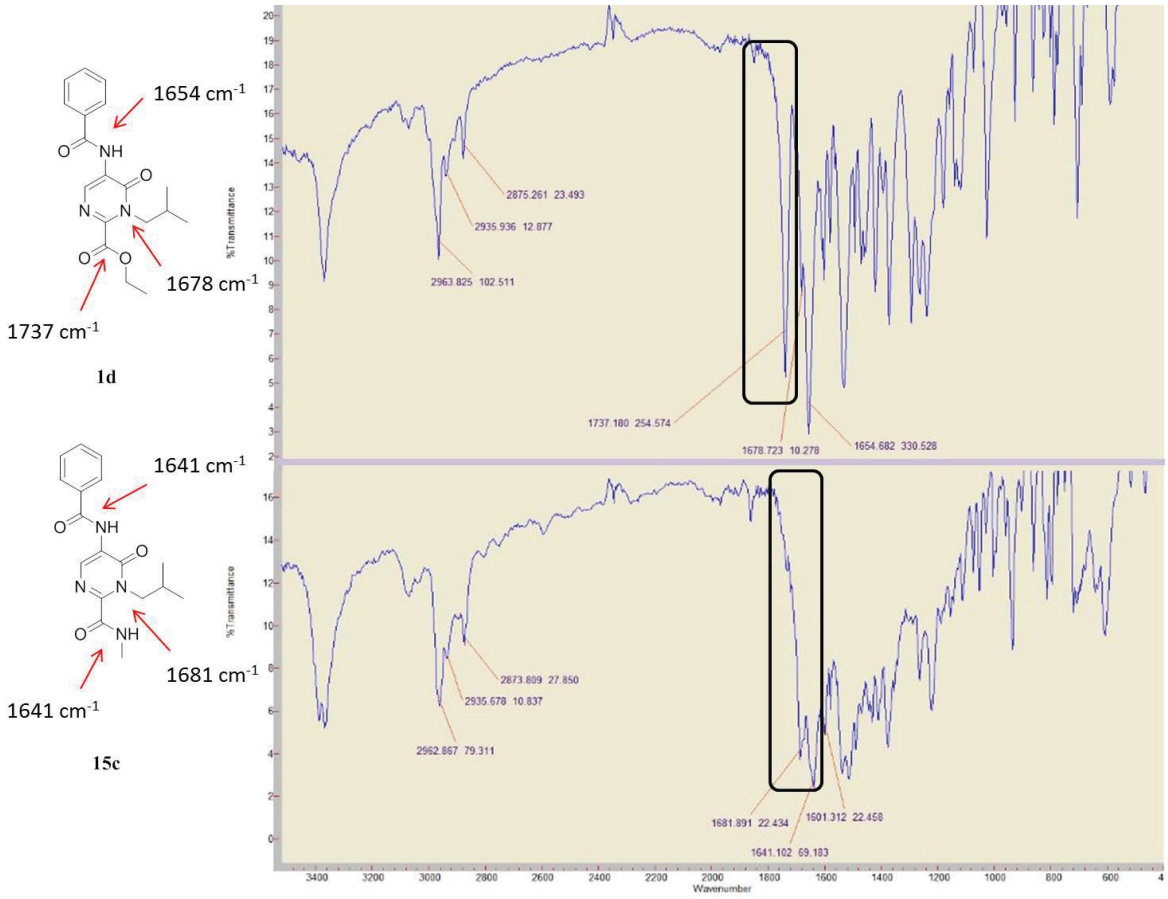


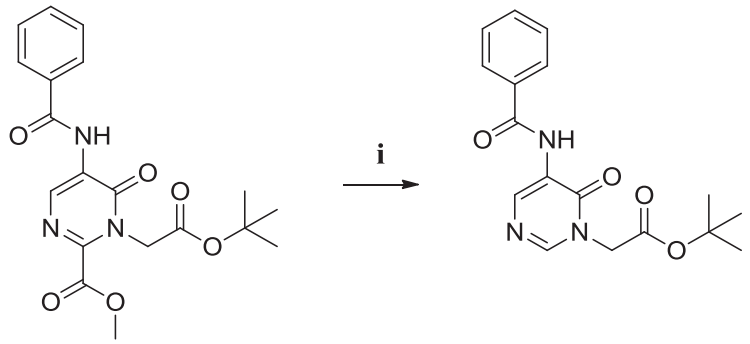
Abbildung 28: *Infrarotspektroskopischer Vergleich der Verbindungen **1d** und **15c** (KBr, Bereich von 3500-400 cm^{-1}).*

Während der Behandlung mit der wässrigen Methylaminlösung konnte im Fall von **1d** ein kurzzeitiger Farbwechsel von gelb nach rot beobachtet werden. Ob sich dieser mit der Theorie von *Riva et al.* erklären lässt, konnte nicht endgültig festgestellt werden (vgl. Abb. 15).

5.6 DARSTELLUNG DER LITHIUMCARBOXYLATE UND IHRE EIGENSCHAFTEN

Nachdem ein synthetischer Zugang zu den 5-Aminopyrimidonen **2a,b** gewonnen werden konnte, wurde die Synthese der für die anschließende Dimersynthese benötigten Pyrimidon-2-carboxylate **III** untersucht. Diese sollten durch die basische Hydrolyse der Estergruppe von **1** dargestellt werden.

Orientierende Experimente zur Hydrolyse der Esterfunktion von Verbindung **1h** mittels Lithiumhydroxidhydrat in wässrigem Methanol resultierten jedoch nur im decarboxylierten Produkt **17** (Schema 18).



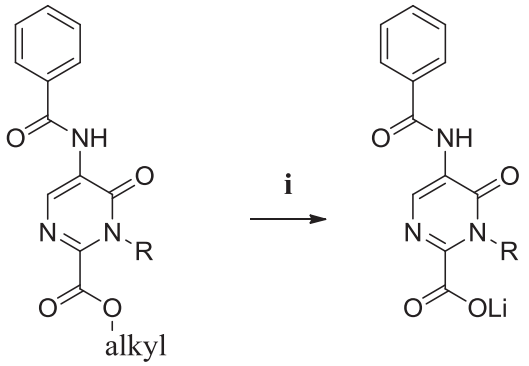
1h **18** (79%)

Schema 18: *Nebenreaktion der Hydrolyse von* ***1h****; i) a) LiOH·H_2O, H_2O, MeOH, RT, 18h, b) HCl.*

Die dünnschichtchromatographische Verlaufskontrolle lieferte den Hinweis auf die Ursache dieser Nebenreaktion. Während der Hydrolyse konnte eine Abnahme der Absorbtionslöschung des Edukts und eine Zunahme eines auf der Startlinie verbleibenden Flecks beobachtet werden. Der Startfleck entspricht den chromatographischen Eigenschaften des entstehenden Lithiumcarboxylats. Nach vollständiger Hydrolyse wurde das Lösungsmittel entfernt und durch Eiswasser ersetzt. Nach vorsichtigem Ansäuern des Lithiumsalzes auf einen pH-Wert von 2 konnte ausschließlich ein neuentstandenes unpolares Produkt isoliert werden, welches sich als das unerwünschte Nebenprodukt **18** herausstellte.

Diese Instabilität der Carbonsäure im wässrigen, sauren Milieu stellte jedoch kein Hindernis für diese Syntheseroute dar, da für die nachfolgende Kupplungsreaktion die Isolierung der Carbonsäure nicht notwendig war. Da Carbonsäuren diese Reaktion ohnehin meist in Form ihrer Carboxylate eingehen, stellen die stabilen, kristallinen Lithiumcarboxylate **LXIXa-j** geeignete Synthone für die nachfolgende Reaktion dar.

Deshalb wurde, basierend auf den gewonnenen Erkenntnissen, ein schonendes Hydrolyseverfahren zur Darstellung der Carbonsäuresalze **LXIXa-j** entwickelt. In der Folge wurden diese mit einer äquimolaren Menge Lithiumhydroxidhydrat in Methanol ohne Zugabe von Wasser hydrolysiert. Der Verlauf der Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt, dem Reaktionsansatz nach Ende der Hydrolyse das Lösungsmittel vollständig entzogen und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung umgesetzt (Schema 19).



1b, c, d, e, h, i, j, l, m, r

LXIXa: R = Isobutyl
LXIXb: R = *sec*-Butyl
LXIXc: R = 2-Propyl
LXIXd: R = 4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl
LXIXe: R = 4-Methoxybenzyl
LXIXf: R = 4-Benzyloxybenzyl
LXIXg: R = 4-Benzyloxyphenylethyl
LXIXh: R = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl
LXIXi: R = *tert*-Butoxy-2-oxopropyl
LXIXj: R = Ethyl

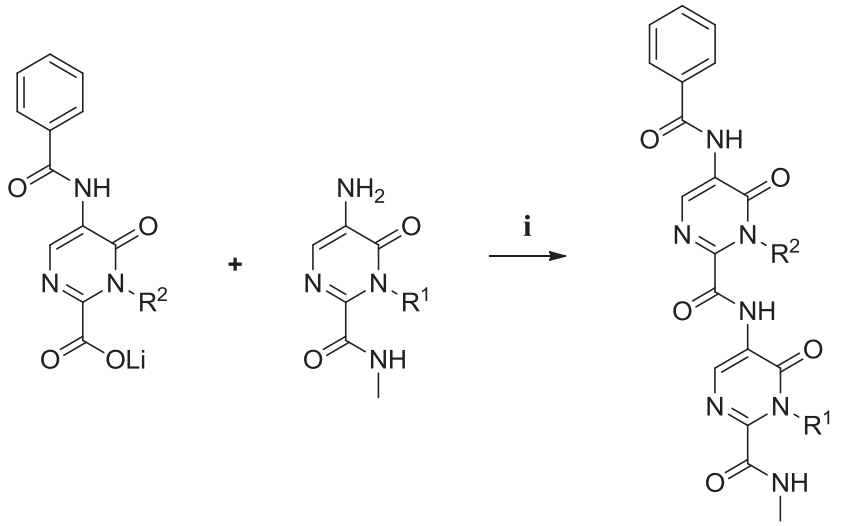
Schema 19: *Darstellung der Lithiumcarboxylate* ***LXIXa-j****; i) LiOH·H_2O, MeOH, RT, 6h.*

Die so gewonnen Lithiumcarboxylate **LXIXa-j** erwiesen sich über einen Zeitraum von sechs Monaten als stabil, sofern sie bei 8°C und unter Ausschluss von Feuchtigkeit gelagert wurden.

5.7 DARSTELLUNG DER DIMEREN PYRIMIDONAMIDE

Durch die erfolgreiche Darstellung der Synthone **2** und **LXIX** war es nun möglich, deren Kupplung zu den dimeren Pyrimidonamiden **3** zu untersuchen. Die Synthese der Dimere **3a,b** gelang in guten Ausbeuten durch Reaktion von **2a,b** und **LXIXa,b** unter Vermittlung des Kupplungsreagenzes 1-[(1-(Cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminooxy)-dimethylamino-morpholinomethylen)]-methanaminiumhexafluorophosphat (**COMU**) (Schema 20).

Ein intensiver Vergleich verschiedener Kupplungsreagenzien hatte zuvor ergeben, dass COMU von den untersuchten Kupplungsreagenzien am geeignetsten hinsichtlich der Geschwindigkeit und Vollständigkeit der Umsetzung war.



LXIXa,b **2a,b** **3a,b**

3a: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl (75%)
3b: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl (76%)

Schema 20: *Darstellung der Dimere **3a,b**; i) COMU, DMF, RT, 18h*

Für die durchgeführte Vergleichsstudie wurden jeweils ein Äquivalent 5-Aminopyrimidon **2a** mit 1,5 Äquivalenten Lithiumcarboxylat **LXIXb** und 1,8 Äquivalenten Kupplungsreagenz in Dimethylformamid für 24 Stunden zur Reaktion gebracht. Die Auswahl der Kupplungsreagenzien umfasste COMU, HATU, HBTU, PyBOP und DIC/Oxyma, da diese Vertreter der meist verbreitetsten Kupplungsreagenzien darstellen (Abb. 29).[ii] Das Reaktionsgemisch wurde HPLC-chromatographisch zu zuvor festgelegten Zeitpunkten analysiert und die prozentuale Umsetzung des Edukts **3a** bestimmt.

Als Ergebnis der Studie konnte festgestellt werden, dass COMU nach drei Stunden eine nahezu vollständige Umsetzung des Edukts **2a** zum Produkt **3a** vermittelte. Alle anderen getesteten Kupplungsreagenzien waren COMU hinsichtlich der Geschwindigkeit und Vollständigkeit der Umsetzung deutlich unterlegen (Tabelle 3).

[ii] Oximderivate (COMU, Oxyma), Carbodiimide (DIC) und Hydroxybenzotriazolderivate (HBTU, PyBOP, HATU)

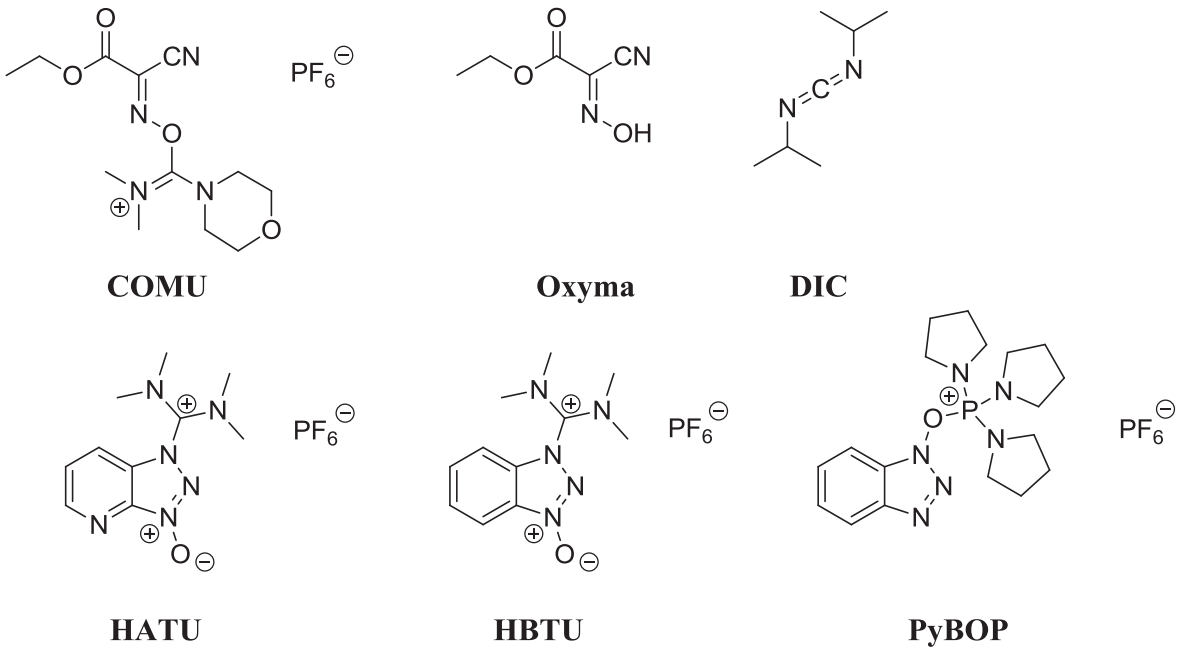


Abbildung 29: *Verglichene Kupplungsreagenzien.*

Tabelle 3: Ergebnisse der Kupplungsoptimierung.

Nummer	Kupplungsreagenz	Zeit [a]	Umsetzung [b]
1	COMU	1	92
2	COMU	3	95
3	HATU	1	74
4	HATU	24	78
5	PyBop	1	35
6	PyBop	24	44
7	HBTU	1	26
8	HBTU	24	37
9	DIC/Oxyma	1	11
10	DIC/Oxyma	24	18

*[a] Zeit in Stunden bis zur Durchführung der HPLC Analyse, [b] Umsetzung (%) wurde berechnet als [Fläche% [Produkt]/(Fläche% [Startmaterial] + Fläche% [Produkt]) * 100]*

Die Vermittlung der Amidkupplung durch die oben aufgeführten Kupplungsreagenzien basiert in der Regel auf der Bildung eines Aktivesters aus dem Kupplungsreagenz und dem eingesetzten Carbonsäurederivat. Bei der unten skizzierten Vermittlung durch COMU bildet sich

im ersten Schritt ein *O*-Acylisoharnstoff **LXX**, welcher in der Folge durch das, aus dem Zerfall von COMU entstandene, Oximanion **LXXI** schnell in das Acyloximderivat **LXXII** umgewandelt wird. Dieser Aktivester reagiert dann mit dem zugesetzten Stickstoffnukleophil zum Amid **LXXIII** (Abb. 30).[98]

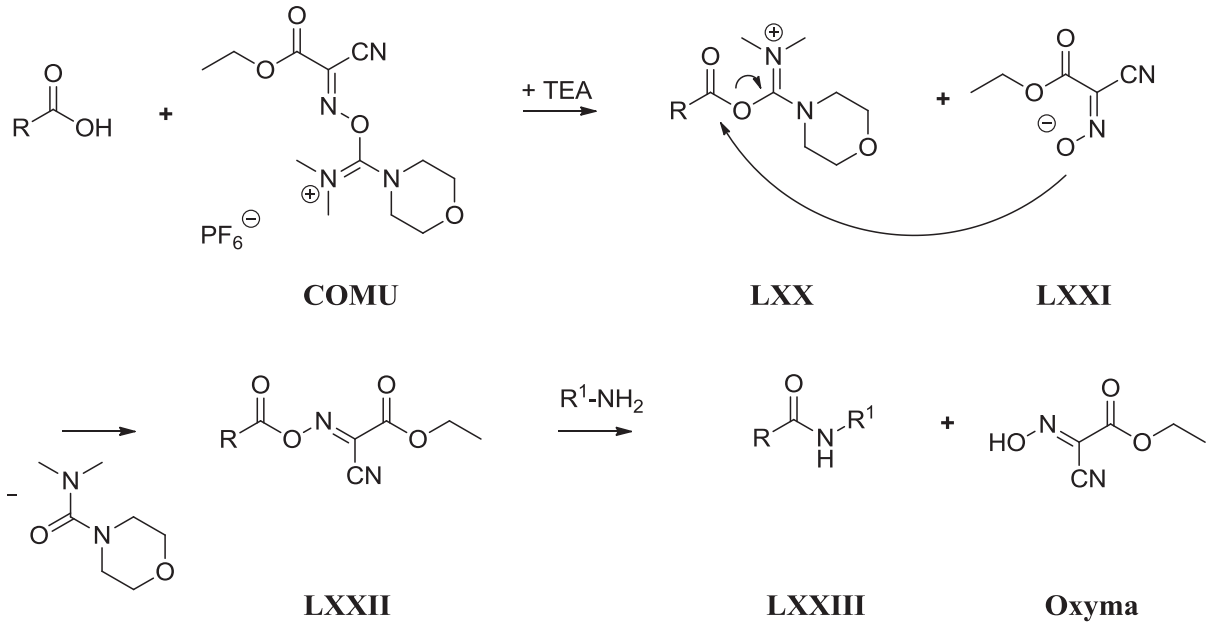


Abbildung 30: *COMU-vermittelte Amidkupplung nach Montalbetti und Falque.*

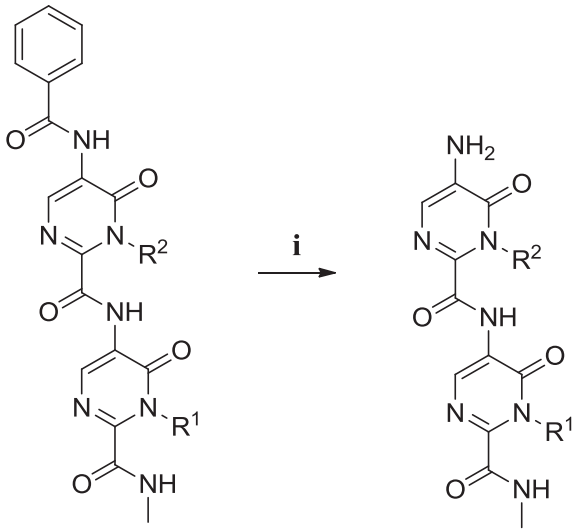
Einen zusätzlichen Vorteil von COMU stellt die einfache Aufarbeitung des Reaktionsansatzes dar. Durch Extraktion mit basischer Waschlösung kann das austretende Oxyma (vgl. Abb. 29) gut aus dem Reaktionsansatz entfernt werden. Dies bietet vor allem gegenüber den gebräuchlichen Carbodiimid-Kupplungsreagenzien (DIC, DCC [jj]) große Vorteile, da diese nach der Kupplung als schwer lösliche Harnstoffderivate vorliegen und durch aufwendige chromatographische Reinigung entfernt werden müssen.

5.8 DARSTELLUNG DER DIMEREN 5-AMINOPYRIMIDONAMIDE

Nach der erfolgreichen Synthese der dimeren Benzamide **3a,b** konnte nun untersucht werden, ob sich diese regioselektiv entschützen lassen würden. Basierend auf den zuvor gewonnenen Erkenntnissen zur Darstellung der monomeren 5-Aminopyrimidonderivate **2a,b** ließen sich

[jj] DCC= Dicyclohexylcarbodiimid

die dimeren Benzamide **3a,b** nach der gleichen Vorschrift in guten Ausbeuten synthetisieren. Die Verwendung von drei Äquivalenten Natriumhydroxid in Methanol resultierte in der regioselektiven Hydrolyse des Benzamids (Schema 21).



3a,b **4a,b**

4a: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl (77%)
4b: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl (74%)

Schema 21: *Darstellung der dimeren 5-Aminopyrimidonamide* ***4a,b****; i) NaOH, MeOH, 80°C, 6h.*

Die nicht erwünschte Hydrolyse der Pyrimidonamidbindung konnte unter diesen Reaktionsbedingungen nicht beobachtet werden. Erst unter drastischeren Bedingungen war eine Hydrolyse dieser Bindung nachweisbar (Abb. 31).[kk] Hierbei zeigte die durchgeführte dünnschichtchromatographische Verlaufskontrolle, dass zuerst das gewünschte dimere Aminoderivat gebildet wurde, welches im Anschluss in seine Monomere zerfiel. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die Selektivität der Hydrolyse stark von den gewählten Bedingungen abhängt.[ll]

[kk] Einsatz der Mikrowelle (100°C, 10 min, 200 Watt) oder verlängertes konventionelles Erhitzen (80°C, 18h)
[ll] 80°C, 6-8h

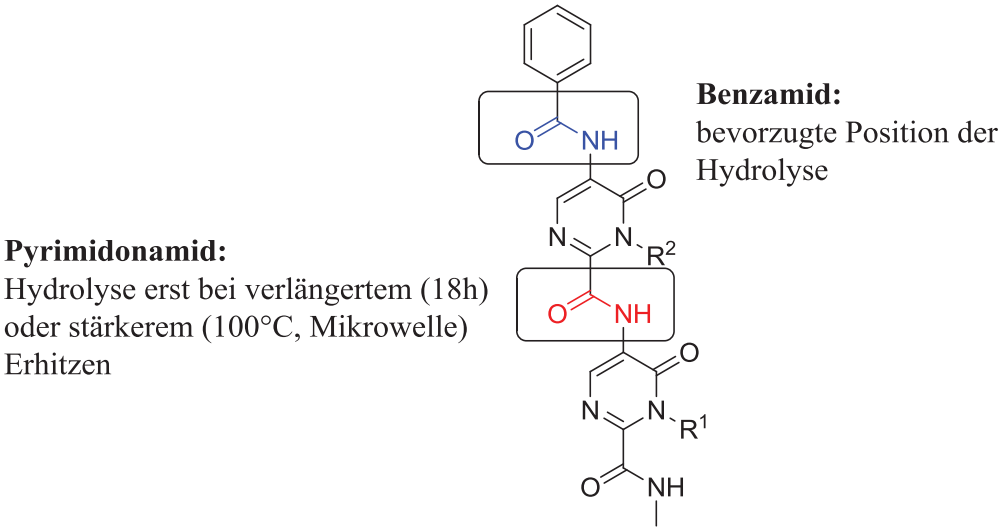
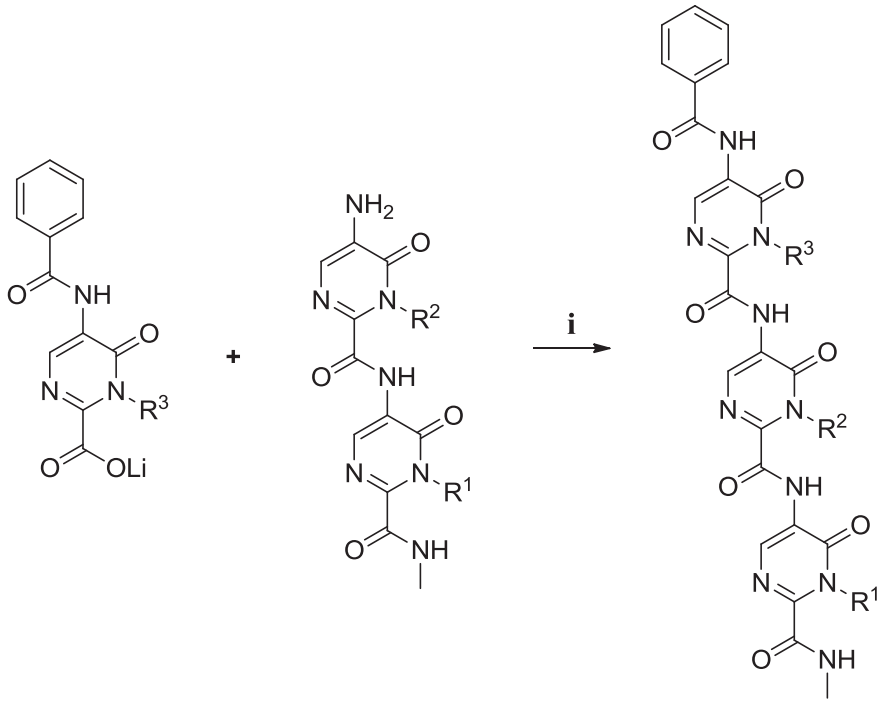


Abbildung 31: *Hydrolyseverhalten der dimeren 5-Benzaminopyrimidonamide **3** unter basischen Bedingungen.*

5.9 DARSTELLUNG DER TRIMEREN PYRIMIDONAMIDE

Durch die erfolgreiche Entschützung der Verbindungen **4a,b** war es im Anschluss möglich, den Zugang zu den Trimeren **5** zu untersuchen. Das zuvor optimierte Kupplungsprotokoll für die Synthese der dimeren Pyrimidonamide **3a,b** zeigte sich übertragbar und ermöglichte die Darstellung der trimeren Endverbindungen **5a,b** in befriedigenden Ausbeuten durch Acylierung der dimeren Aminoderivate **4a,b** mit den Lithiumcarboxylaten **XLIXc,d** unter Vermittlung von COMU (Schema 22).

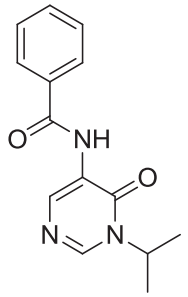


LXIXc,d **4a,b** **5a,b**

5a:
R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 2-Propyl (65%)
5b:
R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl, R^3 = 4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl (41%)

Schema 22: *Darstellung der Trispyrmidonamide* ***5a,b****; i) COMU, DMF, RT, 18h.*

Bei der Analyse der Reaktionsprodukte konnte im Fall der Synthese von **5a** auch das decarboxylierte Nebenprodukt **LXXIV** NMR-spektroskopisch detektiert werden (Abb. 32). Als Erklärung hierfür bietet sich die zuvor erwähnte Decarboxylierungsneigung der Lithiumcarboxylate **LXIX** an. So ist es denkbar, dass aus dem überschüssig eingesetzten Lithiumcarboxylat **LXIXc** während der Reaktion oder der wässrigen Aufarbeitung das Nebenprodukt **LXXIV** ohne Verringerung der Ausbeute entstanden ist.



LXXIV

Abbildung 32: *Decarboxyliertes Nebenprodukt* ***LXVIV*** *der Synthese von* ***5a****.*

5.10 FAZIT DER SYNTHESE DER TRIMERE

Abschließend ist festzuhalten, dass es gelungen ist, das Grundgerüst der trimeren Pyrimidonamide **5** ausgehend von Cyanameisensäuremethyl- bzw. Cyanameisensäureethylester **LXVIIa,b** über eine vierzehnstufige Synthesesequenz darzustellen. Die Synthese der Monomere **1** stellte dabei eine besondere Herausforderung dar. Orientierende Versuche an 5-Nitropyrimidonen erlaubten keinen effizienten Zugang zu dem benötigten Verbindungstyp. Erst durch die Synthese von *N*-substituierten Alkyl 5-Benzamidopyrimidon-2-carboxylaten **1a-q** konnten diese zugänglich gemacht werden. Eine sorgfältige Prozessoptimierung, die aufgrund der Reaktivität der funktionellen Gruppen in Ringposition 2 und 5 nötig war, ermöglichte die anschließende Umwandlung von **1** in die Intermediate **2a,b** und **LXIXa-j**. Vor allem die Entfernung der *N*-Benzoylschutzgruppe in 5-Position bedurfte einiger Optimierung, da ihre basische Hydrolyse sorgfältig auf die Reaktivität der übrigen Strukturmerkmale abgestimmt werden musste. Um den Verlust der reaktiven Esterfunktion in 2-Position unter diesen Bedingungen zu vermeiden, wurde diese zuvor in ein *N*-Methylcarboxamid umgewandelt. Nach der Optimierung der Kupplungsbedingungen konnten aus diesen Synthonen die Dimere **3a,b** dargestellt werden. Durch eine regioselektive Entschützung und erneuter Amidkupplung war der Zugang zu den Trimeren **5a,b** gegeben. Die Forderung nach einen vielseitig nutzbaren Synthesekonzept, das den Zugang zu Oligomeren mit Surrogaten von unterschiedlich funktionalisierten Aminosäuren erlaubt, konnte anhand der synthetisierten Beispiele **5a,b** erfüllt werden.

6. KONFORMATIONSANALYSE

Nach der erfolgreichen Synthese der Trispyrimidonamide **5a,b** war es von entscheidender Bedeutung, die Konformation des Trispyrimidonamidgrundkörpers, die Orientierung der Seitenketten und die Frage, welche Positionen auf der α-Helix nachgeahmt werden können, zu untersuchen.

Zur Aufklärung der Konformation wurden Röntgenkristallstrukturanalysen sowie zweidimensionale NMR-Spektren benutzt. Monokristalle ausreichender Qualität der Verbindung **5a** konnten durch das „vapor diffusion"-Verfahren gewonnen werden.[mm] Die Monokristalle von Verbindung **5a** konnten im Arbeitskreis von *Prof. Dr. Walter Frank* (Lehrstuhl für Material- und Strukturforschung, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) röntgendiffraktometrisch analysiert werden.

Das Ergebnis der Analyse zeigt, dass die Modellsubstanz im kristallinen Zustand eine der Konformation A1 vergleichbare Raumstruktur einnimmt.[nn] Die Seitenketten der Ringe A und

---

[mm] Hierbei wurde der amorphe Stoff (1 mg) in Dimethylformamid (0,5 ml) gelöst und in ein kleines Probenglas (Volumen 1 ml) gefüllt. Dieses Glas wurde anschließend in ein größeres Glas gestellt, in welchem der Boden mit Wasser (5 ml) bedeckt war. Das Glas wurde fest verschlossen und für eine Woche auf die Fensterbank platziert. Durch die Wärmeeinstrahlung verdunstet das Wasser und bildet ein Lösungsmittelgemisch mit dem Dimethylformamid im Probenglas. Dadurch ändert sich die Löslichkeit der Substanz und sie kristallisiert.

[nn] Zum besseren Verständnis werden die entscheidenden Konformationen im weiteren Verlauf als A1 und A2 bezeichnet, wobei die Konformation A1 einen invertierten Mittelring aufweist und somit nur zwei „hotspot"-Positionen der Helix adressieren kann (Abb. 33, A). Die Konformation A2 weist diesen invertierten Ring nicht auf (Abb. 33, B).

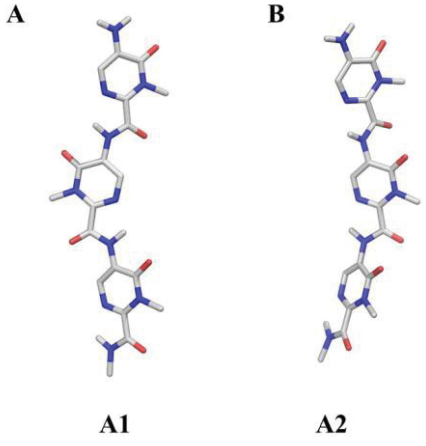


Abbildung: *Mögliche Konformere **A1** und **A2** der Trispyrimidonamide (A, B).*

C zeigen zu einer Seite aus dem Molekül, wohingegen der Ring B invertiert ist und zur entgegengesetzten Seite zeigt (Abb. 33, A).

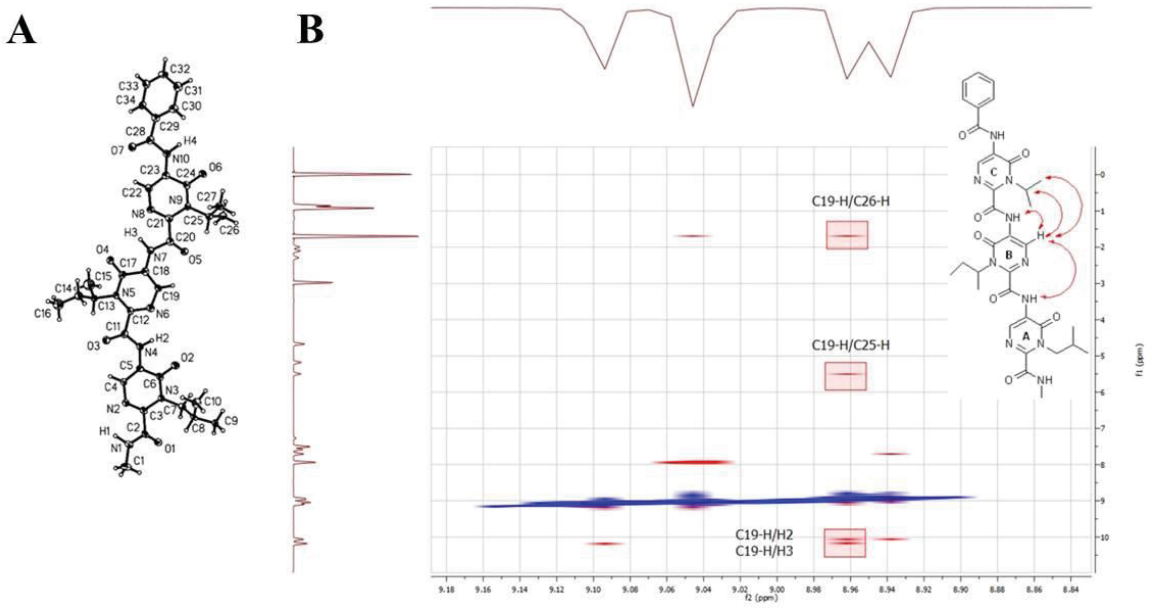


Abbildung 33: *Strukturanalyse von Verbindung* ***5a, A)*** *röntgendiffraktometrische Analyse und* ***B)*** *^{1}H-^{1}H-ROESY (Region zwischen 9.18 - 8.84 ppm, 600 MHz, $CDCl_3$) mit markierten Wechselwirkungen in Rot.*

Um das Verhalten von **5a** in Lösung zu studieren, wurden zweidimensionale ROESY-NMR-Spektren aufgenommen. Aufgrund der schlechten Löslichkeit in polaren deuterierten Lösungsmitteln wie D_2O oder MeOH-d_4 wurde $CDCl_3$ für die Messung verwendet.

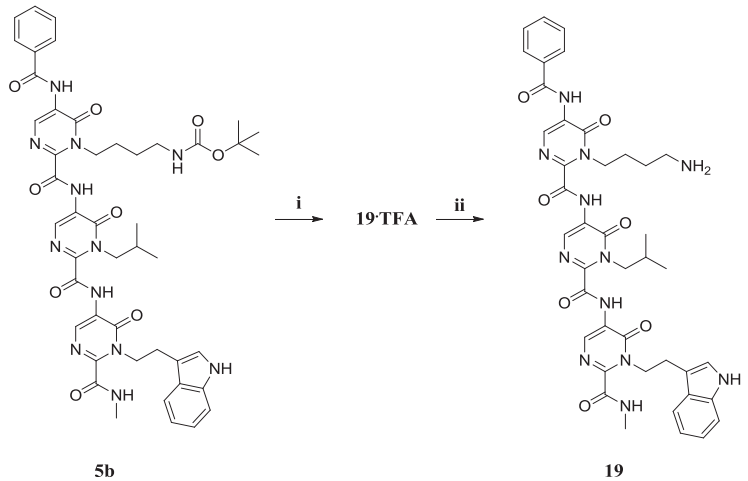
Die Auswertung des ROESY-Spektrums ergibt, dass auch in $CDCl_3$ mit A vergleichbare Konformation vorherrscht (Abb. 33, B). Dies konnte deutlich an den Kreuzsignalen des Protons an Position C19 erkannt werden. Für das Proton konnten Wechselwirkungen mit beiden Amidstickstoffatomen zwischen Ring A und B sowie Ring B und C sowie den Protonen der Methylen- und der Methingruppe des Isopropylrests an Ring C detektiert werden (Abb. 33, B). ROE-Kreuzsignale, welche auf ein Vorhandensein der Konformation A2 hinweisen, konnten nicht beobachtet werden.

Für die Abwesenheit der Konformation A2 sind zwei Erklärungen möglich. Einerseits werden in ROESY-Spektren ausschließlich Interaktionen zwischen Protonen detektiert, welche maximal 4,5 - 5,0 Å von einander entfernt liegen. Dies bedeutet, dass für die Detektion möglicher Interaktionen des Konformers A2, z. B. zwischen den Seitenketten der Ringe A und B, diese Distanz überschritten sein könnte, so dass keine Signale messbar waren. Weiterhin kann

nicht ausgeschlossen werden, dass der Einfluss des unpolaren Lösungsmittels zu einer Bevorzugung der Konformation A1 aus thermodynamischen Gründen geführt hat.

Um den Einfluss des Lösungsmittels auf die Konformation des Grundgerüsts weiter zu studieren, wurde ein ROESY-NMR-Spektrum der Verbindung **19·TFA** in Methanol-d_4 aufgenommen (Abb. 34).[oo]

[oo] Im Rahmen der Konformationsanalyse der Trispyrimidonamide wurde ein Derivat mit erhöhter Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln benötigt. Durch die Acidolyse der BOC-Schutzgruppe der Verbindung **5b** gelang es, ein solches darzustellen. Die Verwendung einer gesättigten etherischen Hydrogenchlorid-Lösung verlief in einem ersten Versuch nur in unzufriedenstellender Geschwindigkeit und Ausbeute. Die säurekatalysierte Entschützung mittels Trifluoressigsäure lieferte in einem zweiten Experiment ein verbessertes Ergebnis. Die resultierende Verbindung **19·TFA** konnte durch Behandlung mit gesättigter Natriumhydroxid-Lösung in die Base **20** überführt und anschließend in Ethylacetat extrahiert werden (Schema unten).



Schema: *Synthese des entschützten Amins **19**; i) TFA, DCM; ii) NaOH.*

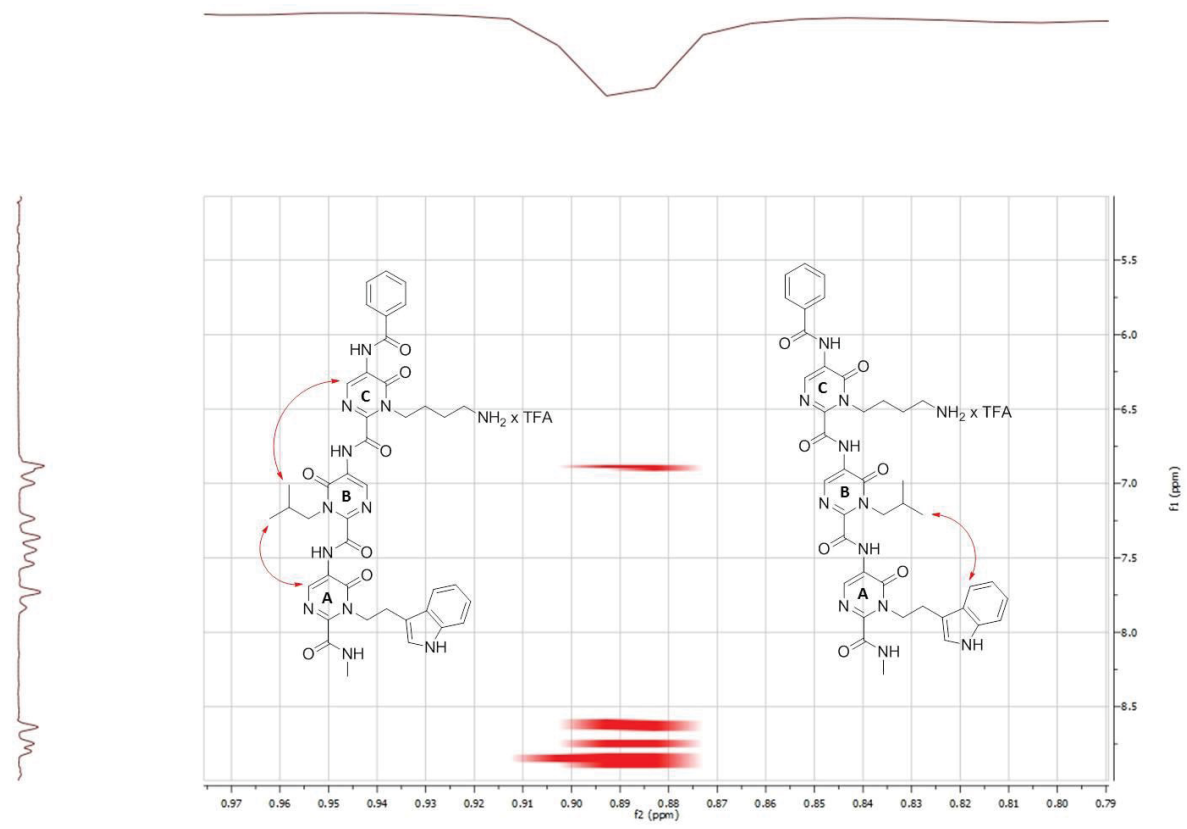


Abbildung 34: *1H-1H-ROESY Spektrum von* ***19·TFA*** *(Region zwischen 0.97 - 0.79 ppm, 600 MHz, MeOH-d_4) mit markierten Wechselwirkungen in Rot.*

Die Messung detektierte ein Kreuzsignal, das der Wechselwirkung zwischen dem Proton an 4-Position des Indolrings mit den Protonen der Methylgruppen des Isobutylrests an Ring B entspricht (Abb. 34). Dies belegt eindeutig die Konformation A2. Neben diesem Signal konnten jedoch auch Wechselwirkungen zwischen den Protonen der Ringe A und C mit den Protonen der Methylgruppen des Isobutylrests beobachtet werden (Abb. 34). Diese Kreuzsignale weisen auf die Anwesenheit des Konformers A1 hin.

Das Ergebnis der Messung lässt den Schluss zu, dass beide Hauptkonformere der Verbindung **19·TFA** während der Messung vorliegen. Eine schnelle Konformationsumwandlung durch Rotation um die Amidbindungen zwischen Ring A und B oder Ring B und C kann deshalb nicht ausgeschlossen werden. Dieser Effekt wurde in Studien an Oligoamiden bereits mehrfach beobachtet.[99-101]

Um den Einfluss des Lösungsmittels weiter zu studieren, wurden *in silico*-Untersuchungen durch die Arbeitsgruppe von *Prof. Dr. Holger Gohlke* durchgeführt. Die Kalkulationen lassen den Schluss zu, dass das unpolare Lösungsmittel Chloroform die Konformation A1 im Verhältnis von 98,5:1,5 gegenüber A2 begünstigen könnte. Im polareren Lösungsmittel Methanol

wäre jedoch die Konformation A2 im Verhältnis 81:19 bevorzugt. Wird in den Computermodellen Wasser als Lösungsmittel simuliert, wäre die Konformation A2 im Verhältnis von 99:1 bevorzugt.

Des Weiteren sollte durch *Emanuele Ciglia* (*AK Prof. Dr. Holger Gohlke*) untersucht werden, welche „hot-spot"-Positionen bevorzugt von den Proteomimetika des Typs **5** adressiert werden könnten. Durch Molekulardynamik-Untersuchungen und vorausgegangene *ab initio*-Kalkulationen konnte eine energieminimierte Struktur des allmethylsubstituierten Konformers A2 vorhergesagt werden, welche anschließend mit der kanonischen α-Helix des Dexaalaninpeptids verglichen werden sollte (Abb. 35).

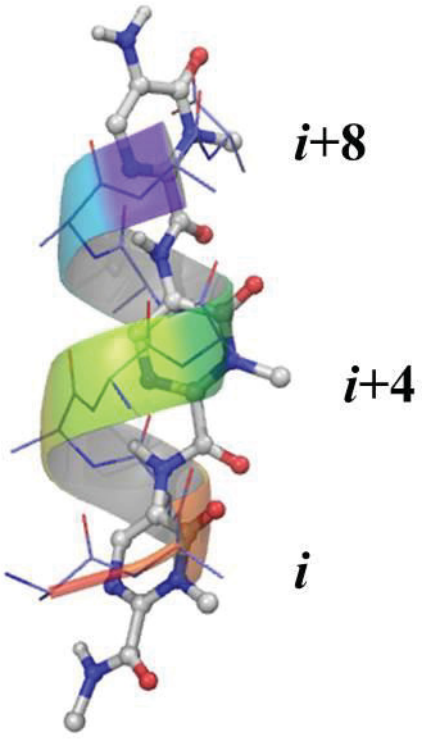


Abbildung 35: *Räumlicher Vergleich des Konformers A2 mit der kanonischen Dexaalaninhelix.*

Durch Überlagerung der C_β-Atome der Helix mit den Methylseitenketten der Konformation A2 konnte eine gute Abdeckung der Positionen *i*, *i*+4, *i*+8 simuliert werden (Abb. 35). Der RMSD-Wert berechnet sich mit 0,69 Å.[pp] Dies bedeutet, dass die beiden Geometrien gut ver-

[pp] Dies bedeutet, dass die drei verglichenen Atompaare im Mittel 0,69 Å auseinanderliegen, dies bedeutet eine sehr geringe räumliche Abweichung und liegt im Bereich anderer α-Helixmimetika wie den Trisbenzamiden

gleichbare räumliche Charakteristika aufweisen. Bisher ist nur ein anderes α-Helixmimetikum mit der Möglichkeit zur Adressierung dieser Positionen beschrieben worden.[52]

Für den Vergleich mit den C_β-Atomen der Positionen *i*, *i*+4, *i*+7 ließ sich ein RMSD-Wert von 1,2 Å kalkulieren. Obwohl das Ergebnis der Überlagerung nicht das gleiche hohe Maß an Übereinstimmung zeigt, ist dieser Wert mit denen anderer berichteter α-Helixmimetika (*Hamiltons* Terephthalamide: 1,03 Å) vergleichbar und lässt somit den Schluss zu, dass auch die Abdeckung von „hot-spots" an den Positionen *i*, *i*+4, *i*+7 möglich sein könnte.[qq]

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Kristallstruktur der Verbindung **5a** analysiert werden konnte. Aus dieser ist abzuleiten, dass die Konformation A1 im kristallinen Zustand bevorzugt vorliegt. In ROESY-NMR-Untersuchungen war für die gleiche Substanz in unpolarem Lösungsmittel ($CDCl_3$) ebenfalls ausschließlich die Konformation A1 nachweisbar. Im Spektrum der Verbindung **19·TFA** in MeOH-d_6 konnten jedoch Signale für beide Konformere A1 und A2 detektiert werden. Durch Computermodelle konnten Hinweise auf eine Konformationsrigidisierung durch den Einfluss des Lösungsmittels erhalten werden. Diese Simulationen lassen den Schluss zu, dass unpolare Lösungsmittel die Konformation A1 begünstigen könnten, wohingegen ein polares Milieu, wie es auch physiologisch vorherrscht, die Ausbildung der Konformation A2 fördern sollte.

Dies bedeutet zusammenfassend, dass das Grundgerüst der synthetisierten Trispyrimidonamide thermodynamisch in der Lage sein sollten, die für ihre Wirkweise essenzielle Konformation A2 unter physiologischen Bedingungen einzunehmen, wobei die Seitenketten sowohl die Interaktionsstellen *i*, *i*+4 und *i*+8 als auch die Positionen *i*, *i*+4 und *i*+7 auf einer α-Helix adressieren könnten.

(RMSD: 0,94 Å). Für den Vergleich ist der Ring C (vgl. Abb. 36) des Trispyrimidonamids in Richtung des C-Terminus orientiert.

[qq] In der Analyse ist der Ring C (vgl. Abb. 36) des Trispyrimidonamids in Richtung des C-Terminus orientiert.

7. INHIBITORDESIGN UND SYNTHESE

Nach der erfolgreichen Synthese und der Aufklärung der räumlichen Struktur des Grundgerüsts sowie der Seitenketten der Trispyrimidonamide **5** sollte deren Einsatz als α-helixmimetische Inhibitoren der Oligomerisierung der Zielproteine HSP90 und AML/ETO untersucht werden.

Die Analyse der Proteinstrukturen und das Design der Inhibitoren basierte auf computergestützten Simulationen von *Emanuele Ciglia* (HSP90) und *Alexander Metz* (AML/ETO, beide *AK Prof. Dr. Holger Gohlke*).

7.1 HITZE-SCHOCK-PROTEIN 90 (HSP90)

Das Hitze-Schock-Protein 90 (HSP90) ist Teil der Chaperonfamilie lebender Zellen. Chaperone sind eine heterogene Proteinfamilie, deren Hauptaufgabe es ist, Klientproteine zu falten und somit in ihre funktionelle Konformation zu überführen. Dies bedeutet, dass translatierte, nicht aktive oder denaturierte Proteine sich nicht spontan in ihre physiologische Tertiärstruktur falten, sondern diese Arbeit von Chaperonen durchgeführt wird. Für diese Arbeit ist Energie in Form von ATP notwendig. Eine weitere Funktion der Chaperone besteht in der Faltung von Proteinen, die durch die Zellmembran ins Innere der Zelle transportiert worden sind. Für den Transport durch die Zellmembran müssen Proteine als lange, unpolare Peptidketten vorliegen. Um nach dem Transport wieder ihre native Konformation zu adaptieren, müssen diese gefaltet werden, wobei zuvor verborgene polare Gruppen wieder in Erscheinung treten.[102-104]

HSP90 ist ein flexibles Homodimer und macht 1-2 % der Gesamtproteinmenge von humanen Zellen aus. Bislang konnten fünf Isoformen von HSP90 identifiziert werden, welche im Cytoplasma (HSP90 α/β), im endoplasmatischen Retikulum (GRP94), mitochondrial (TRAP1) und membran-assoziiert (HSP90N) vorliegen.[105] Seine beiden Monomereinheiten lassen sich wiederum in drei Untereinheiten gliedern. Eine N-terminale ATP-bindende Region, eine Mitteldomäne, welche für die ATP-Hydrolyse verantwortlich ist, und eine C-terminale Dimerisierungsdomäne. Der C-Terminus reguliert darüber hinaus auch die Aktivität der ATPase und die Anlagerung von Cochaperonen. Diese spielen in der Modulation der Klientproteine und der Stabilität des Homodimers eine wichtige Rolle und beeinflussen wiederum die Aktivität der ATPase. Zellulärer Stress wie Hitze, Hypoxie und Oxidation führt zu einer Überexpression von HSP90. Diese physiologische Reaktion stellt durch die Refunktionalisierung denaturierter Proteine die Proteostase und damit das Zellüberleben sicher.[106]

Der Mechanismus der Proteinfaltung durch HSP90 ist aufgeklärt und kann folgendermaßen beschrieben werden: Zuerst legt sich ein ungefaltetes Protein in die geöffnete Form des Homodimers (Abb. 36, A). Nun binden zwei Moleküle ATP in die N-terminal lokalisierten ATP-Bindungstaschen und das Dimer schließt sich um das Protein. Es bildet eine metastabile, verdrillte Konformation (Abb. 36, B). Im nächsten Schritt wird ATP zu ADP hydrolysiert und das Protein im Bereich der Mitteldomäne gefaltet. Nach der Faltung öffnet sich das geschlossene Dimer, um das Protein zu entlassen (Abb. 36, C). Durch Abspalten von ADP nimmt das HSP90 wieder seine ursprüngliche, weit geöffnete Konformation ein und steht damit zur erneuten Faltung bereit (Abb. 36, D).[107]

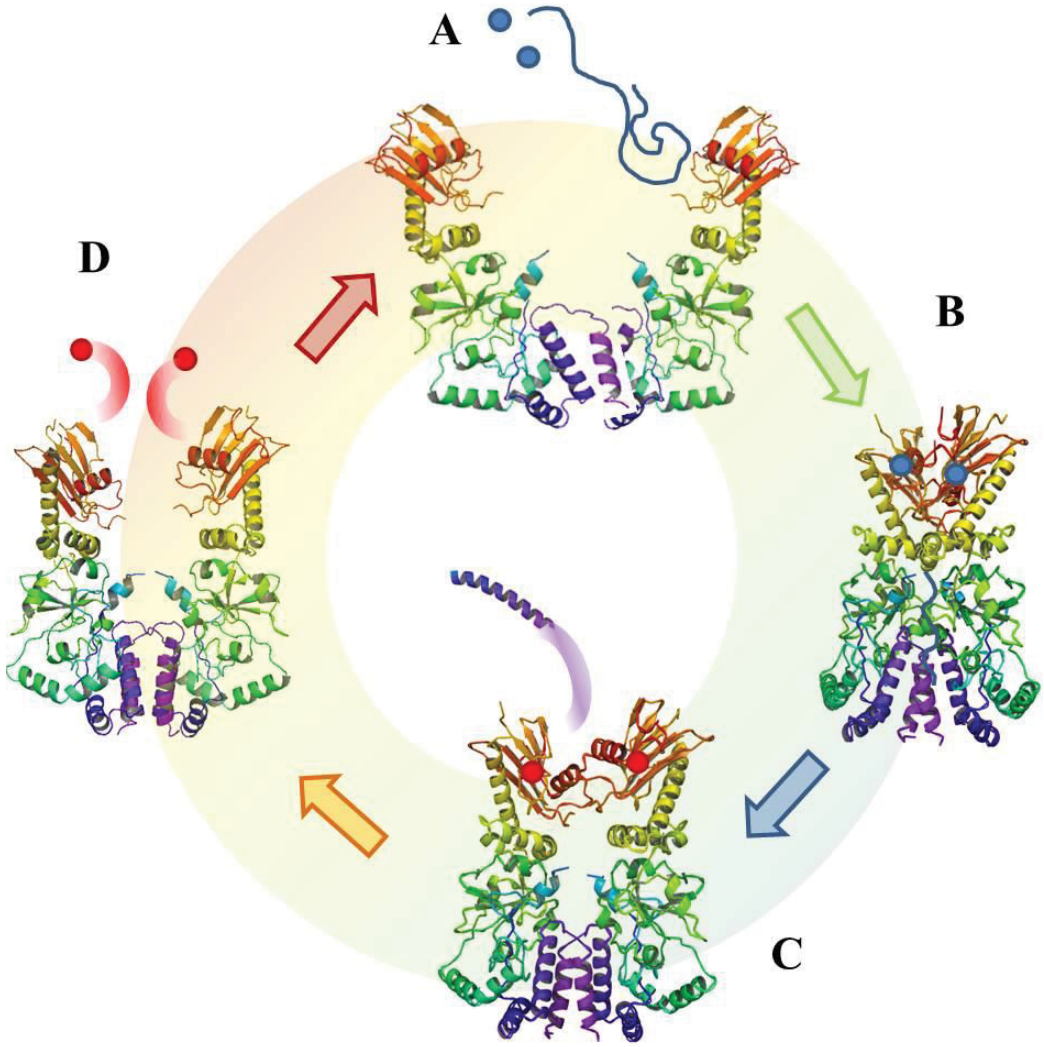


Abbildung 36: *Schematische Darstellung der Proteinfaltung durch HSP90,* ***A)*** *Bindung von Klientprotein und ATP,* ***B)*** *ATP-Hydrolyse und Proteinfaltung,* ***C)*** *Freisetzung des gefalteten Proteins und* ***D)*** *Abspaltung von ADP und Ausbildung der Grundkonformation.*

Neben der bereits erwähnten physiologischen Bedeutung ist HSP90 auch von therapeutischem Interesse, da es Einfluss auf die pathophysiologische Kaskade maligner Entartungen nimmt.[108, 109] Tatsächlich kann eine erhöhte Toxizität von bekannten HSP90-Inhibitoren gegen Tumorzellen im Vergleich zu gesunden humanen Zellen beobachtet werden.[110] Dieser Effekt beruht auf mehreren Eigenschaften. Zum einen wurden bisher rund 100 Klienten von HSP90 identifiziert, unter denen sich auch tumorassoziierte Proteine wie Steroidhormonrezeptoren, Kinasen und Transkriptionsfaktoren befinden. Darüber hinaus weisen entartete Zellen eine verstärkte Chaperonaktivität auf, was den Schluss zulässt, dass Krebszellen verstärkt diese onkogenen Proteine translatieren.[111, 112] Zudem wird die Tumorzelle durch die Chemotherapie vorsätzlich einem erhöhten Maß an Stress ausgesetzt. Der zellprotektive Effekt des HSP90 wirkt sich somit negativ auf die Wirkung der Zytostatika aus. Durch eine Inhibition des Chaperons könnten sich potenzielle Synergien mit Zytostatika ausnutzen lassen. Neuerdings werden auch pathophysiologische Veränderungen des Zentralnervensystems und der Entzündungskaskade mit HSP90 in Verbindung gebracht.[110] Diese Gründe machen HSP90 zu einem attraktiven Zielprotein in der Entwicklung von Therapeutika gegen die genannten Erkrankungen.

Die Naturstoffe Geldanamycin (GM, Abb. 37) und Radicicol wurden als erste HSP90-Inhibitoren identifiziert. Das 1970 aus dem Bakterium *Streptomyces hygroscopius* gewonnene benzochinoide Ansamycin Geldanamycin wurde mittels Kristallstrukturanalyse als kompetitiver Inhibitor der ATP-Bindung an die N-terminale ATPase-Region identifiziert.[113] Unklar ist hingegen der Grad der Inhibition, da ein weites Spektrum von Hemmkonstanten publiziert wurde, welche eine sehr gute bis mittelmäßige Aktivität vermuten lassen.[114] Aufgrund von hepatotoxischen Nebenwirkungen und schlechter Wasserlöslichkeit befindet sich eine Liposomenformulierung seines Derivats 17-AAG (Abb. 37) im Zulassungsverfahren. Zur Verbesserung des Nebenwirkungsprofils und der Wasserlöslichkeit wurde eine zweite Generation von Derivaten wie 17-DMAG und IPI-504 (Abb. 37) entwickelt, deren klinische Evaluation aber gestoppt wurde.[108]

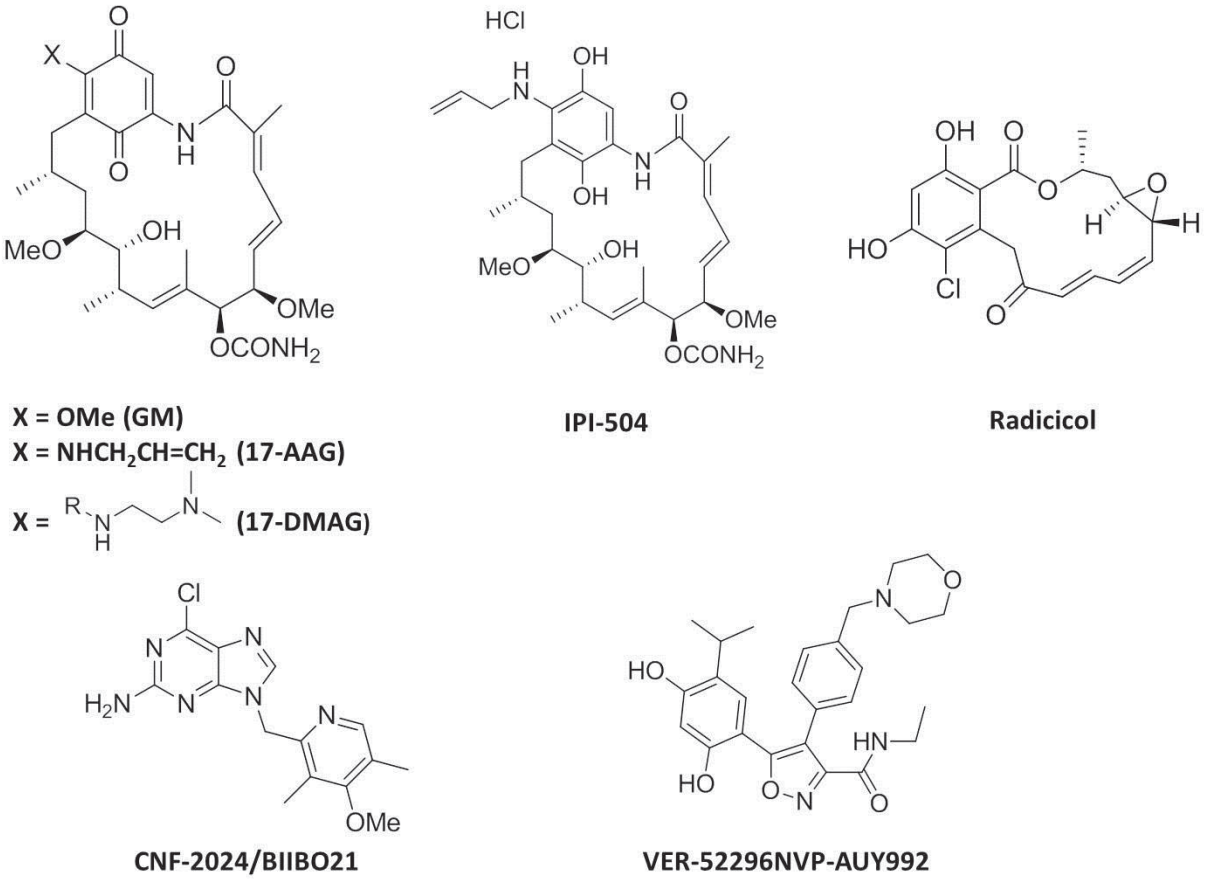


Abbildung 37: *Inhibitoren der ATP-Bindungstasche von HSP90.*

Das Makrolacton Radicicol wurde erstmals 1953 aus *Monosporium bonorden* isoliert und ist ein potenter Inhibitor des Chaperons (IC_{50} 20-23 nM). Mittels Kristallstrukturanalyse konnte ebenfalls eine kompetitive Hemmung der ATP-Bindung als Angriffspunkt identifiziert werden.[113]

Da sich die vorgestellten Naturstoffe Geldanamycin und Radicicol aufgrund ihrer limitierten Verfügbarkeit, ihrer ungenügenden Stabilität, ihres schlechten Nebenwirkungsprofils und ihrer unzureichenden Wasserlöslichkeit nicht als Arzneistoffkandidaten durchsetzen konnten, wurden weitere synthetische Inhibitoren entwickelt. Als erstes schaffte es CNF-2024/BIIB021 in die klinische Prüfung (Abb. 37). Das Purinanalogon stand am Ende einer Entwicklung von kompetitiven Inhibitoren der ATP-Bindung. Der zweite Inhibitor, der es in die klinische Prüfung schaffte, war VER-52296NVP-AUY92 (Abb. 37). Das Isoxazolderivat blockiert ebenfalls die „Anlagerung“ von ATP und verhindert damit die Energiebereitstellung durch dessen Hydrolyse. Neben diesen beiden kompetitiven ATP-Inhibitoren befinden sich zurzeit diverse Kandidaten in verschiedenen Stadien der Zulassung.[109]

Anders stellt sich die Lage bei der Adressierung der C-terminalen Dimerisierungsdomäne dar.[109] Bisher konnten zwar einige Inhibitoren dieser Region identifiziert werden, unklar bleibt jedoch, auf welche Art sie die Funktion des Proteins beeinflussen. Bisher konnte keine Kristallstruktur von HSP90 und gebundenem Inhibitor aufgenommen werden. Beispielhaft sollen nachfolgend nur die Aminocumarine Novobiocin und Chlorobiocin sowie das Chroman Epigallocathechingallat (EGCG) aus dieser Gruppe genannt werden (Abb. 38).

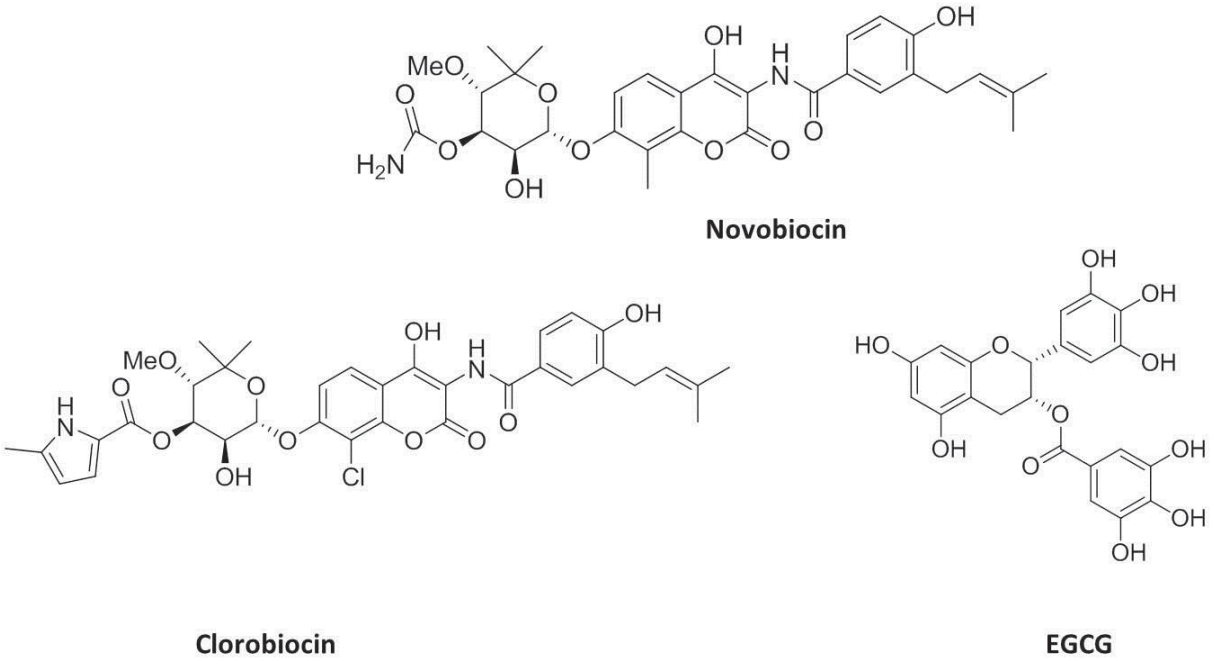


Abbildung 38: *Inhibitoren des C-Terminus von HSP90.*

Die Adressierung des C-Terminus durch Novobiocin konnte durch die Bindung eines C-terminalen Proteinteilstücks an immobilisiertes Novobiocin nachgewiesen werden. Weiter konnte festgestellt werden, dass die Bindung zwischen Protein und Novobiocin durch ATP-Zugabe reversibel war. Ebenso war die Bindung des Peptids an immobilisiertes ATP durch Novobocin umkehrbar. Somit konnte gezeigt werden, dass Novobiocin spezifisch an ein Teilstück des C-Terminus bindet und diese Region auch für die Anlagerung von Nuklotiden verantwortlich ist.[115]

Die Wechselwirkung zwischen EGCG und dem C-Terminus konnte durch charakteristische Proteolyseprodukte von HSP90 nachgewiesen werden. Die Behandlung von HSP90-Monomer mit EGCG führt zu einer verstärkten Bildung eines Proteinteilstücks, welches immunologisch als Teil der C-terminalen Peptidregion charakterisiert wurde.

Des Weiteren war die Bindung eines Anti-C-Terminus-Antikörpers an den C-Terminus sowie die chemoinduzierte Dimerisierung der HSP90-Monomere durch die Gabe von EGCG beeinflussbar.[116, rr]

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass es sich bei HSP90 aufgrund seiner Beteiligung an verschiedenen pathophysiologischen Kaskaden von Tumorerkrankungen um ein attraktives pharmakologisches Zielprotein handelt. Ausgehend von der Identifizierung von Geldanamycin und Radicicol als Inhibitoren der N-terminalen ATP-Bindungstasche konnten synthetische Inhibitoren entwickelt werden, die sich zurzeit, genauso wie ein Derivat des Geldanamycins, in unterschiedlichen Phasen der klinischen Prüfung befinden.[ss] Die Adressierung der C-terminalen Dimerisierungsdomäne konnte bereits für einige Naturstoffe dokumentiert, der Mechanismus der Inhibition konnte jedoch bisher nicht vollständig aufgeklärt werden.

Die Entwicklung neuartiger HSP90-Inhibitoren ist trotz der bereits entwickelten Arzneistoffe weiterhin von großem wissenschaftlichem Interesse. So zeigen zurzeit noch nicht veröffentlichte Forschungsergebnisse der Arbeitsgruppe von *Prof. Dr. Holger Gohlke*, dass PPI im C-terminalen Bereich des HSP90-Chaperons für die Dimerisierung essenziell sind und sich für die Arzneistoffentwicklung eignen (Abb. 39).

[rr] Die Dimerisierung der HSP90-Monomere wurde durch die Behandlung mit Bissulfosuccinimidylsuberat (BS3) induziert.

[ss] 17-AAG befindet sich in der klinischen Phase 2 zur Behandlung von metastasierenden Melanomen (Kosan Bioscience Ltd.), AUY992 befindet sich in klinischer Phase 2 zur Behandlung von soliden Tumoren (Vernalis/Novartis), IPI-504 befindet sich in klinischer Phase 2 zur Behandlung von Lungenkrebs (Infinity Pharma), AT13387 befindet sich in klinischer Phase 2 zur Behandlung von gastrointestinalen Tumoren, Prostata- und Lungenkrebs (Astex), Ganetespid befindet sich in der klinischen Phase 2 zur Behandlung von Lungenkrebs (Synta Pharma). Alle Angaben basieren auf Herstellerinformationen.

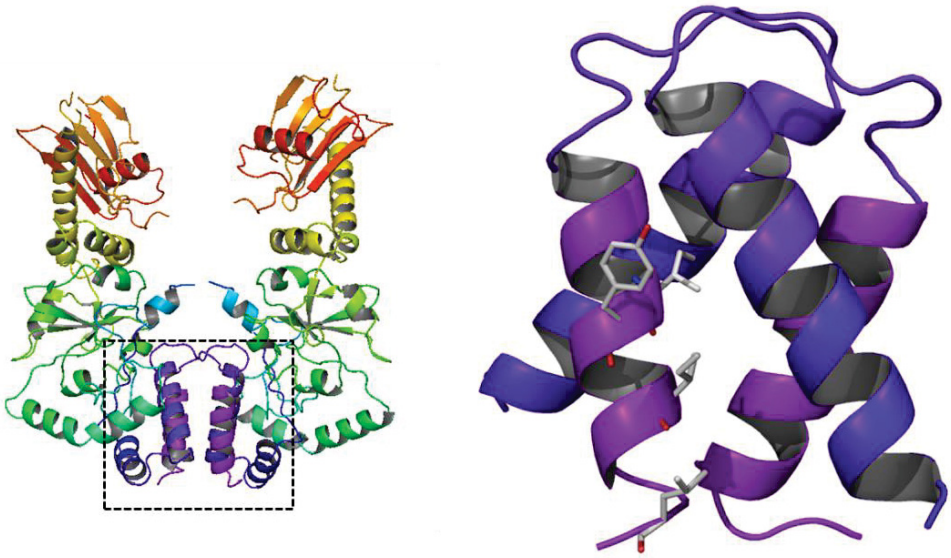


***Abbildung 39**: HSP90-Dimer (links) und C-terminales „four helix bundle" mit Tyr 689, Ile 688, Ile 692 und Leu 696 (rechts).*

Die durch computergestützte Methoden entdeckten und durch biochemische Experimente validierten Interaktionsbereiche befinden sich in der so genannten „four helix bundle"-Domäne im Endbereich des C-Terminus. Als „hot-spots"-Amionosäuren konnten L-Leucin (Leu 696), L-Tyrosin (Tyr 689) und zwei L-Isoleucin (Ile 688, Ile 692) identifiziert werden (Abb. 39). Durch Adressierung dieser „hot-spot"-Aminosäuren mit α-Helixmimetika könnten die Wechselwirkungen zwischen den HSP90-Monomeren unterbrochen und eine Dimerisierung verhindert werden.

Basierend auf diesen Vorarbeiten bot es sich an, den Einsatz von Trispyrimidonamiden **5** zur Störung der beschriebenen Wechselwirkung zu untersuchen. Das auf den Kalkulationen von *Emanuele Ciglia* basierende Design der potentiellen Inhibitoren sollte Trispyrimidonamide **5** mit Seitenkettensurrogaten der wechselwirkenden Aminosäuren beinhalten. Die Simulationen zeigen, dass die Trispyrimidonamide **5** in der Lage sein sollten, die räumlichen Charakteristika der α-Helix und der „hot-spot"-Aminosäuren nachzuahmen (Abb. 40).

Als Surrogate der Seitenketten der vier „hot-spot"-Aminosäuren sollten Isopropyl- (L-Leu/ L-Ile), Isobutyl- (L-Leu), *sec*-Butyl- (L-Ile), 4-Hydroxybenzyl- (L-Tyr) und 4-Hydroxyphenylethylsubstituenten (L-Tyr) eingeführt werden.

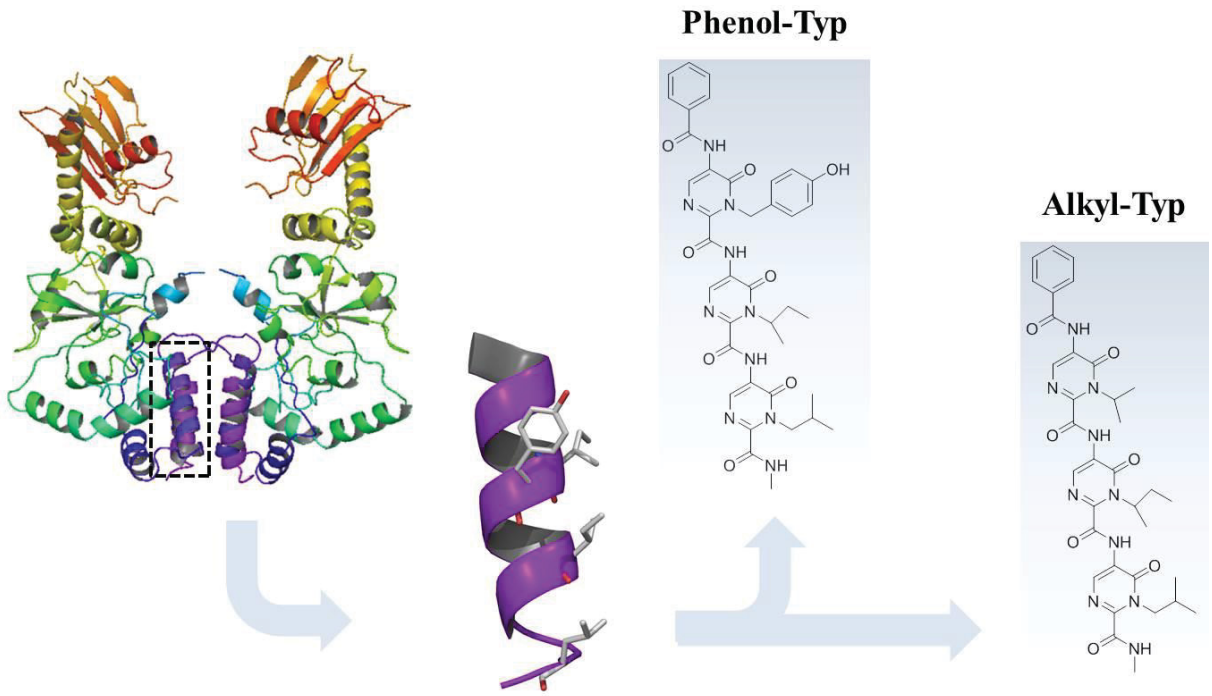
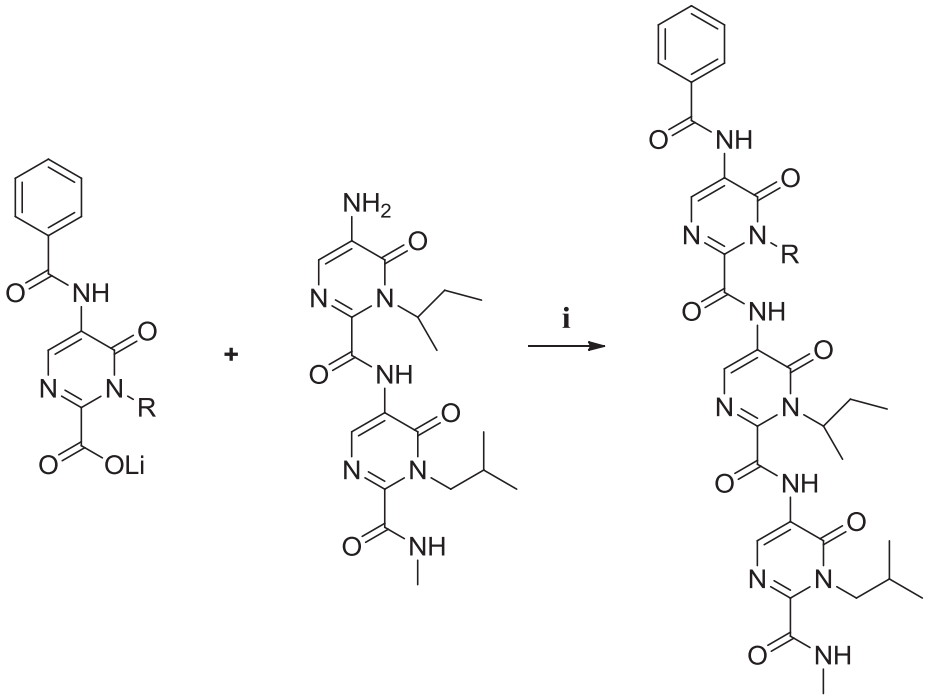


Abbildung 40: *Design potentieller Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung.*

Durch die enge räumliche Nachbarschaft zwischen Tyr 689 und Ile 688 ist es denkbar, dass an dieser Position zwei Typen von Seitenkettensurrogaten wechselwirken könnten.[tt] Abhängig davon, welche der beiden Aminosäuren imitiert werden soll, könnten Inhibitoren mit Phenol- oder mit Alkylsubstituent zum Einsatz kommen. In der Folge werden diese beiden Inhibitortypen zur Unterscheidung als Phenol- bzw. Alkyl-Typ bezeichnet (Abb. 40).

Basierend auf dem zuvor entwickelten Synthesekonzept konnten ausgehend vom dimeren 5-Aminopyrimidon **4a** und den Lithiumcarboxylaten **LXIXe-g** in guten Ausbeuten die geschützten Phenole **5c-d** dargestellt werden (Schema 23).

[tt] Wie schon in der Konformationsanalyse beschrieben, konnte durch die Überlagerung der Cβ-Atome der kanonischen Dexaalaninhelix mit den Methylseitenketten eines allmethylsubstituierten Trispyrimidonamids eine sehr gute Abdeckung (RMSD 0,69 Å) der Positionen *i*, *i*+4, *i*+8 ermittelt werden, welche den Positionen von Ile 688, Ile 692 und Leu 696 (Alkyl-Typ) entspricht.
Durch den Vergleich mit den Cβ-Atomen der Positionen i, i+4, i+7 ließ sich ein RMSD-Wert von 1,2 Å kalkulieren, dies entspricht den Positionen von Tyr 689, Ile 692 und Leu 696 (Phenol-Typ). Obwohl das Ergebnis der Überlagerung nicht das gleiche hohe Maß an Übereinstimmung wie für den Alkyltyp zeigt, ist dieser Wert mit denen anderer bekannten α-Helixmimetika vergleichbar.
Für die Ermittlung der RMSD-Werte wurde in beiden Fällen der Ring C des Trispyrimidonamids in Richtung des C-Terminus der Alaninhelix orientiert.

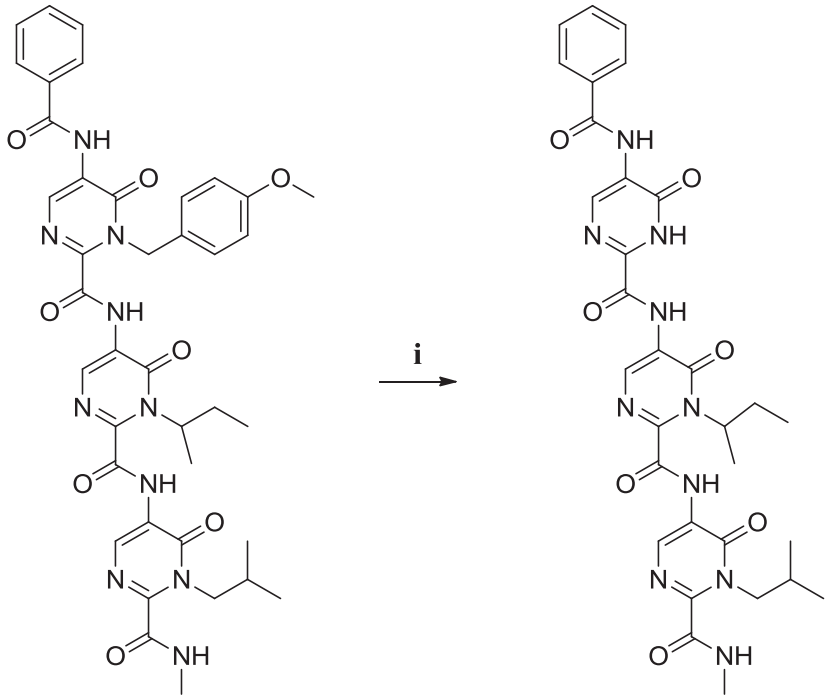


LXIXe-g **4a** **5c-e**

5c: R = 4-Methoxybenzyl (39%)
5d: R = 4-Benzyloxybenzyl (71%)
5e: R = 4-Benzyloxyphenylethyl (76%)

Schema 23: *Darstellung der Trispyrmidonamide **5c-e**; i) COMU, DMF, RT, 18h.*

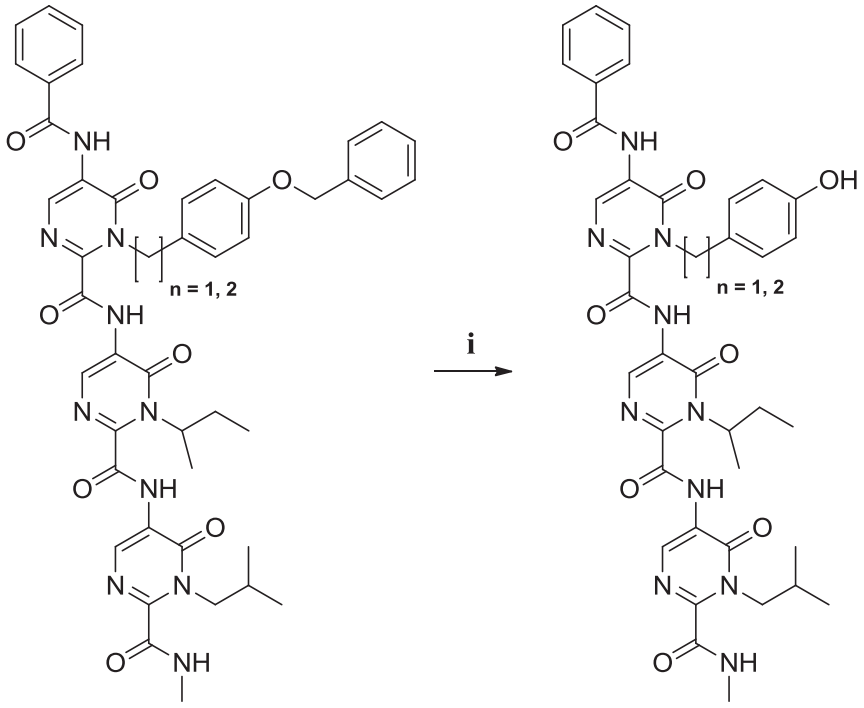
Die Verbindungen **5c-e** mussten anschließend in einem finalen Syntheseschritt in die ungeschützten Phenole **21a,b** überführt werden. Ein erster Versuch, durch lewissäurevermittelte Desmethylierung des Methoxyphenolderivats **5c** zur Endverbindung **21a** zu gelangen, scheiterte. Aus dem Experiment konnte bei Einsatz von Bortribromid nur das desbenzylierte Produkt **20** isoliert werden (Schema 24).



5c **20** (65%)

Schema 24: *Versuch der lewissäurevermittelten Desmethylierung von* ***5c****; i)* BBr_3*, DCM, -78°C, 1h, RT, 1h.*

Einen schonenderen Zugang zu den Phenolen **21a,b** ermöglichte die katalytische Hydrierung von **5d,e** in einem Lösungsmittelgemisch aus Methanol und Dichlormethan unter atmosphärischem Wasserstoffdruck (Schema 25).



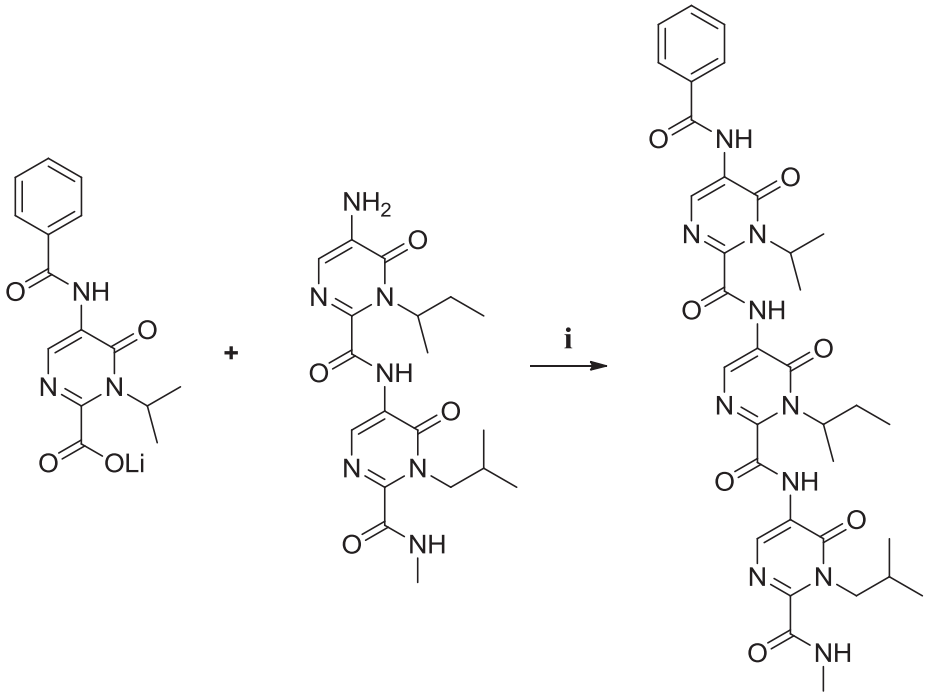
5d,c **21a,b**

17a: n = 1 (40%)
17b: n = 2 (87%)

Schema 25: *Darstellung der phenolischen Endprodukte* ***21a,b****; i)* H_2*, Pd(C), MeOH, DCM, RT, 1h.*

Um den Einfluss des Abstands zwischen dem Grundgerüst und den Aromaten zu studieren, wurden Phenole mit unterschiedlichen Kettenlängen synthetisiert.

Durch die bereits erwähnte, vierte „hot-spot"-Aminosäure Ile 688, welche in direkter Nachbarschaft zum Tyr 689 liegt, bot sich auch die Synthese eines Alkyl-Typ-Inhibitors an (vgl. Abb. 41). Dieser war ebenfalls nach dem etablierten Syntheseprotokoll aus dem dimeren 5-Aminopyrimidon **4a** und dem Lithiumcarboxylat **LXIXc** in guten Ausbeuten darstellbar (Schema 26).



LXIXc **4a** **5a** (65%)

Schema 26: *Synthese des potentiellen HSP90-Dimerisierungsinhibitors* ***5a****; i) COMU, DMF, RT, 18h.*

Trotz des vereinfachten Seitenkettensurrogats (Isopropyl- anstelle des vom L-Ile abgeleiteten *sec*-Butylsubstituents) kann das Trimer **5a** zur Überprüfung des Inhibitorkonzepts verwendet werden. Es sollte jedoch in der Lage sein, drei „hot-spot"-Domänen (Leu 696, Ile 692 und Ile 688) im Interaktionsbereich zu adressieren (vgl. Abb. 40) und damit eine erste Überprüfung des Inhibitorkonzepts ermöglichen. Die Einführung einer Isopropyl- anstelle der *sec*-Butylseitenkette begründet sich mit der Vermeidung von diasteriomeren Produktgemischen. Die Trennung der Produkte wäre zu aufwendig für eine initiale Überprüfung des Inhibitorkonzepts. Sollten erste Evaluierungen jedoch auf eine interessante biologische Aktivität hinweisen, könnte die Synthese der Enantiomere Thema einer Folgearbeit sein.

7.2 RUNX1/ETO

Die chromosomale Translokation t(8;21) ist vermehrt bei Patienten mit akuter myeloischer Anämie (AML) zu finden.[117] Diese Translokation betrifft die Gene RUNX1, einen Initiator der hämatopoetischen Zelldifferenzierung auf Chromosom 21 und ETO auf Chromosom 8.[118] Das translatierte RUNX1/ETO-Fusionsprotein, zum besseren Verständnis AML/ETO genannt, besteht aus 177 Aminosäuren in der RUNX1 Domäne mit der DNA bindenden Runt-Region und der vollständigen ETO-Sequenz. Diese beinhaltet die „nervy homology regions 1-4“ (NHR1-4). Unter diesen ist besonders die Oligomerisierungsdomäne NHR2 von wissenschaftlichem Interesse (Abb. 41).[119]

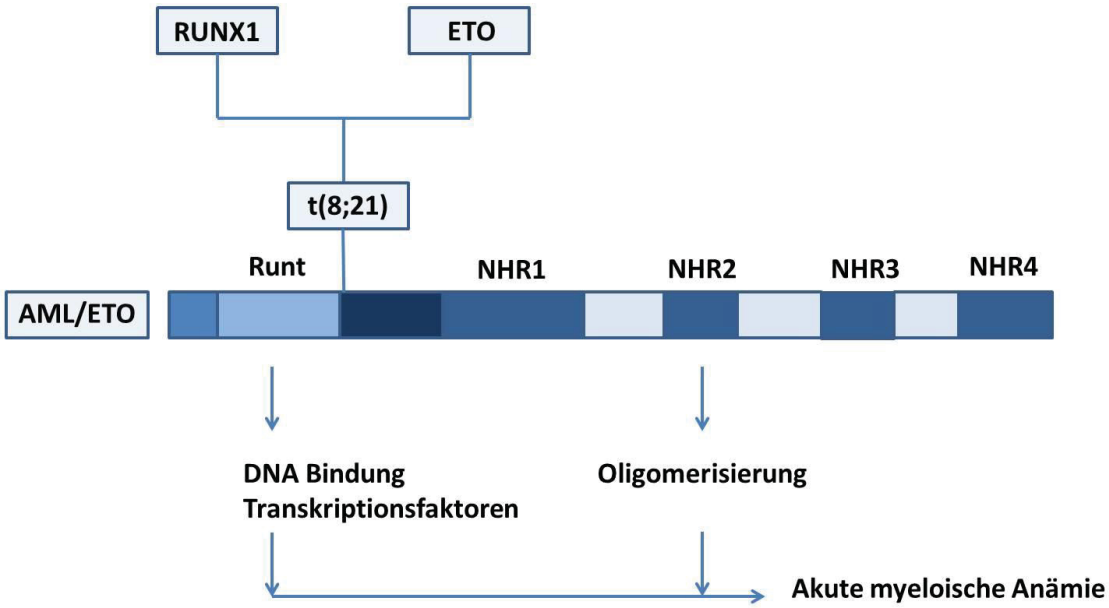


Abbildung 41: *Die RUNX/ETO-assoziierte AML-Kaskade.*

Die pathophysiologische Rolle von AML/ETO ist bisher nicht vollständig aufgeklärt. Es konnten jedoch Interaktionen mit der DNA und Zellkernproteinen wie Histondeacetylasen und DNA-Methyltransferasen identifiziert werden.[120] Die Interaktion mit der DNA kann zu einer Blockade der myeloischen Zelldifferenzierung führen, was mit der Ausbildung von leukämischen Charakteristiken in Zusammenhang gebracht wird (Abb. 41).[121] Einige AML/ETO assoziierte Leukämieformen, besonders mit Mutationen der c-KIT Domäne, gehen mit einer schlechten Heilungsprognose sowie einer hohen Zahl an Rezidiven einher.[117]

Es konnte gezeigt werden, dass die Homotetramerisierung der α-helikalen NHR2-Domäne eine Voraussetzung für die Ausbildung einer AML ist (Abb. 41).[119, 121-124] Durch computergestützte und biologische Untersuchungen von *Prof. Dr. Holger Gohlke und Mitarbeitern* konnte bewiesen werden, dass fünf Aminosäureseitenketten des NHR2-Dimers für die Dimer-Dimer-Interaktion verantwortlich sind. Diese „hot-spots" befinden sich an den beiden Enden der 57 Aminosäuren umfassenden α-Helix. Es handelt sich um drei L-Tryptophane (Trp498, Trp502, Trp540), L-Asparaginsäure (Asp533) und L-Glutaminsäure (Glu536).[121] Weitere Untersuchungen haben demonstriert, dass das Aufbrechen des oben genannten Tetramers mit Proteinen, welche die NHR2-Domäne beinhalten,[uu] den leukämischen Veränderungen *in vitro* entgegenwirkt.[125, 126]

Da sich Proteine aufgrund ihrer schwierigen Pharmakodynamik und Stabilität nur in Ausnahmefällen als Arzneistoffe eignen, ist es von großem Interesse, synthetische Inhibitoren der NHR2-Tetramerisierung zu entwickeln. So konnten kürzlich *Metz et al.* durch „virtual screening"-Methoden und biologische Evaluation die ersten niedermolekularen Inhibitoren der NHR-Domäne identifizieren (Abb. 42).[124]

[uu] *Wichmann et al*. benutzen ein 128 Aminosäureeinheiten langes Peptid mit der vollständigen NHR2-Domäne, *Bartel et al.* erzielen ähnliche Effekte mit einen TAT-NHR2-Polypeptid.

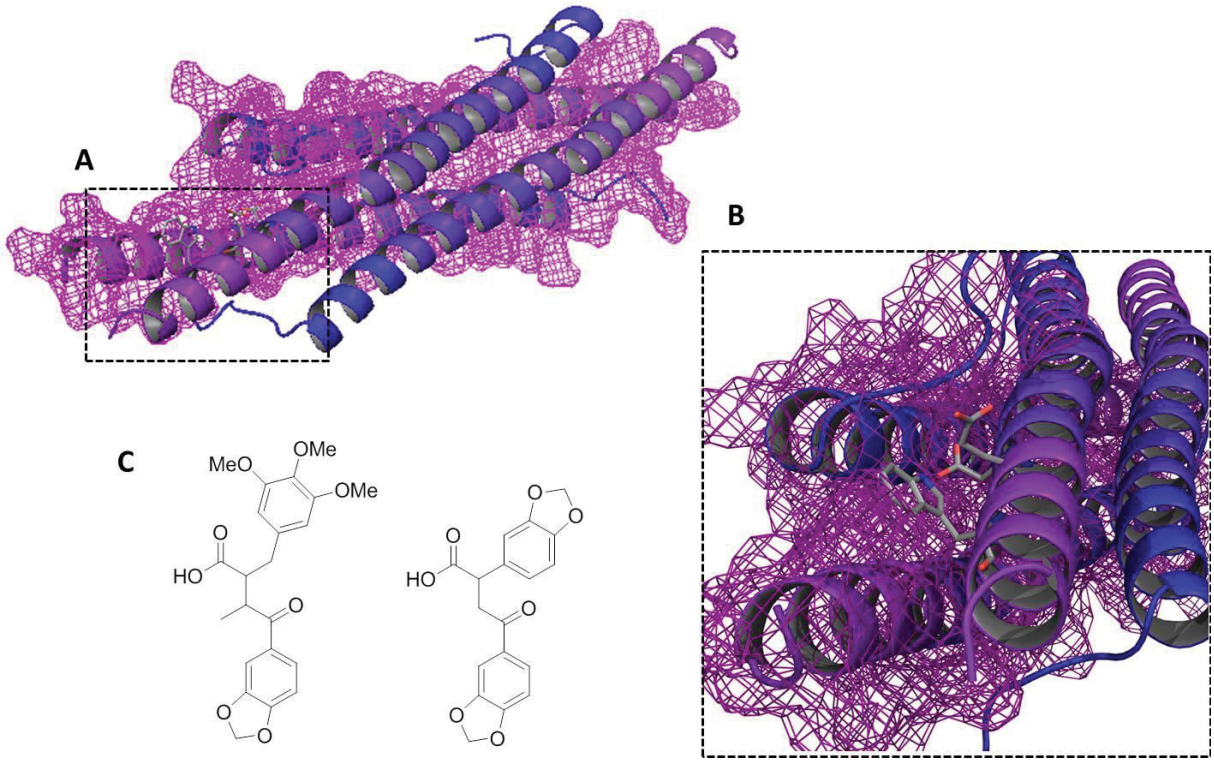


Abbildung 42: *NHR2-Tetramer des AML/ETO Proteins,* ***A)*** *NHR2-Tetramer mit Tetramerisationsdomäne (Asp 533, Glu 536, Trp 540),* ***B)*** *Aufsicht auf die Tetramerisationsdomäne und* ***C)*** *Inhibitoren nach Metz et al.*

Die Mitarbeiter um *Prof. Dr. Holger Gohlke* nutzten dabei ihre Kenntnisse über diese „hot-spot"-Region, um kleine Moleküle zu evaluieren, welche die „hot-spot"-Aminosäureseitenketten der Interaktionsdomäne nachahmen und somit eine Oligomerisierung verhindern (Abb. 42).[124] Dieser Ansatz bietet eine attraktive Strategie zur direkten Adressierung des AML/ETO-Proteins und für die Entwicklung neuartiger α-helixmimetischer Arzneistoffe.

Angeregt durch diese Vorarbeiten bot es sich an, den Einsatz von Pyrimidonamiden zur Störung der beschriebenen Wechselwirkung zu untersuchen.

Basierend auf den Kalkulationen von *Alexander Metz* sollten in der Folge α-Helixmimetika vom Pyrimidonamidtyp entwickelt und synthetisiert werden. Zur ersten Überprüfung der getroffenen Vorhersagen sollten initial Dimere mit Seitenkettensurrogaten von L-Trp und L–Asp dargestellt werden. Für den Fall, dass sich die vorhergesagte biologische Aktivität bestätigen sollte, könnte die Synthese von trimeren Inhibitoren Thema einer Folgearbeit sein (Abb. 43).

Als Surrogate der Aminosäureseitenketten der „hot-spot"-Aminosäuren sollten Indolylethyl- (L-Trp), Carboxymethyl- (L-Asp) und Carboxyethylsubstituenten (L-Glu) verwendet werden (Abb. 43).

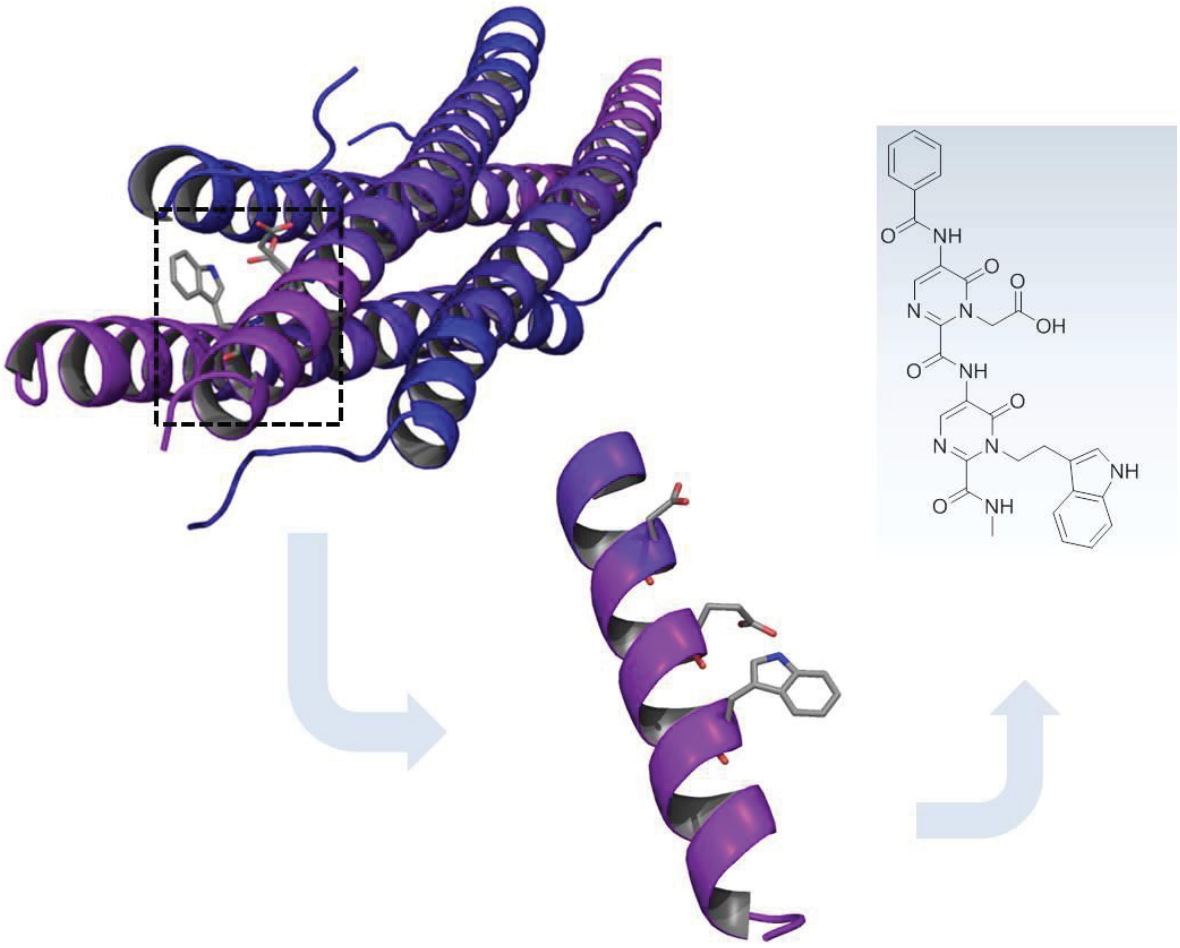
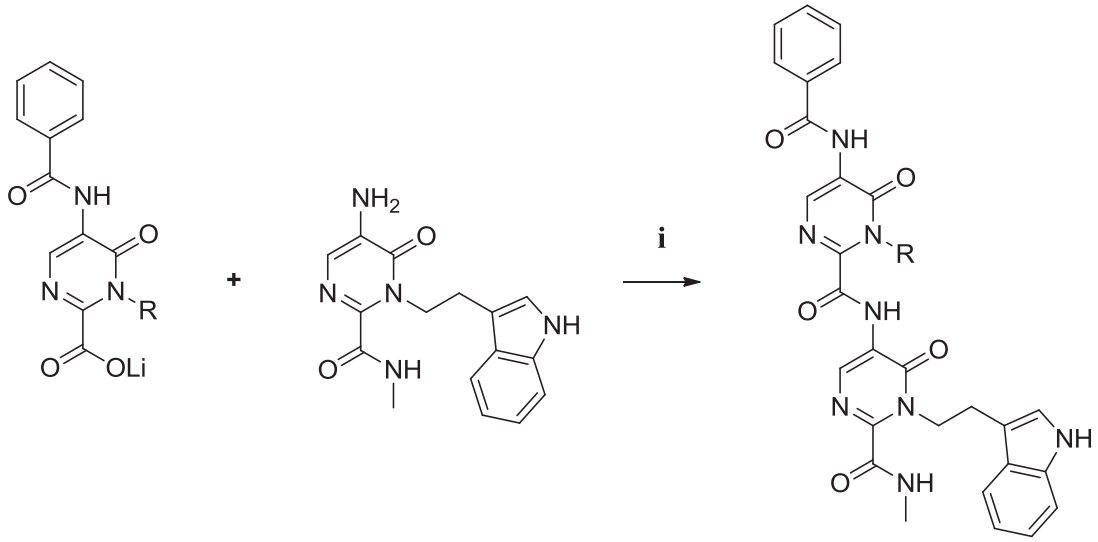


Abbildung 43: *Design von potentiellen Inhibitoren der NHR2-Tetramerisierung.*

Basierend auf dem Inhibitordesign konnte auf dem zuvor entwickelten Syntheseweg ausgehend von dem 5-Aminopyrimidon **2b** und den Lithiumcarboxylaten **LXIXh,i** die *tert*-butylgeschützten Carbonsäuren **3c,d** in befriedigenden Ausbeuten dargestellt werden (Schema 27).

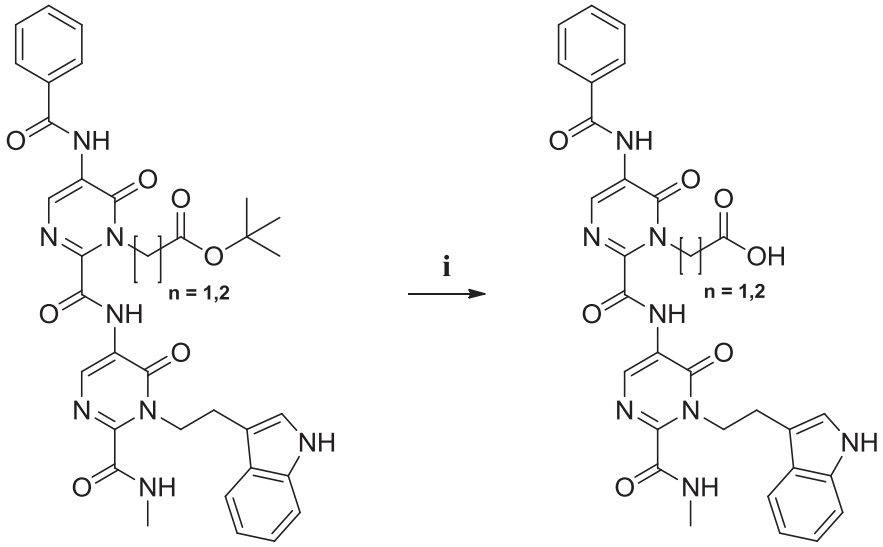


LXIXh,i **2b** **3c,d**

3c: R = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl (52%)
3d: R = *tert*-Butoxy-2-oxopropyl (84%)

Schema 27: *Darstellung der Dimere* ***3c,d****; i) COMU, DMF, RT, 18h.*

In einem finalen Schritt mussten die *tert*-Butylester **3c,d** abschließend durch Acidolyse in die Carbonsäuren **22a,b** überführt werden. Der Einsatz von Trifluoressigsäure in Dichlormethan ergab dabei die besten Resultate (Schema 28).



3c,d

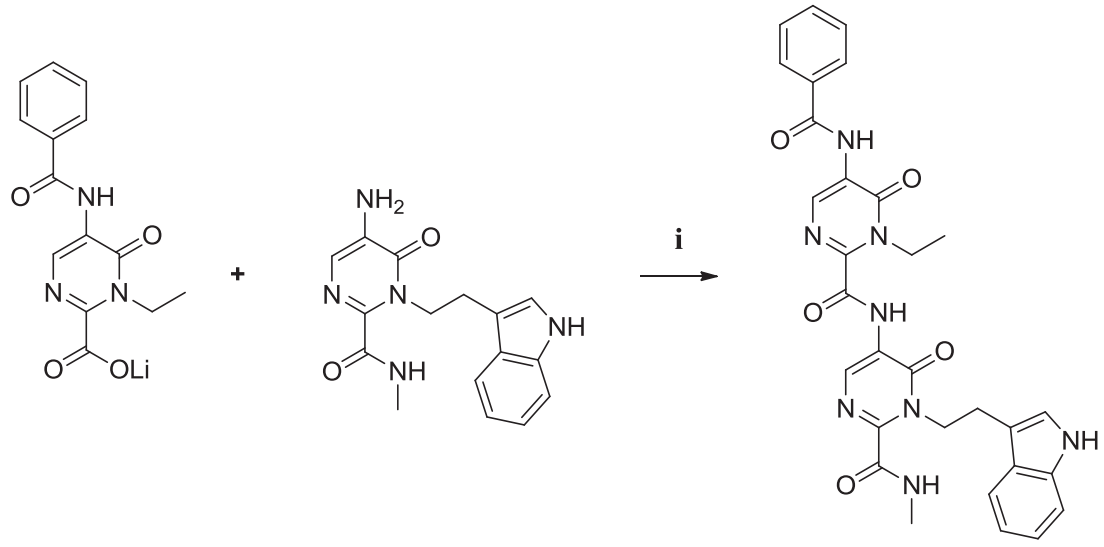
22a: n = 1 (72%)
22b: n = 2 (90%)

Schema 28: *Darstellung der Endprodukte* ***22a,b****; i) TFA, DCM, 0°C 1h, RT, 3h.*

Auch in diesem Fall wurden Moleküle mit verschiedenen Kettenlängen zwischen dem Grundgerüst und der Säurefunktion synthetisiert. Dies geschah, um die Beeinflussung der biologischen Aktivität durch den Abstand der funktionellen Gruppe und dem Grundgerüst zu studieren (Schema 28).

Um die Abhängigkeit der biologischen Aktivität von der Carbonsäurefunktion weitergehend zu untersuchen, wurde ein Dimer ohne Carboxylatgruppe **3e** synthetisiert. Dieses war aus dem momeren 5-Aminopyrimidon **2b** und Lithiumcarboxylat **LXXIIj** in guten Ausbeuten zugänglich (Schema 29).

.



LXIXj **2b** **3e** (73%)

Schema 29: *Darstellung des Dimers **3e**; i) COMU, DMF, RT, 18h.*

7.3 FAZIT INHIBITORDESIGN UND SYNTHESE

Abschließend ist festzuhalten, dass es gelungen ist, basierend auf dem Kalkulationen von *Emanuele Ciglia* insgesamt vier potentielle Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung zu synthetisieren. Zum Studium erster Struktur-Aktivitätsbeziehungen wurden Derivate mit Hydroxybenzyl-, Methoxybenzyl-, Hydroxyphenylethyl- und 2-Propylsubstituenten am N-terminalen Ring dargestellt.

Basierend auf den Vorarbeiten von *Alexander Metz* konnten drei potentielle Inhibitoren der NHR2-Tetramerisierung synthetisiert werden. Die Derivate unterscheiden sich durch das Aminosäureseitenkettensurrogat am N-terminalen Ring und könnten es ermöglichen, erste Beziehungen zwischen der Art des Substituenten und der biologischen Aktivität zu untersuchen.

8. BIOLOGISCHE EVALUIERUNG

8.1 HITZE-SCHOCK-PROTEIN 90 (HSP90)

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Verbindungen **5a,c** und **21a,b** wurden im Arbeitskreis von *Prof. Dr. Matthias Kassack* (Institut für Medizinische und Pharmazeutische Chemie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) auf ihre biologischen Eigenschaften untersucht.

Zur Bestimmung der Zytotoxizität wurde ein MTT-Test durchgeführt. Dieser Test ist nach dem in ihm verwendeten, wasserlöslichen Farbstoff 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) benannt. Das Prinzip des Tests beruht auf der reduktiven Umwandlung des gelblichen MTT in ein blauviolettes, wasserunlösliches Formazanderivat **LXXV** (Abb. 44).[127, 128]

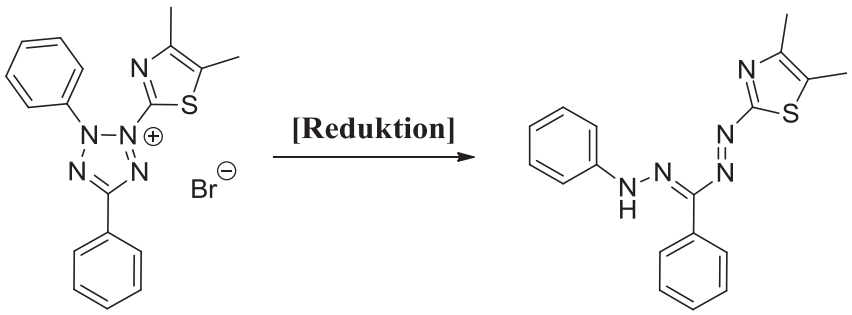
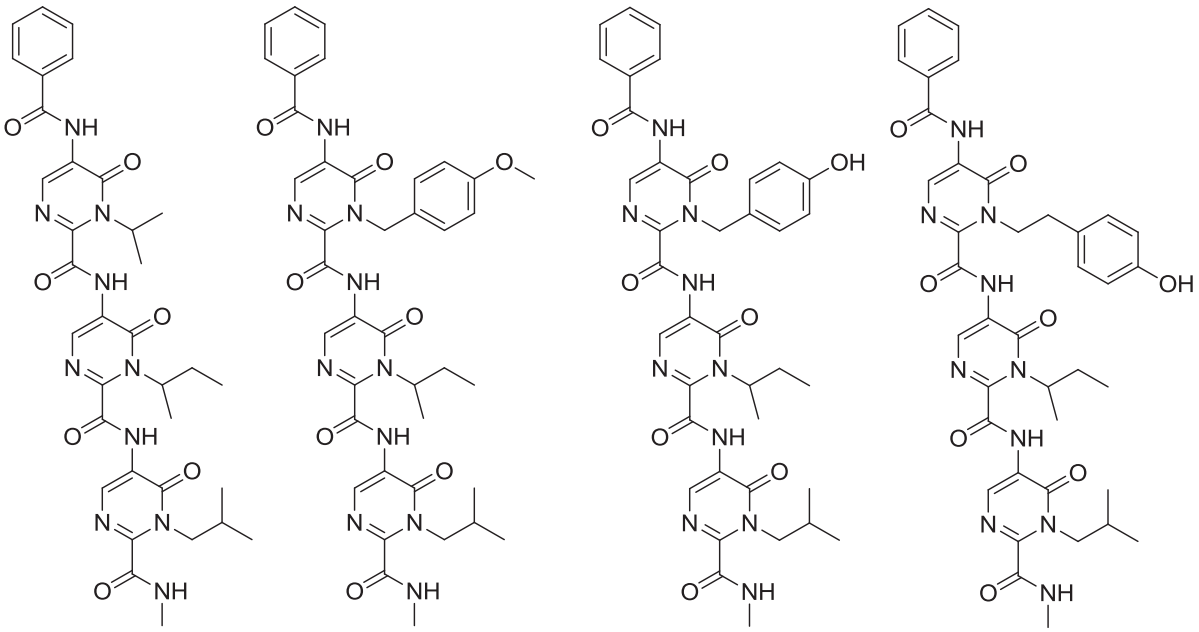


Abbildung 44: *Farbreaktion des MTT-Assays.*

Diese Farbreaktion wird hauptsächlich in den Mitochondrien lebender, stoffwechselaktiver Zellen katalysiert. Anhand der Intensität des blauvioletten Farbstoffs kann das Ausmaß der Zellschädigung durch die Testsubstanz ermittelt werden. Bei den im Test verwendeten Zellen handelt es sich um den Ösophaguskarzinom-Stamm KYSE-510sens.[129] Es wurde für alle Verbindungen die mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) ermittelt. Als IC_{50}-Wert wird die Konzentration einer Substanz bezeichnet, bei der eine halbmaximale Aktivitätsreduzierung des Zellstoffwechsels zu beobachtet ist.

Für die Verbindung **21a** konnte in der Testung die geringste Hemmkonzentration ermittelt werden. Ihr Wert wurde mit 11,40 µM bestimmt. Das korrespondierende Methoxybenzylderivat **5c** war mit einem Wert von 12,10 µM geringfügig weniger zytotoxisch. Das kettenverlän-

gerte Phenol **21b** konnte mit einem IC_{50}-Wert von 34,46 µM charakterisiert werden. Das Isopropylderivat **5a** wies eine halbmaximale Hemmung von 28,54 µM auf. Der Vergleich mit Referenzsubstanzen zeigt, dass die Derivate **5c** und **21a** ähnliche Zytotoxizitätswerte wie Novobiocin aufweisen. Verglichen mit NVP-AUY922 weisen die Testsubstanzen bis zu 1000fach geringere Toxizitätswerte auf (Abb. 45, Tabelle 4, vgl. Abb. 37/38).



5a **5c** **21a** **21b**

Abbildung 45: *Ausgewählte Testverbindungen.*

Tabelle 4: Biologische Daten der getesteten Verbindungen.

Substanz	IC_{50} (Kyse sens)	pIC_{50}±SE
5a	28,54 µM	4,55 ± 0,12
5c	12,10 µM	4,92 ± 0,36
21a	11,40 µM	4,94 ± 0,04
21b	34,46 µM	4,46 ± 0,12
NVP-AUY922	0,035 µM	7,45 ± 0,089
Novobiocin	15,47 µM	4,81 ± 0,031

Aus diesen Ergebnissen können grobe Strukturaktivitätsbeziehungen für den Substituenten des N-terminalen Rings abgeleitet werden. Die Zytotoxizität scheint für die Derivate **5c** und **21a,b** von der Distanz des Aromaten zum Grundgerüst abhängig zu sein. Ein Abstand von

einer Methyleneinheit resultiert in einer erhöhten Toxizität. Wird dieser Abstand wie im Derivat **21b** vergrößert, verringert sich dieser Effekt. Eine andere Beobachtung betrifft den Vergleich der Auswirkung der Wasserstoffbrückendonation durch die phenolische Hydroxylgruppe anhand der Verbindungen **21a** und **5c**. Dieser Effekt scheint basierend auf den gewonnenen Daten vernachlässigbar zu sein, da sowohl das Methoxybenzylderivat **5c** als auch das Phenol **21a** vergleichbare IC_{50}-Werte aufweisen.

Darüber hinaus geben die Ergebnisse der Zytotoxizitätsuntersuchung ebenfalls einen Hinweis auf den Einfluss eines Alkylsubstituenten am Lactamstickstoff. Der Wert der Zytotoxizität des Isopropylderivats **5a** sinkt im Vergleich zu dem der benzylischen Derivate, die Änderung des Substituenten wird jedoch besser toleriert als Veränderung der Distanz wie bei der Substanz **21b**.

Neben dem Ausmaß der Zellschädigung wurde auch an einem Testsystem zur Überprüfung der Inhibition der Chaperonaktivität von HSP90 gearbeitet. Da sich dieses zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit noch in der Entwicklung befand, können nur vorläufige Ergebnisse erhoben werden.

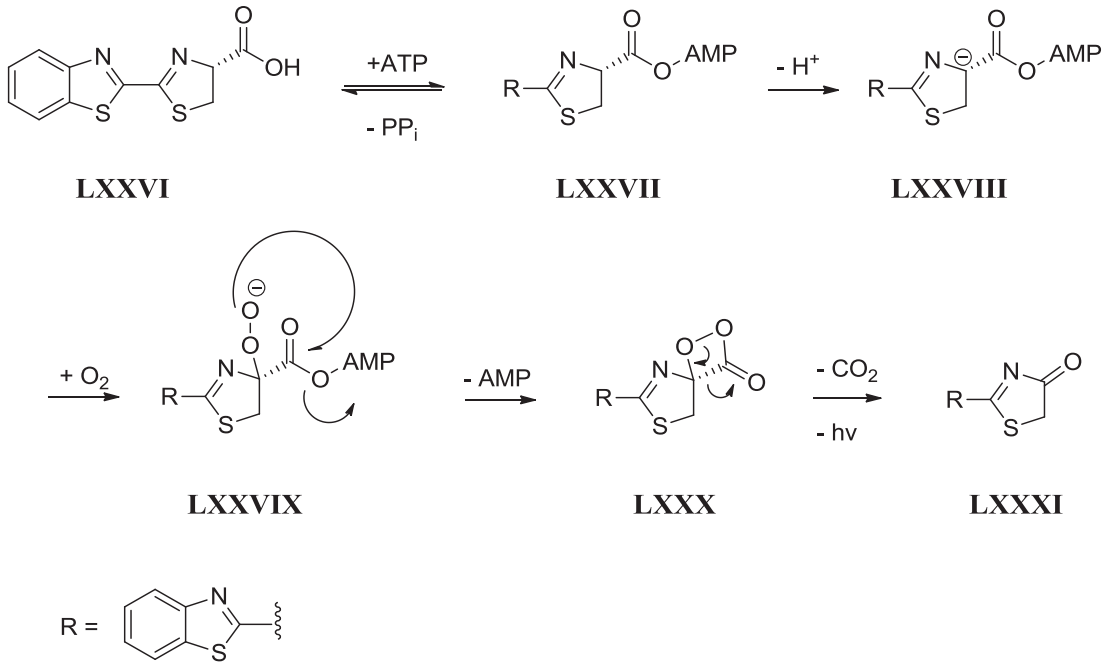
Das entwickelte Testsystem nutzt die Faltung und die damit einhergehende Refunktionalisierung von degenerierter Luciferase durch HSP90 und andere Chaperone aus.[130] Die zuvor durch Wärmeeinwirkung degenerierte Luciferase wird nach Zugabe eines Zelllysats [vv] durch die enthaltenen Chaperone in seine aktive Konformation gefaltet und kann in der Folge Licht emittieren. Dieser Vorgang basiert auf der Luciferase-katalysierten, ATP-abhängigen Oxidation von D-Luciferin.[ww]

Bei dieser Farbreaktion wird D-Luciferin **LXXVI** zuerst über die Carboxylatgruppe unter Abspaltung von Pyrophosphat an ATP gebunden **LXXVII**. Über eine Deprotonierung **LXXVIII**

[vv] Das Zelllysat stammt von Kyse 510 sens Zellen (Ösophaguskarzinom). Diese werden bei einer Konfluenz von 95-100% mit eiskaltem Puffer gewaschen und mit Hilfe eines Zellschabers mechanisch geerntet. Die Zellen werden in Puffer aufgenommen und zentrifugiert.
Durch hypotone Lyse mit Wasser werden die Zellen lysiert und das so gewonnene Lysat im bei ca. -180°C gelagert.
Zur Durchführung des Assays werden die benötigten Aliquots dieses Lysates auf Eis aufgetaut und zentrifugiert, um Zelltrümmer zu entfernen. Der klare Überstand wird mit einem Tris-HCl/KCl-Puffer (1:1) verdünnt eingesetzt.
Kyse 510 sens Zellen wurden gewählt, da in Vorarbeiten eine erhöhte HSP90-Konzentration im Vergleich zu anderen verfügbaren Laborstämmen festgestellt werden konnte.

[ww] Auch *firefly*-Luciferin in Anlehnung an das natürliche Vorkommen in Käfern der Familie der *Lampyridae*.

und anschließende Anlagerung von Sauerstoff **LXXIX** bildet sich ein Dioxetanonring **LXXX** aus, welcher unter Abspaltung von Kohlenstoffdioxid decarboxyliert. Das Produkt dieses Zerfalls ist das energetisch angeregte Oxyluciferin **LXXXI**, welches unter Emittierung eines Photons in seinen Grundzustand zurück fällt (Abb. 46). Das ausgestrahlte Licht hat eine pH-abhängige Wellenlänge von 530-635 nm.



LXXVI **LXXVII** **LXXVIII**

LXXVIX **LXXX** **LXXXI**

Abbildung 46: *D-Luciferin-Luciferase-Reaktion.*

Da das emittierte Licht proportional zur Konzentration der refunktionalisierten Luciferase ist, kann es als Maß für die Chaperonaktivität benutzt werden.

Die Ergebnisse der vorläufigen Testungen lassen den Schluss zu, dass die ausgewählten Verbindungen die Refunktionalisierung der Luciferase hemmen. Die Frage, ob dieser Effekt durch die verhinderte Dimerisierung der HSP90-Monomere oder eine andersartige Hemmung der Proteinfaltung ausgelöst wird, konnte nicht abschließend beantwortet werden.

Zusammenfassend kann zur biologischen Aktivität der Verbindungen **5a,c** und **21a,b** festgehalten werden, dass sie Zytotoxizitäts-Werte (IC_{50}) im Bereich von 11,40 bis 34,46 µM aufweisen. Des Weiteren konnte eine Verhinderung der chaperonbasierten Faltung von Luciferase beobachtet werden.

8.2 NHR2-TETRAMERISIERUNG

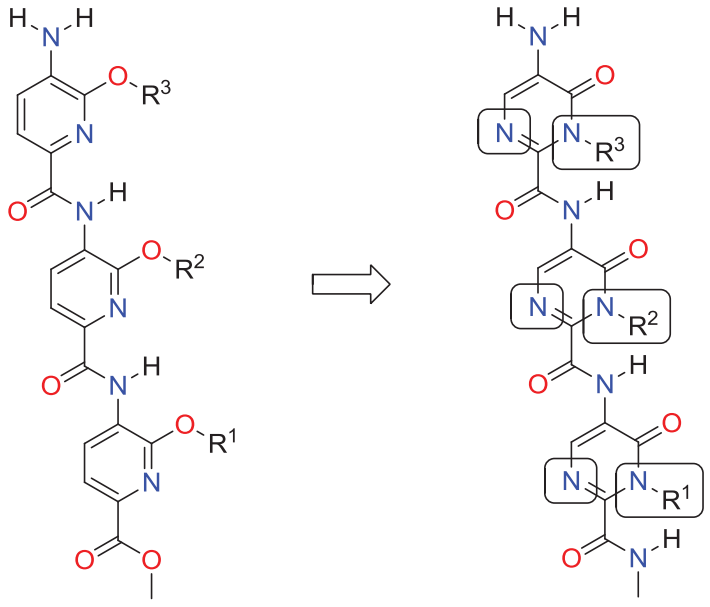
Die ausgewählten Verbindungen **22a,b** und **3e** konnten bis zum Abschluss der Promotionsarbeit nicht biologisch evaluiert werden. Es besteht jedoch die Aussicht, dass dies in Zukunft entweder an der Heinrich-Heine-Universität oder in Zusammenarbeit mit einem externen Partner nachgeholt werden wird.

9. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Design, der Synthese, der Konformationsanalyse und den biologischen Eigenschaften von Trispyrimidonamiden zum Einsatz als neuartige α-Helixmimetika.

In vorausgegangenen Arbeiten verschiedener Arbeitsgruppen konnte gezeigt werden, dass α-Helixmimetika, welche die Sekundärstrukturen biologisch relevanter Proteine räumlich nachbilden können, in der Lage sind, Interaktionen zwischen diesen Proteinen und Partnern mit hoher Affinität und Spezifität zu inhibieren und dadurch die Entstehung von Tumoren, neurodegenerativen Erkrankungen sowie Erkrankungen des Immunsystems in vitro zu verhindern.

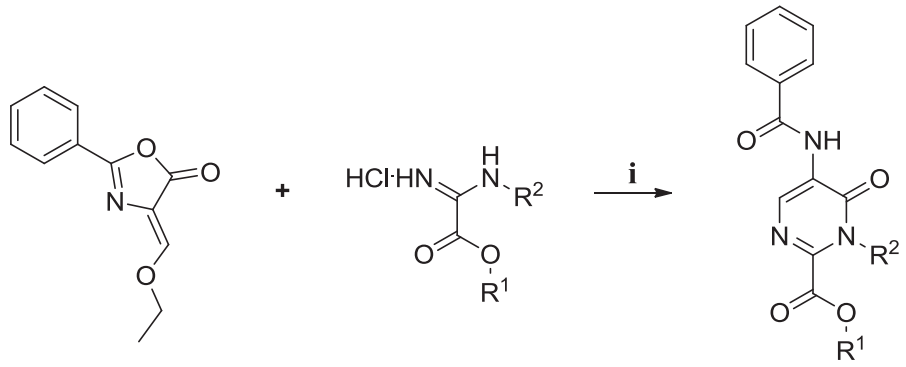
Ein interessanter Vertreter dieser potentiellen Therapeutika sind die von *Hamilton und Mitarbeitern* entwickelten Trispyridinamide. Da die bisher beschriebenen Verbindungen hauptsächlich aliphatische AS nachahmen und zudem eine schlechte Wasserlöslichkeit aufweisen, wurden im Rahmen dieser Arbeit durch gezielte Änderungen des Synthesekonzepts Derivate hergestellt, die sowohl über polare und funktionalisierte Seitenketten, als auch über verbesserte Wirkstoffeigenschaften verfügen (Abb. 47).



I (cLogP: 0,6) **II (cLogP: -2,23)**

Abbildung 47: *Optimierung des Trispyridin-Grundgerüst* ***I*** *mit Vergleich der cLogP-Werte.*

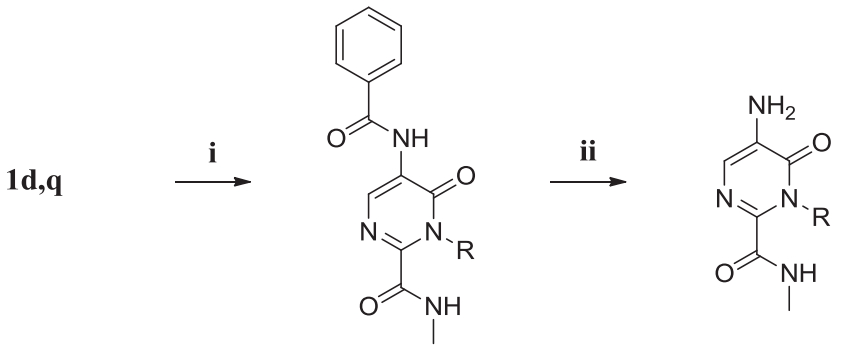
Basierend auf der retrosynthetischen Analyse bilden die Monomere **1** die Grundlage der Synthesesequenz. Diese *N*-substituierten Alkyl Pyrimidin-4(3*H*)-on-2-carboxylate mit einer geschützten Aminogruppe in 5-Position waren durch die Reaktion von 4-(Ethoxymethylidene)-2-phenyl-1,3-oxazol-5(4*H*)-on **XXXV** und *N*-substituierten Amidinen **LXVIa-p** zugänglich (Schema 30).



XXXV **LXVIa-p** **1a-q**

Schema 30: *Synthese der Monomere **1a-q**; i) TEA, ACN.*

Die Entschützung der benzoylgeschützten Aminogruppe von **1** gelang in guten Ausbeuten nach optimierter basischer Hydrolyse. Um den Verlust der Estergruppe unter den Reaktionsbedingungen zu vermeiden, wurde diese zuvor durch Reaktion mit wässriger Methylaminlösung in das korrespondierende *N*-Methylcarbamid **15b,c** umgewandelt (Abb. 31).

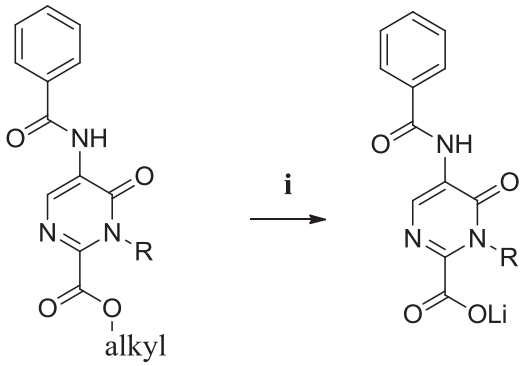


15b: R = Indolylethyl (90%) **2a**: R = Isobutyl (88%)
15c: R = Isobutyl (89%) **2b**: R = Indolylethyl (92%)

Schema 31: *Darstellung der 5-Aminopyrimidone **2a,b**; i) $MeNH_2$, H_2O, EtOH; ii) NaOH, MeOH.*

Nachdem der Zugang zu 5-Aminopyrimidonen **2a,b** möglich war, wurde nach einer Möglichkeit zur Synthese von Pyrimidon-2-carbonsäuren gesucht, um aus diesen beiden Synthonen die Dimere **3a-e** aufzubauen.

Orientierende Versuche hatten zuvor gezeigt, dass die aus der Hydrolyse entstandenen Carboxylate durch die Behandlung mit wässriger Säure rasch decarboxylieren. Da die stabilen Lithiumcarboxylate **LXIXa-j** jedoch ebenfalls geeignete Synthone für den anschließenden Reaktionsschritt darstellen, war eine Isolierung der Carbonsäuren nicht notwendig. In der Folge wurde ein schonendes Protokoll zur Esterhydrolyse etabliert und die entstandenen Lithiumsalze **LXIXa-j** zur Amidkupplung verwendet (Abb. 32).

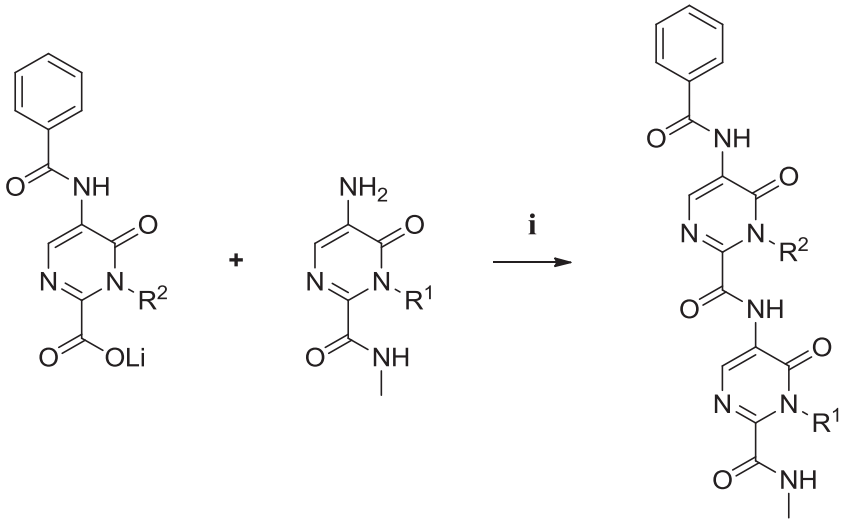


1b, c, d, e, h, i, j, l, m, r

LXIXa: R = Isobutyl
LXIXb: R = *sec*-Butyl
LXIXc: R = 2-Propyl
LXIXd: R = 4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl
LXIXe: R = 4-Methoxybenzyl
LXIXf: R = 4-Benzyloxybenzyl
LXIXg: R = 4-Benzyloxyphenylethyl
LXIXh: R = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl
LXIXi: R = *tert*-Butoxy-2-oxopropyl
LXIXj: R = Ethyl

Schema 32: *Hydrolyse der Alkyl Pyrimidon-2-carboxylate zu den korrespondierenden Lithiumcarboxylaten* ***LXIXa-j****; i) LiOH·H_2O, MeOH.*

Nach der erfolgreichen Synthese der Synthone **2a**,**b** und **LXIXa-j**, konnte ein geeignetes Kupplungsprotokoll für die Darstellung der dimeren Pyrimidonamide **3a-e** entwickelt werden. Durch den Vergleich von fünf Kupplungsreagenzien konnte COMU als idealer Vermittler der Amidbildung identifiziert und Verbindungen des Typs **3** erstmalig hergestellt wurden (Abb. 33).

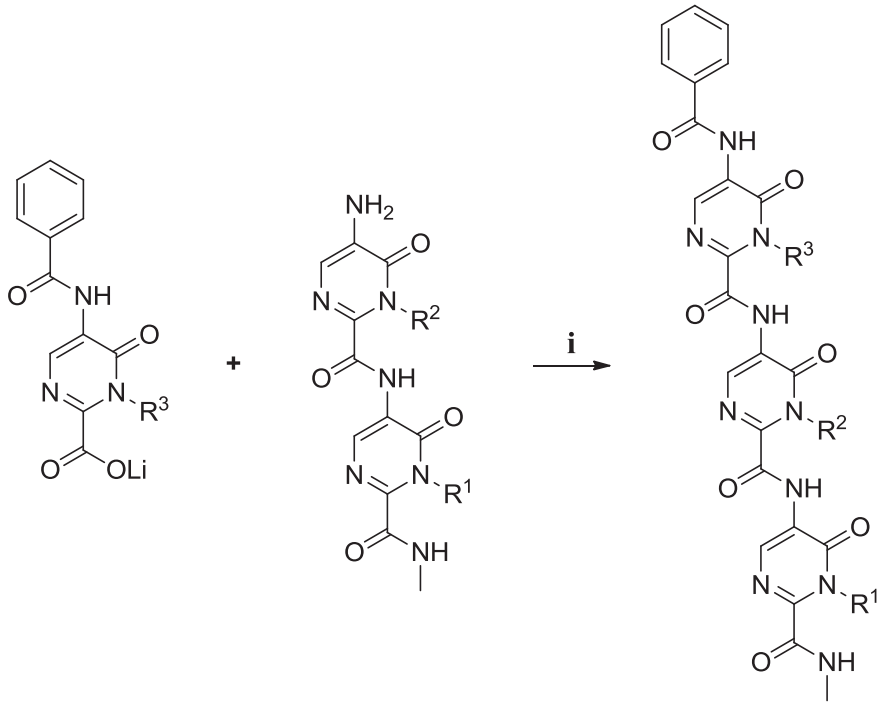


LXIXa-e **2a,b** **3a-e**

3a: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl (75%)
3b: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl (76%)
3c: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Ethyl (73%)
3d: R^1 = Indolylethyl, R^2 = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl (52%)
3e: R^1 = Indolylethyl, R^2 = *tert*-Butoxy-2-oxopropyl (84%)

***Schema 33**: Darstellung der Dimere **3a-e**; i) COMU, DMF.*

Durch eine regioselektive basische Hydrolyse wurden die benzoylgeschützten dimeren Pyrimidonamide **3a,b** in die dimeren 5-Aminoderivate **4a,b** umgewandelt. Eine erneute COMU-vermittelte Amidkupplung ermöglichte anschließend den Zugang zu den Trispyrimidonamiden **5a-e** (Abb. 34).



LXIXf-j **4a,b** **5a-e**

5a: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 2-Propyl (65%)
5b: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 4-Methoxybenzyl (39%)
5c: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 4-Benzyloxybenzyl (71%)
5d: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 4-Benzyloxyphenylethyl (76%)
5e: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl, R^3 = 4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl (41%)

Schema 34: *Darstellung der Trispyrmidonamide* ***5a-e****; i) COMU, DMF.*

Nach der erfolgreichen Synthese von **5** war es notwendig, die Konformation des Trispyrimidonamidgrundkörpers, die Orientierung der Seitenketten und die Frage, welche Positionen auf der α-Helix nachgeahmt werden können, aufzuklären. Dies konnte durch Zusammenarbeit mit kooperierenden Arbeitskreisen ermöglicht werden. Durch die Auswertung von Kristallstrukturanalysen (*AK Prof. Dr. Frank*), ROESY-NMR Spektren (*Lukas Spanier, AK Prof. Dr. Kurz*) und Molekulardynamik-Kalkulationen (*AK Prof. Dr. Gohlke*) wurden die räumlichen Charakteristika aufgeklärt.

Zusammenfassend kann zu den räumlichen Charakteristika der Trimere **5** festgehalten werden, dass sie thermodynamisch in der Lage sind, die für ihre Wirkweise essenzielle Konformation unter physiologischen Bedingungen einzunehmen und somit die Interaktionsstellen *i*, *i* + 4 und *i* + 8 auf einer α-Helix abzudecken. Auch die Wechselwirkung mit den Positionen *i*,

i + 4 und *i* + 7 ist möglich, jedoch sinkt in diesem Fall der Wert für die räumliche Übereinstimmung von 0,68 Å auf 1,2 Å.

Nach dem der Zugang zu den Trispyrmidonamiden **5** gelungen war, sollten auf der Basis dieses Grundgerüsts α-helixmimetische Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung und NHR2-Tetramerisierung synthetisiert werden. Die Analyse der interagierenden „hot-spot"-AS wurde von Wissenschaftlern des *AK Prof. Dr. Gohlke* durchgeführt. Die so ermittelten computergestützten Voraussagen bildeten die Basis für das Design und die Synthese der potentiellen Inhibitoren (Abb. 48).

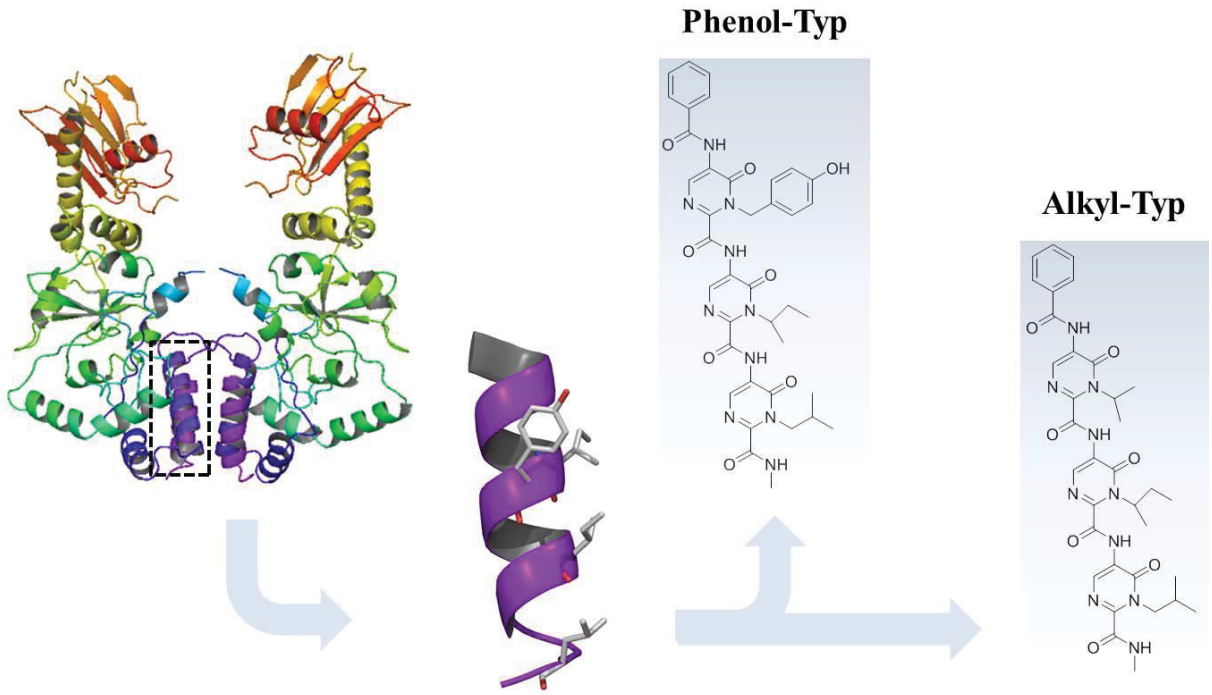
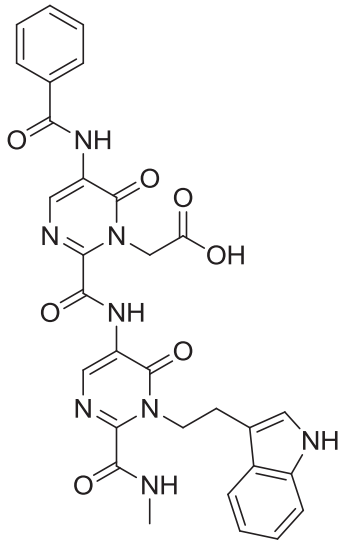
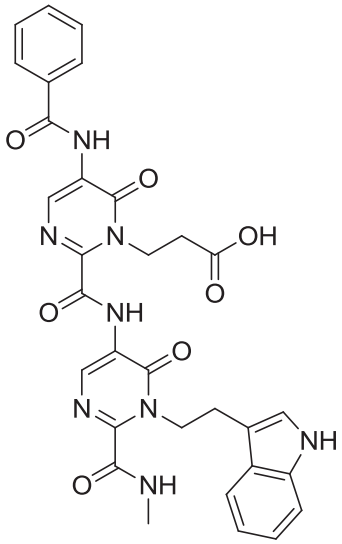


Abbildung 48: *Design potentieller Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung.*

Basierend auf den Kalkulationen von *Emanuele Ciglia* wurden insgesamt vier potentielle Inhibitoren der HSP90-Dimerisierung synthetisiert. Zum Studium erster Struktur-Aktivitätsbeziehungen wurden Derivate mit verschiedenen Aminosäureseitenkettensurrogaten am N-terminalen Ring dargestellt.



22a



22b

Schema 35: *Potentielle Inhibitoren* ***22a,b****.*

Durch die Vorarbeiten von *Alexander Metz* gelang es drei potentielle Inhibitoren der NHR2-Tetramerisierung zu synthetisieren. Die Derivate unterscheiden sich durch das Aminosäureseitenkettensurrogat am N-terminalen Ring und ermöglichen es, erste Beziehungen zwischen der Art des Substituenten und der biologischen Aktivität zu untersuchen (Schema 35).

Im Anschluss an die erfolgreiche Synthese wurden ausgewählte Verbindungen in Kooperation mit dem *AK Prof. Dr. Kassack* biologisch untersucht. Es zeigte sich, dass die ausgewählten Verbindungen Zytotoxizitäts-Werte (IC_{50}) im Bereich von 11,40 – 34,46 µM aufwiesen. Darüber hinaus konnte für alle getesteten Verbindungen eine Inhibition der u.a. HSP90-vermittelten Faltung von Luciferase nachgewiesen werden.

Zur Evaluierung der biologischen Eigenschaften der NHR2-Tetramerisierunginhibitoren wird zurzeit ein geeignetes Testsystem entwickelt.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass es im Rahmen dieser Arbeit gelungen ist, erstmals Zugang zu Trispyrimidonamiden **5** zu erhalten, welche in ersten Testungen vielversprechende biologische Eigenschaften aufweisen.

Ausblickend bietet das von uns entwickelte variable Synthesekonzept die Möglichkeit zur Darstellung von Trispyrimidonamiden zur Inhibition weiterer therapeutisch relevanter Pro-

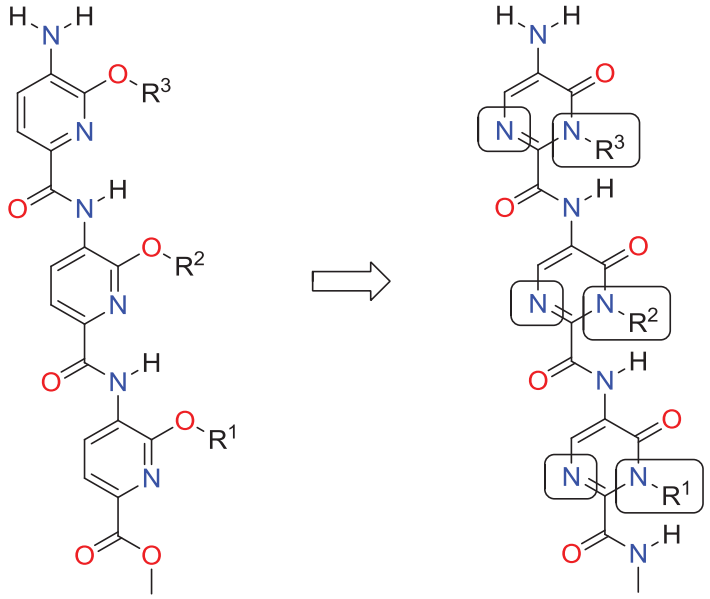
tein-Protein-Interaktionen sowie zur Synthese von Pyrimidonamidhybriden als neuartige α-Helixmimetikatypen.

10. ABSTRACT

The present work deals with the design, synthesis, conformational analysis, and biological properties of trispyrimidonamides for the use as α-helix mimetics.

It was shown by several groups, that α-helix mimetics, which can mimic the secondary structure of biologically relevant proteins, are capable of inhibiting protein-protein-interactions with high affinity and specificity. Furthermore, it was shown that inhibiting the interaction of relevant proteins can positively influence the pathophysiological cascade of tumors, neurodegenerative and immunological diseases in vitro.

Interesting examples of α-helix mimetics are *Hamilton's* trispyridinamides (Scheme 1, **I**). However, mostly simple alkyl and arylalkyl side chains surrogates have been described for these compounds. Consequently, only a few lipophilic hot spot amino acids can be addressed. Another challenge is the low hydrophilicity of the already discovered scaffolds. Due to these two major limitations there is a need for structurally more diverse α-helix mimetics with increased drug-like properties (Figure 1).

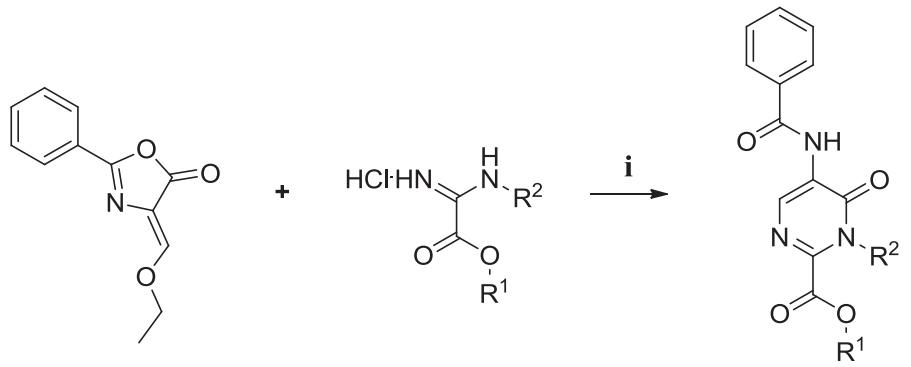


I (cLogP: 0,6) **II (cLogP: -2,23)**

Figure 1: *Modification of the trispyridine-backbone* ***I*** *and comparison of calculated logP-values.*

Therefore, we modified the trispyridine- towards a trispyrimidonamide-backbone to develop more drug-like compounds.

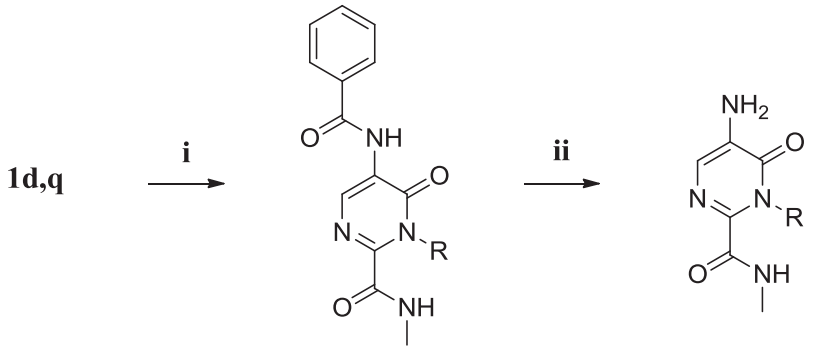
We decided to pursue a monomer approach in order to develop a synthetic protocol that allows a high structural diversity for our desired trimeric α-helix mimetics. We aimed at the synthesis of N3-substituted pyrimidin-4(3H)-ones with a protected amino group in 5-position as well as a carboxylic acid ester in 2-position as suitable monomers. Our retrosynthetic analysis led to 4-(ethoxymethylidene)-2-phenyl-1,3-oxazol-5(4*H*)-one **XXXV** and *N*-substituted amidines **LXVIa-p** as starting materials for the monomer synthesis (Scheme 1).



XXXV **LXVIa-p** **1a-q**

Scheme 1: *Synthesis of monomers* ***1a-q****; i) TEA, ACN.*

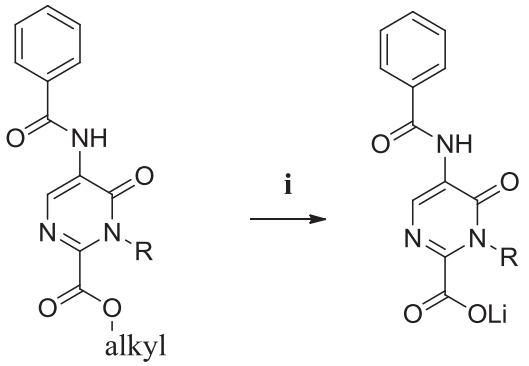
The deprotection of the benzoyl protecting group was performed in good yields by an optimized two step procedure. First, to avoid the loss of the ester group under the reaction conditions, the esters of **1d,q** was converted to the corresponding *N*-methylamides **15b,c** by reaction with aqueous methylamine solution (Scheme 2). Second, the benzoyl group was removed by treatment with sodium hydroxide in methanol.



15b: R = Indolylethyl (90%) **2a**: R = Isobutyl (88%)
15c: R = Isobutyl (89%) **2b**: R = Indolylethyl (92%)

Scheme 2: *Synthesis of 5-aminopyrimidones* ***2a,b****; i)* $MeNH_2$*,* H_2O*, EtOH, ii) NaOH, MeOH.*

After the 5-aminopyrimidones **2a,b** were obtained, we synthezise the second synthone for the dimer preparation by hydrolysis of the ester group of **1**. Preliminary experiments had previously shown that the pyrimidone-2-carboxylic acids rapidly decarboxylate by treatment with aqueous acid. Since the stable lithium carboxylates are also suitable synthones for the next reaction step, the isolation of the corresponding carboxylic acids was not necessary. Thus, a careful protocol for ester hydrolysis was established and the resulting lithium salts **LXIXa-j** were used for all subsequent amide coupling reactions (Scheme 3).

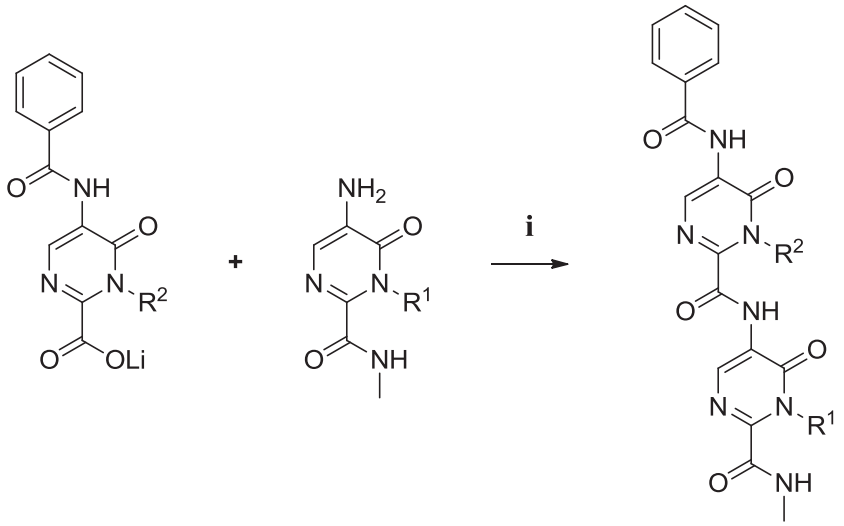


1b, c, d, e, h, i, j, l, m, r

LXIXa: R = Isobutyl
LXIXb: R = *sec*-Butyl
LXIXc: R = 2-Propyl
LXIXd: R = 4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl
LXIXe: R = 4-Methoxybenzyl
LXIXf: R = 4-Benzyloxybenzyl
LXIXg: R = 4-Benzyloxyphenylethyl
LXIXh: R = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl
LXIXi: R = *tert*-Butoxy-2-oxopropyl
LXIXj: R = Ethyl

Scheme 3: *Synthesis of lithium carboxylates* ***LXIXa-j****; i) LiOH·H_2O, MeOH.*

After the successful synthesis of synthones **2a,b** and **LXIXa-j** a suitable coupling protocol for the synthesis of dimeric pyrimidonamides **3a-e** was developed. By comparing five well known coupling reagents COMU was identified to be an ideal coupling agent (Scheme 4).

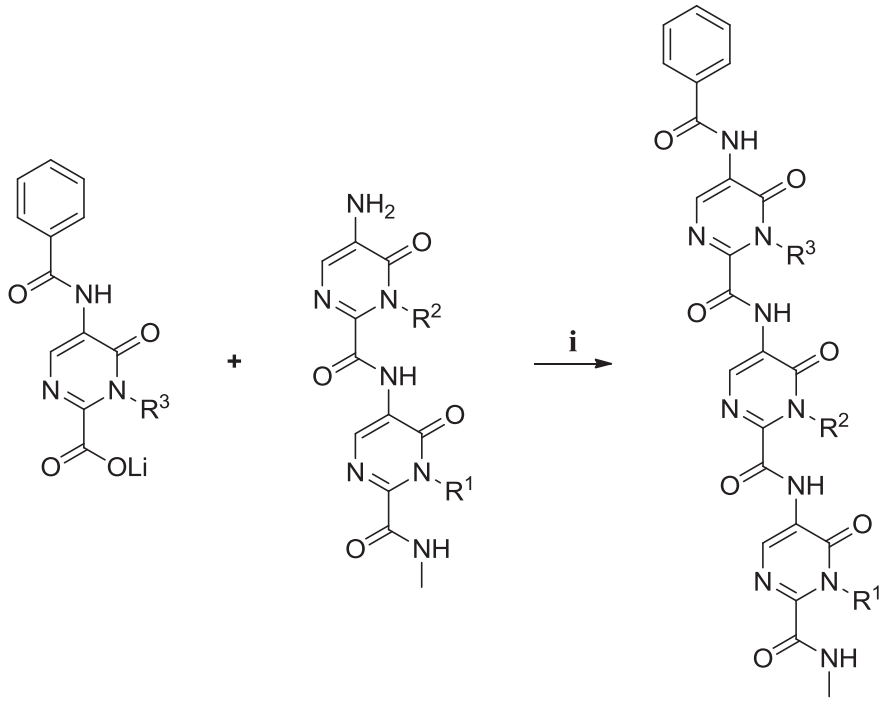


LXIXa-e **2a,b** **3a-e**

3a: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl (75%)
3b: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl (76%)
3c: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Ethyl (73%)
3d: R^1 = Indolylethyl, R^2 = *tert*-Butoxy-2-oxoethyl (52%)
3e: R^1 = Indolylethyl, R^2 = *tert*-Butoxy-2-oxopropyl (84%)

Scheme 4: *Synthesis of dimers **3a-e**; i) COMU, DMF.*

Finally, the desired tripyrimidonamides **5a-e** were prepared by a regioselective basic hydrolysis the protected dimeric pyrimidonamides **3a,b** to yield the 5-amino derivatives **4a,b** followed by a second COMU-mediated amide coupling to get access to the trispyrimidonamides **5a-e** (Scheme 5).



LXIXf-j **4a,b** **5a-e**

5a: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 2-Propyl (65%)
5b: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 4-Methoxybenzyl (39%)
5c: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 4-Benzyloxybenzyl (71%)
5d: R^1 = Isobutyl, R^2 = *sec*-Butyl, R^3 = 4-Benzyloxyphenylethyl (76%)
5e: R^1 = Indolylethyl, R^2 = Isobutyl, R^3 = 4-*tert*-Butoxycarbonylaminobutyl (41%)

Scheme 5: *Synthesis of trimers* ***5a-e****; i) COMU, DMF.*

After the successful synthesis of trispyrimidonamides **5** the conformational properties of the backbone were studied. In particular, the orientation of the side chains of the trispyrimidonamide scaffold was analyzed in collaboration with cooperating research groups. By investigating crystal structures (*Frank group*), ROESY-NMR-spectra and molecular dynamics simulations (*Gohlke group*) the spatial characteristics were identified.

In summary, the conformational investigation revealed that trispyrimidonamides can adopt conformations in polar solvents that can mimic the *i*, *i* + 4, *i* + 8 or *i*, *i* + 4, *i* + 7 patterns of R-group orientation with respect to an α-helix (RMSD 0.68 Å and 1.2 Å, respectively) .

Based on our synthetic protocol we aimed at the preparation of trispyrimidonamides with a suitable substitution pattern to inhibit HSP90 dimerization and NHR2 tetramerization. The analysis of the recognition domains and the interacting "hot-spot" amino acids was performed

by scientists of the Gohlke group. These computer-based predictions formed the basis for the design and the synthesis of the potential inhibitors (Figure 2).

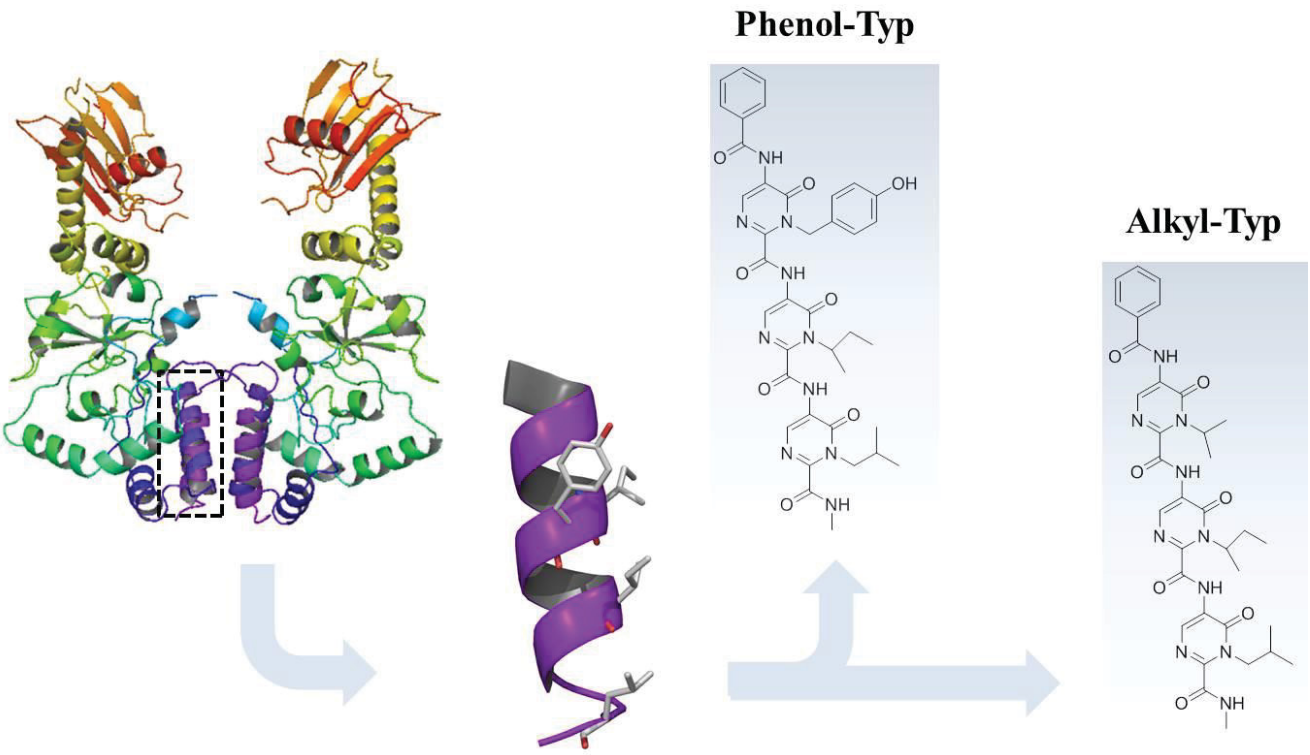
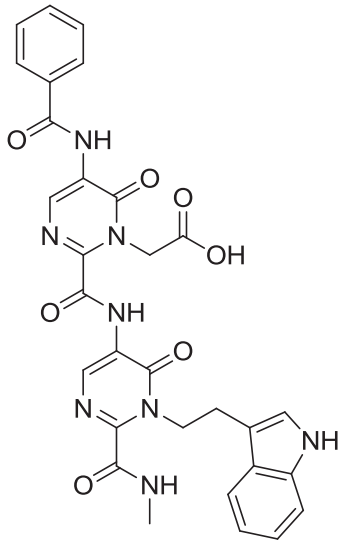
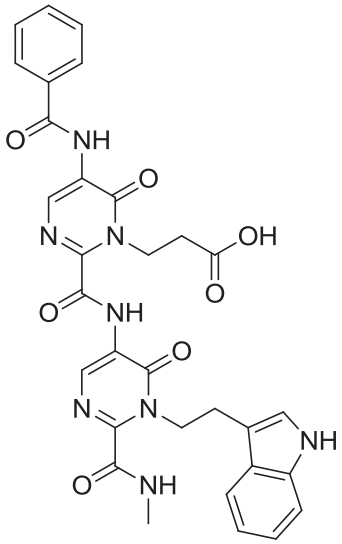


Figure 2: *Design of potential HSP90-dimerization inhibitors.*

Based on the calculations of *Emanuele Ciglia* four potential inhibitors of HSP90 dimerization were synthesized. To study the initial structure-activity relationships different amino acid side chain surrogates were introduced.



22a



22b

Scheme 6: *Potential inhibitors* ***22a,b****.*

Through the predictions performed by *Alexander Metz* we were able to synthesize three potential inhibitors of NHR2 tetramerization. The derivatives differ by the amino acid side chain surrogate at the *N*-terminal ring (Scheme 6).

After the successful synthesis, selected compounds were biologically evaluated in cooperation with the *Kassack group*. It was found that the compounds showed cytotoxicity values (IC_{50}) in the range of 11.40-34.46 µM. Moreover, for all tested compounds an inhibition of chaperone-mediated folding of luciferase was detected.
To evaluate the biological properties of the inhibitors of NHR2 tetramerization a suitable assay system is currently under construction.

In summary, we established a straightforward synthesis of trispyrimidonamides **5** which showed promising biological results in initial evaluations.

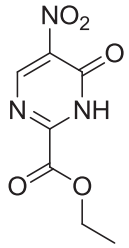
Forward looking, our synthetic approach provides a general toolbox that allows generating trispyrimidonamides and hybrid molecules which could inhibit protein-protein-interactions in a variety of therapeutically relevant proteins.

11. EXPERIMENTELLER TEIL

AAV 1: Synthese von 5-Nitropyrimidin-4(3*H*)-onen **6-9, 11**

Zu einer gekühlten Lösung aus Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) in Ethanol, abs. (5 ml) wird in einer Portion das entsprechende Amidinhydrochlorid (2,5 mmol) gegeben und für fünf Minuten bei 0°C gerührt. Die entstandene Suspension wird filtriert und der Rückstand mit Ethanol, abs. (1 ml) gewaschen. Zu dem gekühlten Rückstand wird über einen Zeitraum von 15 Minuten Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (EENA) (0,189 g, 1 mmol) zugetropft. Der Reaktionsansatz wird für drei Stunden im Eisbad gerührt und anschließend im Eisschrank über Nacht gelagert. Der ausgefallene Niederschlag wird abfiltriert und mit Diethylether, abs. (10 ml) gewaschen. Das so gewonnene Amidinatsalz des Produktes wird in Wasser (5 ml) gelöst und mit Salzsäure, konz. vorsichtig angesäuert (pH 3). Das ausfallende Produkt wird abfiltriert, aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert.

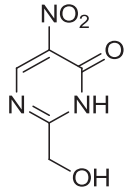
Ethyl 5-Nitro-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat
6



Hergestellt aus Methyl 2-Amino-2-iminoacetathydrochlorid **XLIV** (0,345 g, 2,5 mmol), Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) und Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (0,189 g, 1 mmol) nach AAV 1.

Ausbeute	7 % gelber Feststoff
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	8,90 (s, 1H, CH), 4,38 (q, J = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH$_3$), 1,31 (t, 3H, CH$_2$CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	159,42, 156,52, 151,31, 150,63, 137,09, 63,52, 14,15
$C_7H_7N_3O_5$	(213,03)
Berechnet [%]	C, 39,44; H, 3,31; N, 19,71
Gefunden [%]	C, 39,22; H, 3,59; N, 19,42

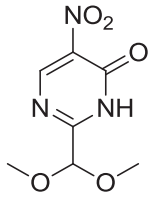
2-(Hydroxymethyl)-5-nitropyrimidin-4(3*H*)-on
7



Hergestellt aus 2-Hydroxyacetimidamidhydrochlorid **LVI** (0,275 g, 2,5 mmol), Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) und Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (0,189 g, 1 mmol) nach AAV 1.

Ausbeute	47 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	128 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	13,28 (s, 1H, NH), 8,87 (s, 1H, CH), 5,96 (s, 1H, OH), 4,43 (d, J = 19.9 Hz, 2H, CH_2OH)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	168,20, 154,99, 142,22, 135,02, 61,48
$C_5H_5N_3O_4$	(171,02)
Berechnet [%]	C, 35,10; H, 2,95; N, 24,56
Gefunden [%]	C, 35,40; H, 3,16; N, 24,32

2-(Dimethoxymethyl)-5-nitropyrimidin-4(3*H*)-on **8a**



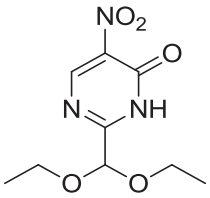
Hergestellt aus 2,2-Dimethoxyacetimidamidhydrochlorid **LIXa** (0,385 g, 2,5 mmol), Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) und Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (0,189 g, 1 mmol) nach AAV 1.

Ausbeute	111 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	243 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	13,62 (s, 1H, NH), 8,86 (s, 1H, CH), 5,21 (s, 1H, CH(CH$_3$)$_2$), 3,40 (s, 6H, CH(CH_3)$_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	141,74, 99,96, 54,39[xx]
$C_7H_9N_3O_5$	(215,05)
Berechnet [%]	C, 39,07; H, 4,22; N, 19,53

[xx] Kohlenstoffatome nicht vollständig detektierbar.

Gefunden [%]	C, 38,94; H, 4,23; N, 19,68

2-(Diethoxymethyl)-5-nitropyrimidin-4(3*H*)-on



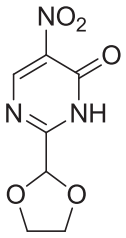
8b

Hergestellt aus 2,2-Diethoxyacetimidamidhydrochlorid **LIXb** (0,455 g, 2,5 mmol), Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) und Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (0,189 g, 1 mmol) nach AAV 1.

Ausbeute	78 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	91 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	8,78 (s, 1H, CH), 5,21 (s, 1H, C*H*(CH_2CH_3)$_2$), 3,63 (ddq, *J* = 7,1, 9,6, 45,4 Hz, 4H, CH(C$H_2$$CH_3$)$_2$), 1,17 (dt, *J* = 5,2, 14,1 Hz, 6H, CH(CH_2CH_3)$_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	163,56, 158,28, 152,00, 134,24, 99,81, 62,28, 14,94
$C_9H_{13}N_3O_5$	(243,08)
Berechnet [%]	C, 44,44; H, 5,39; N, 17,28
Gefunden [%]	C, 44,16; H, 5,27; N, 17,17

9

2-(1,3-Dioxolan-2-yl)-5-nitropyrimidin-4(3*H*)-on

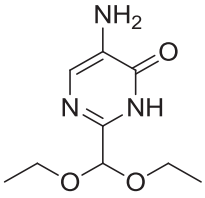


Hergestellt aus 1,3-Dioxolan-2-carboximidamidhydrochlorid **LXII** (0,38 g, 2,5 mmol), Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) und Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (0,189 g, 1 mmol) nach AAV 1.

Ausbeute	85 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	175 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	13,85 (s, 1H, NH), 8,90 (s, 1H, CH), 5,68 (s, 1H, C*H*($O_2CH_2CH_2$)), 4,14 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH(O_2C$H_2$$CH_2$)), 4,00 (dd, *J* = 5,1, 8,6 Hz, 2H, CH(O_2CH_2CH_2))

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	162,12, 141,74, 135,89, 98,93, 65,49[yy]
$C_7H_7N_3O_5$	(213,03)
Berechnet [%]	C, 39,44; H, 3,31; N, 19,71
Gefunden [%]	C, 39,29; H, 3,39; N, 19,77

5-Amino-2-(diethoxymethyl)pyrimidin-4(3*H*)-on



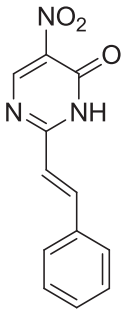
10

Hergestellt aus 2-(Diethoxymethyl)-5-nitropyrimidin-4(3*H*)-on **8b** (1,7 g, 7,08 mmol), 10 mmol% Palladium/Kohle-Katalysator, Wasserstoff (g) in Methanol, abs. (20 ml)

Ausbeute	72 % bieger Feststoff
Schmelzpunkt	120 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	12,03 (s, 1H, NH), 7,16 (s, 1H, CH), 5,09 (s, 2H, NH_2), 5,08 (d, J = 8,3 Hz, 1H, C*H*(CH_2CH_3)$_2$), 3,69 – 3,43 (m, 4H, CH(C*H*$_2$CH$_3$)$_2$), 1,27 – 1,00 (m, 6H, CH(CH_2C*H*$_3$)$_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	157,49, 143,87, 135,44, 125,02, 99,08, 61,84, 14,86
$C_9H_{15}N_3O_3$	(213,23)
Berechnet [%]	C, 50,69; H, 7,09; N, 19,71
Gefunden [%]	C, 50,61; H, 7,33; N, 19,40

11

5-Nitro-2-styrylpyrimidin-4(3*H*)-on



[yy] Kohlenstoffatome nicht vollständig detektierbar.

Hergestellt aus Cinnamimidamidhydrochlorid **LXV** (0,445 g, 2,5 mmol), Natrium (0,057 g, 2,5 mmol) und Ethyl 3-Ethoxy-2-nitroacrylat (0,189 g, 1 mmol) nach AAV 1.

Ausbeute	56 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	289 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	13,68 (s, 1H, NH), 9,01 (s, 1H, CH), 8,15 (d, J = 15,9 Hz, 1H, arom. H), 7,75 – 7,63 (m, 2H, arom. H), 7,57 – 7,44 (m, 3H, arom. H und C*H*CHC$_6$H$_5$), 7,03 (d, J = 15,8 Hz, 1H, CHC*H*C$_6$H$_5$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	162,55, 161,54, 155,37, 154,96, 143,36, 134,27, 133,40, 133,27, 131,02, 130,74, 129,22, 129,12, 128,26, 128,02, 120,01, 115,46[zz]
$C_7H_7N_3O_5$	(213,03)
Berechnet [%]	C, 59,26; H, 3,73; N, 17,28
Gefunden [%]	C, 59,00; H, 3,96; N, 17,16

AAV 2: Synthese von 4-Ethoxymethylene-2-phenyl-2-oxazolin-5-on **XXXV**

Eine Suspension aus Hippursäure (60,0 g, 0,335 mmol), Orthoameisensäuretriethylester (50,0 g, 0,337 mmol), Acetanhydrid (80,0 g, 0,783 mmol) und 4-(Dimethylamino)-pyridin (0,122 g, 1 mmol) wird unter Stickstoffatmosphäre für 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt.

Die flüchtigen Rückstände werden anschließend am Rotationsverdampfer entfernt und dieser Vorgang durch Zufügen von Toluol (50 ml) und erneutem Abdestillieren vervollständigt. Der ölige Rückstand kristallisiert nach Lagerung für 18 Stunden bei 5°C.

Der Rückstand wird in 2-Propanol (20 ml) suspendiert und anschließend filtriert. Der Filterkuchen wird mit 2-Propanol (10 ml) gewaschen und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Filtrat wird erneut eingeengt, bei 5°C gelagert und ergibt weiteres Produkt.

AAV 3: Synthese von Methyl-2-imino-2-isopropoxyacetathydrochlorid **LXVIIIa HCl** und Ethyl-2-imino-2-ethoxyacetathydrochlorid **LXVIIIb HCl**

Zu einer Lösung von Cyanameisensäuremethylester **LXVIIa** (17 g, 200 mmol) in getrocknetem Diethylether (150 ml) wird langsam bei 0°C 2-Propanol, abs. (18,5 ml, 14,4 g, 240 mmol) zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wird ein gleichmäßiger Strom Hydrogenchloridgas für fünf Minuten durch die Reaktion geleitet und diese anschießend für eine Stunde bei gleichbleibender Temperatur gerührt.

[zz] Teilweise doppelter Signalsatz wegen der E/Z-Isomerie.

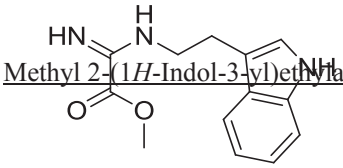
Das Imidoesterhydrochlorid **LXVIIIa HCl** fiel zu diesem Zeitpunkt in Form weißer Kristalle aus. Der Reaktionsansatz wird unter Feuchtigkeitsausschluss für 48 Stunden bei -20°C gelagert, anschließend mit getrockneten Diethylether überschichtet und filtriert. Der Filterkuchen wird mehrmals mit Diethylether gewaschen und anschließend unter Stickstoffatmosphäre bei -20°C gelagert.
Für die Synthese von Ethyl-2-imino-2-ethoxyacetathydrochlorid **LXVIIIa HCl** werden Cyanameisensäureethylester **LXVIIb** (18,6 g, 187,8 mmol) und Ethanol, abs. (10,93 ml, 8,63 g, 187,8 mmol) nach gleicher Vorgehensweise zur Reaktion gebracht.

AAV 4: Synthese der Amidinhydrochloride **XLIV**, **LXVIa-p**

Methyl-2-imino-2-isopropoxyacetathydrochlorid **LXVIIIa HCl**, beziehungsweise Ethyl-2-imino-2-ethoxyacetathydrochlorid **LXVIIIb HCl**, (30 mmol, 5,43 g) wurden durch Behandlung mit einer eisgekühlten, gesättigten Kaliumcarbonatlösung (20 ml) in die Imidoesterbase **LXVIIIa,b** überführt und mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel schonend bei reduziertem Druck entfernt. Der Rückstandes (20 mmol, 2,90 g) wird in Methanol, abs. (15 ml), beziehungsweise Ethanol, abs. (15 ml), gelöst und auf 0°C abgekühlt. Über einen Zeitraum von einer Stunde wird das entsprechende Aminhydrochlorid (12 mmol) portionsweise zu der gekühlten Lösung gegeben. Nach vollständiger Zugabe wird das Eisbad entfernt und der Reaktionsansatz über Nacht bei Raumtemperatur gerührt.
Das Lösungsmittel wird unter reduzierten Druck abdestilliert, der ölige Rückstand mit 30 ml getrockneten Diethylether überschichtet und für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem der Diethylether abdekantiert wurde, wird der Rückstand im Hochvakuum von verbliebenen Rückständen befreit und ohne weitere Reinigung direkt verwendet.

AAV 4.1: Synthese von Methyl-2-((2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)amino)-2-iminoacetat **X**

Das Amidinhydrochlorid **LXVIp** (3,0 g, 10,67mmol), hergestellt nach AAV 4 aus Methyl 2-imino-2-isopropoxyacetate **LXVIIIa** (2,3 g, 15,8 mmol) und Tryptaminhydrochlorid (2,25 g, 11,47 mmol), wird unter Kühlung mittels einer gesättigten Kaliumcarbonatlösung (20 ml) in die Amidinbase **22** überführt, mit Ethylacetat (3x 50 ml) extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. Der resultierende Feststoff wird durch Umkristallisation aus Methanol gereinigt und ergibt das Produkt **22**.



Methyl 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethylamino-2-iminoacetat **22**

Hergestellt nach AAV 4.1.

Ausbeute	78 % als beiger Feststoff
Schmelzpunkt	173 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,78 (s, 1H, NH), 7,57 (d, J = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,33 (d, J = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,15 (s, 1H, arom. H), 7,01 (dt, J = 7,4, 44,3 Hz, 2H, arom. H), 3,77 (s, 3H, CH_3), 3,38 (m, 2H, CH_2), 2,93 (m, 2H, CH_2)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	158,33, 155,89, 136,03, 126,92, 122,93, 120,89, 118,26, 118,18, 111,27, 110,52, 42,16, 23,24[aaa]
$C_{13}H_{15}N_3O_2$	(245,11)
Berechnet [%]	C, 63,66; H, 6,16; N, 17,13
Gefunden [%]	C, 63,83; H, 6,23; N, 16,85

AAV 5: Synthese der Alkyl 5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxylate **1a-q**

Eine Lösung aus 4-Ethoxymethylene-2-phenyl-2-oxazolin-5-on **XXXV** (0.217 g, 1 mmol), dem entsprechenden Amidinhydrochlorid **XLIV**, **LXVIa-p** (1 mmol) und Triethylamin (0.101 g, 1 mmol) in Acetonitril, abs. (5 ml) wird unter Stickstoffatmosphäre bei 80°C gerührt, bis die dünnschichtchromatographische Analytik (*n*-Hexan/Ethylacetat 1:1) die vollständige Umsetzung von **XXXV** zeigt.

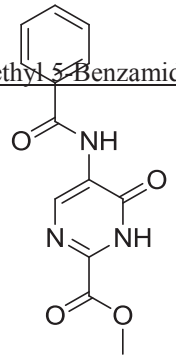
Das Lösungsmittel wird bei reduziertem Druck entfernt und durch eine wässrige Zitronensäurelösung (10%, 3 ml) ersetzt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x 5 ml) extrahiert, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Der entsprechende Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, Gradientenelution von 10:0 zu 7:3) gereinigt und ergibt die Verbindungen **1a-q**.

[aaa] Kohlenstoffatome nicht vollständig detektierbar

Im Fall von **1q** wird die Amidinbase **22** eingesetzt und auf die Zugabe von Triethylamin verzichtet.

Methyl 5-Benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1a**

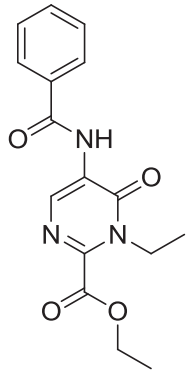


Hergestellt aus **XLIV** (0,138 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	50 % als beiger Feststoff
Schmelzpunkt	209 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	13,51 (s, 1H, NH), 9,47 (s, 1H, NH), 8,86 (s, 1H, CH), 7,95 (d, J = 7,2 Hz, 2H, arom. H), 7,64 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,56 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 3,90 (s, 3H, CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,33, 159,94, 133,07, 132,32, 128,68, 127,48, 53,20, 39,96[bbb]
$C_{13}H_{11}N_3O_4$	(273,07)
Berechnet [%]	C, 57,14; H, 4,06; N, 15,38
Gefunden [%]	C, 56,91; H, 4,02; N, 15,24

[bbb] Kohlenstoffatome nicht vollständig detektierbar.

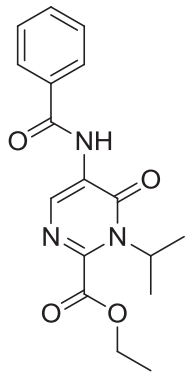
Ethyl 5-Benzamido-1-ethyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1b**



Hergestellt aus **LXVIa** (0,180 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	61 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	89 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,17 (d, *J* = 17,4 Hz, 1H, NH), 8,95 (s, 1H, CH), 8,08 – 7,80 (m, 2H, arom. H), 7,63 – 7,56 (m, 1H, arom. H), 7,51 (dd, *J* = 4,7, 10,6 Hz, 2H, arom. H), 4,50 (q, *J* = 7,2, 14.3 Hz, 2H, C*H*$_2$CH$_3$), 4,27 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, C*H*$_2$CH$_3$), 1,47 – 1,43 (m, 6H, CH$_2$C*H*$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,63, 160,68, 157,21, 143,16, 134,86, 133,36, 132,58, 128,94, 127,97, 127,33, 63,39, 42,16, 14,17, 14,02
$C_{16}H_{17}N_3O_4$	(315,32)
Berechnet [%]	C, 60,94; H, 5,43; N, 13,33
Gefunden [%]	C, 61,03; H, 5,50; N, 13,27

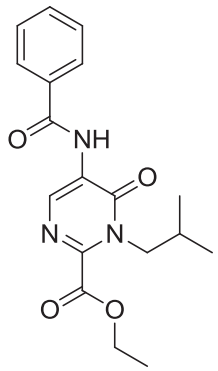
Ethyl 5-Benzamido-1-isopropyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1c**



Hergestellt aus **LXVIb** (0,194 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	30 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	106 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,10 (s, 1H, NH), 8,95 (s, 1H, CH), 7,93 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H, arom. H), 7,58 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,50 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 4,49 (dq, *J* = 7,0, 11,2 Hz, 3H, C*H*$_2$CH$_3$ und C*H*(CH$_3$)$_2$), 1,82 – 1,57 (m, 6H, CH(C*H*$_3$)$_2$), 1,45 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH$_2$C*H*$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,53, 161,32, 157,48, 144,39, 134,39, 133,44, 132,50, 128,90, 128,23, 127,30, 63,34, 55,09, 19,59, 13,95
$C_{17}H_{19}N_3O_4$	(329,35)
Berechnet [%]	C, 62,00; H, 5,81; N, 12,76
Gefunden [%]	C, 61,83; H, 5,73; N, 12,76

Ethyl 5-Benzamido-1-isobutyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1d**



Hergestellt aus **LXVIc** (0,208 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

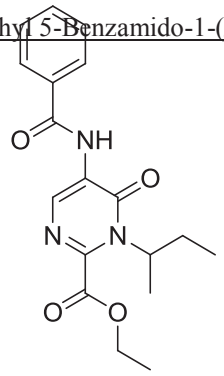
Ausbeute	31 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	59 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,18 (s, 1H, NH), 8,96 (s, 1H, CH), 7,93 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 4,48 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, C*H*$_2$CH$_3$), 4,25 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, C*H*$_2$CH(CH$_3$)$_2$), 2,13 – 1,97 (m, 1H, CH$_2$C*H*(CH$_3$)$_2$), 1,45 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH$_2$C*H*$_3$), 0,94 (s, 3H, CH$_2$CH(C*H*$_3$)$_2$), 0,93 (s, 3H, CH$_2$CH(C*H*$_3$)$_2$)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,62, 160,87, 157,61, 143,25, 134,62, 133,35, 132,58, 128,93, 127,88, 127,33, 63,36, 51,69, 28,64, 19,87, 14,00

$C_{16}H_{17}N_3O_4$	(343,37)
Berechnet [%]	C, 62,96; H, 6,16; N, 12,24
Gefunden [%]	C, 62,91; H, 6,30; N, 12,22

1e

Ethyl 5-Benzamido-1-(*sec*-butyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat



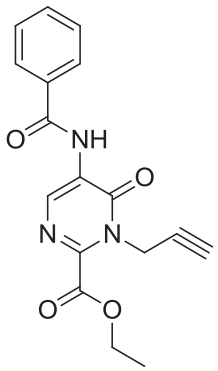
Hergestellt aus **LXVId** (0,208 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	22 % als gelbes Öl
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,12 (s, 1H, NH), 8,95 (s, 1H, CH), 7,93 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H, arom. H), 7,58 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,50 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 4,51 – 4,47 (m, 2H, C*H*$_2$CH$_3$), 4,19 – 4,14 (m, 1H, C*H*(CH$_3$)(CH$_2$CH$_3$)), 2,30 (dt, *J* = 7,7, 15,1 Hz, 1H, CH(CH$_3$)(C*H*$_2$CH$_3$)), 1,94 (td, *J* = 7,1, 14,2 Hz, 1H, CH(CH$_3$)(C*H*$_2$CH$_3$)), 1,66 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH(C*H*$_3$)(CH$_2$CH$_3$)), 1,45 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH$_2$C*H*$_3$), 0,87 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H, CH(CH$_3$)(CH$_2$C*H*$_3$))

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,53, 161,30, 157,38, 144,95, 134,53, 133,43, 132,49, 128,89, 128,04, 127,29, 63,29, 61,40, 25,96, 17,82, 13,97, 11,27

$C_{16}H_{17}N_3O_4$	(343,37)
Berechnet [%]	C, 62,96; H, 6,16; N, 12,24
Gefunden [%]	C, 62,69; H, 5,99; N, 12,09

Ethyl 5-Benzamido-6-oxo-1-(prop-2-yn-1-yl)-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1f**

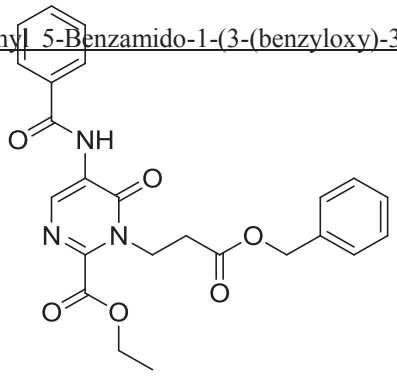


Hergestellt aus **LXVIe** (0,19 g, 1.0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	57 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	122 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,21 (s, 1H, NH), 8,94 (s, 1H, CH), 7,92 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, arom. H), 7,60 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,52 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 5,26 (d, *J* = 1,7 Hz, 2H, C*H*$_2$CCH), 4,51 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, C*H*$_2$CH$_3$), 2,35 (s, 1H, CH$_2$CC*H*), 1,47 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, CH$_2$C*H*$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,64, 160,37, 156,88, 141,47, 134,51, 133,17, 132,72, 128,99, 128,24, 127,35, 73,49, 63,64, 34,48, 14,00
$C_{17}H_{15}N_3O_4$	(325,32)
Berechnet [%]	C, 62,76; H, 4,65; N, 12,92
Gefunden [%]	C, 62,96; H, 4,68; N, 12,87

1g

Ethyl 5-Benzamido-1-(3-(benzyloxy)-3-oxopropyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat

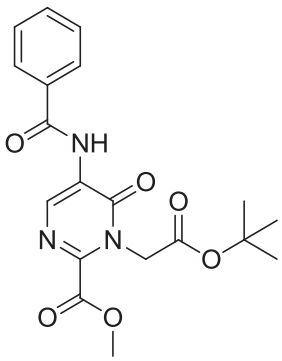


Hergestellt aus **LXVIf** (0,314 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	22 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	96 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,18 (s, 1H, NH), 8,89 (s, 1H, CH), 7,91 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,35 – 7,33 (m, 5H, arom. H), 5,13 (s, 2H, $OCH_2C_6H_5$), 4,56 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH_2CO), 4,49 – 4,45 (m, 2H, CH_2CH_3), 2,97 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH_2CO), 1,45 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, CH_2CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	170,55, 165,60, 160,68, 157,48, 142,88, 135,41, 134,69, 133,28, 132,64, 128,96, 128,61, 128,45, 128,35, 128,01, 127,33, 66,82, 63,54, 42,46, 32,56, 13,98
$C_{24}H_{23}N_3O_6$	(449,45)
Berechnet [%]	C, 64,13; H, 5,16; N, 9,35
Gefunden [%]	C, 64,40; H, 5,16; N, 9,36

Methyl 5-Benzamido-1-(2-(tert-butoxy)-2-oxoethyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat

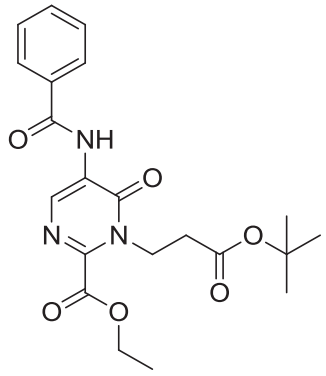
1h



Hergestellt aus **LXVIg** (0,252 g, 1,0 mmol) nach AAV 5. Oder aus **1a** (0,273 g, 1,0 mmol) und *tert*-Butylbromoacetat (0,231 g, 1,2 mmol) nach AAV 6.

Ausbeute	49 % als beiger Feststoff
Schmelzpunkt	192 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,25 (s, 1H, NH), 8,94 (s, 1H, CH), 7,92 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 5,21 (s, 2H, C*H*$_2$), 3,98 (s, 3H, CH_3), 1,50 (s, 9H, $C(CH_3)_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	166,29, 165,65, 161,00, 157,53, 140,67, 134,30, 133,20, 132,70, 128,97, 128,39, 127,35, 83,48, 53,91, 46,50, 27,95
$C_{16}H_{17}N_3O_6$	(387,38)
Berechnet [%]	C, 58,91; H, 5,46; N, 10,84
Gefunden [%]	C, 58,71; H, 5,56; N, 10,66

Ethyl 5-Benzamido-1-(3-(tert-butoxy)-3-oxopropyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1i**



Hergestellt aus **LXVIh** (0,280 g, 1 mmol) nach AAV 5.

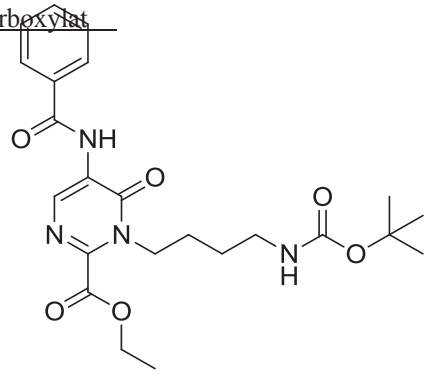
Ausbeute	49 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	73 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,19 (s, 1H, NH), 8,93 (s, 1H, CH), 7,92 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 4,50 (dq, *J* = 3,4, 10,7 Hz, 4H, C*H*$_2$CH$_2$CO und C*H*$_2$CH$_3$), 2,81 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, CH$_2$C*H*$_2$CO), 1,47 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH$_2$C*H*$_3$), 1,44 (s, 9H, $C(CH_3)_3$)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	169,90, 165,60, 160,68, 157,46, 143,13, 134,72, 133,30, 132,63, 128,95, 127,92, 127,32, 81,48, 63,45, 42,55, 33,59, 28,05, 13,98

$C_{21}H_{25}N_3O_6$	(415,44)
Berechnet [%]	C, 60,71; H, 6,07; N, 10,11
Gefunden [%]	C, 60,81; H, 6,07; N, 9,93

1j

Ethyl 5-Benzamido-1-(4-*tert*-butoxycarbonylaminobutyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat



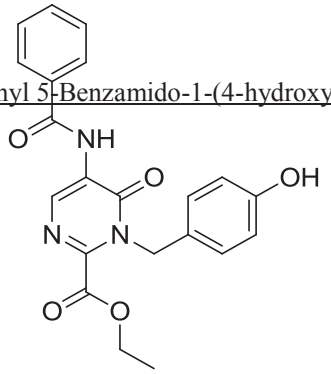
Hergestellt aus **LXVIi** (0,32 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	33 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	97 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,19 (s, 1H, NH), 8,94 (s, 1H, CH), 7,93 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 4,70 (s, 1H, NH), 4,48 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2NH$), 4,24 – 4,22 (m, 2H), 3,19 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2NH$), 1,87 – 1,82 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2NH$), 1,62 – 1,58 (m, 2H, $NCH_2CH_2CH_2CH_2NH$), 1,48 – 1,44 (m, 12H, CH_2CH_3 und $C(CH_3)_3$)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,61, 160,65, 157,39, 155,92, 142,77, 134,75, 133,31, 132,62, 128,95, 128,01, 127,33, 79,25, 77,28, 63,49, 46,02, 39,80, 28,41, 27,19, 26,14, 14,03

$C_{23}H_{30}N_4O_6$	(458,50)
Berechnet [%]	C, 60,25; H, 6,59; N, 12,22
Gefunden [%]	C, 60,16; H, 6,54; N, 11,98

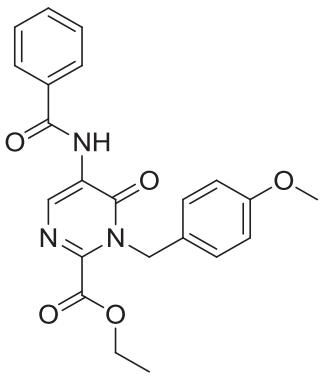
Ethyl 5-Benzamido-1-(4-hydroxybenzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1k**



Hergestellt aus **LXVIj** (0,258 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	52 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	166 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,58 (s, 1H, NH), 9,49 (s, 1H, OH), 8,79 (s, 1H, CH), 7,96 (d, J = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,63 (d, J = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,55 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,04 (d, J = 8,5 Hz, 2H, arom. H), 6,72 (d, J = 8,5 Hz, 2H, arom. H), 5,27 (s, 2H, CH_2C$_6$H$_4$), 4,29 (q, J = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH$_3$), 1,18 (t, J = 7,1 Hz, 3H, CH$_2$CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,41, 160,41, 156,95, 156,68, 144,71, 136,85, 133,07, 132,28, 128,87, 128,61, 127,55, 127,42, 125,58, 115,20, 62,82, 47,29, 13,46
$C_{21}H_{19}N_3O_5$	(393,39)
Berechnet [%]	C, 64,12; H, 4,87; N, 10,68
Gefunden [%]	C, 63,91; H, 4,89; N, 10,97

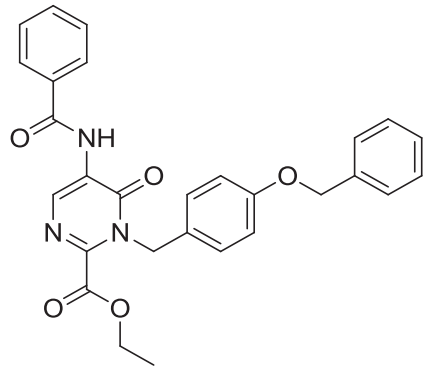
Ethyl 5-Benzamido-1-(4-methoxybenzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1l**



Hergestellt aus **LXVIk** (0,272 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	81 % als gelbes Öl
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,19 (s, 1H, NH), 8,96 (s, 1H, CH), 7,92 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 7,58 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,50 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,19 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, arom. H), 6,85 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, arom. H), 5,54 (s, 2H, $CH_2C_6H_4$), 4,35 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH_3), 3,79 (s, 3H, OCH_3), 1,30 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, CH_2CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,66, 160,89, 159,51, 157,57, 143,07, 134,75, 133,32, 132,62, 129,45, 128,94, 128,08, 127,35, 127,27, 114,18, 63,32, 55,31, 47,58, 13,87
$C_{22}H_{21}N_3O_5$	(407,42)
Berechnet [%]	C, 64,86; H, 5,20; N, 10,31
Gefunden [%]	C, 64,64; H, 5,42; N, 10,02

Ethyl 5-Benzamido-1-(4-(benzyloxy)benzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1m**



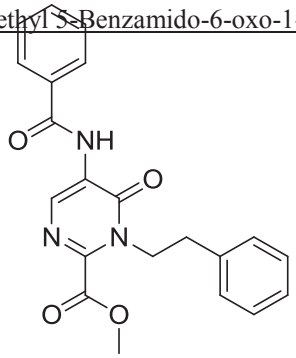
Hergestellt aus **LXVII** (0,348 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	62 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	109 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,58 (s, 1H, NH), 8,81 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H, CH), 8,18 – 7,85 (m, 2H, arom. H), 7,71 – 7,60 (m, 1H, arom. H), 7,55 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,43 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,38 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,32 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,17 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, arom. H), 7,01 – 6,95 (m, 2H, arom. H), 5,30 (s, 2H, $OCH_2C_6H_5$), 5,03 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, $NCH_2C_6H_4$), 4,28 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH_3), 1,36 – 1,07 (m, 3H, CH_2CH_3)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,48, 160,44, 157,83, 156,77, 144,72, 136,95, 133,14, 132,35, 128,84, 128,67, 128,39, 127,79, 127,69, 127,63, 127,58, 127,56, 114,83, 69,14, 62,91, 47,52, 13,53

$C_{28}H_{25}N_3O_5$	(483,51)
Berechnet [%]	C, 69,55; H, 5,21; N, 8,69
Gefunden [%]	C, 69,60; H, 5,41; N, 8,53

Methyl 5-Benzamido-6-oxo-1-phenethyl-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1n**



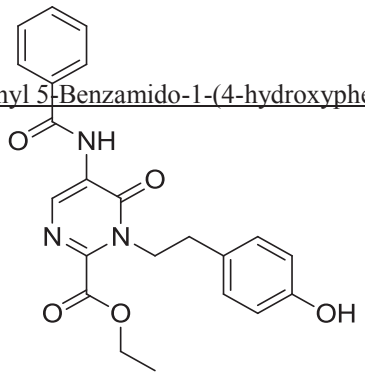
Hergestellt aus **LXVIm** (0,232 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	35 % als orange Kristalle
Schmelzpunkt	115 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,60 (s, 1H, NH), 8,81 (s, 1H, CH), 7,98 (d, J = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,65 (t, J = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,34 (t, J = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,26 (t, J = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,20 (d, J = 7,2 Hz, 2H, arom. H), 4,43 – 4,22 (m, 2H, CH_2CH$_2$C$_6$H$_5$), 3,86 (s, 3H, CH$_3$), 3,12 – 2,87 (m, 2H, CH$_2$CH_2C$_6$H$_5$)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,41, 160,76, 156,64, 143,75, 137,45, 136,30, 133,07, 132,33, 128,65, 128,63, 128,51, 127,73, 127,55, 126,66, 53,49, 47,37, 33,76

$C_{21}H_{19}N_3O_4$	(377,39)
Berechnet [%]	C, 66,83; H, 5,07; N, 11,13
Gefunden [%]	C, 66,65; H, 5,09; N, 11,14

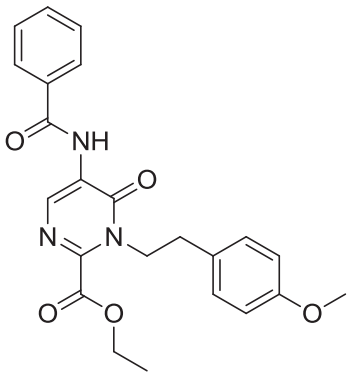
Ethyl 5-Benzamido-1-(4-hydroxyphenethyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1o**



Hergestellt aus **LXVIn** (0,272 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	55 % gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	191 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,57 (s, 1H, NH), 9,30 (s, 1H, OH), 8,79 (s, 1H, CH), 7,98 (d, J = 8,4 Hz, 2H, arom. H), 7,65 (t, J = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 6,95 (d, J = 8,3 Hz, 2H, arom. H), 6,70 (d, J = 8,4 Hz, 2H, arom. H), 4,35 – 4,23 (m, 4H, CH_2CH$_3$ und NCH_2CH$_2$C$_6$H$_4$), 2,92 – 2,84 (m, 2H), 2,54 – 2,49 (m, 2H), 1,30 (t, J = 7,1 Hz, 3H)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,39, 160,34, 156,61, 156,12, 144,14, 136,51, 133,10, 132,32, 129,56, 128,65, 127,56, 127,43, 127,28, 115,39, 62,88, 47,49, 32,92, 13,56
$C_{22}H_{21}N_3O_5$	(407,42)
Berechnet [%]	C, 64,86; H, 5,20; N, 10,31
Gefunden [%]	C, 64,71; H, 5,22; N, 10,25

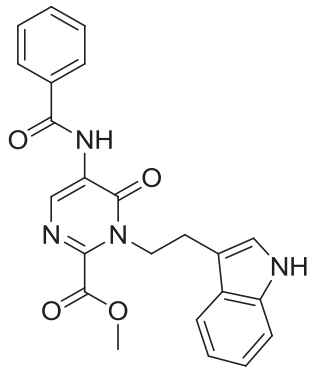
Ethyl 5-Benzamido-1-(4-methoxyphenethyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1p**



Hergestellt aus **LXVIo** (0,286 g, 1,0 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	41 % als gelbes Öl
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,20 (s, 1H, NH), 8,98 (s, 1H, CH), 7,94 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,12 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 6,85 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 4,51 – 4,43 (m, 2H, C*H*$_2$CH$_3$), 4,37 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$C$_6$H$_4$), 3,79 (s, 3H, OCH$_3$), 3,06 – 3,00 (m, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$C$_6$H$_4$), 1,40 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH$_2$C*H*$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,62, 160,62, 158,66, 157,39, 142,76, 134,72, 133,33, 132,62, 130,01, 129,16, 128,95, 128,03, 127,35, 114,24, 63,40, 55,23, 47,88, 33,94, 13,90
$C_{23}H_{23}N_3O_5$	(421,45)
Berechnet [%]	C, 65,55; H, 5,50; N, 9,97
Gefunden [%]	C, 65,71; H, 5,72; N, 9,70

Methyl 1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1q**



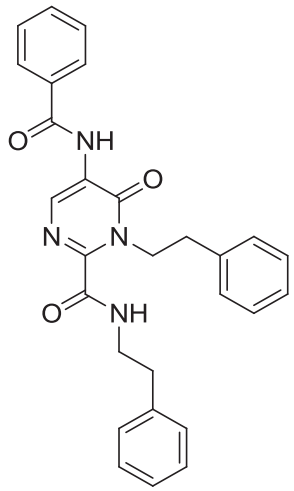
Hergestellt aus **LXVIp** (0,245 g, 0,65 mmol) nach AAV 5.

Ausbeute	65 % als beige Kristalle
Schmelzpunkt	222 °C (Tetrahydrofuran)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	10,92 (s, 1H, NH arom.), 9,62 (s, 1H, NH), 8,79 (s, 1H, CH), 8,00 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,69 – 7,51 (m, 4H, arom. H), 7,37 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,06 (ddd, *J* = 7,3, 14,8, 22,2 Hz, 3H, arom. H), 4,42 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$), 3,46 (s, 3H, CH$_3$), 3,12 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,41, 160,39, 156,67, 144,01, 136,37, 136,33, 133,12, 132,31, 128,66, 127,56, 127,50, 126,75, 123,69, 121,06, 118,40, 117,97, 111,40, 109,27, 52,97, 46,18, 23,76

$C_{23}H_{20}N_4O_4$	(416,43)
Berechnet [%]	C, 66,34; H, 4,84; N, 13,45
Gefunden [%]	C, 66,13; H, 4,92; N, 13,54

5-Benzamido-6-oxo-*N*,1-diphenethyl-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



1na

Ausbeute	10 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	159°C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,55 (s, 1H, NH), 9,08 (s, 1H, CH), 8,76 (s, 1H, arom. H), 7,98 (d, J = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,63 (d, J = 7,4 Hz, 1H, N*H*CH$_2$), 7,56 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,40 – 7,08 (m, 11H, arom. H), 4,30 – 4,12 (m, 2H, alkyl. H), 3,52 (dd, J = 6,9, 13,5 Hz, 2H, alkyl. H), 3,04 – 2,94 (m, 2H, alkyl. H), 2,84 (t, J = 7,3 Hz, 2H, NHC*H*$_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,33, 160,78, 156,99, 147,61, 138,87, 137,70, 137,15, 133,14, 132,23, 128,62, 128,56, 128,51, 128,23, 127,51, 126,54, 126,45, 126,10, 46,66, 40,33, 34,48, 34,18
$C_{28}H_{26}N_4O_3$	(466,53)
Berechnet [%]	C, 72,08; H, 5,61; N, 12,00
Gefunden [%]	C, 71,88; H, 5,71; N, 11,93

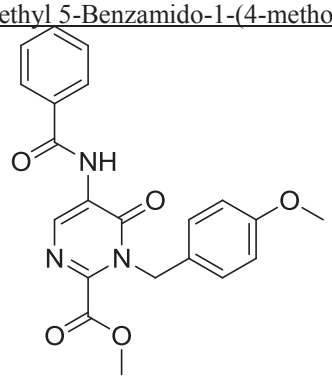
AAV 6: Synthese der Alkyl-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxylate **1h,s**

Pyrimidon **1a** (0,273 g, 1 mmol) wird in DMF, abs. (1 ml) gelöst. Unter einem steten Stickstoffstrom wird Natriumhydrid (40 mg, 1 mmol, 60% in Mineralöl) in einer Portion zum Reaktionsansatz gegeben und dieser für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das korrespondierende Alkylanz (1,2 mmol) wird langsam zugetropft und die Reaktion über Nacht gerührt.

Der Reaktionsansatz wird in Ethylacetat (15 ml) aufgenommen, mit wässriger Kochsalzlösung (5 ml) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Der betreffende Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, Gradientenelution von 10:0 zu 7:3) gereinigt und ergibt die Verbindungen **1h,s**.

Methyl 5-Benzamido-1-(4-methoxybenzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1s**



Hergestellt aus **1a** (0,273 g, 1,0 mmol) und 4-Methoxybenzylchlorid (0,187 g, 1,2 mmol) nach AAV 6.

Ausbeute	64 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	101 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,18 (s, 1H, NH), 8,98 (s, 1H, CH), 7,92 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,58 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,50 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, arom. H), 7,20 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, arom. H), 6,85 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, arom. H), 5,55 (s, 2H, NC*H*$_2$C$_6$H$_2$), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 3,78 (s, 3H, CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,66, 161,26, 159,50, 157,56, 142,50, 134,55, 133,27, 132,64, 129,50, 128,94, 128,28, 127,44, 127,34, 114,18, 55,28, 53,74, 47,58
$C_{21}H_{19}N_3O_5$	(393,39)
Berechnet [%]	C, 64,12; H, 4,87; N, 10,68
Gefunden [%]	C, 63,94; H, 4,85; N, 10,67

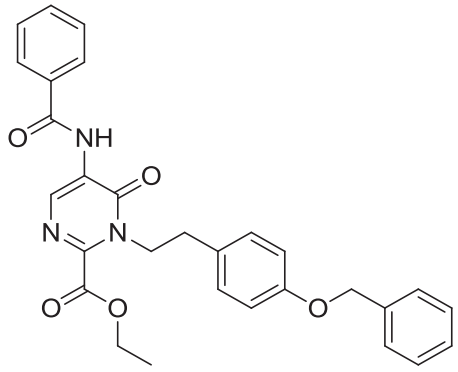
AAV 7: *O*-Alkylierung von Verbindung **1r**

Zu einer Suspension des Phenols **1o** (0,407 g, 1,0 mmol), Kaliumcarbonat (0,207 g, 1,5 mmol) und Kaliumiodid (0,166 g, 1,0 mmol) in getrocknetem Acetonitril (2 ml) wird langsam Benzylbromid (0,342 g, 2,0 mmol) getropft und der Reaktionsansatz für drei Stunden unter Stickstoffatmosphäre bei 60°C gerührt.

Nach Zugabe von Dichlormethan und Wasser (jeweils 10 ml) wird solange gerührt, bis sich eine Trennung der Phasen einstellt. Die organische Phase wird abgetrennt, getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

Das resultierende Öl wird durch Behandlung mit Diethylether kristallisiert und durch Umkristallisation aus Dichlormethan gereinigt.

Ethyl 5-Benzamido-1-(4-(benzyloxy)phenethyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat **1r**



Hergestellt aus **1o** (0,362 g, 0,90 mmol) nach AAV 7.

Ausbeute	90 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	83 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	9,20 (s, 1H, NH), 8,98 (s, 1H, CH), 7,94 – 7,92 (m, 2H, arom. H), 7,59 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,52 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,42 – 7,40 (m, 4H, arom. H), 7,33 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H, arom. H), 7,13 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 6,95 – 6,93 (m, 2H, arom. H), 5,05 (s, 2H, $OCH_2C_6H_5$), 4,46 – 4,44 (m, 2H, NCH_2CH_2), 4,38 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H, C*H*2CH3), 3,04 - 3,02 (m, 2H, NCH_2CH_2), 1,41 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH2C*H*3)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,63, 160,63, 157,90, 157,40, 142,76, 136,94, 134,73, 133,34, 132,63, 130,05, 129,49, 128,96, 128,61, 128,05, 128,01, 127,48, 127,36, 115,19, 70,02, 63,42, 47,89, 33,99, 13,96

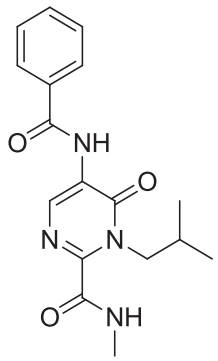
$C_{29}H_{27}N_3O_5$	(497,54)
Berechnet [%]	C, 70,01; H, 5,47; N, 8,45
Gefunden [%]	C, 69,89; H, 5,44; N, 8,56

AAV 8: Synthese der 5-Benzamido-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxamide **15b,c**

Zu einer gekühlten Suspension (5°C) des betreffenden Esters **1d,q** (1 mmol) in Ethanol (2 ml) wird eine wässrige Methylaminlösung (40%, 2 ml, 25,7 mmol) getropft. Der Reaktionsansatz wird für fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Nach Zugabe von Wasser (10 ml) wird die entstandene Suspension filtriert und das kristalline Reaktionsprodukt durch Umkristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel gereinigt.

5-Benzamido-1-isobutyl-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid **15c**



Hergestellt aus **1d** (0,343 g, 1,0 mmol) nach AAV 8.

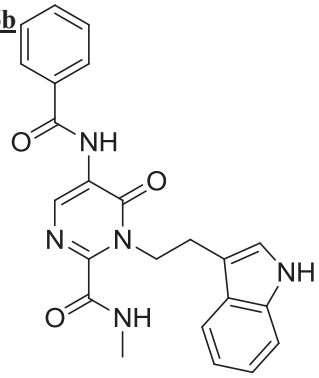
Ausbeute	89 % beige Kristalle
Schmelzpunkt	128 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,48 (s, 1H, NH), 9,01 (d, J = 4,7 Hz, 1H, N*H*CH_3), 8,76 (s, 1H, CH), 7,99 – 7,93 (m, 2H, arom. H), 7,63 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,55 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 4,18 (d, J = 7,4 Hz, 2H, CH_2CH(CH_3)$_2$), 2,78 (d, J = 4,7 Hz, 3H, NHCH_3), 2,03 (tt, J = 6,3, 12,7 Hz, 1H, CH_2C*H*(CH_3)$_2$), 0,85 (s, 3H, CH_2CH(CH_3)$_2$), 0,84 (s, 3H, CH_2CH(CH_3)$_2$)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	165,34, 161,58, 157,30, 147,89, 136,89, 133,20, 132,22, 128,63, 127,50, 126,35, 50,55, 27,58, 25,81, 19,65

$C_{17}H_{20}N_4O_3$	(328,37)
Berechnet [%]	C, 62,18; H, 6,14; N, 17,06
Gefunden [%]	C, 62,00; H, 6,01; N, 17,01

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-benzamido-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

15b



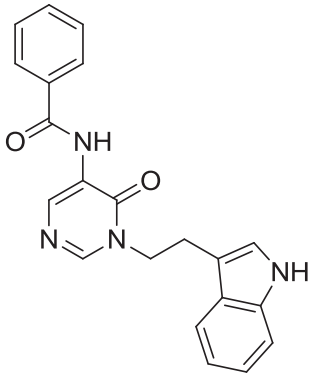
Hergestellt aus **1q** (0,416 g, 1,0 mmol) nach AAV 8.

Ausbeute	90 % als beige Kristalle
Schmelzpunkt	270 °C (Tetrahydrofuran)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	10,89 (s, 1H, NH arom.), 9,58 (s, 1H, NH), 8,84 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H, N*H*CH$_3$), 8,78 (s, 1H, CH), 8,00 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,71 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,65 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,16 (s, 1H, arom. H), 7,09 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,02 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 4,57 – 4,28 (m, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$), 3,20 – 3,06 (m, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$), 2,73 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H, NHC*H*$_3$)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	165,36, 161,32, 157,12, 147,90, 137,18, 136,22, 133,19, 132,22, 128,62, 127,54, 126,89, 126,45, 123,10, 121,01, 118,34, 118,21, 111,39, 110,02, 46,08, 25,77, 24,46

$C_{23}H_{21}N_5O_3$	(415,44)
Berechnet [%]	C, 66,49; H, 5,09; N, 16,86
Gefunden [%]	C, 66,32; H, 4,86; N, 16,69

N-(1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)benzamid



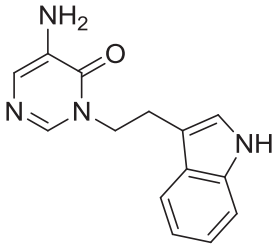
13

Hergestellt aus **1q** (0,416 g, 1 mmol), Natriumhydroxid (0, 016 g, 4 mmol) in Methanol, abs. (2 ml) über Nacht bei 80°C.

Ausbeute	21 % weißer Feststoff
Schmelzpunkt	198 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,94 (s, 1H, NH, arom.), 9,52 (s, 1H, NH), 8,66 (s, 1H, CH), 8,15 (s, 1H, CH), 7,98 (d, J = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,63 – 7,57 (m, 4H, arom. H), 7,36 (d, J = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,06 – 7,01 (m, 3H, arom. H), 4,26 (t, J = 7,2 Hz, 2H, NCH_2CH$_2$), 3,15 (t, J = 7,3 Hz, 2H, NCH$_2$CH_2)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,23, 156,71, 146,80, 136,13, 133,32, 132,08, 128,63, 128,52, 127,45, 126,83, 125,86, 118,14, 118,05, 111,34, 109,69, 47,47, 24,02
$C_{21}H_{18}N_4O_2$	(358,14)
Berechnet [%]	C, 70,38; H, 5,06; N, 15,63
Gefunden [%]	C, 70,32; H, 4,97; N, 15,49

14

3-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-aminopyrimidin-4(3*H*)-on



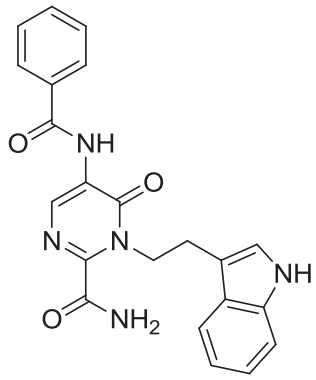
Hergestellt aus **1q** (0,416 g, 1 mmol), Natriumhydroxid (0, 016 g, 4 mmol) in Methanol, abs. (2 ml) über Nacht bei 80°C.

Ausbeute	71 % weißer Feststoff
Schmelzpunkt	186 °C (Dichlormethan)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,86 (s, 1H, NH arom.), 7,61 – 7,57 (m, 2H, CH und arom. H), 7,34 (d, J = 8,1 Hz, 1H, CH), 7,11 (dd, J = 19,5, 38,1 Hz, 3H, arom. H), 6,99 (d, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 5,09 (s, 2H, NH), 4,14 (t, J = 7,5 Hz, 2H, NCH_2CH$_2$), 3,07 (t, J = 7,4 Hz, 2H, NCH$_2$CH_2)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	156,65, 139,03, 136,12, 135,13, 126,93, 125,90, 123,05, 120,96, 118,30, 118,17, 111,33, 110,15, 46,54, 24,33
$C_{14}H_{14}N_4O$	(254,28)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 255,12270, gefunden, 255,12435
HPLC-Analytik	96,9 % (RP 18, Acetonitril: Wasser 80:20 zu 100:0)

1-(2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

15a

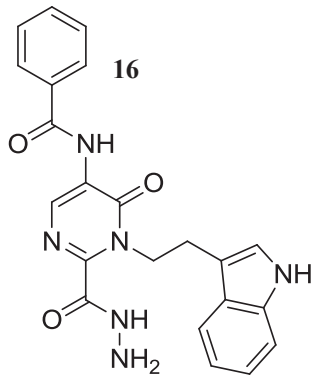


Hergestellt aus **1q** (0,208 g, 0,5 mmol), methanolischer Ammoniaklösung (7M, 0,714 ml, 5 mmol), Methanol, abs. (2 ml) für 3 Stunden bei Raumtemperatur.

Ausbeute	76 % weißer Feststoff
Schmelzpunkt	259 °C (Tetrahydrofuran)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,92 (s, 1H, NH arom.), 9,59 (s, 1H, NH), 8,77 (s, 1H, CH), 8,44 (s, 1H, NH), 8,22 (s, 1H, NH), 8,00 (d, J = 7,2 Hz, 2H, arom. H), 7,75 (d, J = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,65 (t, J = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, J = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,37 (d, J = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,20 (d, J = 2,0 Hz, 1H, arom. H), 7,06 (dt, J = 7,4 Hz, 39,4 Hz, 2H, arom. H), 4,37 – 4,33 (m, 2H, NCH_2CH$_2$), 3,19 – 3,16 (m, 2H, NCH$_2$CH_2)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,35, 163,06, 157,11, 148,45, 137,74, 136,20, 133,21, 132,21, 128,62, 127,55, 126,91, 126,29, 122,97, 121,05, 118,41, 118,30, 111,40, 110,14, 46,36, 24,60
$C_{22}H_{19}N_5O_3$	(401,14)
Berechnet [%]	C, 65,83; H, 4,77; N, 17,45

Gefunden [%]	C, 65,56; H, 4,71; N, 17,42

N-(1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-2-(hydrazincarbonyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)benzamid



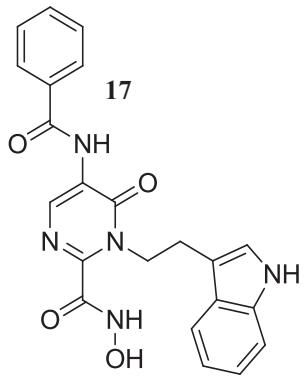
16

Hergestellt aus **1q** (0,208 g, 0,5 mmol), Hydrazinhydrat (0,125 g, 2,5 mmol), DMF, abs. (2 ml) für 3 Stunden bei Raumtemperatur.

Ausbeute	87 % weißer Feststoff
Schmelzpunkt	224 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,91 (s, 1H, NH arom.), 10,16 (s, 1H, NH), 9,59 (s, 1H, N*H*NH_2), 8,77 (s, 1H. CH), 8,00 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,74 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,61 (dt, *J* = 7,4, 15,3 Hz, 3H, arom. H), 7,36 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,19 (s, 1H, arom. H), 7,06 (dt, *J* = 7,2, 14,8 Hz, 2H, arom. H), 4,72 (s, 2H, NHN*H*$_2$), 4,36 – 4,34 (m, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$), 3,16 – 3,12 (m, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,36, 159,91, 157,02, 147,82, 137,60, 136,16, 133,19, 132,21, 123,08, 121,01, 118,40, 118,33, 111,36, 110,03, 46,08, 24,52

$C_{22}H_{20}N_6O_3$	(416,43)
Berechnet [%]	C, 63,45; H, 4,84; N, 20,18
Gefunden [%]	C, 63,31; H, 5,13; N, 20,27

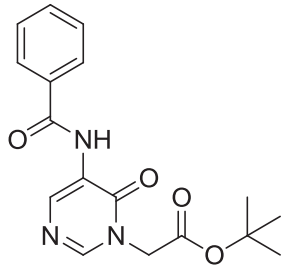
1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-benzamido-*N*-hydroxy-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



Hergestellt aus **1q** (0,208 g, 0,5 mmol), Hydroxylaminhydrochlorid (0,69 g, 10 mmol), Natriumhydroxid (0,4 g, 10 mmol) in Methanol, abs. (4 ml) für 3 Stunden bei Raumtemperatur und anschließenden Ansäuern (pH 2) mit Salzsäure, konz.

Ausbeute	40 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	216 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	11,69 (s, 1H, NH arom.), 10,94 (s, 1H, NH), 9,69 (s, 1H, OH), 9,61 (s, 1H, NH), 8,78 (s, 1H, CH), 8,02 – 7,98 (m, 2H, arom. H), 7,77 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,65 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,38 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,11 – 7,09 (m, 3H, arom. H), 4,32 (dd, *J* = 6,6,10,0 Hz, 2H, NCH_2CH$_2$), 3,17 (dd, *J* = 6,8, 9,6 Hz, 2H, NCH$_2$CH_2)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,39, 158,16, 156,99, 147,20, 137,58, 136,17, 133,17, 132,23, 128,61, 127,56, 126,89, 126,58, 122,98, 121,06, 118,42, 118,37, 111,38, 110,04, 46,24, 24,60
$C_{22}H_{19}N_5O_4$	(417,41)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 418,15098, gefunden, 418,15121
HPLC-Analytik	98,6 % (RP 18, Acetonitril: Wasser 80:20 zu 100:0)

tert-Butyl 2-(5-Benzamido-6-oxopyrimidin-1(6*H*)-yl)acetat



18

Hergestellt aus **1h** (0,194 g, 0,5 mmol), Lithiumhydroxidhydrat (0,023 g, 0,55 mmol) in Methanol, abs. (1 ml) über Nacht bei Raumtemperatur und anschließenden Ansäuern (pH 2) mit Salzsäure, konz.

Ausbeute	79 % weißer Feststoff
Schmelzpunkt	150 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,49 (s, 1H, NH), 8,68 (s, 1H, CH), 8,32 (s, 1H, CH), 7,95 (d, J = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,57 (dt, J = 7,4, 15,2 Hz, 3H, arom. H), 4,73 (s, 2H, CH_2CO), 1,44 (s, 9H, C(CH_3)$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	166,26, 165,34, 156,81, 147,30, 141,01, 133,34, 132,03, 128,50, 127,51, 125,79, 82,11, 48,15, 27,56
$C_{17}H_{19}N_3O_4$	(329,13)
Berechnet [%]	C, 62,00; H, 5,81; N, 12,76
Gefunden [%]	C, 61,90; H, 5,84; N, 12,68

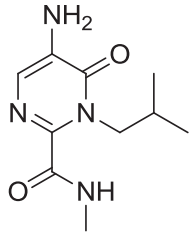
AAV 9: Synthese der monomeren und dimeren 5-Amino-pyrimidone **2a,b** und **4a,b** Eine Suspension des entsprechenden Benzamid **15b,c** (1 mmol) in einer methanolischen Natriumhydroxidlösung (1 M, 3 ml, 3 mmol) wird für acht Stunden zum Rückfluss erhitzt.

Das Lösungsmittel wird bei reduziertem Druck entfernt und durch Wasser (5 ml) ersetzt. Die wässrige Phase wird mit Ethylacetat (3x 15 ml) extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt.

Der betreffende Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Elutionsmittel: *n*-Hexan/Ethylacetat, Gradientenelution von 3:7 zu 0:10) gereinigt und ergibt die Verbindungen **2a,b**.

Für die Synthese der analogen dimeren 5-Aminopyrmidone **4a,b** wird auf analoge Weise verfahren.

5-Amino-1-isobutyl-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



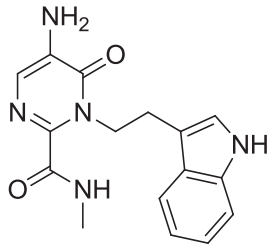
2a

Hergestellt aus **15c** (0,328 g, 1,0 mmol) nach AAV 9.

Ausbeute	88 % als beige Kristalle
Schmelzpunkt	127 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	8,63 (s, 1H, CH), 7,20 (s, 1H, NH), 5,54 (s, 2H, NH_2), 4,26 (d, J = 7,3 Hz, 2H, $CH_2CH(CH_3)_2$), 2,71 (d, J = 4,4 Hz, 3H, $NHCH_3$), 1,93 (s, 1H, $CH_2CH(CH_3)_2$), 0,79 (s, 3H, $CH_2CH(CH_3)_2$), 0,78 (s, 3H, $CH_2CH(CH_3)_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	162,17, 157,15, 139,73, 135,95, 122,40, 49,26, 27,76, 25,84, 19,60
$C_{10}H_{16}N_4O_2$	(224,26)
Berechnet [%]	C, 53,56; H, 7,19; N, 24,98
Gefunden [%]	C, 53,48; H, 7,19; N, 24,95

2b

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-amino-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxamid



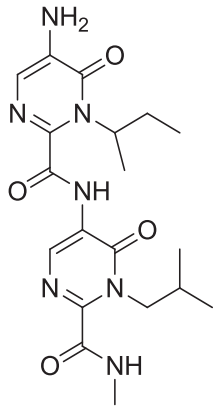
Hergestellt aus **15b** (0,415 g, 1,0 mmol) nach AAV 9.

Ausbeute	92 % als beige Kristalle
Schmelzpunkt	196 °C (Ethylacetat)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,87 (s, 1H, NH arom.), 8,54 (s, 1H, CH), 7,74 (d, J = 7,8 Hz, 1H, NH), 7,35 (d, J = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,23 (s, 1H, arom. H), 7,14 (s, 1H, arom. H), 7,08 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,00 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 5,61 (s, 2H, NH_2), 4,53 – 4,40 (m, 2H, NCH_2CH_2), 3,12 – 3,03 (m, 2H, NCH_2CH_2), 2,70 (d, J = 4,4 Hz, 3H, $NHCH_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	161,91, 156,92, 139,77, 136,18, 136,10, 127,04, 122,87, 122,63, 120,93, 118,42, 118,24, 111,30, 110,57, 45,04, 25,82, 24,78
$C_{16}H_{17}N_2O_2$	(311,34)
Berechnet [%]	C, 61,72; H, 5,50; N, 22,49
Gefunden [%]	C, 61,53; H, 5,57; N, 22,31

5-Amino-1-(*sec*-butyl)-*N*-(1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

4a



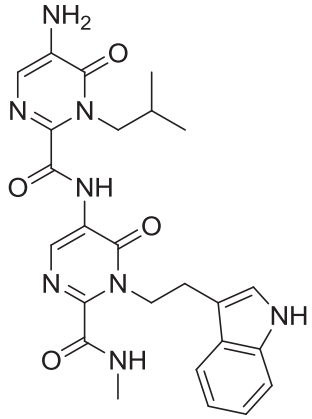
Hergestellt aus **3a** (0,521 g, 1,0 mmol) nach AAV 9.

Ausbeute	77 % als beige Kristalle
Schmelzpunkt	263 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	10,17 (s, 1H, NH), 8,93 (s, 1H, NH), 7,74 (s, 1H, CH), 7,32 (s, 1H, CH), 5,29 (dd, J = 6,9, 14,7 Hz, 1H, alkyl. H), 4,66 (d, J = 7,4 Hz, 2H, alkyl. H), 4,57 (s, 2H, NH_2, alkyl. H), 2,98 (d, J = 5,1 Hz, 3H, $NHCH_3$), 2,30 – 2,28 (m, 1H, alkyl. H), 2,10 (dt, J = 6,9, 13,8 Hz, 1H, alkyl. H), 1,98 – 1,96 (m, 1H, alkyl. H), 1,68 (d, J = 6,7 Hz, 3H, alkyl. H), 0,92 (s, 3H, alkyl. H), 0,91 (s, 3H, alkyl. H), 0,83 (t, J = 7,5 Hz, 3H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	161,10, 159,44, 158,19, 158,02, 144,27, 139,26, 136,80, 133,60, 127,34, 122,96, 58,83, 50,97, 28,75, 26,60, 25,94, 19,82, 17,94, 11,36

$C_{19}H_{27}N_7O_4$	(417,46)
Berechnet [%]	C, 54,66; H, 6,52; N, 23,49
Gefunden [%]	C, 54,38; H, 6,56; N, 23,21

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-(5-amino-1-isobutyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



4b

Hergestellt aus **3b** (0,608 g, 1,0 mmol) nach AAV 9.

Ausbeute	74 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	223 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,92 (s, 1H, NH), 10,39 (s, 1H, NH), 8,78 (d, *J* = 6,1 Hz, 2H, CH), 7,68 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, N*H*CH_3), 7,36 (d, *J* = 10,8 Hz, 2H, arom. H), 7,15 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, arom. H), 7,09 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, arom. H), 7,02 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 6,10 (s, 2H, NH_2), 4,49 (t, *J* = 23,8 Hz, 2H, alkyl. H), 4,47 – 4,25 (m, 2H, alkyl. H), 3,19 – 2,98 (m, 2H, alkyl. H), 2,72 (d, *J* = 4,7 Hz, 3H, NHCH_3), 2,04 (dd, *J* = 12,9, 19,8 Hz, 1H, $CH_2CH(CH_3)_3$), 0,87 (s, 3H, $CH_2CH(CH_3)_3$) 0,86 (s, 3H, $CH_2CH(CH_3)_3$)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	161,68, 159,26, 157,47, 157,16, 147,53, 136,68, 135,74, 134,29, 127,36, 126,68, 123,60, 121,75, 121,47, 118,81, 118,65, 111,84, 110,46, 55,28, 49,74, 46,60, 28,77, 26,24, 24,82, 20,10

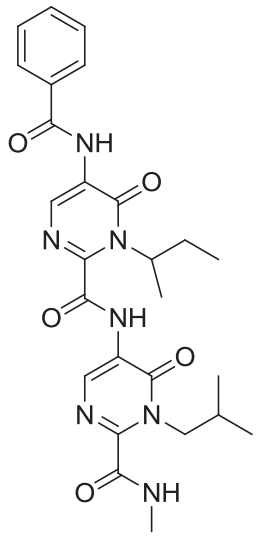
$C_{25}H_{28}N_8O_4$	(504,54)
Berechnet [%]	C, 59,51; H, 5,59; N, 22,21
Gefunden [%]	C, 59,38; H, 5,77; N, 21,92

AAV 10: Synthese der dimeren und trimeren Pyrimidonamide **3a-e** und **5a-e**

Eine Lösung des entsprechenden Alkyl-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxylats **LXIX** (1,5 mmol) und Lithiumhydroxid Hydrat (1,5 mmol, 63 mg) in Methanol, abs. (1 ml) wird für sechs Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck zuerst am Rotationsverdampfer und anschließend im Hochvakuum vollständig entfernt. Das resultierende Lithiumcarboxylat wird ohne Reinigung direkt weiterverwendet.

Das zuvor gewonnene Lithiumcarboxylat, das korrespondierende Enamin **2** (1 mmol) und COMU (1,8 mmol) werden in DMF, abs. (1 ml) gelöst und unter Stickstoffatmosphäre für 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Reaktionsansatz mit Dichlormethan versetzt (20 ml), mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (10 ml), wässriger Zitronensäurelösung (10 ml) und wässriger Kochsalzlösung (10 ml) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der betreffende Rückstand wird durch Umkristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel gereinigt und ergibt die Verbindungen **3a-e**.

5-Benzamido-1-(*sec*-butyl)-*N*-(1-isobutyl-2-methylcarbamoyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid **3a**

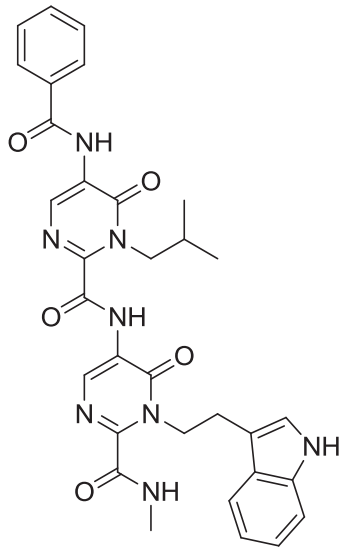


Hergestellt aus **2a** (0,514 g, 1,5 mmol), **LXIXb** (0,328, 1,0 mmol) und COMU (0,77 g, 1,8 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	75 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	155 °C (Dichlormethan)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	10,74 (s, 1H, NH), 9,48 (s, 1H, NH), 8,99 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H, N*H*CH$_3$), 8,80 (s, 1H, CH), 8,75 (s, 1H, CH), 7,98 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,64 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,56 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 4,37 – 4,33 (m, 1H, alkyl. H), 4,16 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, alkyl. H), 2,79 (d, *J* = 4,7 Hz, 3H, NHC*H*$_3$), 2,20 (dt, *J* = 7,5, 14,6 Hz, 1H, alkyl. H), 2,03 (dt, *J* = 6,9, 13,7 Hz, 1H, alkyl. H), 1,92 (dt, *J* = 7,2, 14,0 Hz, 1H, alkyl. H), 1,57 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H, alkyl. H), 0,85 – 0,81 (m, 9H, alkyl. H)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	165,23, 161,46, 160,48, 157,13, 156,72, 148,60, 147,95, 137,05, 136,45, 133,16, 132,22, 128,62, 127,50, 127,08, 125,77, 59,89, 50,58, 27,58, 25,79, 25,38, 19,63, 17,11, 10,97
$C_{26}H_{31}N_7O_5$	(521,57)
Berechnet [%]	C, 59,87; H, 5,99; N, 18,80
Gefunden [%]	C, 59,61; H, 5,97; N, 18,80

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-(5-benzamido-1-isobutyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid **3b**

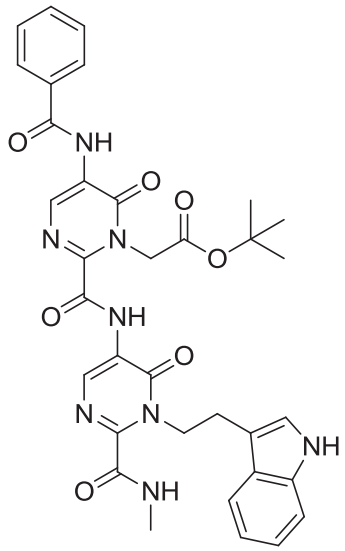


Hergestellt aus **2b** (0,514 g, 1,5 mmol), **LXIXa** (0,415, 1,0 mmol) und COMU (0,77 g, 1,8 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	76 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	267 °C (Ethylacetat)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,90 (s, 1H, NH arom.), 10,71 (s, 1H, NH), 9,59 (s, 1H, NH), 8,86 (s, 1H, $NHCH_3$), 8,81 (s, 1H, CH), 8,00 (d, J = 7,2 Hz, 2H, CH und arom. H), 7,72 – 7,63 (m, 2H, arom. H), 7,58 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, J = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,17 (d, J = 2,1 Hz, 1H, arom. H), 7,10 (t, J = 7,2 Hz, 1H, arom. H), 7,02 (t, J = 7,2 Hz, 1H, arom. H), 4,47 – 4,36 (m, 2H, NCH_2CH_2), 4,28 (d, J = 7,3 Hz, 2H, $CH_2CH(CH_3)_2$), 3,18 – 3,08 (m, 2H, NCH_2CH_2), 2,73 (d, J = 4,7 Hz, 3H, $NHCH_3$), 2,18 – 2,06 (m, 1H, $CH_2CH(CH_3)_2$), 0,92 (s, 3H, $CH_2CH(CH_3)_2$), 0,90 (s, 3H, $CH_2CH(CH_3)_2$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,42, 161,21, 159,26, 157,38, 156,58, 148,28, 145,41, 136,23, 136,10, 133,13, 132,30, 128,64, 127,57, 127,06, 126,91, 125,86, 123,15, 121,01, 118,33, 118,18, 111,39, 109,96, 50,77, 46,14, 38,14, 28,02, 25,77, 24,37, 19,76
$C_{32}H_{32}N_8O_5$	(608,65)
Berechnet [%]	C, 63,15; H, 5,30; N, 18,41
Gefunden [%]	C, 62,92; H, 5,25; N, 18,21

tert-Butyl 2-(2-((1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-5-benzamido-6-oxopyrimidin-1(6*H*)-yl)acetat (**3c**)

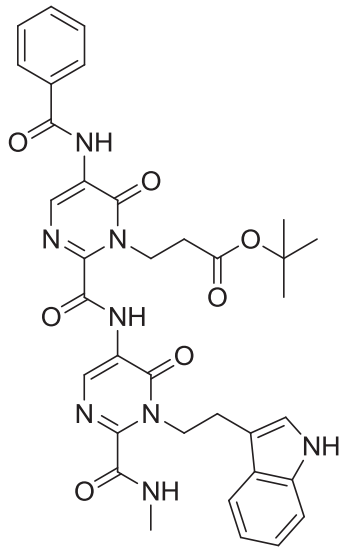


Hergestellt aus **2b** (0,580 g, 1,5 mmol), **LXIXh** (0,415, 1,0 mmol) und COMU (0,77 g, 1,8 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	52 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	236 °C (Dichlormethan)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	10,88 (s, 1H, NH arom.), 10,47 (s, 1H, NH), 9,71 (s, 1H, NH), 8,97 (s, 1H, CH), 8,79 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H, N*H*CH$_3$), 8,75 (s, 1H, CH), 8,00 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,68 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,65 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,16 (s, 1H, arom. H), 7,09 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,03 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 5,23 (s, 2H, C*H*$_2$CO), 4,52 – 4,37 (m, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$), 3,22 – 3,11 (m, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$), 2,71 (d, *J* = 4,6 Hz, 3H, NHC*H*$_3$), 1,40 (s, 9H, C(CH$_3$)$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	166,41, 165,73, 161,18, 157,85, 157,10, 156,73, 147,96, 142,72, 136,29, 135,88, 135,04, 133,09, 132,44, 128,66, 127,78, 127,71, 126,96, 125,68, 123,25, 121,09, 118,44, 118,23, 111,45, 109,99, 82,14, 46,42, 46,29, 27,61, 25,84, 24,40
$C_{34}H_{34}N_8O_7$	(666,68)
Berechnet [%]	C, 61,25; H, 5,14; N, 16,81
Gefunden [%]	C, 61,17; H, 5,11; N, 16,69

tert-Butyl 3-(2-((1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-5-benzamido-6-oxopyrimidin-1(6*H*)-yl)propanoat **3d**

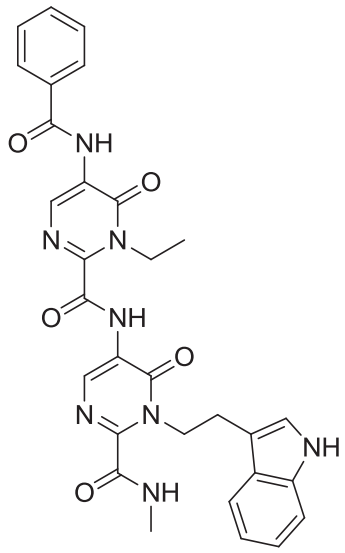


Hergestellt aus **2b** (0,622 g, 1,5 mmol), **LXIXi** (0,415, 1,0 mmol) und COMU (0,77 g, 1,8 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	84 % orange Kristalle
Schmelzpunkt	239 °C (Tetrahydrofuran)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	10,88 (s, 1H, NH arom.), 8,78 (s, 1H, NH), 8,73 – 8,70 (m, 2H, NH CH), 7,97 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,69 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, N*H*CH$_3$), 7,64 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 7,56 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,13 (s, 1H, arom. H), 7,09 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,01 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 4,47 (s, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$CO), 4,39 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$), 3,11 (s, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$), 2,82 (s, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$CO), 2,72 (d, *J* = 4,4 Hz, 3H, NHC*H*$_3$), 1,39 (s, 9H, C(CH$_3$)$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$)	169,91, 165,37, 161,72, 157,40, 136,27, 136,18, 133,39, 132,23, 128,86, 128,69, 127,55, 127,01, 126,87, 124,18, 123,04, 121,04, 118,35, 111,41, 110,34, 80,26, 66,99, 45,76, 41,63, 40,02, 33,74, 27,66, 25,83, 25,09, 24,59
$C_{35}H_{36}N_8O_7$	(680,71)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 681,2780; gefunden, 681,2780
HPLC-Analytik	99,9 % (RP 8, Acetonitril: Wasser 30:70 zu 40:80)

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-(5-benzamido-1-ethyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid **3e**



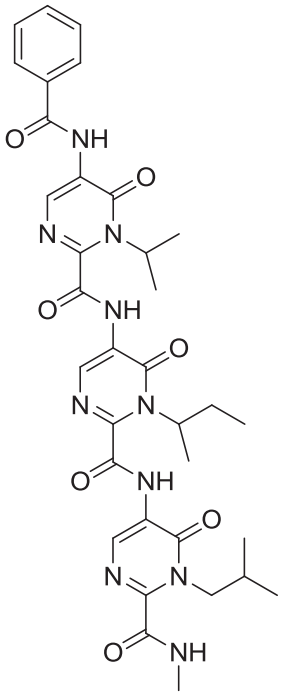
Hergestellt aus **2b** (0,472 g, 1,5 mmol), **LXIXj** (0,415, 1,0 mmol) und COMU (0,77 g, 1,8 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	73 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	270 °C (Tetrahydrofuran)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,88 (s, 1H, NH arom.), 10,61 (s, 1H, NH), 9,58 (s, 1H, NH), 8,84 (d, J = 8,1 Hz, 2H, CH), 8,81 (q, J = 4,6 Hz, 1H, NHCH$_3$), 7,99 (d, J = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,69 (d, J = 7,8 Hz, 1H, arom. H), 7,65 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,57 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, J = 8,1 Hz, 1H, arom. H), 7,16 (d, J = 1,8 Hz, 1H, arom. H), 7,09 (t, J = 7,5 Hz, 1H, arom. H), 7,02 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 4,46 – 4,37 (m, 2H, NCH_2CH$_2$), 4,30 (q, J = 6,8 Hz, 2H, CH_2CH$_3$), 3,20 – 3,02 (m, 2H, NCH$_2$CH_2), 2,72 (d, J = 4,7 Hz, 3H, NHCH_3), 1,37 (t, J = 7,0 Hz, 3H, CH$_2$CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,47, 161,24, 159,17, 157,05, 156,65, 148,13, 145,63, 136,51, 136,29, 135,85, 133,20, 132,35, 128,70, 127,63, 127,10, 126,96, 125,96, 123,23, 121,08, 118,41, 118,24, 111,45, 110,01, 46,18, 41,40, 25,84, 24,44, 13,91
$C_{30}H_{28}N_8O_5$	(580,22)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 581,2255; gefunden, 581,2256
HPLC-Analytik	95,6 % (RP 8, Acetonitril: Wasser 40:60 zu 30:70)

Für die Synthese der trimeren Pyrimidonamide und **5a-e** wird analog vorgegangen. Hierbei werden als Aminokomponente die dimeren 5-Aminopyrimidonamide **4a,b** gewählt.

5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-1-isopropyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



5a

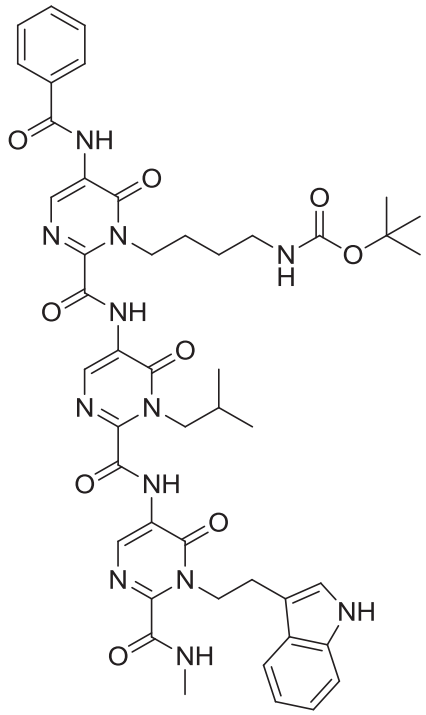
Hergestellt aus **4a** (0,493 g, 1,5 mmol), **LXIXc** (0,417, 1,0 mmol) und COMU (0,77 g, 1,8 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	65 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	257 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	10,18 (s, 1H, NH), 10,06 (s, 1H, NH), 9,10 (s, 1H, CH), 9,05 (s, 1H, CH), 8,96 (s, 1H, CH), 8,95 (s, 1H, NH), 7,94 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,70 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, $NHCH_3$), 7,59 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 5,50 (dt, *J* = 6,8 Hz, 13,5 Hz, 1H, alkyl. H), 5,19 (dd, *J* = 6,9, 14,7 Hz, 1H, alkyl. H), 4,68 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, alkyl. H), 2,99 (d, *J* = 5,1 Hz, 3H, alkyl. H), 2,32 – 2,30 (m, 1H, alkyl. H), 2,12 – 2,10 (m, 1H, alkyl. H), 2,01 (dd, *J* = 7,1, 14,1 Hz, 1H, alkyl. H), 1,70 (t, *J* = 10,0 Hz, 10H, alkyl. H und $NHCH_3$), 0,93 (dd, *J* = 1,6, 6,7 Hz, 6H, alkyl. H), 0,87 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,59, 160,93, 158,82, 158,76, 158,34, 157,90, 157,77, 145,02, 144,83, 143,41, 134,33, 133,58, 133,36, 132,86, 132,60, 128,92, 128,81, 128,04, 127,36, 126,94, 60,23, 54,10, 51,02, 28,80, 26,63, 25,87, 19,81, 19,70, 17,85, 11,37

$C_{34}H_{40}N_{10}O_7$	(700,74)
Berechnet [%]	C, 58,28; H, 5,75; N, 19,99
Gefunden [%]	C, 58,17; H, 5,80; N, 19,85

tert-Butyl (4-(2-((2-((1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-1-isobutyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-5-benzamido-6-oxopyrimidin-1(6*H*)-yl)butyl)carbamat



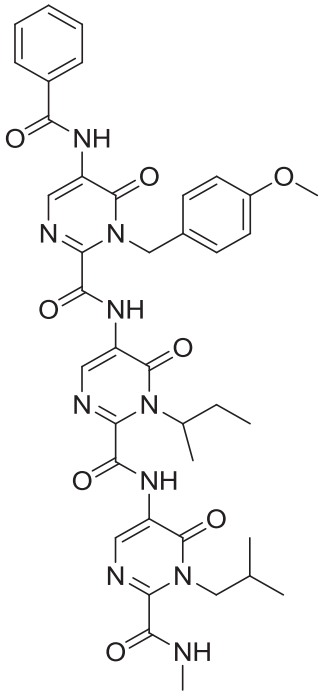
5b

Hergestellt aus **4b** (0,343 g, 0,75 mmol), **LXIXd** (0,252, 0,5 mmol) und COMU (0,385 g, 0,9 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	41 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	243 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,88 (s, 1H, NH arom.), 10,66 (s, 1H, NH), 10,59 (s, 1H, NH), 9,53 (s, 1H, NH), 8,88 (s, 1H, CH), 8,84 (s, 1H, CH), 8,80 – 8,78 (m, 2H, CH und arom. H), 7,97 – 7,95 (m, 2H, arom. H), 7,73 – 7,68 (m, 1H, arom. H), 7,65 – 7,61 (m, 1H, arom. H), 7,57 – 7,53 (m, 2H, arom. H), 7,35 – 7,33 (m, 1H, arom. H), 7,17 – 7,13 (m, 1H, arom. H), 7,11 – 7,09 (m, 1H, arom. H), 7,03 – 6,99 (m, 1H, arom. H), 6,79 (s, 1H, NH), 4,45 – 4,38 (m, 2H, alkyl. H), 4,35 – 4,26 (m, 4H, alkyl. H), 3,16 – 3,12 (m, 2H, alkyl. H), 2,98 - 2,94 (m, 2H, alkyl. H), 2,72 (d, J = 2,9 Hz, 3H, alkyl. H), 2,15 – 2,13 (m, 1H, alkyl. H), 1,77 – 1,75 (m, 2H, alkyl. H), 1,48 – 1,45 (m, 2H, alkyl. H), 1,37 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 0,92 (s, 3H, alkyl. H), 0,90 (s, 3H, alkyl. H)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,39, 161,21, 159,06, 158,91, 157,16, 156,98, 156,63, 155,53, 148,18, 145,51, 144,76, 144,70, 136,29, 136,04, 135,75, 134,92, 133,09, 132,35, 128,68, 127,59, 127,25, 126,98, 126,44, 125,91, 123,20, 121,07, 118,39, 118,26, 111,45, 110,06, 77,38, 50,93, 46,21, 45,30, 28,22, 28,16, 26,85, 25,95, 25,84, 24,43, 19,80
$C_{46}H_{52}N_{12}O_9$	(916,98)

Berechnet [%]	C, 60,25; H, 5,72; N, 18,33
Gefunden [%]	C, 59,98; H, 5,72; N, 18,35

5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-1-(4-methoxybenzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



5c

Hergestellt aus **4a** (0,247 g, 0,75 mmol), **LXIXe** (0,209, 0,5 mmol) und COMU (0,385 g, 0,9 mmol) nach AAV 10.

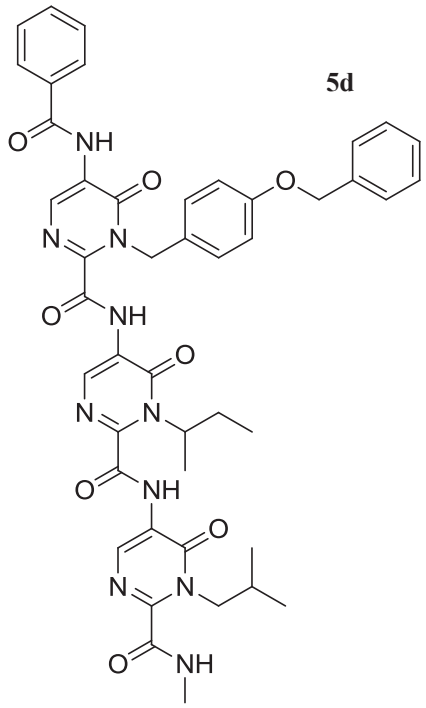
Ausbeute	39 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	264 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	10,48 (s, 1H, NH), 10,09 (s, 1H, NH), 9,18 (s, 1H, NH), 9,02 (s, 1H, CH), 8,98 (s, 1H, CH), 8,93 (s, 1H, CH), 7,93 – 7,91 (m, 2H, arom. H und N*H*CH_3), 7,69 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, arom. H), 7,58 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,50 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,32 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, arom. H), 6,82 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, arom. H), 6,00 (s, 2H, alkyl. H), 5,22 – 5,20 (m, 1H, alkyl. H), 4,67 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, alkyl. H), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 2,98 (d, *J* = 5,1 Hz, 3H, alkyl. H), 2,29 – 2,27 (m, 1H, alkyl. H), 2,10 (dp, *J* = 6,9 Hz, 13,9 Hz, 1H, alkyl. H), 1,98 (td, *J* = 7,3 Hz, 14,4 Hz, 1H, alkyl. H), 1,69 (t, *J* = 9,4 Hz, 3H, NHC*H*$_3$), 0,92 (dd, *J* = 1,3, 6,7 Hz, 6H, alkyl. H), 0,85 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,65, 160,93, 159,28, 158,80, 158,27, 158,23, 157,90, 157,74, 144,92, 144,80, 141,33, 134,25, 133,58, 133,41, 133,24, 132,66, 129,73, 128,94, 128,68, 128,22, 127,95, 127,38, 126,93, 114,02, 60,14, 55,23, 51,02, 47,33, 28,81, 26,62, 25,86, 19,82, 17,84, 11,36

$C_{39}H_{42}N_{10}O_8$	(778,81)
Berechnet [%]	C, 60,15; H, 5,44; N, 17,98
Gefunden [%]	C, 60,15; H, 5,42; N, 17,98

5-Benzamido-1-(4-(benzyloxy)benzyl)-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

5d

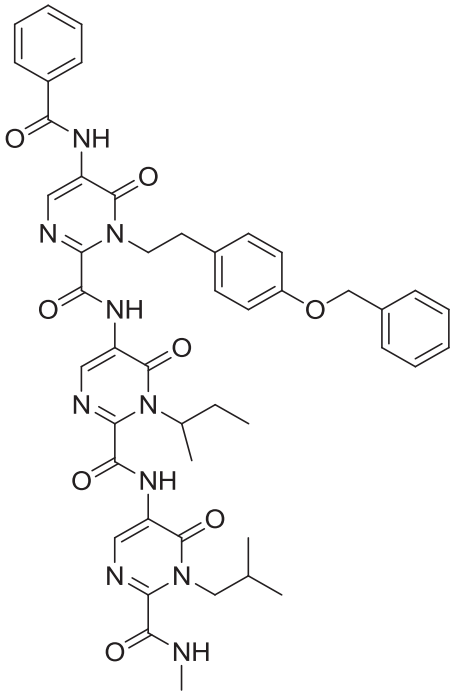


Hergestellt aus **4a** (0,362 g, 0,75 mmol), **LXIXf** (0,209, 0,5 mmol) und COMU (0,385 g, 0,9 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	71 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	258 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	10,51 (s, 1H, NH), 10,10 (s, 1H, NH), 9,19 (s, 1H, NH), 9,03 (s, 1H, CH), 8,99 (s, 1H, CH), 8,94 (s, 1H, CH), 7,93 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,68 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, N*H*CH_3), 7,59 (s, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,35 (ddd, *J* = 9,3, 18,9, 26,3 Hz, 7H, arom. H), 6,91 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, arom. H), 6,01 (s, 2H, O$CH_2C_6H_5$), 5,21 (dd, *J* = 7,0, 14,4 Hz, 1H, alkyl. H), 5,02 (s, 2H, alkyl. H), 4,68 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, alkyl. H), 2,99 (d, *J* = 5,1 Hz, 3H, alkyl. H), 2,36 – 2,24 (m, 1H, alkyl. H), 2,10 (dd, *J* = 6,9, 13,8 Hz, 1H, alkyl. H), 2,00 (dt, *J* = 7,2, 14,2 Hz, 1H, alkyl. H), 1,70 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H, NHCH_3), 0,94 (s, 3H, alkyl. H), 0,92 (s, 3H, alkyl. H), 0,86 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, alkyl. H)
^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,68, 160,92, 158,80, 158,51, 158,26, 158,24, 157,91, 157,76, 144,92, 144,78, 141,28, 136,83, 134,26, 133,61, 133,42, 133,24, 132,67, 129,74, 128,94, 128,70, 128,58, 128,49, 127,98, 127,95, 127,44, 127,38, 126,94, 114,94, 69,99, 60,15, 51,02, 47,34, 28,82, 26,62, 25,86, 19,81, 17,85, 11,37
$C_{45}H_{46}N_{10}O_8$	(854,91)

Berechnet [%]	C, 63,22; H, 5,42; N, 16,38
Gefunden [%]	C, 63,23; H, 5,50; N, 16,14

5-Benzamido-1-(4-(benzyloxy)phenethyl)-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid



5e

Hergestellt aus **4a** (0,373 g, 0,75 mmol), **LXIXg** (0,209, 0,5 mmol) und COMU (0,385 g, 0,9 mmol) nach AAV 10.

Ausbeute	76 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	253 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	10,32 (s, 1H, NH), 10,17 (s, 1H, NH), 9,17 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H, NH), 9,04 (s, 1H, CH), 9,00 (s, 1H, CH), 8,94 (s, 1H, CH), 7,96 (s, 1H, NH), 7,95 (s, 1H, arom. H), 7,68 (d, *J* = 5,0 Hz, 1H, arom. H), 7,60 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,52 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,41 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,30 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H, arom. H), 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, arom. H), 6,91 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H, arom. H), 5,24 – 5,22 (m, 1H, alkyl. H), 5,02 (s, 2H, alkyl. H), 4,92 – 4,90 (m, 2H, alkyl. H), 4,69 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, alkyl. H), 3,06 – 3,02 (m, 2H, alkyl. H), 2,98 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, alkyl. H), 2,26 (dq, *J* = 7,6, 15,2 Hz, 1H, alkyl. H), 2,12 (td, *J* = 6,9, 13,8 Hz, 1H, alkyl. H), 1,99 – 1,97 (m, 1H, alkyl. H), 1,69 (dd, *J* = 6,7, 13,7 Hz, 3H, NHCH_3), 0,93 (dd, *J* = 0,9, 6,7 Hz, 6H, alkyl. H), 0,84 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,67, 160,93, 158,78, 158,11, 157,97, 157,93, 157,83, 157,71, 144,78, 144,76, 141,73, 137,05, 134,20, 133,51, 133,29, 132,69, 130,28, 129,80, 128,98, 128,55, 128,40, 127,96, 127,88, 127,39, 127,37, 126,96, 115,08, 69,97, 60,06, 51,05, 47,20, 34,34, 28,84, 26,63, 25,90, 19,83, 17,83, 11,37

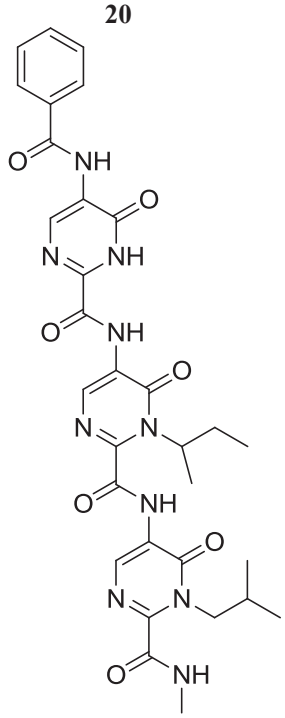
$C_{46}H_{48}N_{10}O_8$	(868,93)
Berechnet [%]	C, 63,58; H, 5,57; N, 16,12
Gefunden [%]	C, 63,46; H, 5,58; N, 15,84

AAV 11: Synthese von **20**

Zu einer Lösung des 4-Methoxybenzylderivat **5c** (85 mg, 0,109 mmol) in Dichlormethan, abs. wird unter Argonatmosphäre bei -78°C eine Bortribromidlösung (1 mol/l in Dichlormethan, 0,22 ml, 0,218 mmol) langsam zugetropft. Die Lösung wird für eine Stunde bei gleichbleibender Temperatur und eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt.
Die Reaktion wird durch Zugabe von Wasser (2 ml) unterbrochen und mit Dichlormethan (10 ml) extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck entfernt. Der resultierende Feststoff wird durch Umkristallisation aus Dichlormethan gereinigt und ergibt die Verbindung **20**.

5-(5-Benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-1-(*sec*-butyl)-*N*-(1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

20



Hergestellt aus **5c** (0,047 g, 0,071 mmol) nach AAV 11.

Ausbeute	65 % als gelbe Kristalle
Schmelzpunkt	253 °C

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$/TFA-*d*)	8,89 (s, 1H, NH), 8,83 (s, 1H, CH), 8,80 (s, 1H, CH), 7,96 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,63 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,55 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 4,36 (s, 1H, alkyl. H), 4,15 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, alkyl. H), 2,77 (s, 3H, alkyl. H), 2,19 (dd, *J* = 7,1, 14,2 Hz, 1H, alkyl. H), 2,01 (dd, *J* = 6,8, 13,7 Hz, 1H, alkyl. H), 1,91 (dt, *J* = 7,2, 14,1 Hz, 1H, alkyl. H), 1,57 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H, alkyl. H), 0,84 – 0,80 (m, 9H, alkyl. H)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-*d*$_6$/TFA-*d*)	152,81, 146,58, 138,47, 133,37, 130,43, 58,70, 32,36, 30,36, 29,27, 22,34, 20,08, 13,57[ccc]

$C_{31}H_{34}N_{10}O_7$	(658,66)
Berechnet [%]	C, 56,53; H, 5,20; N, 21,27
Gefunden [%]	C, 56,28; H, 5,19; N, 21,06

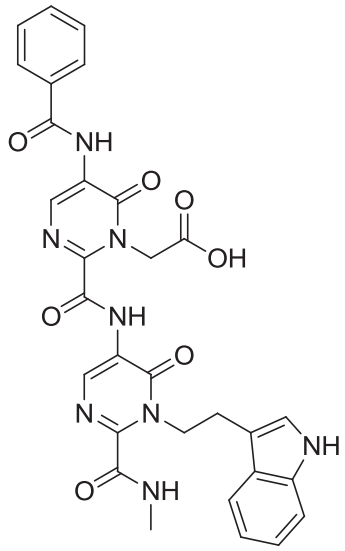
AAV 12: Synthese der Carbonsäuren **22a,b**

Zu einer Lösung des entsprechenden Edukts **3c** oder **3d** (0,5 mmol) in getrocknetem Dichlormethan (2 ml) wird bei 0°C tropfenweise Trifluoressigsäure (1 ml, 1,48 g, 12,98 mmol) zugegeben und eine Stunde bei gleichbleibender Temperatur und weitere drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und durch Toluol ersetzt. Diese Lösung wird ein weiteres Mal zur Trockene eingeengt und der resultierende Feststoff durch Umkristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel gereinigt.

[ccc] Nicht alle Kohlenstoffatome detektierbar.

2-(2-((1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-5-benzamido-6-oxopyrimidin-1(6*H*)-yl)essigsäure

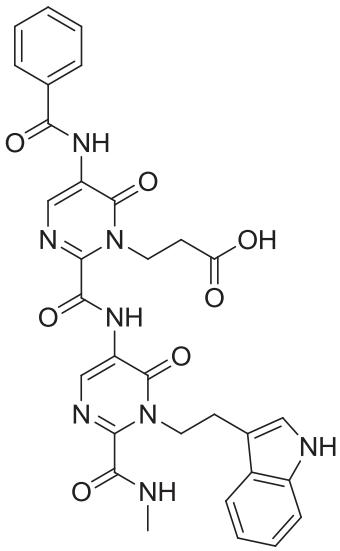


22a

Hergestellt aus **3c** (0,2 g, 0,3 mmol) nach AAV 12.

Ausbeute	72 % orange Kristalle
Schmelzpunkt	245 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	13,29 (s, 1H, COOH), 10,88 (s, 1H, NH arom.), 10,47 (s, 1H, NH), 9,71 (s, 1H, NH), 8,96 (s, 1H, CH), 8,80 (d, J = 4,6 Hz, 1H, N*H*CH$_3$), 8,76 (s, 1H, CH), 8,00 (d, J = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,74 – 7,60 (m, 2H, arom. H), 7,57 (t, J = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, J = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,16 (s, 1H, arom. H), 7,09 (s, 1H, arom. H), 7,03 (s, 1H, arom. H), 5,24 (s, 2H, CH$_2$CO), 4,42 (s, 2H, NC*H*$_2$CH$_2$), 3,14 (s, 2H, NCH$_2$C*H*$_2$), 2,71 (d, J = 4,5 Hz, 3H, NHC*H*$_3$)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	168,71, 165,72, 161,20, 157,94, 157,17, 156,73, 147,96, 143,02, 136,29, 135,92, 135,01, 133,12, 132,43, 128,67, 127,77, 127,66, 126,95, 125,70, 123,26, 121,09, 118,44, 118,24, 111,46, 109,98, 46,28, 46,21, 25,83, 24,40
$C_{30}H_{26}N_8O_7$	(610,57)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 611,1997; gefunden, 611,1994
HPLC-Analytik	95,5 % (RP 18, Methanol: Wasser 40:60 zu 100:0)

3-(2-((1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-5-benzamido-6-oxopyrimidin-1(6*H*)-yl)propansäure



22b

Hergestellt aus **3d** (0,3 g, 0,44 mmol) nach AAV 12.

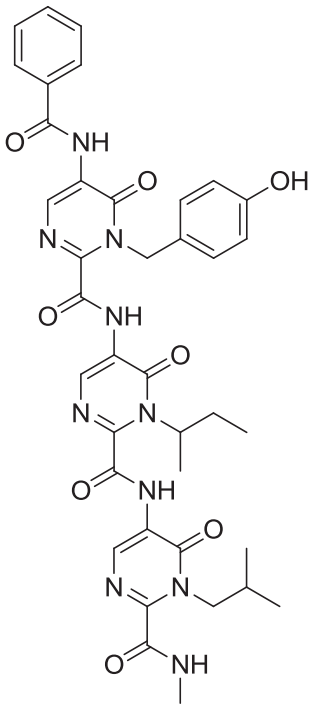
Ausbeute	90 % orange Kristalle
Schmelzpunkt	229 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	12,50 (s, 1H, COOH), 10,89 (s, 1H, NH arom.), 10,47 (s, 1H, NH), 9,61 (s, 1H, NH), 8,87 (s, 1H, CH), 8,82 (s, 2H, CH und NH), 7,99 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H, arom. H), 7,67 (dd, *J* = 7,5, 25,1 Hz, 2H, arom. H), 7,57 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, arom. H), 7,36 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, arom. H), 7,16 (s, 1H, arom. H), 7,09 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,02 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, arom. H), 4,55 (s, 2H, alkyl. H), 4,41 (s, 2H, alkyl. H), 3,14 (s, 2H, alkyl. H), 2,84 – 2,76 (m, 2H, alkyl. H), 2,72 (d, *J* = 4,4 Hz, 3H, NHCH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	172,13, 165,53, 161,24, 158,86, 157,26, 156,68, 148,03, 145,09, 136,29, 136,06, 135,41, 133,15, 132,40, 128,71, 127,66, 127,29, 126,96, 125,89, 123,24, 121,09, 118,43, 118,25, 111,46, 110,00, 46,23, 41,65, 32,32, 25,83, 24,42
$C_{31}H_{28}N_8O_7$	(624,60)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 625,2154; gefunden, 625,2154
HPLC-Analytik	95,57 % (RP 8, Acetonitril: Wasser 60:40 zu 100:0)

AAV 13: Synthese der Phenole **17a,b**

Eine Suspension aus dem entsprechenden Edukt **5c** oder **5d** (0,25 mmol) und Palladium-Aktivkohle-Katalysator (15 mmol%, 10 mg) in getrocknetem Dichlormethan (2 ml) und Methanol, abs. (1 ml) wird für drei Stunden mit Wasserstoff begast. Die Reaktion wird durch Kieselgur filtriert und die Lösung unter reduziertem Druck zur Trockene eingeengt. Der entstandene Feststoff wird durch Umkristallisation aus Dichlormethan gereinigt.

5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-1-(4-hydroxybenzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

21a



Hergestellt aus **5c** (0,028 g, 0,037 mmol) nach AAV 13.

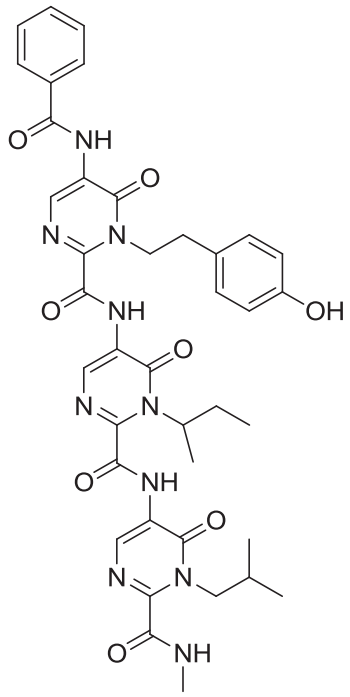
Ausbeute	40 % als gelber Feststoff
Schmelzpunkt	226 °C (Dichlormethan)
^{1}H-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	10,49 (s, 1H, NH), 10,10 (s, 1H, NH), 9,20 (s, 1H, OH), 9,03 (s, 1H, NH), 8,99 (s, 1H, CH), 8,93 (d, *J* = 11,8 Hz, 1H, CH), 7,94 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, CH und arom. H), 7,67 (d, *J* = 4,9 Hz, 1H, arom. H), 7,59 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,51 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 7,28 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 6,76 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, arom. H), 6,00 (s, 2H, $CH_2C_6H_4$), 5,20 (dd, *J* = 7,0, 14,5 Hz, 1H, alkyl. H), 4,91 (s, 1H, alkyl. H), 4,68 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, alkyl. H), 2,98 (t, *J* = 6,1 Hz, 3H, alkyl. H), 2,35 – 2,25 (m, 1H, alkyl. H), 2,16 – 2,06 (m, 1H, alkyl. H), 1,99 (dd, *J* = 7,1, 14,1 Hz, 1H, alkyl. H), 1,69 (t, *J* = 9,3 Hz, 3H, $NHCH_3$), 0,95 – 0,91 (m, 6H, alkyl. H), 0,84 (dt, *J* = 7,4, 15,0 Hz, 3H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] ($CDCl_3$)	165,74, 160,94, 158,81, 158,26, 157,93, 157,76, 155,53, 144,93, 144,80, 141,34, 134,33, 133,63, 133,51, 132,70, 129,94, 129,74, 128,95, 128,67, 128,58, 128,22, 127,94, 127,39, 126,94, 115,51, 60,16, 51,06, 47,35, 28,82, 26,64, 25,87, 19,81, 17,84, 11,37

$C_{38}H_{40}N_{10}O_8$	(764,78)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 765,3103; gefunden,765,3108
HPLC-Analytik	96,2% (RP 18, Acetonitril: Wasser 60:40 zu 100:0)

5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-isobutyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-1-(4-hydroxyphenethyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

21b



Hergestellt aus **5d** (0,093 g, 0,12 mmol) nach AAV 13.

Ausbeute	87 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	256 °C (Dichlormethan)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10,76 (s, 1H, NH), 10,32 (s, 1H, NH), 9,62 (s, 1H, OH), 9,24 (s, 1H, CH), 8,99 (q, *J* = 4,6 Hz, 1H, NH), 8,86 (s, 1H, CH), 8,81 (s, 1H, CH), 8,79 (s, 1H, CH), 8,00 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, arom. H), 7,66 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,58 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 7,04 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, arom. H), 6,69 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, arom. H), 4,51 – 4,47 (m, 2H, alkyl. H), 4,35 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H, alkyl. H), 4,16 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H, alkyl. H), 2,95 – 2,91 (m, 2H, alkyl. H), 2,79 (d, *J* = 4,7 Hz, 3H, alkyl. H), 2,22 – 2,18 (m, 1H, alkyl. H), 2,03 (td, *J* = 6,9, 13,8 Hz, 1H, alkyl. H), 1,92 (dt, *J* = 7,2, 14,1 Hz, 1H, alkyl. H), 1,58 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H, NHCH_3), 0,87 – 0,83 (m, 9H, alkyl. H)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,49, 161,52, 160,41, 158,79, 157,14, 156,78, 156,60, 156,12, 148,69, 148,25, 144,96, 137,13, 136,04, 135,39, 133,16, 132,40, 129,67, 128,72, 127,73, 127,66, 127,36, 126,39, 125,81, 115,35, 50,66, 47,02, 33,41, 27,67, 25,86, 25,36, 19,71, 17,07, 11,01
$C_{39}H_{42}N_{10}O_8$	(778,81)
Berechnet [%]	C, 60,15; H, 5,44; N, 17,98
Gefunden [%]	C, 59,93; H, 5,46; N, 17,91

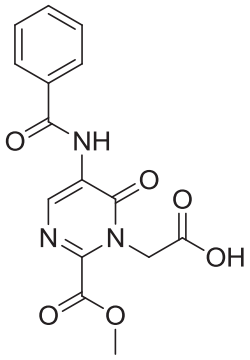
AAV14: Acidolyse von *tert*-Butylestern und BOC-geschützten Aminen

Zu einer Lösung des entsprechenden Eduktes (0,5 mmol) in getrocknetem Dichlormethan (2 ml) wird bei 0°C tropfenweise Trifluoressigsäure (1 ml, 1,48 g, 12,98 mmol) zugegeben und eine Stunde bei gleichbleibender Temperatur und weitere drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt.

Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und durch Toluol ersetzt. Diese Lösung wird ein weiteres Mal zur Trockene eingeengt und der resultierende Feststoff durch Umkristallisation aus einem geeigneten Lösungsmittel gereinigt.

Im Fall von **24** wurde abweichend eine gesättigte Lösung von Hydrogenchlorid in Diethylether verwendet.

23a

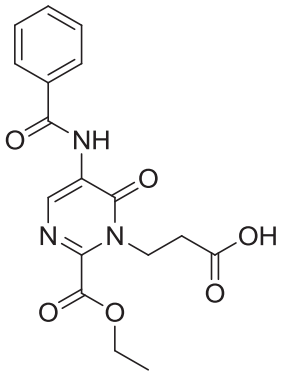


Hergestellt aus **1h** (0,3 g, 0,77 mmol) nach AAV 14.

Ausbeute	90 % als beiger Feststoff
Schmelzpunkt	211 °C (Ethylacetat)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	14,73 – 12,29 (bs, 1H, COOH), 9,62 (s, 1H, NH), 8,86 (s, 1H, CH), 8,14 – 7,87 (m, 2H, arom. H), 7,64 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,56 (t, J = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 4,97 (d, J = 10,3 Hz, 2H, CH_2), 3,89 (s, 3H, CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	168,44, 165,64, 160,52, 156,81, 142,82, 136,58, 133,12, 132,39, 128,66, 127,70, 53,49, 46,48, 27,56
$C_{15}H_{13}N_3O_6$	(331,28)
Berechnet [%]	C, 54,38; H, 3,96; N, 12,68
Gefunden [%]	C, 54,12; H, 4,01; N, 12,50

Ethyl 5-benzamido-1-(3-(tert-butoxy)-3-oxopropyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxylat

23b



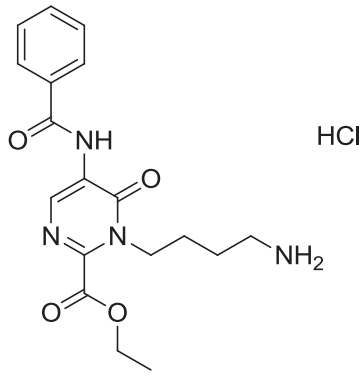
Hergestellt aus **1i** (0,5 g, 1,2 mmol) nach AAV 14.

Ausbeute	91 % als beiger Feststoff
Schmelzpunkt	163 °C (Ethylacetat)

^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	12,56 (s, 1H, COOH), 9,53 (s, 1H, NH), 8,80 (s, 1H, CH), 8,04 – 7,87 (m, 2H, arom. H), 7,64 (dd, J = 4,2, 11,6 Hz, 1H, arom. H), 7,56 (t, J = 7,7 Hz, 2H, arom. H), 4,40 (q, J = 7,1 Hz, 2H, CH_2CH$_2$CO), 4,32 (t, J = 7,3 Hz, 2H, CH_2CH$_3$), 2,76 (t, J = 7,3 Hz, 2H, CH$_2$CH_2CO), 1,42 – 1,27 (m, 3H, CH$_2$CH_3)
^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	172,03, 165,45, 160,45, 156,81, 144,40, 136,40, 133,14, 132,37, 128,70, 127,59, 127,46, 62,82, 42,19, 32,09, 13,68
$C_{17}H_{17}N_3O_6$	(359,33)
Berechnet [%]	C, 56,82; H, 4,77; N, 11,69
Gefunden [%]	C, 56,81; H, 4,76; N, 11,59

Ethyl 1-(4-Aminobutyl)-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat Hydrochlorid

24



Hergestellt aus **1j** (0,229 g, 0,5 mmol) nach AAV 14.

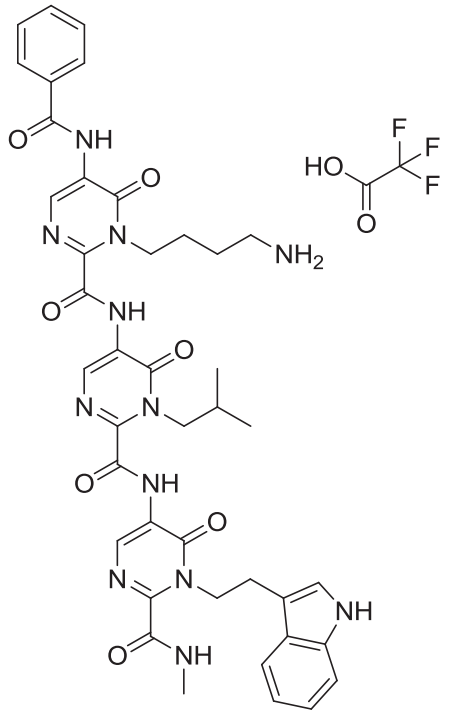
Ausbeute	61 % als weißer Feststoff
Schmelzpunkt	132 °C (Ethanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	9,58 (s, 1H, NH), 8,78 (s, 1H, CH), 7,96 (d, J = 7,9; 2H, arom. H), 7,64 (t, J = 7,4 Hz, 1H, arom. H), 7,56 (t, J = 7,6 Hz, 2H, arom. H), 5,93 (s, 3H, NH$_3$), 4,44 (q, J = 7,0 Hz, 2H, CH_2CH$_3$), 4,07 (t, J = 7,3 Hz, 2H, NCH_2CH$_2$CH$_2$CH$_2$NH$_3$), 2,79 (d, 2H, NCH$_2$CH$_2$CH$_2$CH_2NH$_3$), 1,76 (d, J = 7,0 Hz, 2H, NCH$_2$CH$_2$CH_2CH$_2$NH$_3$), 1,63 (d, J = 6,9 Hz, 2H, NCH$_2$CH_2CH$_2$CH$_2$NH$_3$), 1,35 – 1,33 (m, 3H, CH$_2$CH_3)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,84, 160,81, 157,09, 144,99, 137,39, 133,52, 132,78, 129,11, 128,00, 127,76, 63,49, 45,86, 38,68, 25,84, 24,59, 14,15

$C_{18}H_{23}ClN_4O_4$	(394,85)
HPLC-Analytik	97,7 % (RP 18, Methanol: 5mmol% NH_4OAc-Puffer 75:25 zu 85:15)

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-(5-(1-(4-aminobutyl)-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-1-isobutyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamidtrifluoroacetat

19·TFA



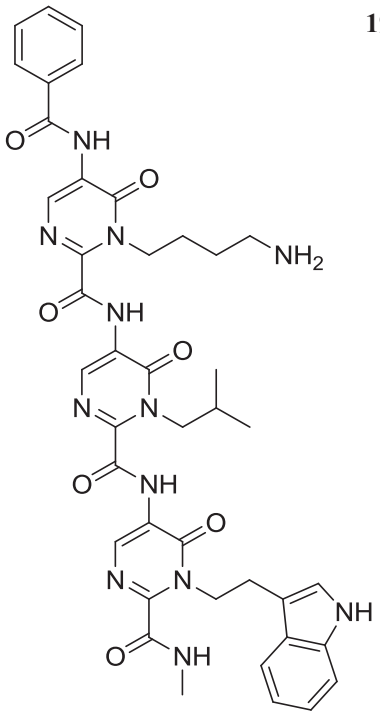
Hergestellt aus **5b** (0,049 g, 0,054 mmol) nach AAV 14.

Ausbeute	98 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	243 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10.85 (s, 1H, NH), 10.60 (s, 1H, NH), 10.54 (s, 1H, NH), 9.51(s, 1H, NH), 8.82 (s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, CH), 8.74 (s, 2H, CH), 7.90 (d, J = 7.3, NH und 2H, arom. H),7.74 (s, 3H, NH_3), 7.62 (d, J = 7.7, 1H, arom. H), 7.57 (d, J = 7.1, 1H, arom. H), 7.50 (d, J =7.2, 2H, arom. H), 7.30 (d, J = 7.9, 1H, arom. H), 7.17 (s, 1H, arom. H), 7.08 (s, 1H, arom. H), 7.02 (s, 1H, arom. H), 6.95 (d, J = 7.3, 1H, arom. H), 4.32 (d, J = 18.5, 2H, alkyl. H), 4.29 (s, 2H, alkyl. H), 4.22 (s, 2H, alkyl. H), 3.06 (s, 2H, alkyl. H), 2.79 (s, 2H, alkyl. H), 2.66 (d, J = 4.2, 3H, alkyl. H), 2.43 (s, 2H, alkyl. H), 2.23 (s, 1H, alkyl. H), 2.07 (s, 1H, alkyl. H), 1.77 (s, 2H, alkyl. H), 1.57 (s, 2H, alkyl. H), 0.84 (s, 3H, alkyl. H), 0.82 (s,3H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,46, 161,24, 159,13, 158,91, 157,27, 157,00, 156,65, 148,31, 144,78, 136,31, 136,20, 134,97, 133,11, 132,42, 128,85, 128,72, 128,16, 127,61, 127,29, 126,97, 126,41, 125,88, 123,21, 121,07, 118,38, 118,23, 111,48, 110,02, 50,96, 46,22, 44,83, 38,49, 28,15, 25,84, 25,52, 24,43, 24,34, 19,80
$C_{43}H_{45}F_3N_{12}O_9$	(930,88)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 817,35287, gefunden, 817,35302

1-(2-(1*H*-Indol-3-yl)ethyl)-5-(5-(1-(4-aminobutyl)-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-1-isobutyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-*N*-methyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid

19



Hergestellt aus **5b** (0,044 g, 0,054 mmol) nach AAV 14 und Extraktion aus 15% Natriumhydroxidlösung mittels Ethylacetat.

Ausbeute	90 % gelber Feststoff
Schmelzpunkt	218 °C (Methanol)
^{1}H-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	10.89 (s, 1H, NH), 8.86 (s, 1H, CH), 8.83 (s, 1H, CH), 8.80 (s, 1H, CH), 7.98 (d, J = 7.4 Hz, 2H, arom. H), 7.69 (d, J = 7.8 Hz, 1H, arom. H), 7.64 (d, J = 7.4 Hz, 1H, arom. H), 7.57 (t, J = 7.6 Hz, 2H, arom. H), 7.36 (d, J = 8.0 Hz, 1H, arom. H), 7.16 (s, 1H, arom. H), 7.09 (t, J = 7.4 Hz, 1H, arom. H), 7.01 (t, J = 7.4 Hz, 1H, arom. H), 4.40 (s, 2H, NH_2), 4.30−4.26 (m, 4H, alkyl. H), 3.13 (s, 2H, alkyl. H), 2.72 (d, J = 3.8 Hz, 3H, alkyl. H), 2.65 (t, J = 7.0 Hz, 2H, alkyl. H), 2.13 (s, 1H, alkyl. H), 1.80 (d, J = 15.2 Hz, 2H, alkyl. H), 1.49 (s, 2H, alkyl. H), 0.90 (d, J = 6.6 Hz, 6H, alkyl. H)

^{13}C-NMR δ [ppm] (DMSO-d_6)	165,4, 161,3, 159,3, 159,2, 157,2, 157,2, 157,2, 156,7, 148,2, 145,7, 145,6, 136,4, 136,3, 136,2, 135,2, 133,2, 132,4, 128,7, 127,0, 126,1, 123,2, 121,1, 118,4, 118,3, 111,5, 110,0, 50,9, 46,2, 45,3, 40,21, 40,02, 28,28, 28,13, 25,84, 25,69, 24,43, 22,59, 19,8
$C_{41}H_{44}N_{12}O_7$	(816,86)
TOF ESI-HRMS [m/z]	berechnet, 817,35287, gefunden, 817,35405
HPLC-Analytik	96,8% (RP 18, Acetonitril: 5mmol% NH_4OAc-Puffer 50:50 zu 90:10)

LITERATURVERZEICHNIS

1. Archakov, A. I.; Govorun, V. M.; Dubanov, A. V.; Ivanov, Y. D.; Veselovsky, A. V.; Lewi, P.; Janssen, P., Protein-protein interactions as a target for drugs in proteomics. *Proteomics* **2003,** *3* (4), 380-391.

2. Beuming, T.; Skrabanek, L.; Niv, M. Y.; Mukherjee, P.; Weinstein, H., PDZBase: a protein-protein interaction database for PDZ-domains. *Bioinformatics* **2005,** *21* (6), 827-828.

3. Cory, S.; Adams, J. M., The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Rev. Cancer* **2002,** *2* (9), 647-656.

4. Fischer, P. M., Protein-Protein Interactions in Drug Discovery. *Drug Design Rev. Online* **2005,** *2* (3), 179-207.

5. Pagel, P.; Kovac, S.; Oesterheld, M.; Brauner, B.; Dunger-Kaltenbach, I.; Frishman, G.; Montrone, C.; Mark, P.; Stumpflen, V.; Mewes, H. W.; Ruepp, A.; Frishman, D., The MIPS mammalian protein-protein interaction database. *Bioinformatics* **2005,** *21* (6), 832-834.

6. Villunger, A.; Scott, C.; Bouillet, P.; Strasser, A., Essential role for the BH3-only protein Bim but redundant roles for Bax, Bcl-2, and Bcl-w in the control of granulocyte survival. *Blood* **2003,** *101* (6), 2393-2400.

7. Xenarios, I.; Eisenberg, D., Protein interaction databases. *Curr. Op. Biotech.* **2001,** *12* (4), 334-339.

8. Blazer, L. L.; Neubig, R. R., Small molecule protein-protein interaction inhibitors as CNS therapeutic agents: current progress and future hurdles. *Neuropsychopharm.* **2009,** *34* (1), 126-141.

9. Ryan, D. P.; Matthews, J. M., Protein-protein interactions in human disease. *Curr. Op. Chem. Bio.* **2005,** *15* (4), 441-446.

10. Wells, J. A.; McClendon, C. L., Reaching for high-hanging fruit in drug discovery at protein-protein interfaces. *Nature* **2007,** *450* (7172), 1001-1009.

11. Lo Conte, L.; Chothia, C.; Janin, J., The atomic structure of protein-protein recognition sites. *J. Mol. Bio.* **1999,** *285* (5), 2177-2198.

12. Jones, S.; Thornton, J. M., Principles of protein-protein interactions. *Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. Am.* **1996,** *93* (1), 13-20.

13. Fairlie, D. P.; West, M. L.; Wong, A. K., Towards protein surface mimetics. *Curr. Med. Chem.* **1998,** *5* (1), 29-62.

14. Moreira, I. S.; Fernandes, P. A.; Ramos, M. J., Hot spots-a review of the protein-protein interface determinant amino-acid residues. *Proteins* **2007,** *68* (4), 803-812.

15. Bullock, B. N.; Jochim, A. L.; Arora, P. S., Assessing helical protein interfaces for inhibitor design. *J. Am. Chem. Soc.* **2011,** *133* (36), 14220-14223.

16. Jochim, A. L.; Arora, P. S., Assessment of helical interfaces in protein-protein interactions. *Mol. Biosys.* **2009,** *5* (9), 924-926.

17. Azzarito, V.; Long, K.; Murphy, N. S.; Wilson, A. J., Inhibition of alpha-helix-mediated protein-protein interactions using designed molecules. *Nature Chem.* **2013,** *5* (3), 161-173.

18. Berg, T., Modulation of protein-protein interactions with small organic molecules. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2003,** *42* (22), 2462-2481.

19. Bienstock, R. J., Computational drug design targeting protein-protein interactions. *Curr. Pharm. Design* **2012,** *18* (9), 1240-1254.

20. Metz, A.; Ciglia, E.; Gohlke, H., Modulating protein-protein interactions: from structural determinants of binding to druggability prediction to application. *Curr. Pharm. Design* **2012,** *18* (30), 4630-4647.

21. Wilson, A. J., Inhibition of protein-protein interactions using designed molecules. *Chem. Soc. Rev.* **2009,** *38* (12), 3289-3300.

22. Klotz, I. M.; Langerman, N. R.; Darnall, D. W., Quaternary structure of proteins. *Ann. Rev. Biochem.* **1970,** *39*, 25-62.

23. Zhanhua, C.; Gan, J. G.; Lei, L.; Sakharkar, M. K.; Kangueane, P., Protein subunit interfaces: heterodimers versus homodimers. *Bioinform.* **2005,** *1* (2), 28-39.

24. Meyer, P.; Prodromou, C.; Hu, B.; Vaughan, C.; Roe, S. M.; Panaretou, B.; Piper, P. W.; Pearl, L. H., Structural and functional analysis of the middle segment of hsp90:

implications for ATP hydrolysis and client protein and cochaperone interactions. *Mol. Cell* **2003,** *11* (3), 647-658.

25. Kubbutat, M. H.; Jones, S. N.; Vousden, K. H., Regulation of p53 stability by Mdm2. *Nature* **1997,** *387* (6630), 299-303.

26. Ottman, C., Protein–Protein Interactions: An Overview. In *Protein-Protein Interactions in Drug Discovery*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: **2013**; pp 1-19.

27. Bogan, A. A.; Thorn, K. S., Anatomy of hot spots in protein interfaces. *J. Mol. Bio.* **1998,** *280* (1), 1-9.

28. Clackson, T.; Wells, J. A., A hot spot of binding energy in a hormone-receptor interface. *Science* **1995,** *267* (5196), 383-386.

29. Arkin, M. R.; Wells, J. A., Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. *Nature Rev. Drug Dis.* **2004,** *3* (4), 301-317.

30. Tsai, C. J.; Lin, S. L.; Wolfson, H. J.; Nussinov, R., Studies of protein-protein interfaces: a statistical analysis of the hydrophobic effect. *Protein Sci.* **1997,** *6* (1), 53-64.

31. Tsai, C. J.; Xu, D.; Nussinov, R., Structural motifs at protein-protein interfaces: protein cores versus two-state and three-state model complexes. *Protein Sci.* **1997,** *6* (9), 1793-1805.

32. Young, L.; Jernigan, R. L.; Covell, D. G., A role for surface hydrophobicity in protein-protein recognition. *Protein Sci.* **1994,** *3* (5), 717-729.

33. Norel, R.; Sheinerman, F.; Petrey, D.; Honig, B., Electrostatic contributions to protein-protein interactions: fast energetic filters for docking and their physical basis. *Protein Sci.* **2001,** *10* (11), 2147-2161.

34. Xu, D.; Lin, S. L.; Nussinov, R., Protein binding versus protein folding: the role of hydrophilic bridges in protein associations. *J. Mol. Bio.* **1997,** *265* (1), 68-84.

35. Pauling, L.; Corey, R. B.; Branson, H. R., The structure of proteins; two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proc. Natl. Ac. Sci. U. S. Am.* **1951,** *37* (4), 205-211.

36. Davis, J. M.; Tsou, L. K.; Hamilton, A. D., Synthetic non-peptide mimetics of alpha-helices. *Chem. Soc. Rev.* **2007,** *36* (2), 326-334.

37. Hoffmann, T.; Metternich, R., The Future of Medicinal Chemistry. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2012,** *51* (35), 8670-8671.

38. Ratnaparkhi, M. P.; Chaudhari, S. P.; Pandya, V. A., Peptides and Proteins in Pharmaceuticals. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* **2011,** *3* (2), 1-9.

39. Cummings, C. G.; Hamilton, A. D., Disrupting protein-protein interactions with non-peptidic, small molecule alpha-helix mimetics. *Curr. Op. Chem. Bio.* **2010,** *14* (3), 341-346.

40. Nolan, W. P.; Ratcliffe, G. S.; Rees, D. C., The synthesis of 1,6-disubstituted indanes which mimic the orientation of amino acid side-chains in a protein alpha-helix motif. *Tetrahedron Lett.* **1992,** *33* (45), 6879-6882.

41. Horwell, D. C.; Howson, W.; Nolan, W. P.; Ratcliffe, G. S.; Rees, D. C.; Willems, H. M. G., The design of dipeptide helical mimetics, Part I: the synthesis of 1,6-disubstituted indanes. *Tetrahedron* **1995,** *51* (1), 203-216.

42. Horwell, D. C.; Howson, W.; Ratcliffe, G. S.; Willems, H. M., The design of dipeptide helical mimetics: the synthesis, tachykinin receptor affinity and conformational analysis of 1,1,6-trisubstituted indanes. *Biorg. Med. Chem.* **1996,** *4* (1), 33-42.

43. Orner, B. P.; Ernst, J. T.; Hamilton, A. D., Toward proteomimetics: terphenyl derivatives as structural and functional mimics of extended regions of an alpha-helix. *J. Am. Chem. Soc.* **2001,** *123* (22), 5382-5383.

44. Kutzki, O.; Park, H. S.; Ernst, J. T.; Orner, B. P.; Yin, H.; Hamilton, A. D., Development of a potent Bcl-x(L) antagonist based on alpha-helix mimicry. *J. Am. Chem. Soc.* **2002,** *124* (40), 11838-11839.

45. Yin, H.; Lee, G. I.; Park, H. S.; Payne, G. A.; Rodriguez, J. M.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D., Terphenyl-based helical mimetics that disrupt the p53/HDM2 interaction. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2005,** *44* (18), 2704-2707.

46. Römer, L.; Klein, C.; Dehner, A.; Kessler, H.; Buchner, J., p53-a natural cancer killer: structural insights and therapeutic concepts. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2006,** *45* (39), 6440-6460.

47. Davis, J. M.; Truong, A.; Hamilton, A. D., Synthesis of a 2,3';6',3"-terpyridine scaffold as an alpha-helix mimetic. *Org. Lett.* **2005,** *7* (24), 5405-5408.

48. Biros, S. M.; Moisan, L.; Mann, E.; Carella, A.; Zhai, D.; Reed, J. C.; Rebek, J., Jr., Heterocyclic alpha-helix mimetics for targeting protein-protein interactions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007,** *17* (16), 4641-4645.

49. Volonterio, A.; Moisan, L.; Rebek Jr., J., Synthesis of pyridazine-based scaffolds as alpha-helix mimetics. *Org. Lett.* **2007,** *9* (19), 3733-3736.

50. Mann, E.; Moisan, L.; Hou, J.-L.; Rebek Jr., J., Synthesis of pyridazines functionalized with amino acid side chains. *Tetrahedron Lett.* **2008,** *49* (5), 903-905.

51. Moisan, L.; Odermatt, S.; Gombosuren, N.; Carella, A.; Rebek Jr., J., Synthesis of an Oxazole–Pyrrole–Piperazine Scaffold as an α-Helix Mimetic. *E. J.Org. Chem.* **2008,** *2008* (10), 1673-1676.

52. Restorp, P.; Rebek, J., Jr., Synthesis of alpha-helix mimetics with four side-chains. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008,** *18* (22), 5909-5911.

53. Cummings, C. G.; Ross, N. T.; Katt, W. P.; Hamilton, A. D., Synthesis and biological evaluation of a 5-6-5 imidazole-phenyl-thiazole based alpha-helix mimetic. *Org. Lett.* **2009,** *11* (1), 25-28.

54. Cummings, C. G.; Hamilton, A. D., Expedient route to functionalized and water soluble 5-6-5 imidazole-phenyl-thiazole based α-helix mimetics. *Tetrahedron* **2013,** *69* (5), 1663-1668.

55. Marques, C. A.; Hahnel, P. S.; Wolfel, C.; Thaler, S.; Huber, C.; Theobald, M.; Schuler, M., An immune escape screen reveals Cdc42 as regulator of cancer susceptibility to lymphocyte-mediated tumor suppression. *Blood* **2008,** *111* (3), 1413-1419.

56. Sinha, S.; Yang, W., Cellular signaling for activation of Rho GTPase Cdc42. *Cell Sig.* **2008,** *20* (11), 1927-1934.

57. Yin, H.; Lee, G. I.; Sedey, K. A.; Rodriguez, J. M.; Wang, H. G.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D., Terephthalamide derivatives as mimetics of helical peptides: disruption of the Bcl-x(L)/Bak interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2005,** *127* (15), 5463-5468.

58. Plante, J.; Campbell, F.; Malkova, B.; Kilner, C.; Warriner, S. L.; Wilson, A. J., Synthesis of functionalised aromatic oligamide rods. *Org. Biomol. Chem.* **2008,** *6* (1), 138-146.

59. Plante, J. P.; Burnley, T.; Malkova, B.; Webb, M. E.; Warriner, S. L.; Edwards, T. A.; Wilson, A. J., Oligobenzamide proteomimetic inhibitors of the p53-hDM2 protein-protein interaction. *Chem. Comm.* **2009,** (34), 5091-5093.

60. Ahn, J. M.; Han, S. Y., Facile synthesis of benzamides to mimic an α-helix. *Tetrahedron Lett.* **2007,** *48* (20), 3543-3547.

61. Lee, T. K.; Ahn, J. M., Solid-phase synthesis of tris-benzamides as alpha-helix mimetics. *ACS Comb. Sci.* **2011,** *13* (2), 107-111.

62. Shaginian, A.; Whitby, L. R.; Hong, S.; Hwang, I.; Farooqi, B.; Searcey, M.; Chen, J.; Vogt, P. K.; Boger, D. L., Design, synthesis, and evaluation of an alpha-helix mimetic library targeting protein-protein interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2009,** *131* (15), 5564-5572.

63. Ernst, J. T.; Becerril, J.; Park, H. S.; Yin, H.; Hamilton, A. D., Design and application of an alpha-helix-mimetic scaffold based on an oligoamide-foldamer strategy: antagonism of the Bak BH3/Bcl-xL complex. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2003,** *42* (5), 535-539.

64. Saraogi, I.; Incarvito, C. D.; Hamilton, A. D., Controlling curvature in a family of oligoamide alpha-helix mimetics. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2008,** *47* (50), 9691-9694.

65. Hagmann, W. K.; Basha, F. Z.; Hashimoto, M.; Frye, R. B.; Kojo, S.; Hecht, S. M., Chemistry of 2-substituted pyrimidines. Studies directed toward the synthesis of the pyrimidine moiety of bleomycin. *J. Org. Chem.* **1981,** *46* (7), 1413-1423.

66. Riva, R.; Banfi, L.; Basso, A.; Zito, P., A new diversity oriented and metal-free approach to highly functionalized 3H-pyrimidin-4-ones. *Org. Biomol. Chem.* **2011,** *9* (7), 2107-2122.

67. Hopkins, G.; Hopkins, J.; Jonak, H.; Minnemeyer, H.; Tieckelmann, J., Alkylations of Heterocyclic Ambident Anions II. Alkylation of 2-Pyridone Salts. *J. Org. Chem.* **1967,** *32* (12), 4040-4044.

68. Kislyi, V. P.; Semenov, V. V., Investigation of the regioselectivity of alkylation of 3-nitropyridin-2(1H)-ones. *Russ. Chem. Bull.* **2001,** *50* (3), 460-463.

69. Tielemans, M.; Christophe, D.; Promel, R., Synthesis of 1- and 3-amino-5-t-butyl-1H- and -3H-v-triazolo[4,5-d]pyrimidines as hetaryne precursors. *J. Heterocycl. Chem.* **1987,** *24* (3), 705-708.

70. Nishiwaki, N.; Yamashita, K.; Azuma, M.; Adachi, T.; Tamura, M.; Ariga, M., Novel Synthesis of Bihetaryl Compounds. *Synthesis* **2004,** *2004* (EFirst), 1996-2000.

71. Mittapalli, G. K.; Osornio, Y. M.; Guerrero, M. A.; Reddy, K. R.; Krishnamurthy, R.; Eschenmoser, A., Mapping the landscape of potentially primordial informational oligomers: oligodipeptides tagged with 2,4-disubstituted 5-aminopyrimidines as recognition elements. *Angew. Chem. (Int. Ed. Eng.)* **2007,** *46* (14), 2478-2484.

72. Kim, C.; Nakai, T.; Wai-Ho Lee, T.; Moore, J.; Perl, N. R.; Rohde, J.; Iyengar, R. R.; Mermerian, A., SGC Stimulators. *Ironwood Pharmaceuticals Inc.; WO2012/3405 A1* **2012**.

73. de la Cuesta, E.; Avendaño, C., Synthesis of 2-substituted 4-oxo-5-nitropyrimidines from methyl 3-ethoxy-2-nitroacrylate and other reactions. *J. Heterocycl. Chem.* **1985,** *22* (2), 337-339.

74. Emanuel, M. J., Aza-Benzimidazolone Chymase Inhibitors. *Boehringer-Ingelheim International GmBH; WO 2010/30500 A1* **2010**.

75. Bekkali, Y., 1,1,1-Trifluoromethyl-4-phenyl-4-methyl-2-(1H-pyrolo'2,3-pyridin-2-ylmethyl)pentan-2-ol derivatives and related compounds as glucocorticoid ligands for the treatment of inflammatory diseases and diabetis. *Boehringer-Ingelheim Pharmaceutical Inc., WO 2005/030213 A1* **2005**.

76. Bach Tana, J.; Pages Santacana, L. M.; Taltavull Moll, J.; Eastwood, P. R.; Gonzalez Rodrigues, J.; Giulio Matassa, V., Pyrazole Derivates as JAK Inhibitors. *Almirall, S.A.; WO2011/101161 A1* **2011**.

77. Zhou, C.; Zou, W.; Hua, Y.; Dang, Q., Substituted Pyrimidines. *Merck Sharp and Dohme Corp.; WO2013/40790 A1* **2013**.

78. Veale, C. A.; Bernstein, P. R.; Bryant, C.; Ceccarelli, C.; Damewood, J. R., Jr.; Earley, R.; Feeney, S. W.; Gomes, B.; Kosmider, B. J., Nonpeptidic inhibitors of human leukocyte elastase. 5. Design, synthesis, and x-ray crystallography of a series of orally active 5-aminopyrimidin-6-one-containing trifluoromethyl ketones. *J. Med. Chem.* **1995,** *38* (1), 98-108.

79. Akahoshi, F.; Ashimori, A.; Yoshimura, T.; Imada, T.; Nakajima, M.; Mitsutomi, N.; Kuwahara, S.; Ohtsuka, T.; Fukaya, C.; Miyazaki, M.; Nakamura, N., Non-Peptidic Inhibitors of human chymase. Synthesis, structure–activity relationships, and pharmacokinetic profiles of a series of 5-amino-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-containing trifluoromethyl ketones. *Biorg. Med. Chem.* **2001,** *9* (2), 301-315.

80. Ohmoto, K.; Yamamoto, T.; Horiuchi, T.; Kojima, T.; Hachiya, K.; Hashimoto, S.; Kawamura, M.; Nakai, H.; Toda, M., Improved Synthesis of a New Nonpeptidic Inhibitor of Human Neutrophil Elastase. *Synlett* **2001,** *2001* (02), 299-301.

81. Takahashi, D., Process for producing pyrimidine compound. *Ajinomoto; EP 1553090 A1* **2005**.

82. Takahashi, D.; Honda, Y.; Izawa, K., Syntheses of 5-amino-2-phenyl-4(3H)-pyrimidinone derivertives starting with glycine. *Heterocycles* **2012,** *85* (5), 1089.

83. Takahashi, D.; Honda, Y.; Izawa, K., An improved synthesis of 5-acylamino-6-oxo-2-phenyl-1(6h)-pyrimidineacetic acid from glycine with readily removable protecting groups. *Heterocycles* **2012,** *85* (9), 2213.

84. Hansen, F. K., Pyrimidin-Analoga des Analgetikums Flupirtin - Synthese, Analytik und biologische Eigenschaften von 2,4,5-substituierten Pyrimidin-Derivaten. *Staats- und Universitätsbibliothek Hamburg*, Hamburg, **2009**.

85. Phillion, D. P.; Singh, M., Process for the preparation of derivative of 4-amino-3-hydroxypyrrole-2-carboxylic acid. *Pharmacia Corporation; US2002/42522 A1* **2002**.

86. Martinu, T.; Dailey, W. P., Synthesis of carboalkoxychloro- and bromodiazirines. *Journal of Organic Chemistry* **2004,** *69* (21), 7359-7362.

87. Shigeru, Y.; Takashi, M.; Kohsuke, O.; Mikie, K.; Nobuhiko, F., Nitrogenated fused ring derivative, pharmaceutical composition comprising the same, and use of the same for medical purposes. *Kissei Pharmaceutical; EP2143724 A1* **2010**.

88. Utimoto, K.; Wakabayashi, Y.; Shishiyama, Y.; Inoue, M.; Nozaki, H., 2-Alkoxy and 2,2-dialkoxy nitriles from acetals and orthoesters — exchange of alkoxy into cyano group by means of cyanotrimethylsilane. *Tetrahedron Lett.* **1981,** *22* (43), 4279-4280.

89. Sato, N.; Ando, M.; Ishikawa, S.; Jitsuoka, M.; Nagai, K.; Takahashi, H.; Sakuraba, A.; Tsuge, H.; Kitazawa, H.; Iwaasa, H.; Mashiko, S.; Gomori, A.; Moriya, R.; Fujino, N.; Ohe, T.; Ishihara, A.; Kanatani, A.; Fukami, T., Discovery of Tetrasubstituted Imidazolines as Potent and Selective Neuropeptide Y Y5 Receptor Antagonists: Reduced Human Ether-a-go-go Related Gene Potassium Channel Binding Affinity and Potent Antiobesity Effect. *J. Med. Chem.* **2009,** *52* (10), 3385-3396.

90. Suzuki, H.; Sakai, N.; Iwahara, R.; Fujiwaka, T.; Satoh, M.; Kakehi, A.; Konakahara, T., Novel synthesis of 7-fluoro-8-(trifluoromethyl)- 1H-1,6-naphthyridin-4-one derivatives: intermolecular cyclization of an N-silyl-1-azaallyl anion with perfluoroalkene and subsequent intramolecular skeletal transformation of the resulting pentasubstituted pyridines. *J. Org. Chem.* **2007,** *72* (15), 5878-5881.

91. Mass, O.; Lindsey, J. S., A trans-AB-Bacteriochlorin Building Block. *J. Org. Chem.* **2011,** *76* (22), 9478-9487.

92. Lee, A. S. Y.; Cheng, C. L., A novel and selective method for hydrolysis of acetals and ketals. *Tetrahedron* **1997,** *53* (42), 14255-14262.

93. Mikhaleva, M. A.; Kolesnichenko, G. A.; Rubina, K. I.; Gol'dberg, Y. S.; Savel'ev, V. A.; Leitis, L. Y.; Shimanskaya, M. V.; Mamaev, V. P., Synthesis of 5-arylpyrimidine-2-carboxylic acids and the liquid-crystal characteristics of their aryl esters. *Chem. Het. Comp.* **1986,** *22* (3), 310-318.

94. Aoyagi, Y.; Chorghade, M. S.; Padmapriya, A. A.; Suguna, H.; Hecht, S. M., Synthesis of pyrimidoblamic acid and epipyrimidoblamic acid. *J. Org. Chem.* **1990,** *55* (26), 6291-6298.

95. Brooks, G.; Miles, T. J.; Person, N. D., Azatricyclic compounds and their use. *Glaxo Group LTD.; WO2008003690 A1* **2008**.

96. Hou, C.; Zou, W.; Hua, Y.; Dang, Q., Substituted Pyrimidines. *Merck Sharp and Dohme Corp.; WO2013/40789 A1* **2013**.

97. Hansen, F. K.; Geffken, D., Expedient Microwave-Assisted Synthesis of 5-Benzoylamino-2-(aralkylsulfanyl)pyrimidin-4(3H)-ones. *Synthesis* **2010,** *2010* (15), 2583-2587.

98. Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V., Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron* **2005,** *61* (46), 10827-10852.

99. Prabhakaran, P.; Barnard, A.; Murphy, N. S.; Kilner, C. A.; Edwards, T. A.; Wilson, A. J., Aromatic Oligoamide Foldamers with a "Wet Edge" as Inhibitors of the α-Helix-Mediated p53–hDM2 Protein–Protein Interaction. *E. J.Org. Chem.* **2013,** *2013* (17), 3504-3512.

100. Parra, R. D.; Zeng, H.; Zhu, J.; Zheng, C.; Zeng, X. C.; Gong, B., Stable three-center hydrogen bonding in a partially rigidified structure. *Chem. Eur. J.* **2001,** *7* (20), 4352-4357.

101. Zhu, J.; Parra, R. D.; Zeng, H.; Skrzypczak-Jankun, E.; Zeng, X. C.; Gong, B., A New Class of Folding Oligomers: Crescent Oligoamides. *J. Am. Chem. Soc.* **2000,** *122* (17), 4219-4220.

102. Buchner, J., Introduction: the cellular protein folding machinery. *Cell. Mol. Life Sci.* **2002,** *59* (10), 1587-1588.

103. Wegele, H.; Muller, L.; Buchner, J., Hsp70 and Hsp90--a relay team for protein folding. *Rev. Physio. Biochem. Pharm.* **2004,** *151*, 1-44.

104. Groß, M., Faltungshelfer in Bewegung. *Chemie in unserer Zeit* **2012,** *46* (2), 70.

105. Mahalingam, D.; Swords, R.; Carew, J. S.; Nawrocki, S. T.; Bhalla, K.; Giles, F. J., Targeting HSP90 for cancer therapy. *Brit. J. Cancer* **2009,** *100* (10), 1523-1529.

106. Pearl, L. H.; Prodromou, C., Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery. *Ann. Rev. Biochem.* **2006,** *75*, 271-294.

107. Hartl, F. U.; Bracher, A.; Hayer-Hartl, M., Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature* **2011,** *475* (7356), 324-332.

108. Taldone, T.; Gozman, A.; Maharaj, R.; Chiosis, G., Targeting Hsp90: small-molecule inhibitors and their clinical development. *Curr. Op. Pharm.* **2008,** *8* (4), 370-374.

109. Kitson, R. R.; Moody, C. J., Learning from nature: advances in geldanamycin- and radicicol-based inhibitors of Hsp90. *J. Org. Chem.* **2013,** *78* (11), 5117-5141.

110. Davies, N. G.; Browne, H.; Davis, B.; Drysdale, M. J.; Foloppe, N.; Geoffrey, S.; Gibbons, B.; Hart, T.; Hubbard, R.; Jensen, M. R.; Mansell, H.; Massey, A.; Matassova, N.; Moore, J. D.; Murray, J.; Pratt, R.; Ray, S.; Robertson, A.; Roughley, S. D.; Schoepfer, J.; Scriven, K.; Simmonite, H.; Stokes, S.; Surgenor, A.; Webb, P.; Wood, M.; Wright, L.; Brough, P., Targeting conserved water molecules: design of 4-aryl-5-cyanopyrrolo[2,3-d]pyrimidine Hsp90 inhibitors using fragment-based screening and structure-based optimization. *Biorg. Med. Chem.* **2012,** *20* (22), 6770-89.

111. Guo, W.; Reigan, P.; Siegel, D.; Zirrolli, J.; Gustafson, D.; Ross, D., The bioreduction of a series of benzoquinone ansamycins by NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 to more potent heat shock protein 90 inhibitors, the hydroquinone ansamycins. *Mol. Pharmacol.* **2006,** *70* (4), 1194-1203.

112. Caplan, A. J., What is a co-chaperone? *Cell Stress Chap.* **2003,** *8* (2), 105-107.

113. Roe, S. M.; Prodromou, C.; O'Brien, R.; Ladbury, J. E.; Piper, P. W.; Pearl, L. H., Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics radicicol and geldanamycin. *J. Med. Chem.* **1999,** *42* (2), 260-266.

114. Wang, M.; Shen, G.; Blagg, B. S., Radanamycin, a macrocyclic chimera of radicicol and geldanamycin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006,** *16* (9), 2459-2462.

115. Marcu, M. G.; Chadli, A.; Bouhouche, I.; Catelli, M.; Neckers, L. M., The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone. *J. Biol. Chem.* **2000,** *275* (47), 37181-37186.

116. Yin, Z.; Henry, E. C.; Gasiewicz, T. A., (-)-Epigallocatechin-3-gallate is a novel Hsp90 inhibitor. *Biochem.* **2009,** *48* (2), 336-345.

117. Reikvam, H.; Hatfield, K. J.; Kittang, A. O.; Hovland, R.; Bruserud, O., Acute myeloid leukemia with the t(8;21) translocation: clinical consequences and biological implications. *J. Biomed. Biotech.* **2011,** *2011*, 104631.

118. Tenen, D. G., Disruption of differentiation in human cancer: AML shows the way. *Nature Rev. Cancer* **2003,** *3* (2), 89-101.

119. Liu, Y.; Cheney, M. D.; Gaudet, J. J.; Chruszcz, M.; Lukasik, S. M.; Sugiyama, D.; Lary, J.; Cole, J.; Dauter, Z.; Minor, W.; Speck, N. A.; Bushweller, J. H., The tetramer structure of the Nervy homology two domain, NHR2, is critical for AML1/ETO's activity. *Cancer Cell* **2006,** *9* (4), 249-260.

120. Klisovic, M. I.; Maghraby, E. A.; Parthun, M. R.; Guimond, M.; Sklenar, A. R.; Whitman, S. P.; Chan, K. K.; Murphy, T.; Anon, J.; Archer, K. J.; Rush, L. J.; Plass, C.; Grever, M. R.; Byrd, J. C.; Marcucci, G., Depsipeptide (FR 901228) promotes histone acetylation, gene transcription, apoptosis and its activity is enhanced by DNA methyltransferase inhibitors in AML1/ETO-positive leukemic cells. *Leukemia* **2003,** *17* (2), 350-358.

121. Wichmann, C.; Becker, Y.; Chen-Wichmann, L.; Vogel, V.; Vojtkova, A.; Herglotz, J.; Moore, S.; Koch, J.; Lausen, J.; Mantele, W.; Gohlke, H.; Grez, M., Dimer-tetramer transition controls RUNX1/ETO leukemogenic activity. *Blood* **2010,** *116* (4), 603-613.

122. Ptasinska, A.; Assi, S. A.; Mannari, D.; James, S. R.; Williamson, D.; Dunne, J.; Hoogenkamp, M.; Wu, M.; Care, M.; McNeill, H.; Cauchy, P.; Cullen, M.; Tooze, R. M.; Tenen, D. G.; Young, B. D.; Cockerill, P. N.; Westhead, D. R.; Heidenreich, O.; Bonifer, C., Depletion of RUNX1/ETO in t(8;21) AML cells leads to genome-wide changes in chromatin structure and transcription factor binding. *Leukemia* **2012,** *26* (8), 1829-1841.

123. Heidenreich, O.; Krauter, J.; Riehle, H.; Hadwiger, P.; John, M.; Heil, G.; Vornlocher, H. P.; Nordheim, A., AML1/MTG8 oncogene suppression by small interfering RNAs

supports myeloid differentiation of t(8;21)-positive leukemic cells. *Blood* **2003,** *101* (8), 3157-3163.

124. Metz, A.; Schanda, J.; Grez, M.; Wichmann, C.; Gohlke, H., From Determinants of RUNX1/ETO Tetramerization to Small-Molecule Protein-Protein Interaction Inhibitors Targeting Acute Myeloid Leukemia. *J. Chem. Info. Model.* **2013,** *53* (9), 2197-2202.

125. Wichmann, C.; Chen, L.; Heinrich, M.; Baus, D.; Pfitzner, E.; Zornig, M.; Ottmann, O. G.; Grez, M., Targeting the oligomerization domain of ETO interferes with RUNX1/ETO oncogenic activity in t(8;21)-positive leukemic cells. *Cancer Res.* **2007,** *67* (5), 2280-2289.

126. Bartel, Y.; Grez, M.; Wichmann, C., Interference with RUNX1/ETO leukemogenic function by cell-penetrating peptides targeting the NHR2 oligomerization domain. *Bio. Med. Res. Int.l* **2013,** *2013*, 297692.

127. Mosmann, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Meth.* **1983,** *65* (1–2), 55-63.

128. Berridge, M. V.; Herst, P. M.; Tan, A. S., Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. In *Biotech. Ann. Rev.*, El-Gewely, M. R., Ed. Elsevier: 2005; Vol. Volume 11, pp 127-152.

129. Kanda, Y.; Nishiyama, Y.; Shimada, Y.; Imamura, M.; Nomura, H.; Hiai, H.; Fukumoto, M., Analysis of gene amplification and overexpression in human esophageal-carcinoma cell lines. *Int. J. Cancer* **1994,** *58* (2), 291-297.

130. Galam, L.; Hadden, M. K.; Ma, Z.; Ye, Q.-Z.; Yun, B.-G.; Blagg, B. S. J.; Matts, R. L., High-throughput assay for the identification of Hsp90 inhibitors based on Hsp90-dependent refolding of firefly luciferase. *Biorg. Med. Chem.* **2007,** *15* (5), 1939-1946.