

**Synthese und biologische Evaluation Pyrimidon- und Pyrimidin-  
basierter  $\alpha$ -Helixmimetika**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

**Vitalij Woloschin**

aus Pavlodar

Düsseldorf, November 2020

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: 01.06.2021

## DANKSAGUNG

Ich möchte mich herzlich bei allen Menschen bedanken, die zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle möchte ich mich bei Prof. Dr. THOMAS KURZ für die Möglichkeit bedanken, die vorliegende Arbeit in seiner Gruppe anfertigen zu können. Die hilfreichen Diskussionen und anregenden Fragestellungen waren richtungsweisend und hilfreich bei der Konzeptionierung der Projekte. Ebenfalls möchte ich mich für die Gelegenheiten bedanken, in denen ich eigene Ideen und gestalterische Freiheit in die Projekte einfließen lassen konnte.

Bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. HOLGER GOHLKE für die Übernahme des Korreferats und den informativen Austausch während der Projektmeetings. Ferner möchte ich meinen Dank DAVID BICKEL für die Untersuchung der Bindungsmodi der  $\alpha$ -Helixmimetika sowie die interessanten Diskussionen im Rahmen des Hsp90-Projekts aussprechen.

Bei Dr. SANIL BHATIA und den Mitgliedern seiner Arbeitsgruppe vom Universitätsklinikum Düsseldorf NIKLAS DIENSTBIER, HEINZ AHLERT, MELINA VOGT und JIA-WEY TU möchte ich mich für die und vielfältigen *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen der Verbindungen sowie den fachlichen und persönlichen Austausch bedanken. Danke auch, für die Beantwortung aller meiner Fragen bezüglich der biologischen Evaluation. Auch Prof. Dr. BJÖRN STORK und YADONG SUN danke ich für die *in vitro* Untersuchungen der Mimetika.

Für die *in vivo* Untersuchung der Verbindungen im Zebrafisch-Xenoraft-Modell möchte ich mich bei Dr. BAUBAK BAJOGHLI und Dr. NARGESSADAT AGHAALLAEI vom Universitätsklinikum Tübingen bedanken.

Prof. Dr. ERICH E. WANKER und den Mitarbeitern seiner Arbeitsgruppe vom Max-Delbrück-Centrum Berlin danke ich für die *in vitro* Evaluation der Verbindungen im BRET-Assay.

Für die Durchführung der Kristallstrukturuntersuchung möchte ich mich bei FLORIAN MORSBACH und Dr. GUIDO J. REIß aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. WALTER FRANK vom Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie bedanken.

PD Dr. KLAUS SCHAPER, MARIA BREUER und MOHANAD AIAN danke ich für die Aufnahme der Kernspinresonanzspektren und Dr. PETER TOMMES und RALF BÜRCEL für die HRMS-Analyse.

## DANKSAGUNG

Den Mitarbeitern des Zentralen Chemikalienlagers, unter der Leitung von Dr. CLAUS A. TLUK VON TOSCHANOWITZ, danke ich für die Beschaffung der Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sowie die sichere Gefahrstoffentsorgung.

Besonderer Dank gilt meinen Arbeitskreiskollegen Dr. MARC PLIEGER, Dr. YODITA ASFAHA, Dr. LEANDRO A. A. AVELAR, BEATE LUNGERICH, PETRA STAHLKE, ALEXANDER BERGER, OLIVER MICHEL und MONA A. MAHMOUD.

Das konstruktive Miteinander, die ausgelassenen Feiern, der rege und hilfreiche Austausch in fachlichen und persönlichen Gesprächen und die schöne Zeit inner- und außerhalb der Arbeitsgruppe haben zum Erfolg dieser Arbeit signifikant beigetragen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei NINA REßING und SASKIA KLEIN für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken. Allen Freunden und Bekannten danke ich für die unabdingbare Unterstützung in schweren Zeiten.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, der ich diese Arbeit widme. Insbesondere meinen ELTERN, meinem BRUDER für ihre bedingungslose Unterstützung in allen Situationen und ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

## **Inhaltsverzeichnis**

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| Chronische myeloische Leukämie .....                                  | 1  |
| Tyrosinkinase-Inhibitoren gegen CML .....                             | 3  |
| Hitzeschockprotein 90 (Hsp90) .....                                   | 6  |
| Hsp90 und die Merkmale von Krebszellen .....                          | 8  |
| N-terminale Hsp90i .....                                              | 10 |
| Ansamycin-Hsp90i .....                                                | 10 |
| Resorcin-Hsp90i .....                                                 | 12 |
| Purin- und purinartige Hsp90i.....                                    | 13 |
| <i>Heat shock response</i> .....                                      | 15 |
| CTD Hsp90i .....                                                      | 16 |
| Aminocoumarine .....                                                  | 16 |
| (-)-Epigallocatechingallat.....                                       | 17 |
| Sansalvamid A-Amide.....                                              | 18 |
| Aminoxypeptide .....                                                  | 20 |
| Protein-Protein-Interaktionen.....                                    | 22 |
| Peptidomimetika.....                                                  | 24 |
| $\alpha$ -Helixmimetika.....                                          | 25 |
| Sterisch gesteuerte Helixmimetika .....                               | 26 |
| Kovalent eingeschränkte Helixmimetika .....                           | 28 |
| Wasserstoffbrücken-gesteuerte Helixmimetika.....                      | 29 |
| Zielsetzung.....                                                      | 33 |
| Allgemeiner Teil .....                                                | 36 |
| Darstellung von Tripyrimidonamid-Derivaten.....                       | 36 |
| Darstellung von Desbenzoyl-Tripyrimidonamiden .....                   | 36 |
| Konformationsanalyse des Bipyrimidonamids 10b .....                   | 42 |
| Darstellung von Pyrimidinamid-basierter $\alpha$ -Helixmimetika ..... | 44 |
| Retrosynthetische Analyse.....                                        | 44 |
| Vorarbeiten zur Darstellung von 4-Alkoxypyrimidin-Derivaten .....     | 45 |

## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| MITSUNOBU-Reaktion zur Darstellung von 4-Alkoxyrimidin-Derivaten .....                                                                             | 46  |
| Synthese von 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen mittels nukleophiler aromatischer Substitution .....                               | 57  |
| Esterhydrolyse und Aminolyse von 4-Alkoxyrimidinen, 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen .....                                       | 65  |
| Hydrolyse der Benzoylschutzgruppe zur Darstellung von 5-Aminopyrimidinen .....                                                                     | 68  |
| Synthese von Bipyrimidinamiden durch Amidkupplungsreaktionen .....                                                                                 | 72  |
| Synthese von Pyrimidin-Pyrimidonamiden, Bipyrimidon-Pyrimidinamiden und Tripyrimidinamiden .....                                                   | 77  |
| Synthese von 2-Brombenzoyl-Derivaten der Bipyrimidinamide 31c und 31f .....                                                                        | 78  |
| Konformationsanalyse des Bipyrimidinamids 31b .....                                                                                                | 80  |
| <sup>1</sup> H-NMR-Titration von 31b zur qualitativen Differenzierung intramolekularer Wasserstoffbrücken .....                                    | 82  |
| Biologische Evaluation .....                                                                                                                       | 86  |
| Bestimmung der antileukämischen Aktivität der synthetisierten $\alpha$ -Helixmimetika gegenüber Leukämiezellen mittels CellTiter-Glo®-Assay .....  | 86  |
| Evaluation der Bindungsmodi von 13 und 31b an der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 $\alpha$ mittels Molekulardynamik-Simulationen ..... | 93  |
| Präklinische Formulierungen von 13 und 31b zur Untersuchung der antileukämischen <i>in vivo</i> Aktivität .....                                    | 94  |
| cBRET-Assay zur Untersuchung des Einflusses von 10b und 13 auf die Dimerisierung von Hsp90 .....                                                   | 95  |
| Untersuchung von 10b, 12a, 13 und 31b mittels Luciferase-Renaturierungs Assay .....                                                                | 97  |
| Untersuchung der Verbindungen 10b, 12a und 13 mittels <i>Thermal Shift Assay</i> und <i>Cellular Thermal Shift Assay</i> .....                     | 99  |
| <i>In vivo</i> Evaluation des Tripyrimidonamids 13 in einem Zebrafisch-Xenograft-Modell .....                                                      | 100 |
| Zusammenfassung und Ausblick .....                                                                                                                 | 103 |
| Experimenteller Teil .....                                                                                                                         | 107 |
| Arbeitsmaterialien und Methoden .....                                                                                                              | 107 |
| Reagenzien und Lösungsmittel .....                                                                                                                 | 107 |
| Mikrowellenreaktionen .....                                                                                                                        | 107 |

## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Dünnschichtchromatographie.....                                              | 107 |
| Säulenchromatographie und Flash-Chromatographie .....                        | 107 |
| Substanztrocknung .....                                                      | 108 |
| HPLC-Methode .....                                                           | 108 |
| Kernresonanzspektroskopie.....                                               | 108 |
| Massenspektrometrie.....                                                     | 109 |
| Kristallstrukturanalyse .....                                                | 109 |
| Kristallisationsmethode zur Gewinnung der Einkristalle von 10b-Tosylat ..... | 109 |
| Anhang.....                                                                  | 229 |
| Kristallographische Informationen zu 10b-Tosylat .....                       | 229 |
| Abkürzungsverzeichnis .....                                                  | 234 |
| Abbildungsverzeichnis .....                                                  | 237 |
| Tabellenverzeichnis .....                                                    | 241 |
| Schemenverzeichnis .....                                                     | 242 |
| Literaturverzeichnis .....                                                   | 246 |

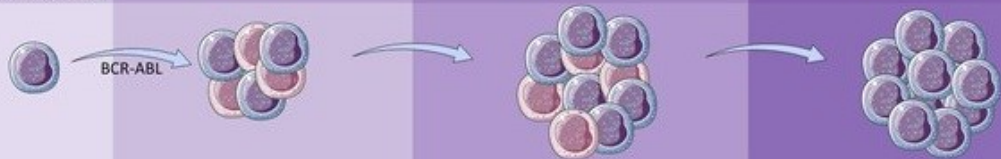


### **Chronische myeloische Leukämie**

Die unterschiedlichen Krebserkrankungen des blutbildenden Systems werden als Leukämien bezeichnet. Das gemeinsame Merkmal stellt die unkontrollierte Vermehrung und die erhöhte Anzahl weißer Blutzellen dar. Je nach Zelltyp, aus dem die maligne Zelle hervorgeht, unterscheidet man zwischen myeloischen und lymphatischen Leukämien. Bei der myeloischen Leukämie kommt es zu einer Entartung von verschiedenen Zellen der myeloischen Reihe, während bei der lymphatischen Leukämie, Zellen der lymphatischen Reihe entarten. Beide Arten besitzen eine akute und eine chronische Verlaufsform, sodass man zwischen vier Leukämiearten differenzieren kann: der akuten myeloischen Leukämie (AML), der akuten lymphatischen Leukämie (ALL), der chronischen myeloischen Leukämie (CML) und chronischen lymphatischen Leukämie (CLL).<sup>1</sup> Jährlich werden *circa* 13700 Menschen in Deutschland mit Leukämie diagnostiziert, davon sind 4% unter 15 Jahren alt.<sup>2</sup> Die Erkrankungsrate ist dabei bei Männern höher als bei Frauen (13,5 Fälle bzw. 8,6 Fälle pro 100000 Personen). Die relative 10-Jahres-Überlebensrate beträgt durchschnittlich 49%. Dabei gehen 38% der diagnostizierten Fälle auf CLL und 23% auf AML zurück. Die Gruppen der mit ALL und CML diagnostizierten Personen machten 6% bzw. 8% aller Fälle aus.<sup>3</sup> Der Verlauf der CML lässt sich in drei Phasen unterteilen. Während der chronischen Phase (CP) liegen weniger als 10% Myeloblasten im Blut und Knochenmark vor. Patienten sind asymptomatisch oder weisen milde Symptome auf. In der akzelerierten Phase (AP) weisen Blutproben 15% - 30% Blasten auf. Der Anteil basophiler Granulozyten beträgt 20% (normalerweise 0,5% - 1,0% der Leukocyten) oder mehr und es kommt zum vermehrten Auftreten zytogenetischer Anomalien. Erschöpfung, Gewichtsverlust und eine vergrößerte Milz sind typische Symptome in dieser Phase. In der Blastenkrise (BK) liegt der Anteil der Myeloblasten über 30% (nach WHO  $\geq 20\%$ ). Symptome während der BK sind zu denen der AP ähnlich, umfassen aber auch Fieber, Knochenschmerzen und aufgrund von zunehmender Anämie auch Kurzatmigkeit (Abbildung 1). Die BK ist von den Symptomen analog zur AML und führt unbehandelt innerhalb von wenigen Wochen zum Tod.<sup>4,5,6,7</sup> Der Großteil aller Patienten wird während der CP bei Routineuntersuchungen des Bluts diagnostiziert. Bei 95% der CML und 20% - 30% der ALL Patienten liegt das verkürzte Philadelphia-Chromosom vor.<sup>8</sup> Es entsteht durch reziproke Translokation zwischen den Chromosomen 9 und 22, wobei es zur Bildung des Onkogens BCR-ABL1 (*break point cluster region*) kommt. Durch Transkription und Translation kommt es zur Bildung der BCR-ABL1-Tyrosinkinase. Das ABL1-Gen codiert die ABL1-Tyrosinkinase (*Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*), die an Signalwegen zur Zelldifferenzierung, Zellteilung, Zelladhäsion und Apoptose beteiligt ist. Sie wird durch eine

## EINLEITUNG

SH2- und SH3-Domäne (*Src-homology*) reguliert. Eine Myristoylgruppe am N-terminalen Glycin kann sich in der Kinasedomäne einbetten und durch ein Annähern der SH2- und SH3-Domäne an die Kinasedomäne zur Autoinhibition führen. Intramolekulare Protein-Protein-Interaktionen (PPI) zwischen einer 80 Aminosäuren langen, N-terminalen Cap-Sequenz und der Kinasedomäne stabilisieren die inaktive Konformation.<sup>9</sup> Ferner kann durch Dephosphorylierung von Tyr245 und Tyr412 eine Inaktivierung der Kinase<sup>a</sup> stattfinden.<sup>10</sup> Der Verlust der Cap-Sequenz und der N-terminalen Myristoylgruppe durch die Translokation führen zur dysregulierten Aktivierung von BCR-ABL1.<sup>11</sup> Dies leitet unkontrollierte Proliferation und Zellwachstum durch Störung des MAPK-Wegs, Beeinträchtigung der Transkriptionsaktivität durch den Einfluss auf den JAK-STAT-Signalweg und eine Inhibition der Apoptose ein.<sup>12,13</sup> Eine Strategie für die Behandlung der BK ist die frühzeitige Erkennung und Inhibition von BCR-ABL durch die Applikation von Imatinib, Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) der zweiten und dritten Generation oder Stammzelltransplantation.<sup>14</sup> Bis 2001 wurde CML mit klassischen Chemotherapeutika wie Hydroxyharnstoff, Busulfan und Interferon- $\alpha$  behandelt. Allerdings kam es dabei aufgrund unzureichender Spezifität gegenüber malignen Zellen zu signifikanter Toxizität.<sup>15</sup> Durch die Einführung von Imatinib als Standardtherapeutikum durch die FDA (*Food and Drug Administration*) wurde die 10-Jahres-Überlebensrate von circa 20% auf 80% - 90% gesteigert.<sup>16</sup> 10% - 30% der Patienten weisen eine komplette Remission auf. Die Rückfallquote in dieser Kohorte nach Absetzen von Imatinib betrug allerdings 60%.<sup>17</sup>

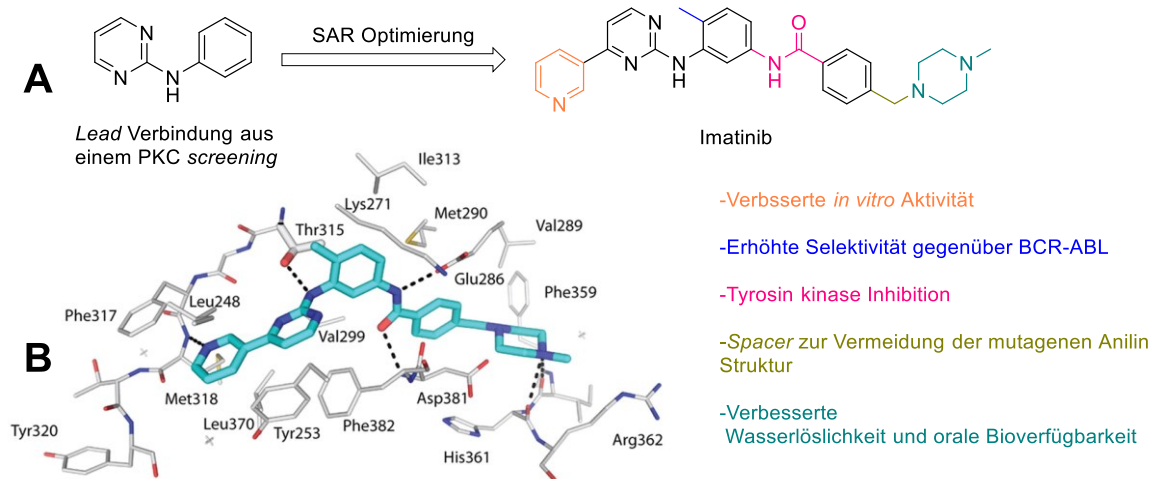
|                                                                                      | Chronische Phase | Akzelierte Phase                               | Blastenkrise                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Mediane Dauer ohne Behandlung                                                        | 5-6 Jahre        | 6-9 Monate                                     | 3-6 Monate                              |
|  |                  |                                                |                                         |
| Blasten                                                                              | <10%             | 15-30%                                         | >30%                                    |
| Symptome                                                                             | Asymptomatisch   | Erschöpfung, Gewichtsverlust, vergrößerte Milz | Fieber, Kurzatmigkeit, Knochenschmerzen |

**Abbildung 1:** Progression der CML (abgewandelt von CLARKE *et al.*<sup>4</sup>; WHO und ELN geben keine Blastenzahl für die CP an.<sup>18</sup>).

<sup>a</sup> Mechanismen der Regulation für die ABL1b-Isoform nach HANTSCHER *et al.*<sup>10</sup>

## Tyrosinkinase-Inhibitoren gegen CML

Bis in die 1980er Jahre war die Entwicklung von Chemotherapeutika fast ausschließlich auf Antimetabolite, DNA-Alkylanzien und Mitosehemmstoffe, die Einfluss auf die DNA-Replikation und Zellteilung nehmen, fokussiert. Trotz ihrer Wirksamkeit zeigten sie aufgrund mangelnder Selektivität eine hohe Toxizität und damit verbundene Nebenwirkungen. Dazu gehören Übelkeit, Haarausfall und eine Veränderung des Blutbildes, aber auch Spätfolgen wie Organschäden, Unfruchtbarkeit oder die Entstehung von Zweittumoren.<sup>19</sup> Imatinib ist der erste beschriebene ATP-kompetitive Inhibitor der BCR-ABL-Kinase. Der Wirkstoff wurde mittels SAR (*structure-activity relationship*)-basierter Optimierung ausgehend von einem Phenylaminopyrimidin-Derivat in den 1990er Jahren von Ciba-Geigy<sup>b</sup> entwickelt und wird seit 2001 als Glivec® vermarktet.<sup>20</sup>



**Abbildung 2:** SAR-basierte Optimierung der *Lead* Verbindung führte zum ersten zugelassenen TKI-Inhibitor zur Behandlung der CML (A). Interaktionen von Imatinib in der ATP-Bindestelle von BCR-ABL (B; angepasst nach REDDY *et al.*<sup>21</sup>; PDB ID 2HYY).

Der Inhibitor bindet kompetitiv an die inaktive Konformation der ATP-Bindestelle der ABL-Kinasedomäne. Durch Inhibition<sup>c</sup> der ATP Bindung kommt es zur Einleitung von Apoptose in malignen, BCR-ABL-abhängigen Leukämiezellen.<sup>22</sup>

Das Phenylaminpyrimidin-Motiv interagiert über VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen und eine Wasserstoffbrücke mit der Hydroxylgruppe von Thr315. Gleichzeitig bindet der Pyridin-Substituent in der Adenin-Bindetasche und der Benzylpiperazin-Rest in der DFG<sup>d</sup>-*out*-Tasche. Dabei wird ein hydrophober Käfig aus Tyr253, Phe317 und Leu370 um den Pyrimidin und Pyridin-Ring gebildet, wodurch die Aromaten vom Solvens abgeschirmt werden. Dagegen liegt der Benzamid- und Piperazin-Teil zum Solvens gerichtet vor.

<sup>b</sup> Heute Novartis.

<sup>c</sup> Imatinib inhibiert auch c-KIT und PDGFR- $\beta$ , welches zum Effekt auf die Zellviabilität beitragen kann.<sup>7</sup>

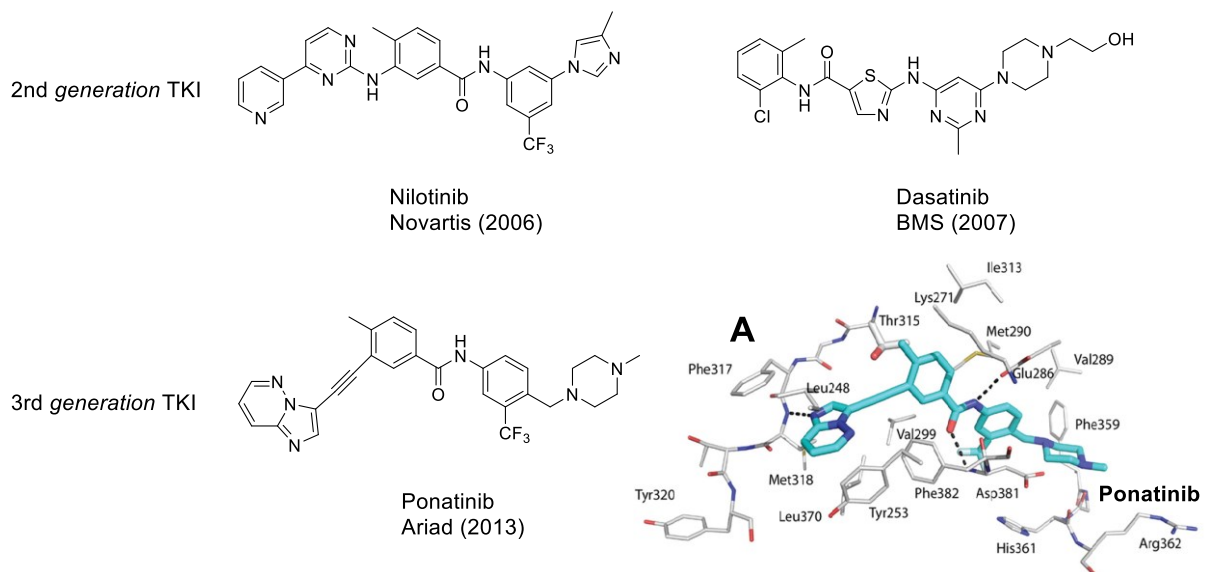
<sup>d</sup> Asp381-Phe382-Gly383 in Abl.

## EINLEITUNG

Dabei werden fünf weitere Wasserstoffbrücken ausgebildet: Der Pyridin-Stickstoff interagiert mit dem Amidproton von Met318, das Amidproton der Amidbindung bildet eine Wasserstoffbrücke zu Glu286 und der Carbonyl-Sauerstoff wechselwirkt mit dem Amidproton von Asp381 aus der Hauptkette. Das portionierte Piperazin bildet Wasserstoffbrücken zu den Carbonylsauerstoffen von Ile360 und His361 aus (Abbildung 2).<sup>21</sup>

BRANFORD *et al.* befanden in ihrer Studie, dass etwa ein Drittel aller behandelten Personen eine Resistenz gegen Imatinib, durch das Auftreten von Mutationen in der BCR-ABL-Kinase entwickeln.<sup>23</sup> Um das Aufkommen von Resistenzen zu überwinden, wurden TKI der zweiten und dritten Generation entwickelt. Dazu gehören Nilotinib, Dasatinib und Ponatinib. Nilotinib hat eine 10 - 20-mal höhere Aktivität gegen den ABL-Wildtyp und weist eine strukturelle Ähnlichkeit zu Imatinib auf. Der Methylpiperazin-Rest wurde durch einen 3-Methylimidazol-Rest ersetzt. Anstelle der Methylgruppe befindet sich eine Trifluormethylgruppe am zentralen Benzen und die Amidgruppe wurde invertiert. Die Interaktionen mit der Kinasedomäne von BCR-ABL ähneln denen von Imatinib. Die höhere Bindungsaffinität lässt sich durch die verstärkten VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen durch die CF<sub>3</sub>-Gruppe und den Imidazolring sowie die bessere Passform beider Strukturelemente in der DFG-*out*-Tasche erklären.<sup>24</sup> Nilotinib bindet ebenfalls an die inaktive Konformation der Kinase. Die Verbindung ist gegen viele mutierte Formen des Proteins aktiv. Aufgrund der strukturellen Verwandtschaft zu Imatinib ist Nilotinib jedoch inaktiv gegenüber der BCR-ABL mit der T315I-Mutation.<sup>25</sup> Dasatinib bindet, im Gegensatz zu den bereits beschriebenen Inhibitoren, bevorzugt an die DFG-*in*-Konformation der Kinase. Trotz der geringeren Oberfläche und Anzahl an Wasserstoffbrücken Interaktionen hat der Inhibitor eine 10 - 20-mal höhere Aktivität gegenüber der Wildtyp-Kinase als Nilotinib. Aufgrund einer höheren konformativen Flexibilität des DFG-*in*-Konformers ist die Bindung von Dasatinib thermodynamisch begünstigt. Dies ist auf den Entropieunterschied zwischen der DFG-*in*- und der DFG-*out*-Konformation zurückzuführen. Dieser Befund stellt auch eine mögliche Erklärung für die Aktivität von Dasatinib gegenüber konformativ veränderten ABL-Mutanten dar.<sup>26</sup>

## EINLEITUNG



**Abbildung 3:** Anti-CML TKI der zweiten und dritten Generation Nilotinib, Dasatinib und Ponatinib. Cokristallstruktur von Ponatinib und der ABL-Kinase (A; adaptiert von REDDY *et al.* <sup>21</sup>; PDB ID 3OXZ).

Der einzige bisher zugelassene TKI der dritten Generation ist Ponatinib. Er weist strukturelle Ähnlichkeit zu Imatinib und Nilotinib auf und bindet analog an die DFG-*out*-Konformation der Kinase. Dabei wurde das Pyridin-Pyrimidin-Motiv durch ein Imidazolo[1,2-*b*]pyridiazin ersetzt, das die Adenin-Bindestelle über eine Wasserstoffbrücke adressiert. Die BCR-ABL1<sup>T315I</sup>-Mutation<sup>e</sup> führt zu Resistenzen gegenüber Imatinib und TKI der zweiten Generation. Der Verlust der Aktivität der TKI wurde dabei auf die fehlende Wasserstoffbrücken-Bindung zwischen Thr315 und dem Aminopyrimidin-Proton, den erhöhten sterischen Anspruch durch die Isoleucin-Seitenkette und die geringere Stabilität der inaktiven Konformation der ABL-Kinase zurückgeführt.<sup>27,28</sup> Diese Mutation tritt in 2% - 20% aller CML Fälle auf.<sup>29</sup> Der Ethinyl-*Linker* wurde eingeführt, um die hydrophobe Isoleucin-Seitkette, die bei der verbreiteten ABL1<sup>T315I</sup>-Mutation auftritt, durch Verringerung der sterischen Wechselwirkungen zu adressieren (Abbildung 3). CORTES *et al.* zeigten, dass Ponatinib effektiv bei Behandlung von CML- und Philadelphia-Chromosom-positiven ALL-Patienten mit der ABL1<sup>T315I</sup>-Mutation ist.<sup>30</sup> Trotz der Erfolge bei der Entwicklung neuer Inhibitoren ist die Prognose für Patienten, die Merkmale einer AP oder BK ausgehend von einer CP entwickeln, immer noch schlecht.<sup>14</sup> Einige CML-Patienten sprechen nicht auf eine Behandlung mit Imatinib an.<sup>31</sup> Imatinib, Nilotinib und Ponatinib sind hepatotoxisch und können zu Leberversagen führen.<sup>32, 33</sup> Bei Studien mit Ponatinib kam es zum gehäuften Auftreten von arteriellen Thrombosen.<sup>34</sup> Mutationen der BCR-ABL1Kinasedomäne und den SH2/SH3-Domänen führen zu Resistenzen gegenüber TKI-basierten Therapien.<sup>35,36</sup> Darüber hinaus treten mehr als

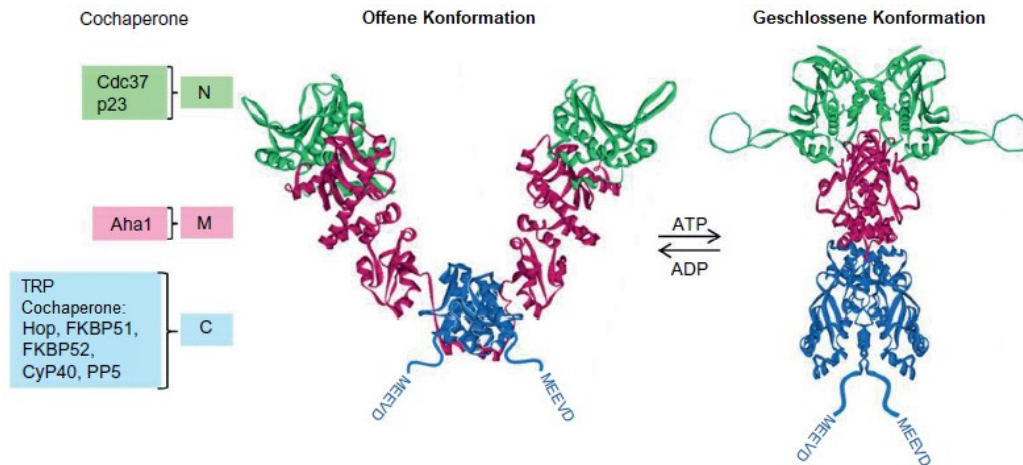
<sup>e</sup> Nach GORRE *et al.* wiesen sechs von neun Patienten diese Mutation bei der Entdeckung auf.

90 verschiedene Mutationen der ABL-Kinasedomäne auf, die zu Resistenzen gegen Imatinib und weitere TKI führen.<sup>37</sup> Daraus geht die Motivation für die Erforschung neuer Therapiemöglichkeiten für CML unter Einbezug neuer Zielstrukturen hervor.

### **Hitzeschockprotein 90 (Hsp90)**

Induziert durch Stressfaktoren wie erhöhte Temperatur, Azidose, Hypoxie oder oxidativen Stress kommt es zum gehäuftem Auftreten von Mutationen und Fehlfaltungen in Proteinen. Als Reaktion auf diese Faktoren exprimieren Zellen Chaperonproteine, um die Proteinhomöostase aufrechtzuerhalten.<sup>38,39</sup> Das 90 kDa schwere Hitzeschockprotein 90 (Hsp90) ist ein ATP-abhängiges Chaperon, das für die Faltung, Aktivität, Stabilisierung und den Zelltransport von über 400 Klientproteinen verantwortlich ist.<sup>40</sup> Zu den Klientproteinen gehören Wachstums- und Transkriptionsfaktoren, Kinasen und Steroidhormonrezeptoren.<sup>41</sup> Die Funktionen dieser Klienten umfassen Signaltransduktion, Autophagie, Chromatin-Remodellierung, Apoptose und Zellproliferation.<sup>42,43</sup> Unter normalen Bedingungen macht Hsp90 1 - 2% der gesamten Proteinmenge einer Zelle aus. Unter Stressbedingungen wird das Chaperonprotein überexprimiert (4-6%).<sup>44</sup> Es existieren vier humane Isoformen von Hsp90. Hsp90 $\alpha$  und Hsp90 $\beta$  treten im Zytosol auf. GRP94 (*glucose-regulated protein*) ist im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert, während TRAP-1 (*tumor necrosis factor associated protein 1*) in Mitochondrien vorzufinden ist.<sup>45,46</sup> Hsp90 $\beta$  wird konstitutiv exprimiert, während die Konzentration von Hsp90 $\alpha$  stressinduziert erhöht wird.<sup>47</sup> Hsp90 gehört zu der GHKL-Superfamilie (*Gyrase, Hsp90, histidine kinase, MutL*) von ATPasen, die durch ein Bergerat-Motiv charakterisiert sind. Dieses Motiv ist im Fall von Hsp90 aus drei  $\beta$ -Faltblättern und vier  $\alpha$ -Helices aufgebaut. Dabei zeigt die *Lid*-Region weg von der ATP-Bindestelle, wodurch sie vollständig solvensexponiert vorliegt.<sup>48,49</sup> In Abgrenzung zu Kinasen, in denen ATP in einer ausgestreckten Konformation gebunden vorliegt, nimmt gebundenes ATP in Hsp90 eine gebogenen Konformation an.

## EINLEITUNG

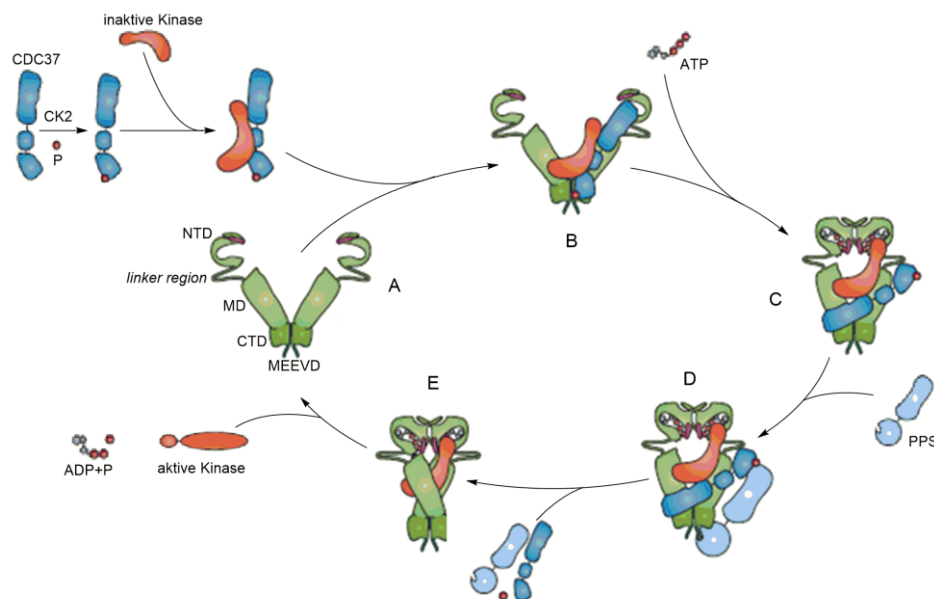


**Abbildung 4:** Aufbau von Hsp90 und konformative Veränderung induziert durch die Bindung von ATP (modifiziert nach RATAJCZAK *et al.*<sup>50</sup>).

In Lösung liegt Hsp90 als Homodimer vor. Dabei lässt sich jedes Monomer in drei Domänen unterteilen: Die N-terminale Domäne (NTD) verfügt über eine ATP-Bindetasche und ist über die *middle domain* (MD) mit der C-terminalen Domäne (CTD) verbunden. Die flexible *Linker*-Region zwischen der NTD und der MD ist, aufgrund des hohen Anteiles an Lysin- und Glutaminsäure-Seitenketten, polar und dadurch in der Lage das  $\gamma$ -Phosphat von ATP zu binden. Damit die Hydrolyse von ATP stattfinden kann, findet eine Annäherung der NTD und der MD statt. Dadurch ist Arg380 (MD) in der Lage die Hydrolyse von ATP zu katalysieren.<sup>51</sup> Ist ATP nicht gebunden, liegt das Dimer in einer offenen V-förmigen Konformation vor. Die Hydrolyse von ATP liefert die notwendige Energie für konformative Änderungen von Hsp90, die notwendig sind, um Klientproteine zu falten.<sup>52</sup> Dabei geht der Komplex in eine geschlossene Konformation über (Abbildung 4). Die CTD ist essenziell für die Homodimerisierung von Hsp90 und damit für seine Funktion. Hydrophobe Protein-Protein-Interaktionen in einem 4-Helix-Bündel stabilisieren das Hsp90-Dimer. Darüber hinaus befindet sich eine zweite Nukleotid-Bindestelle in der CTD. Sie besitzt unspezifische Affinität für Purin- und Pyrimidinnukleotide und ist nur zugänglich während die N-terminale ATP-Bindestelle besetzt ist.<sup>53</sup> Ferner verfügt die CTD von cytosolischem Hsp90 über eine MEEVD-Aminosäuresequenz, welche die Bindung von Cochaperonen mit einer TPR-Domäne (*tetrcopeptide-containing repeat*) ermöglicht; dazu gehören HOP (*Hsp70-Hsp90 organizing protein*), Immunophiline (FKBP52) und CDC37 (*cell division cycle 37*).<sup>54</sup> Ein Entfernen der CTD führt zu einer 6-10-fach geringeren Aktivität der N-terminalen ATPase. Das Ersetzen der CTD durch eine Disulfid-Brücke zwischen den beiden Monomeren stellt die ATPase-Aktivität wieder her.<sup>55</sup> Zur Überführung eines Klientproteins aus seiner nativen in eine aktive Konformation ist die Bildung eines Multiproteinkomplexes aus Hsp90 und mehreren Cochaperonen

## EINLEITUNG

erforderlich. Kinasen stellen eine große Klientproteingruppe von Hsp90 dar. Sie werden von CDC37 rekrutiert und assoziieren anschließend mit der offenen Konformation von Hsp90 (**A**). CK2 (*casein kinase 2*) reguliert dabei durch Phosphorylierung von Ser13 in der NTD die Bildung des Cochaperon-Hsp90-Komplexes (**B**).<sup>56</sup> Nach der Bindung von ATP an den offenen Heteroproteinkomplex kommt es zu einer Dimerisierung der NTD durch Interaktion der *Lid*-Region beider Hsp90-Monomere (**C**). Die Dephosphorylierung von CDC37 durch PP5 (*Ser/Thr protein phosphatase 5*) führt zur Freisetzung von CDC37 und Phosphat (**D**). Die Interaktion der MD mit der NTD führt dabei zur Begünstigung der ATP-Hydrolyse (**E**).<sup>51</sup> Die Öffnung der *Lid*-Region führt zur Freisetzung von ADP und Phosphat sowie der aktiven Kinase. Dabei geht Hsp90 wieder in eine offene V-förmige Konformation über (Abbildung 5). Darüber hinaus wird Hsp90 durch posttranslationale Modifikationen wie Acetylierung, Phosphorylierung und S-Nitrosylierung reguliert. Weitere Cochaperone wie p23 und CHIP (*C-terminus of Hsc70-interacting protein*) stabilisieren die geschlossene Konformation und sind am Abbau ungefalteter Klientproteine beteiligt.<sup>57</sup>



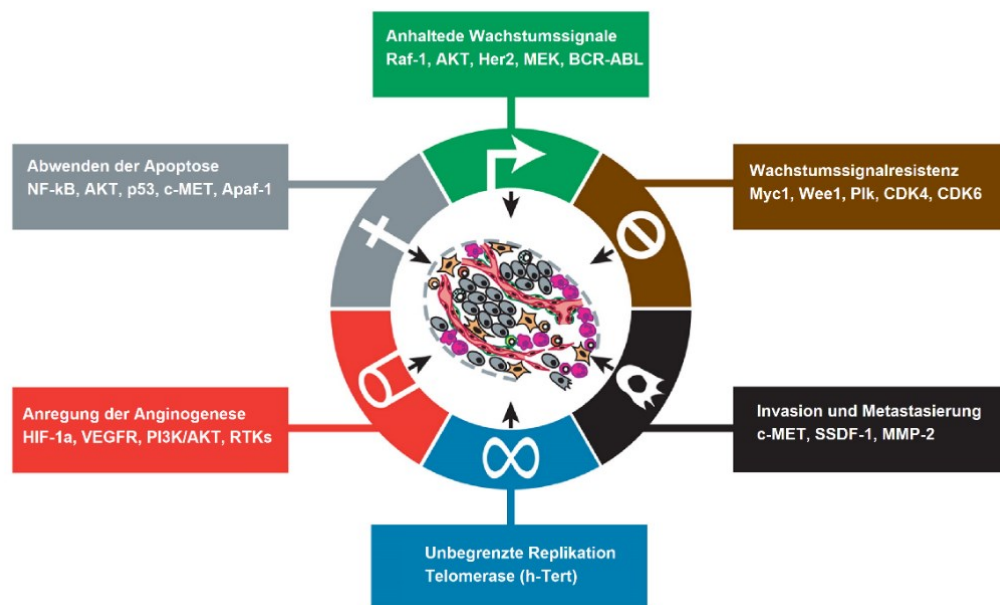
**Abbildung 5:** Schematische Darstellung der Aktivierung einer Kinase durch einen Hsp90-Cochaperon-Komplex (modifiziert nach SCHOPF *et al.*<sup>58</sup>).

### Hsp90 und die Merkmale von Krebszellen

Die gezielte Adressierung von Proteinen, die an dem Wachstum von Krebszellen beteiligt sind, steht im Fokus der zielgerichteten Krebstherapie. HANAHA *et al.* postulierten im Jahr 2000 Merkmale, die kollektiv für die Manifestation verschiedener Genotypen von Krebszellen verantwortlich sind (*six hallmarks of cancer*; Abbildung 6).<sup>59</sup> Bisher gelang es durch Inhibitoren gezielt eine Zielstruktur zu adressieren, die an einem oder mehreren *hallmark of cancer* beteiligt ist. Es wurde gezeigt, dass der Hsp90-Multiproteinkomplex

## EINLEITUNG

eine zentrale Rolle bei der Manifestation aller sechs *hallmarks of cancer* spielt. Durch die Inhibition von Hsp90 ist es nunmehr möglich alle sechs Merkmale zu adressieren.<sup>60,61</sup> Da Hsp90 auch in gesunden Geweben ubiquitär vorliegt, gab es Bedenken, dass eine Inhibition zu unspezifisch für die Entwicklung neuer Chemotherapeutika ist. Viele Krebszellen weisen jedoch eine Überexpression von Hsp90 auf. Dies ist assoziiert mit der Hochregulierung von Proteinen, die zu einem unkontrollierten Zellwachstum führen.<sup>62</sup> Hsp90 ist direkt an der Stabilisierung von Onkoproteinen beteiligt. Zahlreiche Klientproteine liegen mutiert und überexprimiert in Krebszellen vor, oder benötigen aufgrund ihrer konformativen Labilität kontinuierliche Stabilisierung durch Hsp90 (*Hsp90 addiction*).<sup>63</sup> Dadurch trägt Hsp90 maßgeblich zur Onkogenese und dem invasiven Potenzial von Krebszellen bei.<sup>64</sup> Es wurde gezeigt, dass Hsp90-Inhibitoren (Hsp90i) eine höhere Akkumulation und Toxizität in malignen Geweben im Vergleich zu gesunden Geweben aufweisen. Eine Inhibition von Hsp90 führt zum Abbau ungefalteter Klientproteine durch das Proteasom.<sup>65,66</sup>



**Abbildung 6:** Die sechs *hallmarks of cancer* und die damit assoziierten Klienten von Hsp90 (modifiziert nach HANAHN *et al.*<sup>59</sup> und GARG *et al.*<sup>64</sup>).

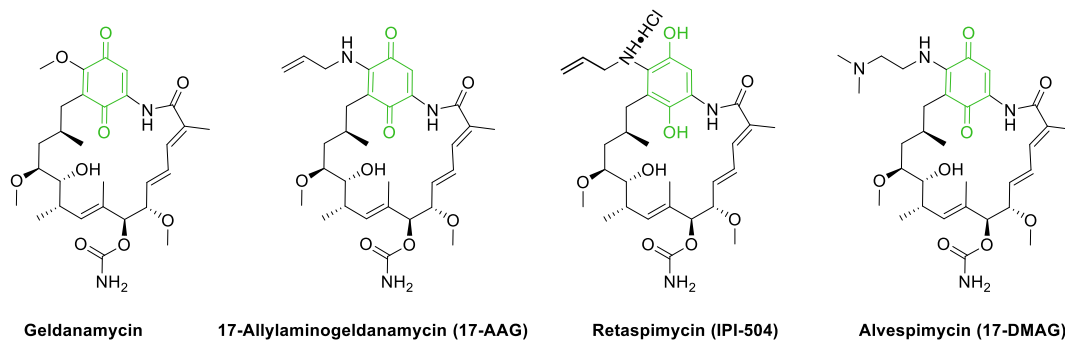
Die Inhibition von Hsp90 stellt einen vielversprechenden Ansatz zur simultanen Adressierung mehrerer onkogener Zielstrukturen und dadurch die Grundlage für die Entwicklung neuer Krebstherapien dar. Hsp90i lassen sich entsprechend der unterschiedlichen Domänen von Hsp90 kategorisieren.

## N-terminale Hsp90i

Die Möglichkeit durch Inhibition von Hsp90 gleichzeitig mehrere Signalwege von malignen Zellen zu unterbrechen, die an den sechs *hallmarks of cancer* beteiligt sind, ermöglicht die Entwicklung neuer Therapieformen. Mittlerweile wurden 18 Hsp90i in klinische Studien gegen unterschiedliche Krebsindikationen evaluiert.<sup>67</sup> Alle evaluierten Inhibitoren adressieren dabei die N-terminale ATP-Bindetasche von Hsp90. Sie sind in der Lage die Bindung von ATP an Hsp90 kompetitiv zu inhibieren und verhindern dadurch die Bildung der geschlossenen Konformation. Die akkumulierten Onkoproteine werden ubiquitiniert und vom Proteasom abgebaut.<sup>44</sup> Im Folgenden werden drei N-terminale Hsp90i Klassen vorgestellt.

## Ansamycin-Hsp90i

Wie eingangs erwähnt, nimmt ATP in der Bindetasche von Hsp90 eine gebogene Konformation ein. Dieses ungewöhnliche Merkmal erlaubt die Entwicklung von Inhibitoren, die die NTD von Hsp90 adressieren. Als Ausgangspunkt für die Entwicklung N-terminaler Inhibitoren diente die Entdeckung der Naturstoffe Radicicol und Geldanamycin.<sup>68,69</sup> Geldanamycin zeigt antiproliferative Aktivität gegen eine Reihe verschiedener Krebszellen.<sup>70</sup> WHITESELL *et al.* demonstrierten mittels Affinitätsreinigung, dass Geldanamycin an Hsp90 bindet und zur Dissoziation des Hsp90-Src-Kinasekomplexes führt.<sup>71</sup>



**Abbildung 7:** Beispiele für Ansamycin-basierte Hsp90i der NTD.

SCHNEIDER *et al.* zeigten, dass diese Inhibition zum Abbau vom Hsp90-Klientprotein Raf-1 (*rapidly accelerated fibrosarcoma*) führt.<sup>72</sup> NIMMANAPALLI *et al.* legten dar, dass Geldanamycin zum Abbau der BCR-ABL-Kinase führt und die Apoptose von BCR-ABL-positiven Leukämiezellen auslöst.<sup>73</sup> Ferner zeigten GORRE *et al.*, dass der Inhibitor Apoptose in Imatinib-resistenten, BCR-ABL-positiven Zelllinien mit der T315I-Mutation auslöst.<sup>74</sup> Trotz der antiproliferativen Eigenschaften von Geldanamycin war der klinische Einsatz ausgeschlossen. Gründe dafür waren neben der ungenügenden

## EINLEITUNG

Wasserlöslichkeit, das Aufkommen von Hepato<sup>f</sup>- und Nephrotoxizität in präklinischen Untersuchungen<sup>g,75</sup> Merkmale, die für die spätere Entwicklung von Geldanamycin-Derivaten relevant waren gehen aus der Cokristallstruktur mit der NTD hervor.<sup>69</sup> Die Amidbindung isomerisiert aus einer *trans*- in eine *cis*-Konformation. Der Verlust der Koplanarität zwischen der Amidbindung und dem *para*-Chinonring führt zu einer gebogenen, C-förmigen Konformation von Geldanamycin, die sich von der ausgestreckten Konformation im ungebundenen Zustand unterscheidet. Der Ansa-Ring bindet tief in der ATP-Bindetasche während der Chinonring am Eingang der Tasche Platz findet und zum Teil solvensexponiert ist. Dabei zeigt die Methoxygruppe am Chinonring weg von der Bindestelle. Die Carbamatgruppe am Ansa-Ring bildet ein Netzwerk von Wasserstoffbrücken in der größtenteils hydrophoben Bindetasche aus. Zwei Wasser medierte Wasserstoffbrücken liegen zwischen dem Carbamat und Gly83, Thr171 und dem Carbonyl-Sauerstoff von Leu34 vor. Das Carbamat bildet eine direkte Wasserstoffbrücke zu Asp79 aus und imitiert in Summe die Interaktion des Adenin-Rests von ADP. Die Carbonyl-Sauerstoffe des Chinonrings formt eine Wasserstoffbrücke zu Lys112, während der Methoxy-Sauerstoff eine Wasserstoffbrücke zu Lys44 bildet. Dabei imitiert der Chinonring die Interaktionen der terminalen Phosphatgruppe von ADP. Im Fall von 17-AAG wurde zur Verbesserung der Stabilität die Methoxygruppe am Chinonring durch eine Allylaminogruppe ersetzt (Abbildung 7). Die geringe Wasserlöslichkeit wurde erstmals durch den Einsatz des Hydrochlorid-Salzes von IPI-504 und später durch das Einführen einer Dimethylaminoethylgruppe im Fall von 17-DMAG verbessert. Die Aminogruppe liegt unter physiologischen Bedingungen protoniert vor, erhöht dadurch die Wasserlöslichkeit und die orale Bioverfügbarkeit im Vergleich zu 17-AAG.<sup>76,77</sup> Sowohl das Hydrochinon<sup>h</sup> IPI-504 als auch das tertiäre Amin 17-DMAG wurden in einer Reihe von klinischen Studien evaluiert. Darunter gegen HER- (*human epidermal growth factor receptor*) positiven Brustkrebs, Prostatakrebs, Lymphoma und CML.<sup>78,79,80,81</sup> Obwohl Ansamycin-Analoga vielversprechende Inhibitoren von Hsp90 darstellen, führt sie zur Überexprimierung von Hsp70. Dieser Mechanismus verringert die Wirkung der Inhibitoren und verhindert die Zellapoptose.<sup>82</sup>

---

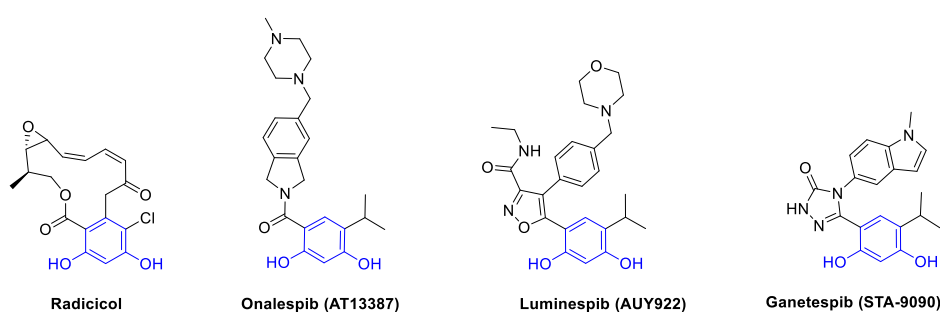
<sup>f</sup> Der elektronenarme Chinonring wird von der Cytochrom P-450 Reduktase zu einem Semichinon- und einem Superoxid-Radikal umgesetzt. Superoxide können zu DNA-Strangbrüchen und Oxidation von Thiol-haltigen Proteinseitenketten führen.<sup>299</sup>

<sup>g</sup> SUPKO *et al.* verwendeten Hunde als Versuchstiere im Rahmen der toxikologischen Evaluation von Geldanamycin.

<sup>h</sup> Die Reduktion vom Chinonring in das Hydrochinon wurde durchgeführt, um die Hepatotoxizität zu adressieren, die durch den Chinonring hervorgerufen wird. Das Hydrochinon wird *in vitro* und *in vivo* durch eine Oxidoreduktase in das Chinon überführt.<sup>300</sup>

## Resorcin-Hsp90i

Parallel zu den Ansamycin Hsp90i wurden Inhibitoren ausgehend von dem Naturstoff Radicicol entwickelt. Die antiproliferativen Eigenschaften des Makrolactons konnten *in vitro* gezeigt werden. Allerdings weist Radicicol eine geringe Plasmastabilität<sup>i</sup> auf und kam daher nicht als Kandidat für die klinische Entwicklung in Frage.<sup>77</sup> Die Cokristallstruktur mit der NTD von Hsp90 zeigt, dass der Naturstoff eine ähnliche Konformation annimmt wie in der ungebundenen Form. Dabei bildet die Hydroxylgruppe in der 3-Position die einzige direkte Wasserstoffbrücke zu Asp79 aus. Die beiden anderen polaren Interaktionen werden indirekt durch Wassermoleküle in der Bindetasche vermittelt. Die Hydroxylgruppe in 3-Position und die Carbonylgruppe im Makrocyclus chelatisieren ein Wassermolekül. Dieses bildet Wasserstoffbrücken zu Thr171, Gly83 und Asp79 aus. Die Hydroxylgruppe in 5-Position bildet eine weitere, Wasser-medierte, Interaktion zum Carbonyl-Sauerstoff von Leu32 aus. Der Chlor-Substituent bildet eine VAN-DER-WAALS-Interaktion zur Seitenkette von Phe124. Die Wasserstoffbrücke zwischen dem Epoxid-Sauerstoff und Lys44 stellte sich als nicht essenziell heraus. Dies konnte mittels der Synthese des Cyclopropyl-Analogons durch LEJ *et al.* gezeigt werden.<sup>83</sup> In Summe imitiert der substituierte Resorcinol Ring die Interaktionen von Adenin in, an Hsp90 gebundenem ADP.<sup>84</sup> Basierend auf diesen Vorarbeiten wurden die stabileren Resorcin-Analoga Onalespib, Luminespib, KW-2478 und Ganetespib entwickelt (Abbildung 8). Alle Inhibitoren teilen das Resorcinol Strukturmotiv und tragen anstelle des Chlor-Substituenten einen *iso*-Propyl- oder Ethyl-Rest zur besseren Adressierung der flexiblen hydrophoben Tasche, die von Leu107 und Phe124 gebildet wird. Der Resorcinol-Rest wurde zur Adressierung der Adenin-Bindestelle beibehalten.



**Abbildung 8:** Resorcin-basierte Hsp90i der NTD.

Im Fall von Luminespib und Onalespib wurde ein Morpholin bzw. *N*-Methylpiperazin<sup>j</sup>-Rest eingeführt. Dieser befindet sich in der Cokristallstruktur am Eingang der Bindetasche und

<sup>i</sup> Grund dafür ist die labile Epoxidgruppe sowie die  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -ungesättigte Carbonylgruppe des makrocyclischen Lactons.

<sup>j</sup> Für den Morpholin-Rest wurde eine 10-fache Verringerung der *in vitro* Aktivität beobachtet.<sup>86</sup>

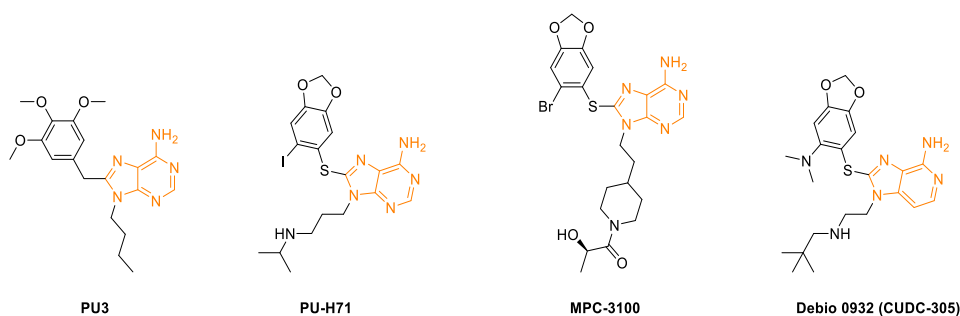
## EINLEITUNG

verbessert die Wasserlöslichkeit.<sup>85,86</sup> Onalespib wurde von Astex Pharmaceuticals entwickelt. Dabei wurde in einem Fragment-basierten Ansatz, gestützt durch NMR und Cokristallanalysen, ein Isoindolin Fragment als *Hit* identifiziert. Dieses wurde mittels SAR-basierter Optimierung zu Onalespib weiterentwickelt.<sup>86</sup> Der Inhibitor wurde in 13 klinischen Studien, darunter gegen NSCLC (*non-small-cell lung carcinoma*), GIST (*gastrointestinal stromal tumor*) und Prostatakrebs, evaluiert.<sup>87,88,89</sup> Das Isoxazol Luminespib wurde durch Optimierung des Pyrazols CCT018159 durch Vernalis Research, Novartis und das ICR (*Institute of Cancer Research*) gewonnen. Die phenolischen Hydroxylgruppen und der Stickstoff des Pyrazolrings bilden Wasserstoffbrücken zu Asp79, Gly83 in der Cokristallstruktur aus. Das Ersetzen der Methylgruppe in 5-Position durch eine Amidgruppe ermöglichte die Bildung einer Wasserstoffbrücke zum Carbonyl-Sauerstoff von Gly97 und erhöht die Aktivität gegenüber Hsp90. Die Substitution des Pyrazols durch Isoxazol verbesserte die Inhibition der Zellproliferation, ohne dabei an Aktivität gegenüber Hsp90 zu verlieren.<sup>90</sup> Die Verbindung wurde bisher in 28 klinischen Studien gegen verschiedenen Krebsindikationen evaluiert.<sup>91</sup> Das Triazolon Ganetespib wurde von Synthra Pharmaceuticals entwickelt. Cokristalluntersuchungen zeigten drei essenziellen Wasserstoffbrücken zwischen dem Inhibitor und der ATP-Bindestelle von Hsp90. Eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Resorcinol und Asp93, eine zwischen dem  $N^2$  des Triazolons und Thr184 sowie zwischen dem Carbonylsauerstoff des Triazolons und Lys58. Mittlerweile wurde der Inhibitor in 38 klinischen Studien, als Mono- sowie als Kombinationstherapie, evaluiert. Darunter auch in drei Studien gegen AML und CML. Jedoch wurde keiner der beschriebenen Inhibitoren bisher zugelassen.<sup>92,93,94</sup>

### **Purin- und purinartige Hsp90i**

In Abgrenzung zu den beiden vorhergegangenen Klassen, basiert die Entwicklung von Purin- und purinartigen Hsp90i auf der gebogenen Bindungskonformation von ADP und ATP im Hsp90-Komplex. Die Struktur motive der Inhibitoren dieser Klasse sind sehr ähnlich: Ein Purin-Ring, der durch einen *Linker* in Position 8 mit einem Phenyl-Substituenten verbunden ist und ein Alkyl- oder Aminoalkyl-Substituent in Position 9. Dabei imitiert das Purin in PU3 die Interaktionen der Adenin-Region, während der Trimethoxybenzyl-Substituent die Bindestelle des Phosphats adressiert. In den Cokristallstrukturen beobachtet man eine konformative Reorganisation der Phosphat-Bindestelle. Dadurch fällt der Benzyl-Substituent in eine hydrophobe Tasche zwischen Phe138 und Leu107 und bildet weitere hydrophobe Interaktionen zu Met98 und Leu103. Der Alkyl-Substituent am N-9-Stickstoff ist an derselben Stelle wie die Ribose von ADP lokalisiert. Diese Position ist durch die Reorganisation und die Annäherung von Leu107 sterisch gehindert.<sup>95</sup>

## EINLEITUNG



**Abbildung 9:** Ausgewählte Purin- und purinartige Hsp90i.

Die Aktivität gegenüber Hsp90 wurde durch Abwandlung des Phenyl-Substituenten verbessert. Die Pharmakokinetik wurde durch Variation des Substituenten in Position 9 optimiert. Es wurde festgestellt, dass das 4,5-Benzodioxol-Motiv mit einem Halo- oder Dimethylamino-Substituenten zur größten Verbesserung der Aktivität führt. Die Orientierung der 9-Position zum Taschenausgang und damit zum Solvens wurde genutzt, um durch Einfügen von linearen und cyclischen Aminen die Wasserlöslichkeit zu verbessern, ohne dabei Aktivität durch die sterischen Interaktionen mit Leu107 einzubüßen. Zusätzlich wurde festgestellt, dass man den Purin-Stickstoff in 3-Position durch ein Kohlenstoffatom ersetzen kann ohne Aktivität gegenüber Hsp90 zu verlieren. Aus diesen Beobachtungen gingen die Inhibitoren PU-H71, MPC-3100 und Debio 0932 hervor (Abbildung 9).<sup>96,97,98</sup> Inhibitoren dieser Klasse weisen eine geringere Toxizität und ein verbessertes pharmakokinetisches Profil im Vergleich zu den Ansamycin Hsp90i auf.<sup>99</sup> Insgesamt wurden diese drei Inhibitoren in zehn klinischen Studien evaluiert, darunter gegen metastasierenden Brustkrebs und NSCLC.<sup>100,101</sup>

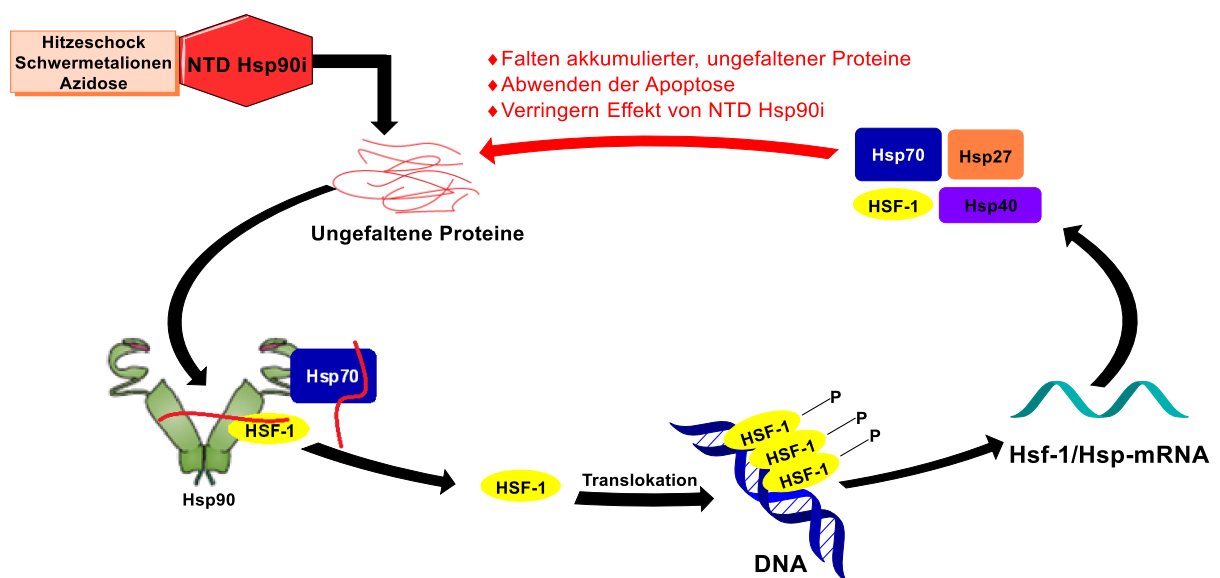
Trotz der Erfolge bei klinischen Untersuchungen von N-terminalen Inhibitoren<sup>k</sup> wurde bisher kein Hsp90i von Arzneimittelagenturen zugelassen. Nebenwirkungen wie Herzrhythmusstörungen, okuläre Toxizität und Hepatotoxizität traten vermehrt auf. Des Weiteren führte die schlechte Wasserlöslichkeit zu ungenügender Bioverfügbarkeit und erschwerte die Wirkstoffformulierung.<sup>75,77</sup> Darüber hinaus kam es zur Einleitung der HSR (*heat shock response*), einem *pro survival* Mechanismus, der zur Unterbindung von apoptotischen Prozessen führt und mit einer Verringerung des Behandlungserfolgs assoziiert ist.<sup>102,103</sup>

<sup>k</sup> Eine weitere Klasse N-terminaler Inhibitoren stellen die Benzamid-Hsp90i dar. Dazu gehören XL888, SNS-5422 und TAS-116.

<sup>l</sup> Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit wurde DMSO für die klinische Formulierung von 17-AAG verwendet.<sup>77,301</sup>

### Heat shock response

Der Transkriptionsfaktor HSF1 (*heat shock factor 1*) ist an der Initiation von Zellschutzmechanismen, im Fall einer abrupten Änderung der Umgebungsparameter, beteiligt. Er wird durch Faktoren aktiviert, die zu einer Störung des Proteingleichgewichts in der Zelle führen. Dazu gehören Umweltfaktoren (oxidativer Stress, Präsenz von Schwermetallen, Azidose und Hitze) sowie pathophysiologische Faktoren (Fieber, Onkogenese und Proteasom-Inhibitoren).<sup>104</sup> Man geht davon aus, dass HSF1 in einem Komplex mit Hsp90 vorliegt. Dabei kann der Transkriptionsfaktor entweder durch das Binden von N-terminalen Hsp90i oder durch die Akkumulation von ungefalteten Klientproteinen freigesetzt werden.<sup>105,106</sup> Der Faktor wird phosphoryliert und bildet Trimere. Durch einen Translokationsvorgang wird das Trimer in den Nucleus überführt, wo es zur Transkription von HSF1-, Hsp27-, Hsp40- und Hsp70-mRNA führt. Dadurch kommt es zur Überexpression der entsprechenden Hitzeschockproteine, die eine Aggregation der ungefalteten und fehlgefalteten Proteine verhindern, die Zellen bei dem Proteinabbau unterstützen und die Apoptose verhindern (Abbildung 10).<sup>107,108</sup> Die Überexpression der Hitzeschockproteine Hsp70 und Hsp27 ist mit einer Verschlechterung der Prognose bei der Behandlung von Krebspatienten assoziiert und ist ein Grund für das bisherige Scheitern der Hsp90-Inhibitoren in klinischen Studien.<sup>109</sup> Ein Ansatz der verfolgt wird, um diesen Nachteil zu adressieren, ist die Kombinationstherapie aus N-terminalen Hsp90i mit Kinase- oder Proteasom-Inhibitoren.<sup>110</sup> Der zweite Ansatz verfolgt die Entwicklung neuer Inhibitoren, die keinen HSR auslösen. Dazu zählen Inhibitoren der Interaktionen von Hsp90 mit seinen Cochaperonen und Klientproteinen sowie Inhibitoren der CTD von Hsp90.<sup>67,111</sup>



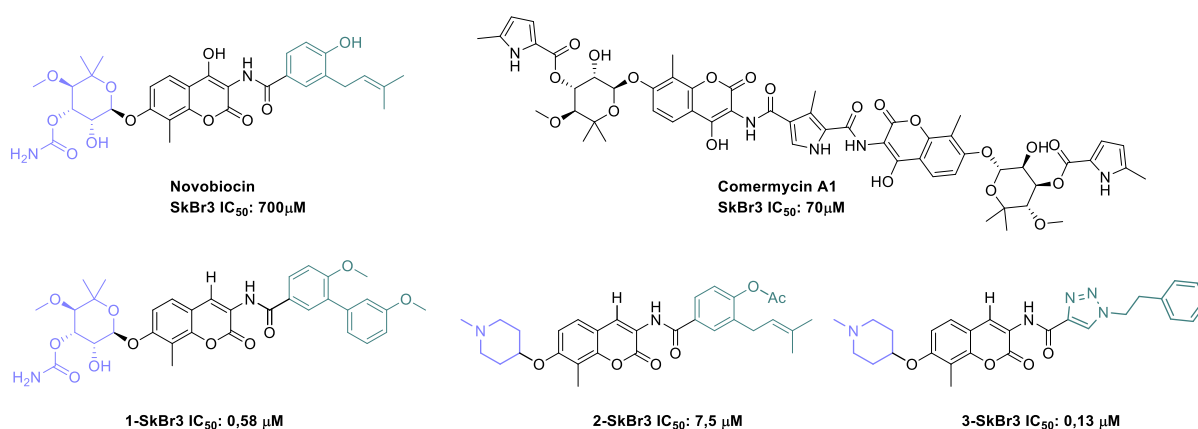
**Abbildung 10:** Schematische Darstellung des HSR (modifiziert nach SCHOPF *et al.*<sup>58</sup>).

## CTD Hsp90i

C-terminale Hsp90i stellen eine vielversprechende Alternative zu N-terminalen Hsp90i dar und haben in Abgrenzung zu N-terminalen Inhibitoren mehrere Wirkmechanismen: Sie sind in der Lage die Dimerisierung von Hsp90 zu inhibieren, die Assoziation von Hsp90 mit Cochaperonen zu unterbinden sowie die C-terminale ATP Bindestelle zu adressieren. Besonders hervorzuheben ist, dass bei C-terminalen Inhibitoren eine Inhibition von Hsp90 ohne Induktion des HSR gezeigt werden konnte.<sup>112,113,114,115</sup> C-terminale Hsp90i stellen damit einen Ansatz dar, um den negativen Auswirkungen auf den Behandlungserfolg durch den *pro survival* Mechanismus entgegenzuwirken.

## Aminocoumarine

Die Aminocoumarin-Antibiotika Coumermycin A1, Novobiocin und Chlorobiocin wurden im Jahr 2000 von NECKERS *et al.* als die ersten C-terminalen Hsp90i beschrieben. Darüber hinaus beobachteten sie den Abbau der Hsp90-Klientproteine HER2, Raf-1 und mutiertem p53.<sup>116</sup> Später zeigten sie, dass Novobiocin die Assoziation von Hsp90 mit den Cochaperonen Hsp70 und p23 modulieren kann und wahrscheinlich in der Nähe der C-terminalen ATP-Tasche bindet.<sup>117</sup> Ferner konnte gezeigt werden, dass diese Inhibitoren, im Gegensatz zu NTD Inhibitoren wie 17-AAG, nicht die HSR auslösen.<sup>112</sup>



**Abbildung 11:** Coumermycin A1, Novobiocin und drei *Novologues* mit ihren jeweiligen Aktivitäten gegenüber der Brustkrebszelllinie SkBr3.

Obwohl bisher keine Cokristallstrukturen von C-terminalen Inhibitoren mit Hsp90 vorliegen, wurden SAR-Untersuchungen mit Novobiocin durchgeführt. Dabei werden die Aktivität gegenüber Krebszelllinien, der Abbau von Hsp90-Klientproteinen und das Ausbleiben des HSR als Optimierungsparameter verwendet. Die Substitution des Noviose-Zuckers durch einen *N*-Methylpiperidin-Rest erhöht nicht nur die Aktivität gegenüber der Krebszelllinie, sondern vereinfacht auch die Syntheseroute im Fall von **2** (Abbildung 11). Die Substitution des prenylierten Phenyl-Restes durch einen Biaryl-Rest,

im Fall von **1**, verbessert die *in vitro* Aktivität ebenfalls. ZHAO *et al.* stellten das Triazol-substituierte Derivat **3** her, das eine höhere Aktivität gegenüber der SkBr3-Zelllinie aufweist. Der Inhibitor **3** führt zum Abbau der Hsp90-Klientproteine Her2, Akt und Raf-1. Gleichzeitig führen sie nicht zur erhöhten Expression von Hsp27 und Hsp70 und damit nicht zur HSR.<sup>113,114</sup>

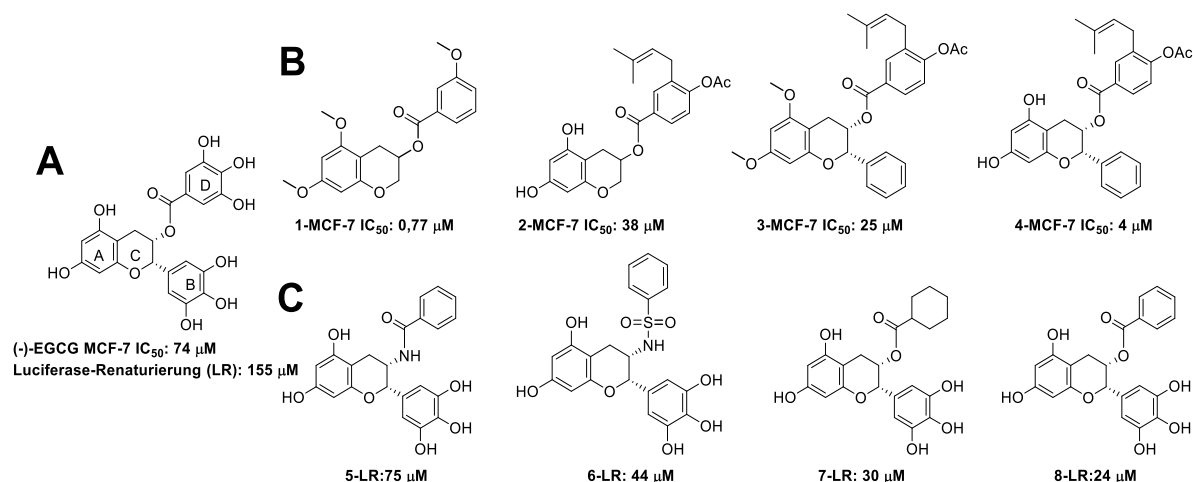
## **(-)-Epigallocatechingallat**

Der Gallussäureester (-)-EGCG kommt in grünem Tee vor und ist für seine antimikrobiellen, antioxidativen, und neuroprotektiven Eigenschaften bekannt.<sup>118</sup> Der Naturstoff führt zum Abbau der Hsp90-Klientproteine Akt, Cdk4, Raf-1, Her-2, und pERK (*protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase*).<sup>119</sup> YIN *et al.* zeigten mittels eines ATP-Agarose *Pull-Down*-Assays, dass (-)-EGCG in der Nähe der C-terminalen ATP-Tasche bindet und die Faltung von Hsp90-Klientproteinen in einem Luciferase-Renaturierungs-Assay inhibiert. Im Gegensatz zu Novobiocin, stabilisierte (-)-EGCG die Assoziation von Hsp90 mit den Cochaperonen Hsp70, Cyp40 und XAP-2.<sup>120</sup> Die schnelle Metabolisierung, schlechte Bioverfügbarkeit sowie schwache Aktivität gegenüber Krebszellen machen (-)-EGCG zu einem ungeeigneten Kandidat für die klinische Entwicklung.<sup>121</sup> Die schwache antiproliferative Aktivität von (-)-EGCG wurde in mehreren SAR-Studien verbessert.<sup>122,123,124</sup> KHANDELWAL *et al.* stellten die (-)-EGCG-Analoga **1-4** mit verbesserter antiproliferativer Aktivität gegen die Zelllinie MCF-7 her (Abbildung 12). Dabei stellten sie fest, dass die Substitution des Gallussäure-Rings D durch einen prenylierten Phenyl-Rest die Aktivität<sup>m</sup> erhöht und im Fall der Verbindungen **2-4** zum Abbau der Hsp90-Klientproteine Her2, Raf und pAkt führt. Obwohl **1** die höchste Aktivität zeigte, führte der Inhibitor nicht zum Abbau von Hsp90-Klientproteinen.<sup>122</sup> BHAT *et al.* stellten Amid- und Sulfonamid-Analoga **5** und **6** von (-)-EGCG her, die eine verbesserte Inhibition der Hsp90 Aktivität im Luciferase-Renaturierungs-Assay zeigten. Die Substitution von Ring D durch Phenyl- und Cyclohexyl-Reste führte zu den Derivaten **7** und **8** mit der besten Aktivität im Luciferase-Renaturierungs-Assay. Die antiproliferativen Eigenschaften und der Einfluss auf die Expression von Hsp90-Klientproteinen wurde nicht offengelegt.<sup>124</sup>

---

<sup>m</sup> Sie führten dabei gezielt Biaryl- und prenylierte Phenyl-Substitutionen am EGCG-Gerüst ein. Diese zeigten bereits im Fall der Novobiocin SAR-Studien eine Aktivitätssteigerung.<sup>122</sup>

## EINLEITUNG



**Abbildung 12:** Struktur von (-)-EGCG (A), (-)-EGCG -Analoga mit den Entsprechenden  $IC_{50}$ -Werten gegen die Brustkrebszelllinie MCF-7-nach KHANDELWAL *et al.* (B) und (-)-EGCG-Analoga mit entsprechenden  $IC_{50}$ -Werten im Luciferase-Renaturierungs-Assay (LR)-nach BHAT *et al.* (C).

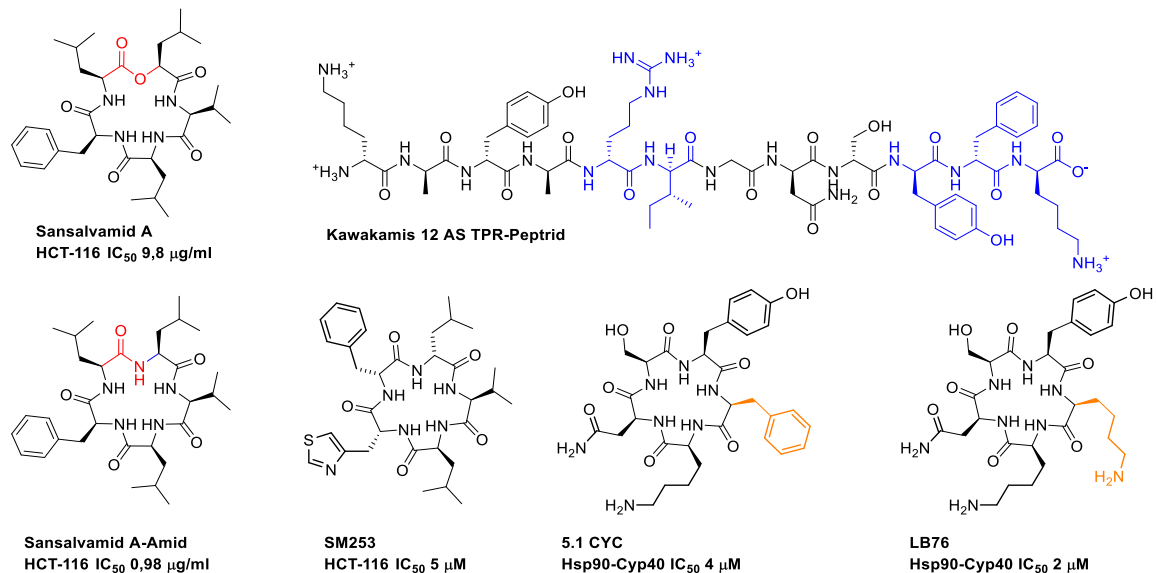
### Sansalvamid A-Amide

Hsp90 interagiert mit einer Reihe von Cochaperonen über das C-terminale MEEVD-Motiv. Cochaperone wie HOP und CHIP weisen eine TPR-Domäne auf, die aus sieben antiparallel angeordneten  $\alpha$ -Helices besteht und über Protein-Protein-Interaktionen mit der MEEVD-Sequenz wechselwirkt.<sup>125,126</sup> SCHEUFLER *et al.* deuteten auf die Möglichkeit hin, die Interaktion zwischen Hsp90 und TPR-Cochaperonen zu Inhibieren, um den Abbau von Hsp90-Klientproteinen herbeizuführen.<sup>126</sup> BLUNDELL *et al.* zeigten in einer Cokristallstruktur zwischen der TPR-Domäne von Immunophilin FKBP8 und dem DTEMEEVD-Peptid die wichtigsten Interaktionen auf. Dabei bilden die zwei Carbonsäuregruppen von Asp709 (*dicarboxylat clamp*) der MEEVD-Sequenz vier direkte Wasserstoffbrücken und fünf Wasser-medierte Wasserstoffbrücken. Die Seitenkette von Glu706 formt eine Salzbrücke mit Lys314 der TPR-Domäne, während die Seitenkette von Met705 in eine hydrophobe Tasche, die durch Ile342, Thr341 und Phe310 gebildet wird, fällt. Durch Mutation von Lys307 zu Glutamat zeigten sie, dass keine Interaktion zwischen der CTD von Hsp90 und der TPR-Domäne mehr stattfand. Damit verdeutlichten sie und andere, die Notwendigkeit des ausgedehnten Wasserstoffbrücken-Netzwerks für die MEEVD-TPR-Interaktion.<sup>125,127,126</sup> BELOFSKY *et al.* isolierten das Depsipeptid<sup>n</sup> Sansalvamid A (San A) aus einem Pilz der Gattung *Fusarium* und beschrieben seine antiproliferative Aktivität gegen die Darmkrebszelllinie HCT-29.<sup>128</sup> GU *et al.* synthetisierten das stabilere Sansalvamid A-Amid (San A-Amid) *via* Festphasensynthese. Das Cyclopeptid zeigte eine 10-mal verbesserte Aktivität gegen die Zelllinie HCT-116 verglichen zu San A.<sup>129</sup> Mittels *Pull-Down*-Assay wurde gezeigt, dass San A-Amid an die

<sup>n</sup> Das acyclische Produkt der Esterhydrolyse zeigte keine *in vitro* Aktivität gegen die Zelllinien.

## EINLEITUNG

NTD und MD von Hsp90 bindet, aber nicht an die CTD. Gleichzeitig inhibiert es die Interaktion zwischen dem TPR-Cochaperons FKBP52 und Hsp90. Dabei nimmt es keinen Einfluss auf die ATP-Hydrolyse durch Hsp90, oder die Assoziation der NTD mit Her2. Daraus folgerten VASKO *et al.*, dass San A-Amid ein allosterischer Inhibitor der Hsp90-FKPB52-Interaktion ist.<sup>130</sup>



**Abbildung 13:** Übersicht der Sansalvamide A-Amide. San A<sup>128</sup>, San A-Amid<sup>129</sup> und SM253<sup>131</sup> mit entsprechenden IC<sub>50</sub> Aktivitäten gegen die HCT-116-Zelllinie, 5.1 CYC<sup>132</sup> und LB76<sup>133,134</sup> mit dem IC<sub>50</sub> für die Inhibition der Hsp90-Cyp40 Interaktion und Kawakamis TPR-Peptid<sup>135</sup> nach HORIBE *et al.* Dabei sind die AS blau dargestellt, die für die Aktivität essenziell sind.

San A-Amid führt allerdings zur Überexpression von Hsp70, was mit dem HSR und der Inhibition durch NTD-Hsp90i assoziiert ist. Später stellten KOAY *et al.* unter anderem das San A-Amid-Analogon SM253 vor, welches keine HSR auslöst.<sup>131</sup> HORIBE *et al.* synthetisierten ein Peptid, das die Interaktion zwischen Hsp90 und dem C-terminalen Cochaperon HOP inhibiert. Das Peptid<sup>o</sup> imitiert dabei die Interaktionen des TPR-Motivs mit der MEEVD-Sequenz von Hsp90 und inhibiert dadurch die Interaktionen mit den Cochaperonen. Das TPR-Peptid zeigt sowohl *in vitro* Aktivität gegen mehrere Krebszelllinien, als auch *in vivo* Aktivität in einem Xenograft-Modell von Bauchspeicheldrüsenkrebs.<sup>135</sup> Basierend auf der Sequenz des TPR-Peptids, synthetisieren BUCKTON *et al.* San A-Amid-Analoga, die in der Lage sind die Interaktion zwischen der MEEVD-Sequenz und Cyp40 zu inhibieren.<sup>132</sup> Später stellten RAHIMI *et al.* das 5.1 CYC-Analogon LB76 her, welches anstelle eines Phenylalanins ein Lysin in der Cyclopeptid-Sequenz aufweist. Diese bindet im *Pull-Down*-Assay das vollständige Hsp90

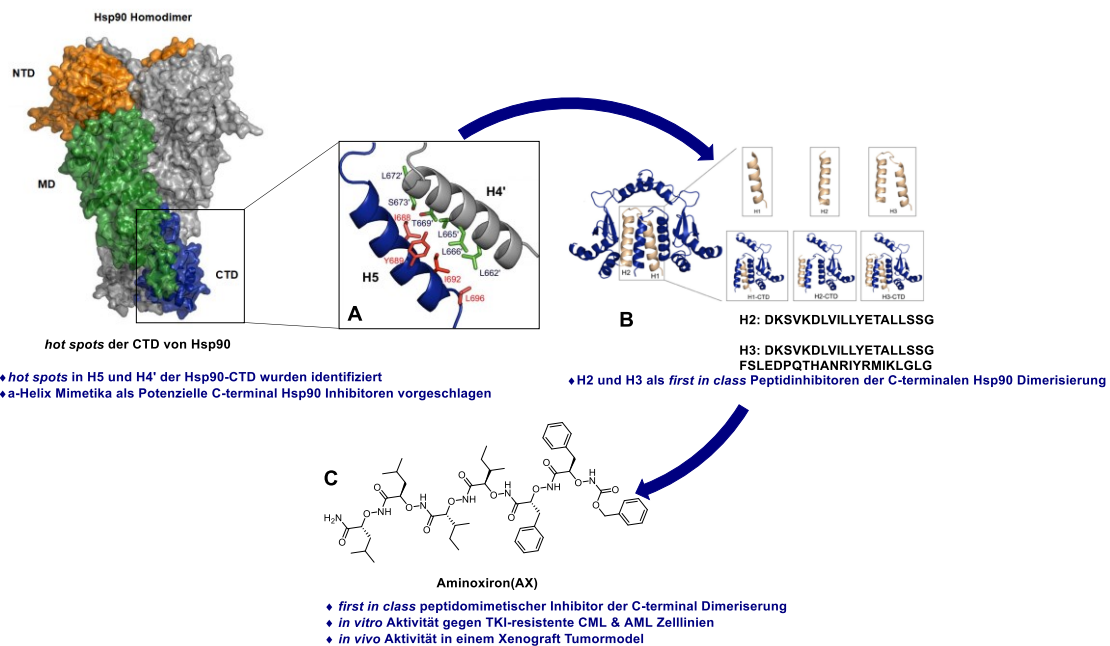
<sup>o</sup> Das Peptid selbst weist eine schlechte Zellpermeabilität auf, weshalb es mit dem 16 AS langen Antp gekoppelt wurde, um Endozytose zu ermöglichen.<sup>135</sup>

sowie die Hsp90 CTD und inhibiert die Interaktionen zwischen Hsp90 und HOP sowie Cyp40 (Abbildung 13). Der Einfluss dieser Cyclopeptide auf die Expression von Proteinen die mit dem HSR assoziiert sind wurde nicht offengelegt.<sup>134,133</sup>

## Aminoxypeptide

Die C-terminale Dimerisierung von Hsp90 ist essenziell für dessen Aktivität als Chaperon. Initiale Strukturuntersuchungen deuteten darauf hin, dass die C-terminale Domäne permanent dimerisiert vorliegt.<sup>136</sup> RATZKE *et al.* konnten mittels smFRET Experimenten ein dynamisches Öffnen und Schließen der CTD von Hsp90 aufzeigen. Die Dimerisierung von Hsp90 kann dabei entweder über die NTD oder die CTD erfolgen. Welche Proteinkonformation überwiegend vorliegt ist davon abhängig, ob ATP an der NTD gebunden ist.<sup>137</sup> Dieser Befund deutet auf die Möglichkeit hin die C-terminale Dimerisierungsdomäne mit Inhibitoren zu adressieren, um die Dimerisierung von Hsp90 zu modulieren. CIGLIA aus der Arbeitsgruppe GOHLKE identifizierte die *hot spot* Aminosäuren Ile688, Tyr689, Ile692 und Leu696 auf der Innenseite von H5 in der Interaktionsschnittstelle der CTD von Hsp90. Die Protein-Protein-Interaktionen zwischen diesen Aminosäureseitenketten sind essenziell für die Dimerisierung von Hsp90, welches mittels *in silico* Alaninscan und MLS (*multiangle light scattering*) unter Verwendung der mutierten CTD-Sequenzen gezeigt werden konnte.<sup>138</sup> Peptide basierend auf der Sequenz von Helix H4' und H5 binden an die CTD von Hsp90 mit einer Affinität im mikromolaren Bereich. Darüber hinaus wurde mittels *Autodisplay*-Assay gezeigt, dass die Peptide die Interaktion von FITC-markiertem p53 mit Hsp90 *in vitro* inhibieren. BOPP *et al.* folgerten, dass die Inhibition aufgrund der Sequenzähnlichkeit der Peptide zur CTD von Hsp90 durch eine Inhibition der C-terminalen Dimerisierung zustande kommt.<sup>139</sup> Die konformative Flexibilität, Proteolyselabilität, mangelnde Zellmembranpermeabilität und rasche Metabolisierung schränken den Einsatz von Peptiden als Arzneistoffe jedoch ein.<sup>140</sup>  $\alpha$ -Aminoxypeptide stellen einen Vertreter peptidomimetischer Foldamere dar, weisen eine hohe Proteolysestabilität auf und nehmen stabile, helikale Konformationen an. DIEDRICH *et al.* zeigten erstmals mittels Kristallstrukturuntersuchungen und 2D-ROESY-Experimenten das Vorliegen einer  $2_8$ -Helix für die  $\alpha$ -Aminoxypeptide. Die Sekundärstruktur wird dabei durch achtgliedrige intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung, sogenannte  $\alpha$ -NO-Turns, stabilisiert.<sup>141</sup> Mit diesem Wissen wurden Aminoxylon (AX) von DIEDRICH aus der KURZ Arbeitsgruppe synthetisiert.

## EINLEITUNG

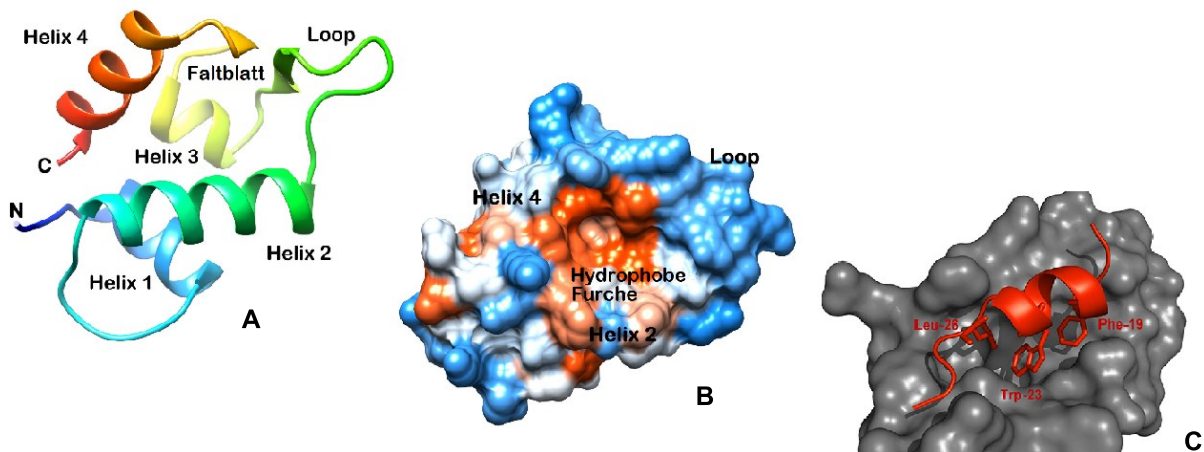


**Abbildung 14:** Entwicklung von Aminoxiron (AX). Identifizierung der *hot spot* AS-Seitenketten in der CTD von Hsp90<sup>138</sup> (A). *First in class* Peptid-Inhibitoren der C-terminalen Dimerisierung<sup>139</sup> (B). Struktur von AX: der *first in class* peptidomimetische Inhibitor der C-terminalen Dimerisierung von Hsp90<sup>115</sup> (C).

AX ist durch seine Konformation und Seitenkettenfunktionalisierung in der Lage *hot spot* Aminosäureseitenketten auf Helix 5 nachzuahmen und so die C-terminale Dimerisierung von Hsp90 zu inhibieren. Mittels MST-Assay zeigten Mitarbeiter der JOSE Arbeitsgruppe, dass AX an die CTD von Hsp90 bindet. Ferner inhibiert AX *in vitro* die Renaturierung von Luciferase durch Hsp90. Es wurde sowohl *in vivo*, als auch *in vitro* keine erhöhte Expression der HSR assoziierte Proteine Hsp70, Hsp40 und Hsp27 beobachtet. Die Verbindung zeigte antiproliferative *in vitro* Aktivität gegen mehrere ALL und BCR-ABL-positive CML-Zelllinien im mikromolaren Bereich. Die *in vivo* Aktivität wurde in einem Luciferase-Xenograft-Mausmodell bestätigt (Abbildung 14). Zellproben aus Xenograft-Modellen wiesen eine Abnahme der BCR-ABL-Konzentration nach Behandlung mit AX auf. Zusammengefasst wurde damit gezeigt, dass durch eine *in silico* gestützte Identifizierung von *hot spots* ein *de novo* Design von Peptidomimetika zur Inhibition der C-terminalen Dimerisierung möglich ist und einen neuen vielversprechenden Ansatz für die Modulation von Hsp90 darstellt.<sup>115</sup> Die lange Syntheseroute sowie die Aufreinigung mittels präparativer HPLC erschweren den Zugang zu größeren Mengen von Verbindungen dieses Typs. Die Wasserlöslichkeit und damit assoziierte orale Bioverfügbarkeit ist zudem, durch die Lipophilie und das hohe Molekulargewicht (AX: 994 g/mol; cLogP 8,69) dieser Peptidomimetika, eingeschränkt.<sup>142,143</sup>

## Protein-Protein-Interaktionen

Nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen Proteinen werden als Protein-Protein-Interaktionen (PPI) bezeichnet. Solche Interaktionen sind an zahlreichen Stoffwechselprozessen wie Signaltransduktion, Zelldifferenzierung und Apoptose beteiligt.<sup>144</sup> VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen, Wasserstoff- und Salzbrücken sowie Wassermoleküle vermitteln dabei diese Interaktionen.<sup>145</sup> Biochemische Stoffwechselwege werden maßgeblich durch PPI moduliert. Dabei zeichnet sich das menschliche Interaktom durch etwa 650000 solcher Protein-Protein-Interaktionen aus.<sup>146</sup> In Abgrenzung zu typischen Kontaktflächen zwischen Liganden und der Bindetasche eines Proteins von 300-1000 Å<sup>2</sup> liegt die Kontaktfläche in PPI bei 1000-4000 Å<sup>2</sup>. Ferner sind die Kontaktflächen meistens flach und weisen kaum Bindetaschen auf.<sup>147,145</sup> Dabei ist die Bindungsenergie innerhalb der Kontaktfläche zwischen Proteinen diskontinuierlich verteilt. BOGAN *et al.* zeigten, dass bestimmte Aminosäureseitenketten *hot spots* ( $\Delta\Delta G_{\text{bind}} > 2$  kcal/mol) hinsichtlich des Beitrages zur Bindungsenergie darstellen. Sie liegen komplementär und in räumlicher Nähe zu *hot spots* des Partnerproteins vor.<sup>148</sup>



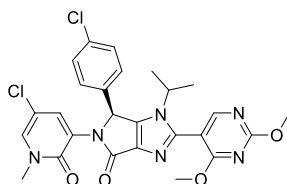
**Abbildung 15:** Bändermodell der E3 Ligase MDM2 (A; nach VERMA *et al.*<sup>149</sup>). Oberflächendarstellung von MDM2: Die Hydrophobe Furche wird durch Helix 2, Helix 4 und eine Loop-Region gebildet (B; nach VERMA *et al.*<sup>149</sup>). Die *hot spot* Triade von p53 (rot): Leu26, Trp23 und Phe19 binden in der hydrophoben Furche von MDM2 (C; grau; nach HUART *et al.*<sup>150</sup>).

Diese Regionen werden vom Solvenz durch Aminosäuren abgeschirmt, die einen geringen Beitrag zur Bindungsenergie leisten (*O-ring theory*). Dadurch wird die Dissoziationsrate herabgesetzt und ein gegenüber Wasser abgeschirmtes Milieu geschaffen, in dem sowohl hydrophobe Wechselwirkungen, als auch polare Wasserstoffbrücken Interaktionen zwischen den Proteinen möglich sind. Dabei treten Tryptophan, Tyrosin und Arginin häufiger in *hot spots* auf als andere Aminosäuren. Als Gründe für das Auftreten dieser Aminosäuren in *hot spot* Regionen, wurden die

## EINLEITUNG

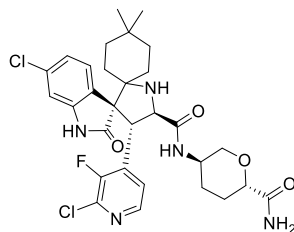
Eigenschaften unterschiedliche Interaktionen *via* hydrophober Oberflächenkontakte,  $\pi$ -Interaktionen und Wasserstoffbrücken auszubilden angeführt. Bei ihrer Analyse stellten sie auch fest, dass Isoleucin 10-mal häufiger in *hot spots* auftritt als das Isomer Leucin.<sup>151</sup> In einer weiteren Untersuchung fanden BROOK *et al.*, dass überwiegend hydrophobe und aromatische Aminosäuren wie Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan in *hot spot* Regionen auftreten.<sup>152</sup> *Hot spot* Aminosäuren treten in Sekundärstrukturen wie  $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Faltblättern und  $\beta$ -Schleifen auf.<sup>153</sup> Eine Analyse von Multiproteinkomplexen in der PDB zeigte, dass 62% eine  $\alpha$ -Helix im Protein-Interaktionsbereich aufweisen. Dabei befinden sich in 60% der Fälle die *hot spots* auf einer Seite der Helix.<sup>152</sup> Ein Beispiel stellt die PPI zwischen p53 und MDM2 dar: Das Tumorsuppressorprotein p53 verhindert die Proliferation maligner Krebszellen.<sup>154</sup> Durch seine Funktion als Transkriptionsfaktor reguliert es die Expression von Proteinen, die eine Rolle im Zellzyklusarrest, der Apoptose und der DNA-Reparatur einnehmen.<sup>155</sup> MDM2 reguliert p53 indem es die N-terminale Transaktivierungsdomäne von p53 okkludiert und den Abbau durch das Proteasom vermittelt.<sup>156,157</sup> Dabei wird eine hydrophobe Furche durch Helix2, Helix4 und die *loop* Region von MDM2 gebildet. Die *hot spot* Triade aus Leu26, Trp23 und Phe19 auf einer Seite der p53 Helix bindet in der hydrophoben Furche und ist für den Großteil der Bindungsenergie der Interaktion verantwortlich (Abbildung 15).<sup>158,159</sup> Die Adressierung dieser Interaktion mit Inhibitoren ist unter mehreren Gesichtspunkten interessant: MDM2 liegt in vielen Krebszellen überexprimiert vor.<sup>160</sup> Damit assoziiert ist eine Resistenzentwicklung gegenüber *cis*-Platin sowie TKI und eine einhergehende Verschlechterung des Behandlungserfolgs in klinischen Studien<sup>161,162</sup> Ferner wurde gezeigt, dass Krebszellen sensitiver gegenüber p53-induzierter Apoptose sind als gesundes Gewebe.<sup>154,159</sup> Kompetitive Inhibitoren der p53/MDM2-Interaktion erhöhen die Konzentration von freiem p53. Dadurch reaktivieren diese den p53-Signalweg und führen zu Zellzyklusarrest und Apoptose.<sup>163</sup> Bei der Entwicklung von Inhibitoren dieser Interaktion konzentrierte sich die Forschung in den vergangenen Jahren zunehmend auf Peptidomimetika. Daraus resultierten unter anderem mehrere mechanistische Peptidomimetika, die in klinischen Studien als Teil von Kombinationstherapien gegen verschiedene Krebsindikationen untersucht wurden (Abbildung 16).<sup>164,165</sup>

## EINLEITUNG



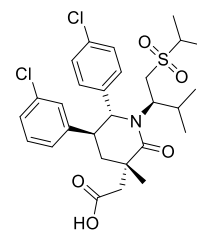
**Siremadlin (HDM201)**

Neuroblastoma (Phase I; NCT02780128)  
AML (Phase I; NCT03940352)



**Miladematan (DS-3032b)**

AML, ALL, CML (Phase I; NCT02319369)  
Multiples Myelom (Phase I; NCT02579824)



**AMG232**

AML (Phase I; NCT02016729)  
Multiples Myelom (Phase I; NCT01723020)

**Abbildung 16:** Ausgewählte mechanistische Peptidomimetika als Inhibitoren der p53/MDM2-Interaktion: Siremadlin, Miladematan und AMG232.<sup>165</sup>

### Peptidomimetika

Die Adressierung konkaver Bindetaschen von Proteinen mit Liganden, die als Substrat- oder Übergangszustand-Mimetika fungieren, stellt einen klassischen Ansatz in der Wirkstoffentwicklung dar.<sup>166</sup> Die große Oberfläche, der Mangel an Kavitäten und diskontinuierliche Kontaktbereiche innerhalb von PPI erschweren die Entwicklung niedermolekularer Liganden für solche Interaktionsepitope.<sup>167</sup> Strukturbasierte Ansätze für die Entwicklung von PPI-Inhibitoren stützen sich daher auf Peptide, die auf der Sequenz von Proteinkontaktflächen basieren. Dieser Ansatz hat jedoch einige Nachteile: Unterschiedliche Wasserstoffbrücken-vermittelte Anordnungen des Proteinerückgrats erzeugen stabile Sekundärstrukturen;  $\alpha$ -Helices und  $\beta$ -Faltblätter. Weitere Interaktionen zwischen den Seitenketten der Sekundärstruktur-Elementen *via* kovalenten Disulfidbrücken, Wasserstoff-Brückenbindungen, Salzbrücken und hydrophoben Kontakten führen zu übergeordneten Tertiärstrukturen in Proteinen.<sup>168</sup>

**Tabelle 1:** Klassifizierung von Peptidomimetika nach GROSSMANN *et al.*<sup>169</sup>

| Peptidomimetika                                                                                        |                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>Peptide</b>                                                                                         | peptidartig     |
| Natürliche Peptidsequenzen, die von Proteinen und (nicht)ribosomalen Peptiden stammen                  |                 |
| <b>Klasse A - modifizierte Peptide</b>                                                                 |                 |
| Peptide, die hauptsächlich aus α-Aminosäuren bestehen und nur wenige Modifikationen aufweisen          |                 |
| <b>Klasse B - modifizierte Peptide / Foldamere</b>                                                     | niedermolekular |
| Peptide mit vielen Rückgrat- und Seitenkettenmodifikationen, einschließlich Foldamere                  |                 |
| <b>Klasse C - Strukturmimetika</b>                                                                     |                 |
| Niedermolekulare Verbindungen, deren Substituenten in Analogie zu Peptidseitenketten ausgerichtet sind |                 |
| <b>Klasse D - mechanistische Mimetika</b>                                                              | niedermolekular |
| Niedermolekulare Verbindungen, die die Wirkungsweise eines biologisch aktiven Peptides imitieren       |                 |

Die konformative Flexibilität von Peptidsequenzen, die außerhalb der stabilisierenden Proteinumgebung vorliegen, erhöht die Proteolyseelabilität und führt zum Verlust der Affinität zu der Zielstruktur.<sup>170</sup> Zusätzlich schränkt die mangelhafte Membranpermeabilität sowie die begrenzte chemische Diversität kanonischer Aminosäurebausteine den Einsatz von Peptiden als Wirkstoffe ein.<sup>171</sup> Um den genannten Nachteilen entgegenzuwirken wurden verschiedene Peptidomimetika entwickelt. Peptidomimetika verfügen über ein rigidisiertes Rückgrat, das eine Projektion von funktionalisierten Resten in Anlehnung an Sekundärstrukturen erlaubt. Solche Mimetika ermöglichen dadurch die Modulation von PPI an denen Sekundärstrukturelemente beteiligt sind.<sup>172</sup> GROSSMANN *et al.* kategorisierten Peptidomimetika in vier Klassen (Tabelle 1): Die peptidartigen Klassen A und B weisen eine größere Ähnlichkeit zur natürlichen Peptidsequenz auf. In Abgrenzung dazu stehen die niedermolekularen Klassen C und D deren Strukturrückgrat die räumlich Anordnung von Substituenten in Analogie zu Sekundärstrukturen erlaubt.<sup>169</sup>

## **$\alpha$ -Helixmimetika**

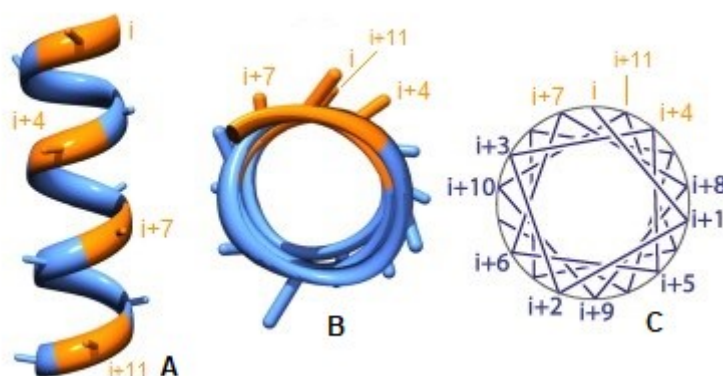
$\alpha$ -Helices weisen 3,6 Aminosäuren pro Windung auf.<sup>p</sup> Dabei wird die Helix durch Wasserstoffbrücken zwischen dem Carbonyl-Sauerstoff in *i*- und dem Amidproton in *i*+4-Position stabilisiert. Dadurch wird eine Ganghöhe von 5,6 Å zwischen Aminosäureseitenketten erreicht, wobei Seitenketten die in der Primärstruktur drei oder vier Positionen voneinander entfernt sind in der Helix untereinander positioniert sind und nach außen zeigen.<sup>173</sup> Auf diese Art werden drei distinkte Bindungsseiten für Protein-Protein-Kontakte erzeugt. Die Aminosäureseitenketten in *i*-, *i*+3/4-, *i*+7- und *i*+11-Position<sup>q</sup> liegen dabei auf einer Seite der Helix (Abbildung 17).<sup>167</sup> Aufgrund der erwähnten Bedeutung helikaler Strukturelemente für Protein-Protein-Interaktionen, rückte die Entwicklung von Mimetika, die solche Interaktionen inhibieren können, in den vergangenen Jahren zunehmend in den Fokus der Forschung. Daraus gingen kovalent verbrückte Peptide und Foldamere mit einer rigidisierten, helikalen Konformation hervor. Dafür kamen Disulfide, Triazole und Kohlenwasserstoffketten als Seitenketten verbrückende Elemente zum Einsatz.<sup>174,175,176</sup> Ein Austausch des Peptidgrundgerüsts durch ein rigides, niedermolekulares Strukturgerüst stellt einen alternativen Ansatz dar: Das Gerüst soll dabei möglichst genau die Interaktionsoberfläche einer  $\alpha$ -Helix nachahmen. Dabei lässt sich das Gerüst so funktionalisieren, dass *hot spot* Seitenketten

---

<sup>p</sup> Die Basiszahl gibt an wie viele Aminosäurereste an einer Windung beteiligt sind. Die tiefgestellte Zahl gibt die Anzahl der Atome des Rings an, der durch die Wasserstoffbrücke zwischen dem Carbonyl-Sauerstoff und dem N-H-Proton gebildet wird. 3,6<sub>13</sub>-Helices ( $\alpha$ -Helices) kommen am häufigsten in globulären Proteinen vor. 4,4<sub>16</sub>-Helices ( $\pi$ -Helices) und 3<sub>10</sub>-Helices treten seltener auf.<sup>173, 169</sup>

<sup>q</sup> LANNING *et al.* und LEE *et al.* beschreiben die Seitenketten in *i*, *i*+3, *i*+4 und *i*+7 auf einer Seite einer  $\alpha$ -Helix, während JAYATUNGA *et al.* die Seitenketten in der *i*, *i*+4 und *i*+7-Position auf einer Seite beschreiben.<sup>178,189,302</sup>

in mehreren Positionen imitiert werden.<sup>177, 178</sup> Ferner ist es möglich zwei oder drei Kontaktflächen einer  $\alpha$ -Helix mit solchen Strukturmimetika nachzuahmen, um eine Bandbreite unterschiedlicher PPI zu adressieren.<sup>178,167</sup>  $\alpha$ -Helixmimetika können eine bessere orale Bioverfügbarkeit und Pharmakokinetik im Vergleich zu Peptiden aufweisen. Da solche Verbindungen in vielen Fällen LIPINSKIS *Rule of Five*<sup>r</sup> (RO5) entsprechen, stellen sie attraktive Kandidaten für die Wirkstoffforschung dar.<sup>179,169</sup> Ein weiterer Vorteil von  $\alpha$ -Helixmimetika als Modulatoren von PPI ist ihr geringes Molekulargewicht im Vergleich zu Foldameren. Zusätzlich präsentieren etwa 60% aller Helix-mediierter PPI *hot spot* Seitenketten auf einer Seite der Helix.<sup>152</sup> Dadurch ist es möglich mit  $\alpha$ -Helixmimetika eine Vielzahl verschiedener PPI zu modulieren und dadurch Einfluss auf biologische Prozesse zu nehmen.  $\alpha$ -Helixmimetika lassen sich nach GROSSMANN *et al.* in drei Gerüsttypen unterteilen: sterisch gesteuerte, kovalent eingeschränkte und Wasserstoffbrücken-gesteuerte  $\alpha$ -Helixmimetika.<sup>169</sup> Im Folgenden werden ausgewählte Vertreter der jeweiligen Gerüsttypen vorgestellt.



**Abbildung 17:** Seitenkettenanordnung einer  $\alpha$ -Helix: Seitenansicht mit den Seitenketten  $i$ ,  $i+3$ ,  $i+4$ ,  $i+7$  und  $i+11$  auf einer Seite der Helix (A); Ansicht von oben (B); Helixrad-Plot (C).<sup>178</sup>

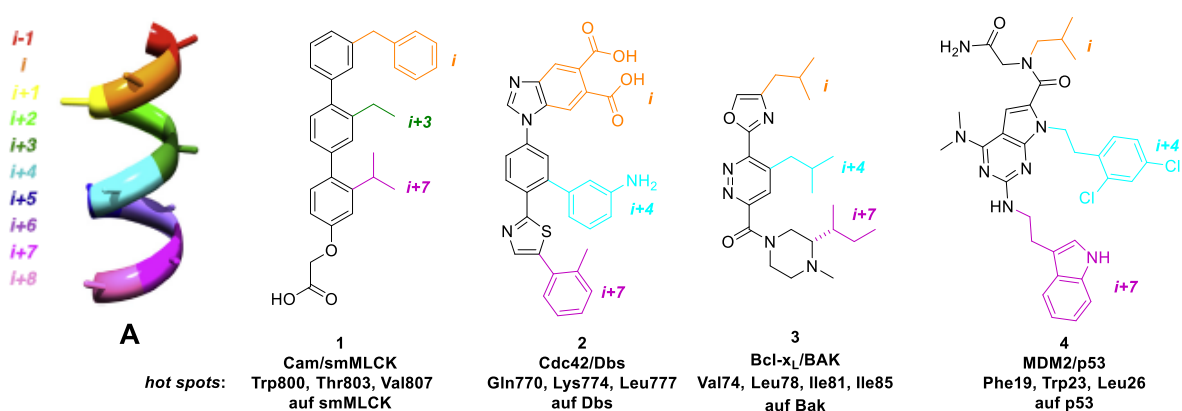
### Sterisch gesteuerte Helixmimetika

Sterische Wechselwirkungen der *ortho*-Substituenten führen zu einer Verdrehung der Ringe von Biarylen. ORNER *et al.* nutzten die gestaffelte Konformation des triubstituierten Terphenyl-Gerüsts aus, um die ersten  $\alpha$ -Helixmimetika herzustellen.<sup>167</sup> Dabei wurde das Terphenyl so funktionalisiert, dass es die *hot spot* Seitenketten von smMLCK (*smooth muscle myosin light-chain kinase*) imitiert, um die Interaktion mit Cam (Calmodulin) zu inhibieren. Mittels Affinitätschromatographie konnte gezeigt werden, dass Verbindung **1** an Cam bindet. In einem Assay wurde die Cam-abhängige Aktivierung von PDE

<sup>r</sup> LIPINSKIS *Rule of Five* ist eine empirische Regel, um abzuschätzen, ob ein Wirkstoff eine gute Permeabilität und orale Bioverfügbarkeit aufweist. Danach sollten Wirkstoffe ein Molekulargewicht unter 500 g/mol, weniger als fünf Wasserstoffbrücken-Donatoren, weniger als zehn Wasserstoffbrücken-Akzeptoren und einen  $\log P < 5$  aufweisen.<sup>179</sup>

## EINLEITUNG

(3',5'-Cyclonukleotid-Phosphodiesterase) beobachtet. Das Terphenyl-Derivat war in der Lage, die Aktivierung konzentrationsabhängig zu inhibieren ( $IC_{50}$ : 0,8  $\mu$ M). Eine signifikante Erhöhung des  $IC_{50}$  wurde für das Trimethyl-substituierte Terphenyl beobachtet ( $IC_{50} > 20$   $\mu$ M). Diese Beobachtung verdeutlicht die Relevanz der Seitenkettensubstitution für die Aktivität von Helixmimetika.<sup>177</sup> Um der schlechten Wasserlöslichkeit der Terphenyle entgegenzuwirken, wurden Phenylringe des Grundkörpers durch Heterocyclen ersetzt. Daraus resultierten amphiphile Verbindungen, bei denen eine Seite hydrophobe Seitenketten zur Adressierung der PPI aufweist. Die *wet edge* auf der Gegenseite weist Wasserstoffbrücken-Akzeptoren oder -Donatoren auf und verbessert dadurch die Löslichkeit (Abbildung 18).<sup>180</sup>



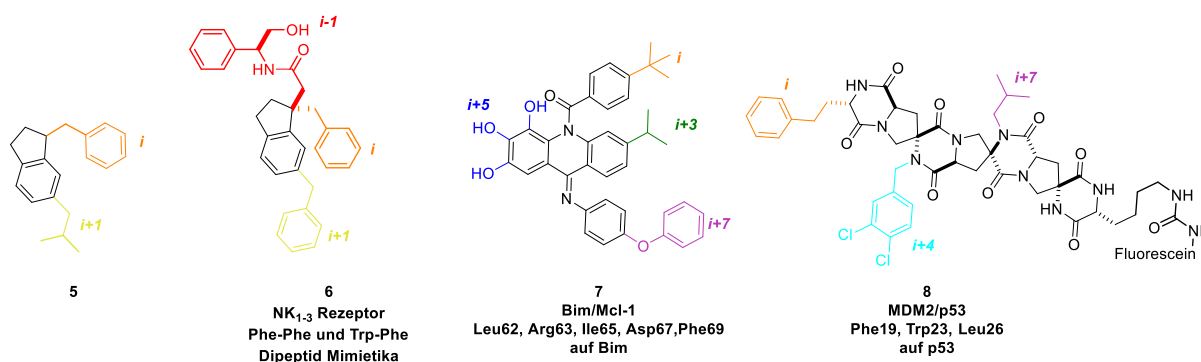
**Abbildung 18:** Ausgewählte Vertreter sterisch gesteuerter Helixmimetika: **1** Terphenyl-Gerüst; **2** 5-6-5-Imidazol-Phenyl-Thiazol; **3** Oxazol-Pyridazin-Piperazin; **4** Pyrrolopyrimidin;  $\alpha$ -Helix mit den Seitenkettenpositionen *i*-1 bis *i*+8 (A; nach JAYATUNGA *et al.*<sup>178</sup>).

Die GTPase Cdc42 (*cell division cycle 42*) ist an der Resistenzentwicklung in Krebszellen und in die Entwicklung von Diabetes und Herz-Kreislauf-erkrankungen involviert.<sup>181, 182</sup> Die Aktivität von Cdc42 wird dabei von Dbs (*Dbl's big sister*) reguliert. CUMMINGS *et al.* stellten Verbindung **2** her, um die größtenteils hydrophile Interaktion zwischen Cdc42 und Dbs zu adressieren. Der cLogP des Trimethyl-substituierten Derivats von **2** entspricht im Gegensatz zum Terphenyl-Derivat **1** den RO5 (clogP: 2,3 und 7,3). Die konzentrationsabhängige Inhibition der Cdc42/Dbs-Interaktion durch **2** konnte bestätigt werden.<sup>183</sup> Die Proteine Bak (*BCL2 Antagonist/Killer 1*) und Bcl-x<sub>L</sub> (*B-cell lymphoma extra-large*) sind an der Einleitung der Apoptose beteiligt und werden für die Entwicklung neuer Krebstherapien erforscht.<sup>184, 185</sup> Es konnte gezeigt werden, dass die Interaktionsdomäne von Bak (BH3) eine  $\alpha$ -helikale Konformation annimmt, wenn sie mit Bcl-x<sub>L</sub> interagiert.<sup>186</sup> BIROS *et al.* zeigten anhand eines Fluoreszenz-polarisation-Assays, dass **3** und seine Derivate an Bcl-x<sub>L</sub> binden. Allerdings demonstrierten Verbindungen, die einen basischen Piperazin-Rest aufweisen eine

geringere Affinität als neutrale Verbindungen. BIROS *et al.* folgerten, dass elektrostatische Abstoßungen zwischen den Inhibitoren und der hydrophoben Interaktionsfläche von Bcl-x<sub>L</sub> dafür verantwortlich sein könnten.<sup>180</sup> Die zuvor beschriebene p53/MDM2-Interaktion wurde mit **4** durch LEE *et al.* adressiert. Dabei imitierten die Seitenketten des Pyrrolopyrimidins die *hot spot* Seitenketten von p53 in *i*-, *i*+4- und *i*+7-Position. Die Verbindung inhibiert die p53/MDM2-Interaktion mit mikromolarer Affinität. Ferner zeigten sie, dass die Verbindung in der Lage ist, p53-abhängige Apoptose in der H460-Lungenkrebszelllinie auszulösen.<sup>187</sup> Ausgehend von Terphenyl-basierten Helixmimetika wurden Verbindungen hergestellt, die eine verbesserte Löslichkeit sowie Zellpermeabilität aufweisen und in der Lage sind unterschiedliche PPI zu inhibieren.

### Kovalent eingeschränkte Helixmimetika

Die Orientierung der Seitenketten am Strukturgerüst kovalent eingeschränkter Helixmimetika wird durch die Hybridisierung der substituierten Position und ein kovalent rigidisiertes Strukturgerüst gesteuert (Abbildung 19).<sup>188</sup> Der Entropieverlust beim Bindungsvorgang an eine Proteinkontaktfläche wird durch die konformative Fixierung zusätzlich verringert.<sup>189,190</sup> 1,6-substituierte Indane stellten die ersten Vertreter dieser Klasse dar. NOLAN *et al.* synthetisierten Verbindung **5** als erstes nichtpeptidisches Strukturgerüst zur Nachahmung einer  $\alpha$ -helikalen Dipeptidsequenz. Mittels *molecular modelling* zeigten sie, dass die Seitenketten des funktionalisierten Indans der Orientierung der Seitenketten in *i*- und *i*+1-Position einer  $\alpha$ -Helix nahekommen.<sup>191</sup> Basierend darauf untersuchten HORWELL *et al.* die Affinität trisubstituierter Indane an den Tachykinrezeptoren NK<sub>1-3</sub>.



**Abbildung 19:** Ausgewählte Vertreter kovalent eingeschränkter Helixmimetika: **5** 1,6-disubstituiertes Indan; **6** (S)-konfiguriertes trisubstituiertes Indan; **7** substituiertes Acridin; **8** funktionalisiertes Spiroligomer.

Mittels Kristallstrukturuntersuchungen und *molecular modelling* zeigten sie, dass (S)-konfigurierte Indane die Seitenketten in den Positionen *i*-1, *i* und *i*+1 einer  $\alpha$ -Helix nachahmen können. Verbindung **6** zeigte eine Bindungsaffinität gegenüber den NK<sub>1-3</sub> Rezeptoren im mikromolaren Bereich.<sup>192</sup> Das Indan-Gerüst erlaubt allerdings nicht, die

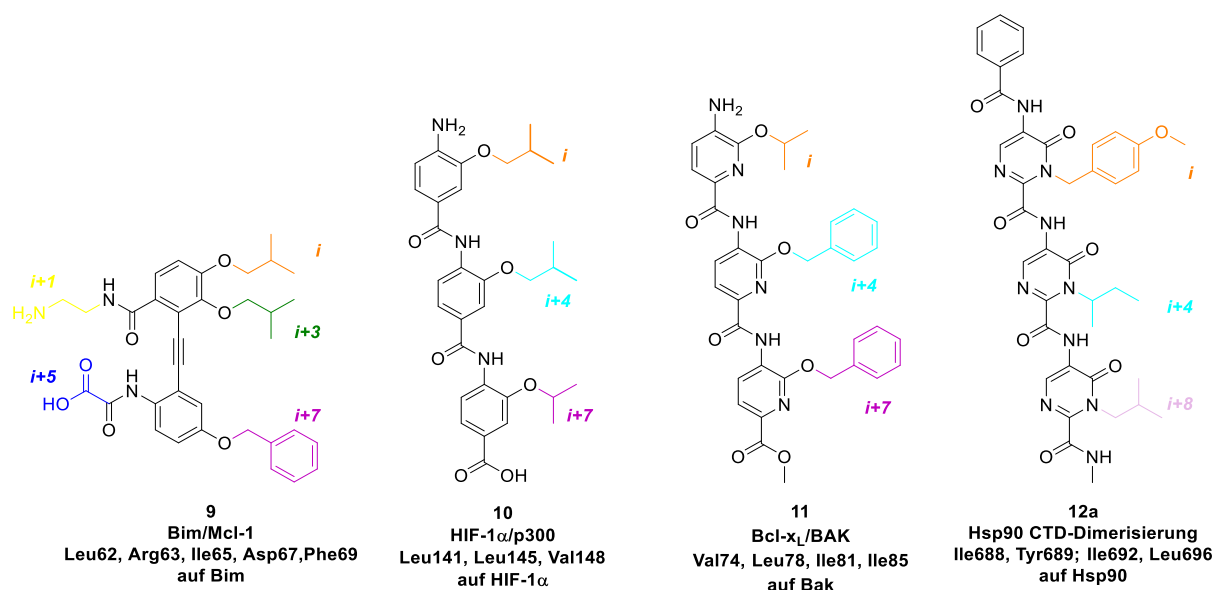
Abdeckung der ausgedehnten Kontaktoberfläche einer  $\alpha$ -Helix nachzuahmen.<sup>193</sup> Das proapoptotische Protein Bim (*Bcl2-interacting mediator of cell death*) wird durch Mcl-1 (*myeloid cell leukemia 1*) reguliert. Es wurde gezeigt, dass Mcl-1 in verschiedenen Krebszellen überexprimiert ist und eine Inhibition dieser Interaktion Apoptose auslöst.<sup>194,195</sup> Die Interaktion wird dabei über eine amphiphile BH3-Domäne (*Bcl-2 homology*) von Bim zu Mcl-1 hergestellt. Dabei werden über eine Seite der BH3-Helix hydrophobe Kontakte zu Mcl-1 mit den Seitenketten Leu62, Ileu65 und Phe69 hergestellt. Auf der polaren Seite liegt ein Kontakt zwischen Asp67 und Arg263 von Mcl-1 vor.<sup>196</sup> Das Acridin-Derivat **7** wurde von Li *et al.* synthetisiert, um die Interaktion zwischen den Proteinen Bim und Mcl-1 zu inhibieren.<sup>197</sup> Mittels isothermaler Titrationskalorimetrie und Fluoreszenzpolarisation-Assays zeigten sie, dass **7** eine submikromolare Affinität zu Mcl-1 aufweist. Ergebnisse zu der *in vitro* Aktivität von **7** wurden nicht vorgestellt.<sup>197</sup> Das Spiroligomer **8** wurde von BROWN *et al.* als Strukturmimetika von p53 synthetisiert. Verbindung **8** bindet mit submikromolarer Affinität an MDM2. Mittels Konfokalmikroskopie wurde eine Akkumulation des Fluorescein-Konjugats **8** im Zytoplasma und Nukleus von Huh7-Heptomzellen beobachtet. Das Spiroligomer **8** führt zu einer Erhöhung der MDM2-Konzentration in Huh7-Zellen um das 20-fache im Vergleich zur Kontrolle. Dieser Effekt wurde nicht für den Referenzinhibitor Nutlin-3a beobachtet. Da keine Veränderung der HDM2-mRNA-Konzentration beobachtet wurde, schlussfolgerten Brown *et al.*, dass **8** MDM2 stabilisiert und vor Proteolyse schützt.<sup>198</sup>

## **Wasserstoffbrücken-gesteuerte Helixmimetika**

Intramolekulare Wasserstoffbrücken sorgen für eine Vororganisation der Seitenketten dieser Klasse von Helixmimetika (Abbildung 20). Zusätzlich wird die ekliptische Konformation des Strukturgerüsts dadurch fixiert.<sup>199</sup> Die Bausteine lassen sich modular darstellen, wodurch der Einsatz einer konvergenten Synthesestrategie zur Gewinnung der Zielverbindungen ermöglicht wird. Das Diphenylacetylen-Gerüst **9** wurde als Modulator der Bim/Mcl-1-Interaktion synthetisiert. Durch NMR-Untersuchungen und MD-Simulationen konnten JUNG *et al.* die Stabilisierung der Konformation durch eine intramolekulare Wasserstoffbrücke zwischen dem Amidproton und dem Carbonyl-Sauerstoff von **9** beobachten. Die Verbindung imitiert fünf Seitenketten der BH3-Domäne von Bim und inhibiert die PPI im mikromolaren Bereich. Wie beim kovalent eingeschränkten Acridin-Derivat **7** handelt es sich bei **9** um einen amphiphilen Inhibitor.<sup>200</sup> Der Transkriptionsfaktor HIF-1 $\alpha$  (*hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$* ) ist zusammen mit dem Protein p300 an der Einleitung von Angiogenese als Reaktion auf hypoxische Bedingungen in Geweben verantwortlich.<sup>201</sup> Tumore nutzen diesen Mechanismus zur Gefäßneubildung aus, um den erhöhten Sauerstoffbedarf zu decken.<sup>202</sup> Die Entwicklung

## EINLEITUNG

niedermolekularer Inhibitoren für den HIF-1-Signalweg erweckte deswegen besondere Aufmerksamkeit.<sup>203,204,205</sup> Darunter auch die Inhibition der HIF-1 $\alpha$ /p300-Interaktion.<sup>206</sup> Das Oligobenzamid **10** wurde von BURSLEM *et al.* als Mimetikum der helikalen Transaktivierungsdomäne von HIF-1 $\alpha$  synthetisiert. Die Verbindung ist so funktionalisiert, dass sie die Aminosäureseitenketten Leu141, Leu145 und Val148 auf Helix3 von HIF-1 $\alpha$  imitiert, die entscheidend für die Bindung zu p300 sind.<sup>207,208</sup> Intramolekulare Wasserstoffbrücken zwischen dem Ether-Sauerstoff und den stickstoffgebundenen Protonen der verbrückenden Amide stabilisieren die Konformation von **10**. Das Oligobenzamid inhibiert die HIF-1 $\alpha$ /p300 PPI dabei mit einem IC<sub>50</sub> von 9,2  $\mu$ M.<sup>208</sup> Die Einführung eines Stickstoffs als zusätzlichem Wasserstoffbrücken-Akzeptor führt im Fall der Tripyridylamide zu einer Verkrümmung des Strukturgerüsts unter Beibehaltung der ekliptischen Konformation. Oligobenzamide sind konformativ flexibler als Tripyridylamide, da sie nur eine intramolekulare Wasserstoffbrücke pro Amid-Proton aufweisen. Die Kombination von Phenyl- und Pyridin-Ringen erlaubt die Einstellung des Krümmungswinkels von Helixmimetika.<sup>209</sup> ERNST *et al.* demonstrierten mit dem Tripyridylamid **11** die Inhibition der PPI zwischen Bcl-x<sub>L</sub> und der BH3-Domäne von Bak. Entgegen der Erwartung zeigte ein Tetrapyridylamid Tetrapyridylamid im Fluoreszenzpolarisation-Assay eine geringere Aktivität als das analoge Trimer. Aus Docking-Untersuchungen schlussfolgerten ERNST *et al.*, dass **11** in derselben hydrophoben Furche von Bcl-x<sub>L</sub> bindet wie Bak.<sup>199</sup> Wie eingangs beschrieben, ist die C-terminale Dimerisierung von Hsp90 essenziell für die Funktion des Homodimers als Chaperonprotein.<sup>138,141,139</sup> Das Tripyrimidonamid **12a** (LSK82) imitiert die *hot spot* Aminosäureseitenketten Tyr689, Ile692 und Leu696 der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90.



**Abbildung 20:** Ausgewählte Vertreter Wasserstoffbrücken-gesteuerter Helixmimetika: **9** Diphenylacetylen; **10** Oligobenzamid; **11** Tripyridylamid; **12a** Tripyrimidonamid (LSK82).

SPANIER aus der KURZ Gruppe legte die Grundlage für die modulare Synthese dieser Verbindung durch die Darstellung geeigneter substituierter Pyrimidon-Monomere. Neben hydrophoben Seitenketten gelang eine Funktionalisierung der Pyrimidone mit polaren Seitenketten. Mit diesen Bausteinen ist es möglich, auch polare PPI zu adressieren, an denen Aminosäureseitenketten von Tyrosin, Tryptophan, Asparaginsäure und Lysin beteiligt sind. In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe GOHLKE konnte durch eine Kombination aus NOESY-Untersuchungen und MD-Simulationen gezeigt werden, dass Tripyrimidonamide in polaren Lösungsmitteln und Wasser bevorzugt eine ekliptische Konformation annehmen. Dabei befinden sich alle Seitenketten auf einer Seite des Gerüsts. Dies erlaubt die Nachahmung von Aminosäureseitenketten in *i*-, *i*+4- und *i*+8-Position einer  $\alpha$ -Helix.<sup>210</sup> Gemeinsam mit kooperierenden Arbeitsgruppen wurde der Einsatz von Tripyrimidonamiden als potenzielle Inhibitoren der C-terminalen Dimerisierung von Hsp90 untersucht. Dabei wurden die Gerüste des Tripyrimidonamids **12a** so funktionalisiert, dass es die *hot spot* Aminosäureseitenketten Tyr689, Ile692, und Leu696 nachahmen kann. Der Methoxybenzyl-Rest von **12a** ähnelt dabei der Seitenkette von Tyr689. Diese findet vermutlich während der Hsp90-Dimerisierung in einer Furche neben Helix4' Platz und kann Wasserstoffbrückenkontakte zu Ser673' und Thr669' auf Helix4 bilden. Mittels MST-Assays wurde durch Mitarbeiter der JOSE Gruppe gezeigt, dass **12a** an die CTD von Hsp90 mit einem  $K_D$  von 3,42  $\mu$ M bindet. In einem *Autodisplay*-Assay wurde die Inhibition der Interaktion zwischen dem Klientprotein p53 und Hsp90 durch **12a** beobachtet. Ferner deuten MD-Simulationen, die in der GOHLKE Gruppe durchgeführt wurden, darauf hin, dass die Verbindung an das C-terminalen Dimerisierungsinterface von

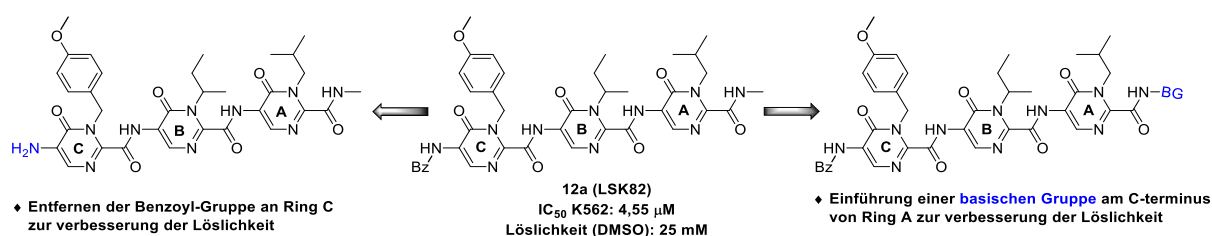
## EINLEITUNG

Hsp90 bindet. Das Tripyrimidon zeigt darüber hinaus *in vitro* Aktivität und löst Apoptose in den BCR-ABL-positiven CML-Zelllinien K562 und KCL22 sowie in TKI-resistenten Zelllinien aus. Im Gegensatz zum N-terminalen Hsp90-Inhibitor Luminespib wurde die Konzentration der HSR-Proteine Hsp70 und Hsp40 durch **12a** nicht erhöht. BHATIA aus der Arbeitsgruppe HAUER beobachtete außerdem eine Abnahme der BCR-ABL-Konzentration in der Zelllinie K562 sowie in TKI-resistenten Zelllinien, die mit **12a** behandelt wurden. Da die BCR-ABL-Tyrosinkinase ein Klientprotein von Hsp90 darstellt, deutet dieser Befund auf eine Inhibition von Hsp90 durch das Tripyrimidon hin. Zusammengenommen lassen diese Ergebnisse darauf schließen, dass die niedermolekulare Verbindung **12a** ein Inhibitor der C-terminalen Dimerisierung von Hsp90 ist.<sup>211</sup>  $\alpha$ -Helixmimetika bilden eine Strukturklasse mit der sich eine Bandbreite unterschiedlicher PPI modulieren lassen. Die vielversprechenden Ergebnisse aus den Untersuchungen des Tripyrimodonamids **12a** sind die Motivation und die Grundlage der vorliegenden Arbeit.

## Zielsetzung

Ausgehend von einer auf einer *hot spot* Vorhersage aus der Arbeitsgruppe GOHLKE wurde das antileukämische Tripyrimidonamid **12a** (LSK82) als erster, niedermolekulare Hsp90-Inhibitor der C-terminalen Dimerisierung in der Arbeitsgruppe KURZ entwickelt (Abbildung 14). Die bisher unveröffentlichte *in vitro* Evaluation von **12a** zeigte, dass die Verbindung zur Destabilisierung des Hsp90-Klientproteins BCR-ABL1 in K562-Leukämiezellen führt sowie antileukämische Aktivität gegen Imatinib-resistente Leukämie- und Patientenzelllinien demonstrierte. In zellfreien Luciferase-Renaturierungs-Assays inhibierte **12a** außerdem die Renaturierung von Luciferase durch den Hsp90-Chaperon-Komplex. Darüber hinaus leitete das Tripyrimidonamid **12a** nicht die Überexpression der HSR-assoziierten Proteinen HSF-1, Hsp27 und Hsp70 in Leukämiezelllinien ein.

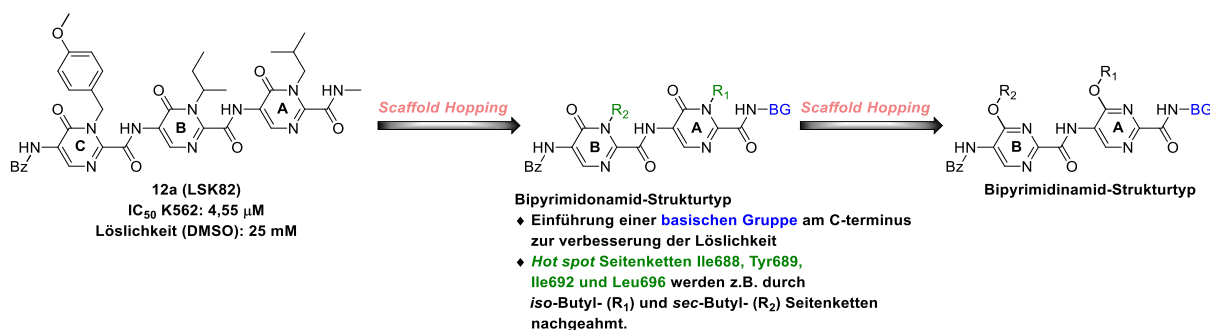
Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Strukturoptimierung des Tripyrimidonamids **12a** mit dem Fokus auf der Verbesserung der antileukämischen Aktivität und der physikochemischen Eigenschaften. Vor diesem Hintergrund diente das Tripyrimidonamid **12a** als Leitstruktur für die Synthese neuer  $\alpha$ -Helixmimetika auf Basis von substituierten Pyrimidin- und Pyrimidonamiden. Dabei sollten die hergestellten Derivate mit Seitenketten funktionalisiert werden, die es erlauben die *hot spot* Aminosäureseitenketten Ile688, Tyr689, Ile692 und Leu696 auf H5 der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 nachzuahmen. Das Tripyrimidonamid **12a** konnte aufgrund seiner schlechten Wasserlöslichkeit nicht *in vivo*, im Rahmen von Xenograft-Modellen, auf seine antileukämische Aktivität untersucht werden. Darum sollten Derivate mit basischen Gruppen am C-terminus von Ring A synthetisiert werden, die zu einem verbesserten Löslichkeitsprofil führen sollten. In diesem Rahmen sollte auch untersucht werden, ob das Entfernen der Benzoylgruppe an Ring C von **12a** einen Effekt auf die Löslichkeit sowie die antileukämische Aktivität hat (Abbildung 21).



**Abbildung 21:** Strategien zur Verbesserung der Löslichkeit von **12a** (LSK82).

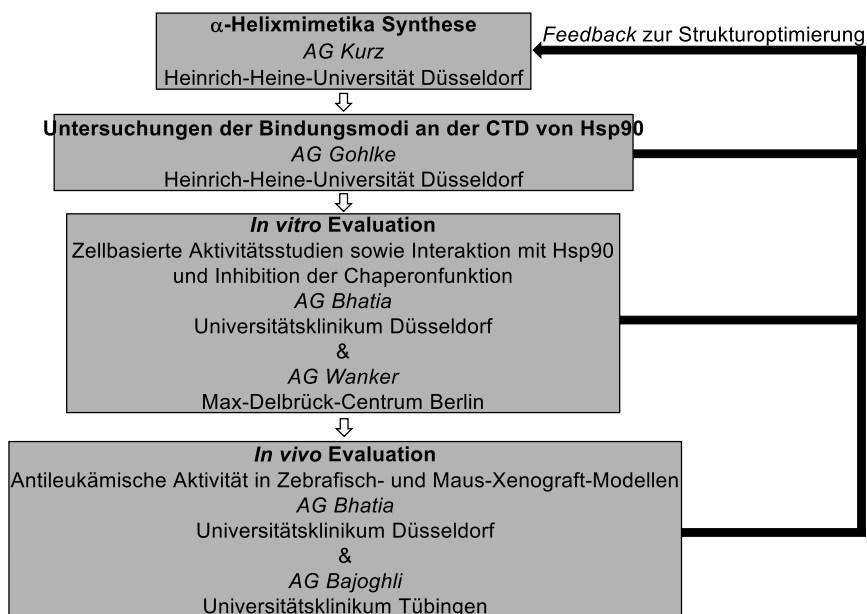
## ZIELSETZUNG

Zur Untersuchung des Einflusses von *Scaffold Hopping*<sup>s</sup> vom Tripyrimidonamid- zum Bipyrimidinamid-Strukturtyp auf die *in vitro* Aktivität, sollten Dimer-Derivate ausgehend von **12a** synthetisiert werden. Die damit einhergehende verkürzte Syntheseroute sowie Strukturvereinfachung würde außerdem einen schnelleren Zugang zu unterschiedlich substituierten Mimetika ermöglichen.



**Abbildung 22:** *Scaffold Hopping* ausgehend vom Tripyrimidonamid **12a** zum Bipyrimidonamid- und Bipyrimidinamid-Strukturtyp.

Die hergestellten Gerüsttypen sollten dabei so funktionalisiert sein, dass sie die *hot spot* Seitenketten von Ile688, Tyr689, Ile692 und Leu696 nachahmen können.



**Abbildung 23** Darstellung des *Workflows* der kooperierenden Arbeitsgruppen zur biologischen Untersuchung neuer  $\alpha$ -Helixmimetika.

Vor dem Hintergrund der vielversprechenden *in vitro* Ergebnisse aus den Untersuchungen des Tripyrimidonamids **12a**, sollten die synthetisierten Verbindungen auf ihre antileukämische Aktivität gegen verschiedene Leukämiezelllinien untersucht und aus den

<sup>s</sup> *Scaffold Hopping* stellt in der medizinischen Chemie eine Strategie zur Modifikation von Leitstrukturen dar, um Verbindungen mit verbesserter oder gleichbleibender Affinität gegenüber einer Zielstruktur zu erhalten. Dabei wird die Gerüststruktur der Leitstruktur abgewandelt.<sup>303</sup>

## ZIELSETZUNG

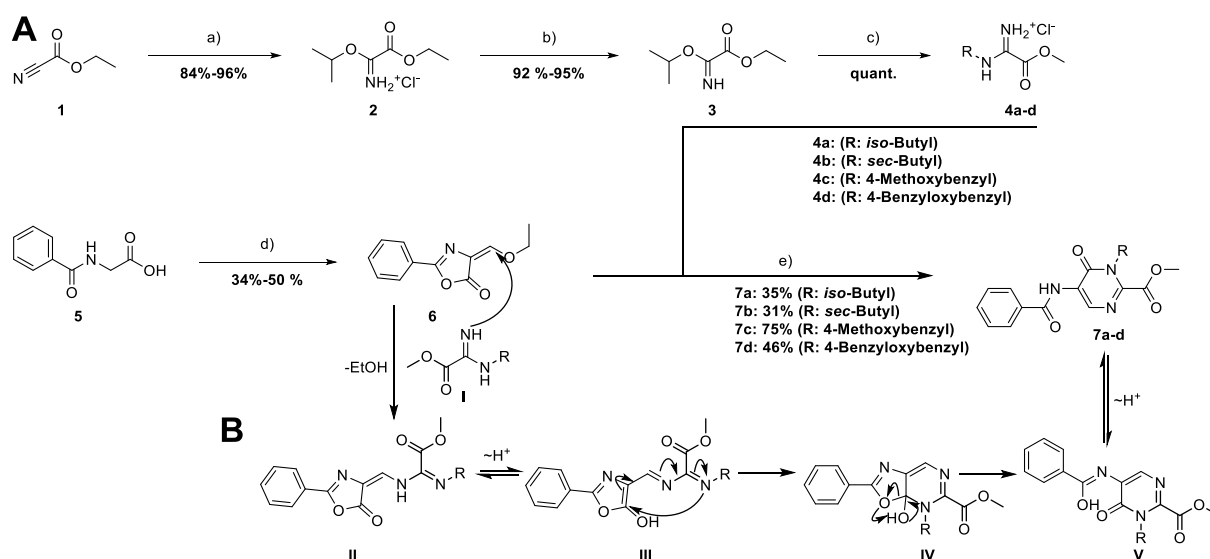
Ergebnissen Struktur-Aktivitäts-Beziehungen abgeleitet werden. Da es gegenwärtig keinen direkten biophysikalischen Nachweis für die Inhibition der C-terminalen Dimerisierung von Hsp90 gibt, wurden initial indirekte Nachweismethoden von kooperierenden Arbeitsgruppen für die Untersuchung der Interaktion der synthetisierten  $\alpha$ -Helixmimetika mit Hsp90 herangezogen. Um Informationen über die molekularen Interaktionen der Verbindungen mit der CTD von Hsp90 zu erhalten, sollte der Bindungsmodus der Inhibitoren, die eine vielversprechende *in vitro* Aktivität demonstrieren, in der Arbeitsgruppe GOHLKE an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf untersucht werden. Dabei sollte auch der Einfluss der basischen Gruppe am C-Terminus von Ring A auf den Bindungsmodus der Bipyrimidonamide und Bipyrimidinamide untersucht werden. In der Arbeitsgruppe BHATIA am Universitätsklinikum Düsseldorf, sollten ausgewählte Verbindungen auf ihre inhibitorischen Eigenschaften die Chaperon-Aktivität in einem Luciferase-Renaturierungs-Assay zu modulieren untersucht werden. Darüber hinaus sollte in der Arbeitsgruppe WANKER am Max-Delbrück-Centrum Berlin die Modulation der Interaktion von Hsp90 $\alpha$ -Fusionsproteinen durch die synthetisierten  $\alpha$ -Helixmimetika mittels BRET-Assay zellulär analysiert werden. Zur Bestimmung der *in vivo* Aktivität der Verbindungen, sollten ausgewählte  $\alpha$ -Helixmimetika in der Arbeitsgruppe BAJOGHLI am Universitätsklinikum Tübingen in einem Zebrafisch-Xenograft-Modell untersucht werden (Abbildung 23).

## Allgemeiner Teil

## Darstellung von Tripyrimidonamid-Derivaten

## Darstellung von Desbenzoyl-Tripyrimidonamiden

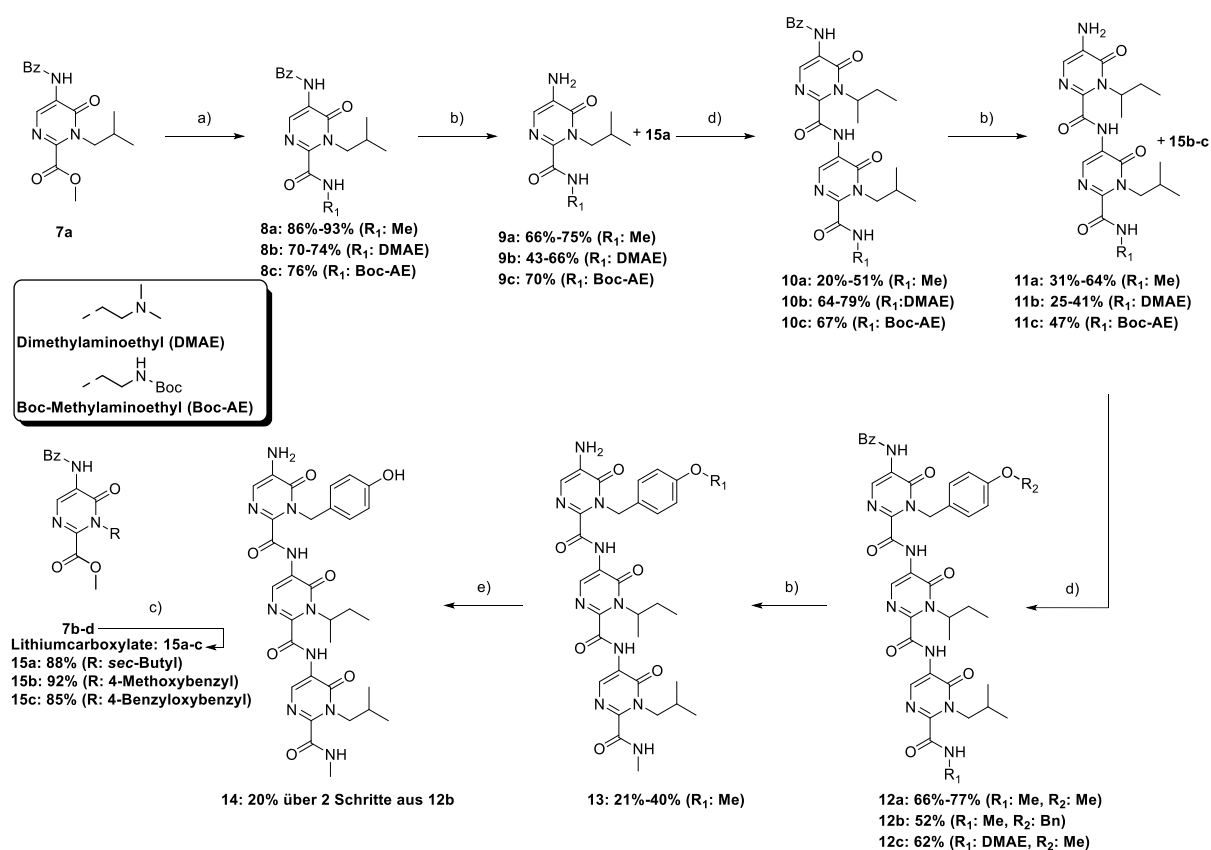
Die Bedeutung der Benzoylgruppe für die *in vitro* Aktivität des Tripyrimidonamids **12a** wurde bisher noch nicht untersucht. Im Folgenden wird die Synthese der Desbenzoyl-Tripyrimidonamide **13** und **14** beschrieben, um zu untersuchen, welchen Einfluss die Benzoylgruppe auf die Löslichkeit und *in vitro* Aktivität der Tripyrimidonamide hat. Im Rahmen der biologischen Evaluation, soll der Einfluss der Benzoylgruppe auf die antileukämische Aktivität gegenüber Leukämiezelllinien *in vitro* untersucht werden. Die Löslichkeit einer Verbindung stellt einen limitierenden Faktor bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe dar. Eine geringe Bioverfügbarkeit, bedingt durch Präzipitation und schlechte Resorption, kann zu einer geringeren *in vitro* und *in vivo* Aktivität führen. Zudem wird die pharmazeutische Formulierung durch eine geringe Löslichkeit erschwert. Kombinatorische und *High-Throughput-Screening*-Ansätze führten in den letzten Jahrzehnten zu einem Anstieg lipophiler Wirkstoffkandidaten mit einem eingeschränkten Löslichkeitsprofil.<sup>212</sup> Die Funktionalisierung eines Molekülgerüsts mit basischen oder aciden funktionellen Gruppen ist eine bewährte Strategie, um die Löslichkeit von Verbindungen zu erhöhen. Ferner kann man durch entfernen hydrophober Strukturelemente Einfluss auf den logP und damit die Löslichkeit nehmen.<sup>143,213</sup>



**Schema 1:** Synthese der Pyrimidone **7a-e** (A): a) 1,00 äq. *iso*-Propanol, HCl(g), Et<sub>2</sub>O, 0 °C, 1 h, 5 d bei 4 °C altern; b) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(aq.), Et<sub>2</sub>O, RT; c) 0,6 äq. Aminhydrochlorid, MeOH, RT 18 h; d) 1,10 äq TEOF, 2,20 äq. Ac<sub>2</sub>O, 0,5mol% DMAP, Rückfluss, 4 h; e) 1,00 äq. **4a-d**, 1,30 äq. Et<sub>3</sub>N, Acetonitril, 80 °C, 3 h. Postulierter Mechanismus der Umlagerungsreaktion für das Azlacton **6** nach HANSEN<sup>215</sup> (B).

## ALLGEMEINER TEIL

Weitere Ansätze zur Verbesserung der Löslichkeit, stellen die Unterbindung der Coplanarität und die Einführung von stereogenen Zentren zur Aufhebung der Molekülsymmetrie dar.<sup>214</sup> Zur Untersuchung des Einflusses der Entfernung der Benzoylgruppe auf die Löslichkeit und Aktivität der Tripyrimidonamid  $\alpha$ -Helixmimetika hat, wurden die entsprechende Analoga **13** und **14** synthetisiert. Dazu wurde die literaturbekannte Syntheseroute von SPANIER *et al.* zunächst herangezogen, um die benötigten trisubstituierten Pyrimidone zu gewinnen.<sup>210</sup> Basierend auf einer abgewandelten Vorschrift von MARTINU *et al.* konnten die Amidinhydrochloride **4a-d** erhalten werden (Schema 1). Hierzu wurde Cyanameisensäureethylester **1** in einer PINNER-Reaktion mit *iso*-Propanol durch einleiten von Chlorwasserstoff umgesetzt. Das Imidathydrochlorid **2** wurde mittels einer Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Ether und einer wässrigen Kaliumcarbonat-Lösung in die freie Base **3** überführt. Diese wurde anschließend mit primären Aminhydrochloriden in Ethanol zu den Amidinhydrochloriden **4a-d** umgesetzt.



**Schema 2:** Syntheseroute für die Tripyrimidonamide **13** und **14**: a) 15,0 äq. 40% MeNH<sub>2</sub> w/w, EtOH, RT oder 8,00 äq. Amin, EtOH, RT, 18 h; b) 3,00 äq. 1 M NaOH, MeOH, 80 °C, 3 h; c) 1,00 äq. LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, RT, 24 h; d) 1,30 äq. **15a**, **15b** oder **15c**, 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 18-24 h; e) H<sub>2</sub>, Pd(C), MeOH/Dioxan/AcOH 8:2:1 v/v, Rückfluss, 3 h.

Für die Synthese des Azlactons **6** wurde Hippursäure **5** mit Essigsäureanhydrid, Triethylorthoformiat und katalytischen Mengen DMAP unter Rückfluss erhitzt. Um die, bei der Reaktion anfallende, Essigsäure zu entfernen wurde das Gemisch mit Toluol coevaporiert. Das Azlacton **6** wurde durch Kristallisation aus *iso*-Propanol gewonnen. Die Amidinhydrochloride **4a-d** wurden ohne weitere Aufreinigung in einer Umlagerungsreaktion mit dem Azlacton **6** und Triethylamin in Acetonitril zu den entsprechenden Pyrimidonen **7a-e** umgesetzt. Der Mechanismus der Umlagerungsreaktion des Azlactons **6** nach HANSEN ist in Schema 1 dargestellt. Im ersten Schritt kommt es zu einer Substitutionsreaktion der Ethoxygruppe durch das Amidin-Nukleophil **I** unter Bildung des Oxazolons **II**. Anschließend tautomerisiert das Oxazolon-Intermediat **II** zum 5-Hydroxyoxazol-Intermediat **III**. Im Folgeschritt kommt es zum Ringschluss unter Umlagerung des 5-Hydroxyoxazol-Intermediats **III** zum Pyrimidin **V**. Im letzten Schritt tautomerisiert das Pyrimidin **V** zum Pyrimidon **VI**. Die Produkte konnten nach wässriger Aufarbeitung mittels Flash-Chromatographie aufgereinigt werden. Die Methylestergruppe der Pyrimidone **7a-d** weist eine ausreichende Carbonylreaktivität auf, um eine Aminolyse bereits bei Raumtemperatur stattfinden zu lassen. Die Amide **8a-c** wurden durch eine Umsetzung von **7a** mit einem Überschuss von Methylamin, *N,N*-Dimethylethylendiamin und *N*-Boc-ethylendiamin in Ethanol erhalten. Die Benzoylgruppe wurde anschließend, durch die Umsetzung von **8a-c** mit einer methanolischen Natriumhydroxidlösung bei 80°C, abgespalten. Die Aminopyrimidone **9a-c** konnte auf diese Art nach chromatographischer Aufreinigung in Ausbeuten zwischen 43% - 75% erhalten werden. Die Kupplungspartner wurden durch alkalische Hydrolyse mit Lithiumhydroxid-Monohydrat in Methanol aus den Pyrimidonestern **15a-c** hergestellt. Da eine Überführung der Lithiumcarboxylate **15a-c** in die konjugierten Säuren eine Decarboxylierungsreaktion nach sich gezogen hätte, wurden diese ohne weiter Aufarbeitung im nächsten Schritt eingesetzt. Die Dimere **10a-c** wurde nach einer optimierten Vorschrift von SPANIER mit dem Uronium-Kupplungsreagenz COMU® dargestellt. Dazu wurden die Aminopyrimidone **9a-c** mit einem Überschuss des Lithiumcarboxylats **15a** in DMF umgesetzt. Die Benzoylgruppe der Dimere **10a-c** wurde, wie auch beim Monomer **8**, mit methanolischer Natriumhydroxid Lösung abgespalten, um die Aminopyrimidone **11a-c** zu erhalten. Die Tripyrimidonamide **12a-c** wurden durch Kupplung von **11a-b** mit den entsprechenden Lithiumcarboxylaten **10b** bzw. **10c** unter Verwendung von COMU® in DMF synthetisiert. Die Abspaltung der Benzoylgruppe der Tripyrimidonamide **12a-c** erfolgte mit methanolischer Natriumhydroxidlösung bei 80 °C. Nach einer wässrigen Aufarbeitung wurde das Pyrimidon **13** mittel Flash-Chromatographie vorgereinigt. Allerdings ergab eine DC Kontrolle eine persistente Verunreinigung der Hauptfraktion. **13** wurde daher weiter aufgereinigt, indem es in einer

## ALLGEMEINER TEIL

Mischung aus siedendem Ethylacetat und *n*-Hexan gelöst wurde und anschließend durch abkühlen präzipitierte. Der neongelbe, amorphe Feststoff wurde so in einer ausreichenden Reinheit für biologische Untersuchungen erhalten (Schema 2). Geht man von den optimalen Ausbeuten aus, beträgt die Gesamtausbeute ausgehend von Cyanameisensäureethylester **1** über zehn Schritte 3%. Das Tripyrimidonamid **14** wurde über zwei Schritte ausgehend von **12b** hergestellt. Im ersten Schritt wurde die Benzoylgruppe unter Verwendung von methanolischer Natriumhydroxidlösung hydrolytisch gespalten. Das Produkt der Reaktion wurde wässrig aufgearbeitet und direkt im nächsten Schritt umgesetzt.

**Tabelle 2:** Reaktionsansätze für die katalytische Hydrierung der Benzylgruppe zur Darstellung von **14** ausgehend von **12b**.

| Eintrag | Lösungsmittel              | t [h] | T [°C] | Katalysator | Ausbeute         |
|---------|----------------------------|-------|--------|-------------|------------------|
| 1       | EtOH                       | 6     | RT     | 10%wt Pd(C) | Kein Umsatz      |
| 2       | MeOH                       | 6     | 70 °C  | 10%wt Pd(C) | Kein Umsatz      |
| 3       | MeOH/Dioxan 8:2 v/v        | 6     | 70 °C  | 10%wt Pd(C) | Kein Umsatz      |
| 4       | MeOH/Dioxan/AcOH 8:2:1 v/v | 3     | 70 °C  | 10%wt Pd(C) | 20% <sup>1</sup> |

<sup>1</sup> Hergestellt über zwei Schritte ausgehend von **12b**; Ausbeute nach Aufreinigung mittels Umkehrphasen-chromatographie.

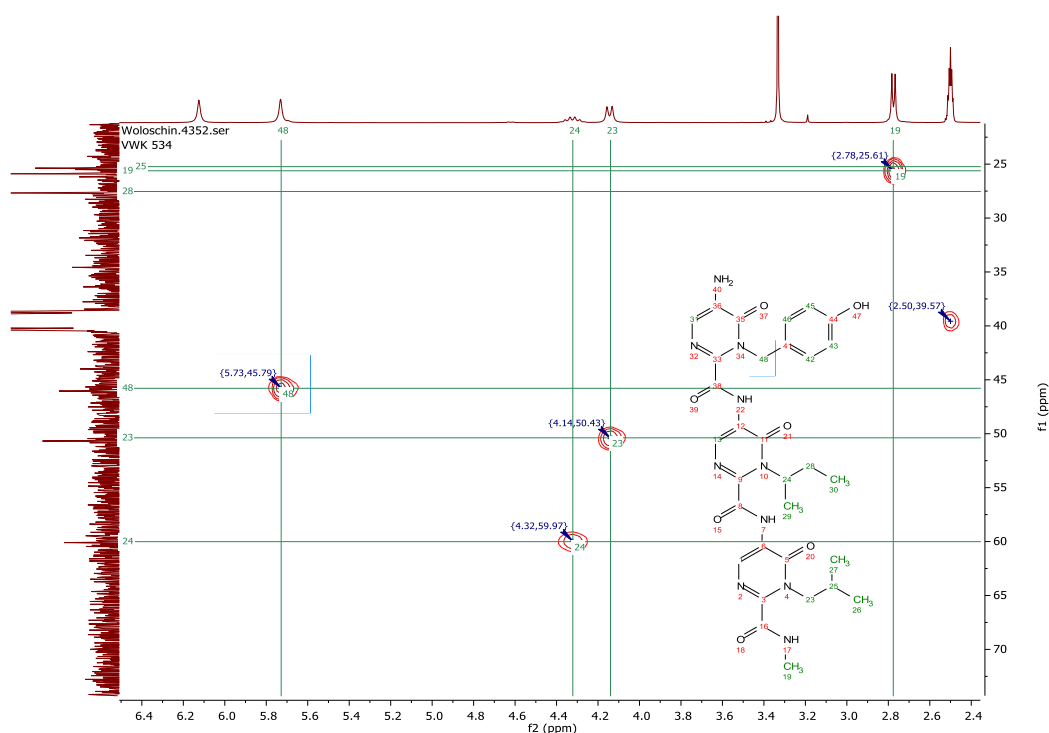
Mittels katalytischer Hydrierung unter Einsatz von Palladium auf Aktivkohle sollte die Benzylschutzgruppe abgespalten werden, um die phenolische Hydroxylgruppe von **14** freizusetzen (Tabelle 2). Initiale Versuche die Benzylgruppe bei Raumtemperatur unter Verwendung von Ethanol als Lösungsmittel abzuspalten zeigt keinen Umsatz. Als Grund wurde die schlechte Löslichkeit des Edukts bei Raumtemperatur vermutet. Löslichkeitsuntersuchungen ergaben, dass sich das Startmaterial in der Siedehitze mäßig in Methanol löst. In der Annahme, dass sich das Produkt **14** besser im Methanol löst und eine Umsetzung ein stufenweises Lösen des Startmaterials nach sich zieht, wurde eine Reaktion in Methanol bei 70 °C durchgeführt. Die DC-Reaktionskontrolle zeigte jedoch keinen Umsatz. Ferner löste das Gemisch aus Methanol und Dioxan das Startmaterial gut in der Siedehitze. Die Hydrierungsreaktion unter Verwendung dieser Lösungsmittelkombination zeigte allerdings keinen Umsatz. Der Zusatz von Essigsäure zu katalytischen Hydrierungsreaktionen kann sich positiv auf den Reaktionsverlauf ausüben: Neben der Reaktivitätssteigerung durch eine zusätzliche Polarisierung von  $\sigma$ -Bindungen, kann Essigsäure eine Deaktivierung von Katalysatoren durch stickstoffhaltige Heterocyclen unterbinden.<sup>216,217</sup> Der Zusatz von Essigsäure zur Reaktionslösung resultiert nach drei Stunden in einer Umsetzung des Startmaterials. Nach einer Aufreinigung mittels Umkehrphasenchromatographie konnte das Tripyrimidonamid **14** in einer Ausbeute von

20% isoliert werden. Löslichkeitsuntersuchungen in DMSO zeigten, dass sich die Pyrimidonamide **13** und **14** bis zu einer Konzentration von 50 mM lösen lassen. Das Tripyrimidionamid **12a** ließ sich bis zu einer Konzentration von 25 mM in DMSO lösen. Eine wiederholte Aussetzung von DMSO-Aliquoten gegenüber Einfrier-/Abtauzyklen zeigte, dass **13** nicht präzipitiert. Dagegen neigt **12a** bereit nach einem Einfrier/Abtauzyklus und bei längerer Lagerung bei Raumtemperatur zur Präzipitation. **13** ließ sich ferner problemlos durch einen Pipettierroboter im Rahmen von *in vitro* Evaluationen einsetzen.



40

und die Protonensignale miteinander verglichen (Abbildung 24). Die Methylprotonen der *iso*-Butyl- und *sec*-Butyl-Seitenketten liegen für **13** bei 0,79 ppm  $H^{30}$  und 0,83 ppm  $H^{26,27}$  und spalten aufgrund der  $^3J$ -Kopplung zu den Methylenprotonen bzw. Methinproton zu einem Dublett bzw. einem Triplet auf. Die Signallage der Protonen unterscheidet sich kaum von der in **14** ( $\Delta=0,01$  ppm). Das Methylenproton der *iso*-Butylgruppe  $H^{23}$  spaltet durch die  $^3J$ -Kopplung zum Methinproton zu einem Dublett bei 4,14 ppm auf. Genauso wie das Quartett des Methinprotons der *sec*-Butylgruppe  $H^{24}$  bei 4,32 ppm unterscheidet es sich nicht in der Signallage der entsprechenden Protonen in **14** ( $\Delta=0,00$  ppm). Das Signal der Methoxygruppe von **13** bei 3,70 ppm fehlt im Spektrum von **14**. Dafür weist das Spektrum von **14** ein Singulett bei 9,33 ppm für das Phenolproton auf.



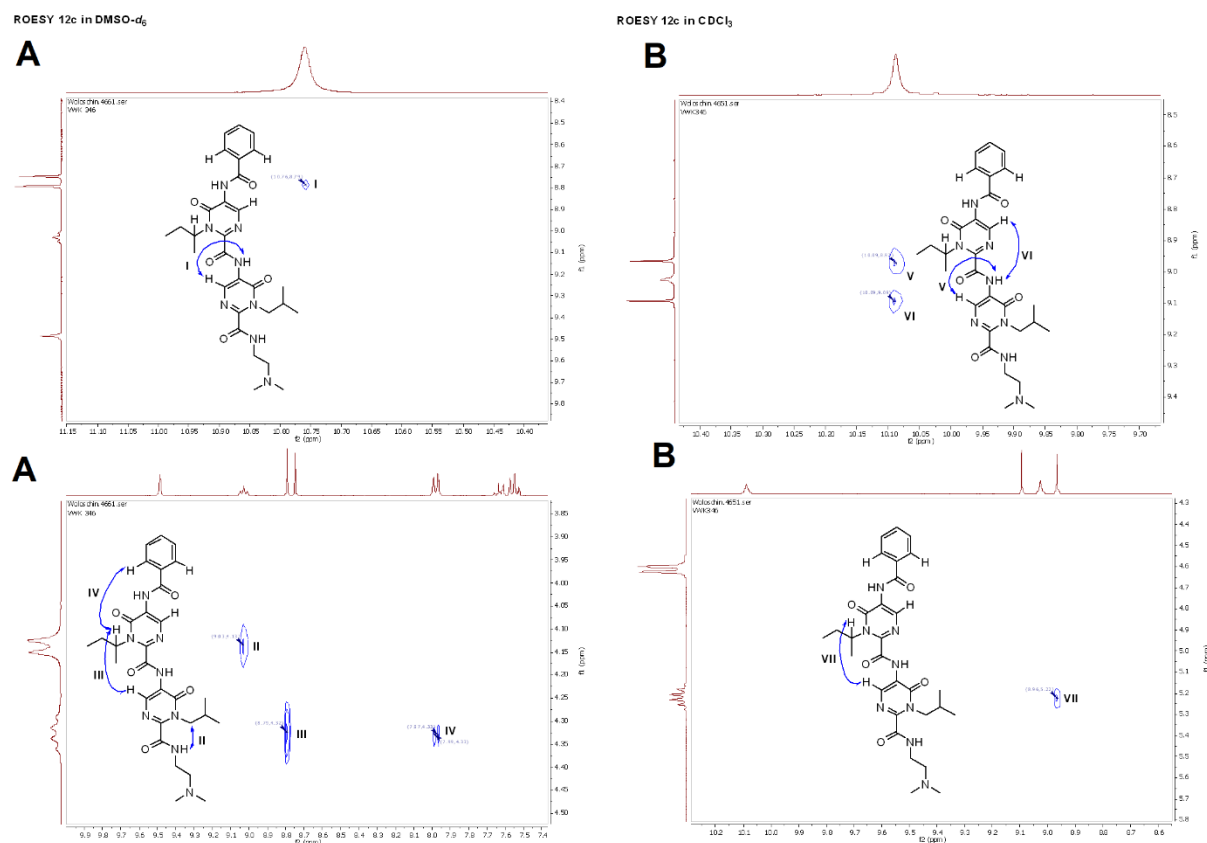
**Abbildung 25:** Ausschnitt des HSQC-Spektrums von **14** in  $DMSO-d_6$ .

Um die Signale der Aminprotonen  $H^{40}$  und der Methylenprotonen  $H^{49}$  der Methoxybenzylgruppe eindeutig zuordnen zu können wurde ein HSQC-Spektrum von **14** aufgenommen. Die Kopplung zwischen dem  $^{13}C$ -Kern und den Methylenprotonen führt zu einem Kreuzsignal {5,73 ppm, 25,79 ppm}. Für das Singulett der Aminprotonen wurde kein Kreuzsignal im HSQC-Spektrum beobachtet (Abbildung 25). Die Signale der Arylprotonen  $H^{42,43,45,46}$  von **13** bei 6,85 ppm und 7,16 ppm sind im Vergleich zu den Signalen bei 6,66 ppm und 7,05 ppm in **14** signifikant tieffeldverschoben ( $\Delta=0,11$  ppm). Dieser Befund kann durch die stärkere Abschirmung der entsprechenden Protonen durch den +M-Effekt der Phenolgruppe in **14** erklärt werden. Das Pyrimidonringproton  $H^{31}$  bei 7,34 ppm in **13** ist gegenüber den Ringprotonen  $H^1$  und  $H^{13}$  bei 8,72 ppm und 8,78 ppm signifikant

hochfeldverschoben. Diese Beobachtung lässt sich durch die stärkere Abschirmung des Pyrimidonprotons H<sup>31</sup> durch den +M-Effekt der Aminogruppe in *para*-Position erklären.

### Konformationsanalyse des Bipyrimidonamids **10b**

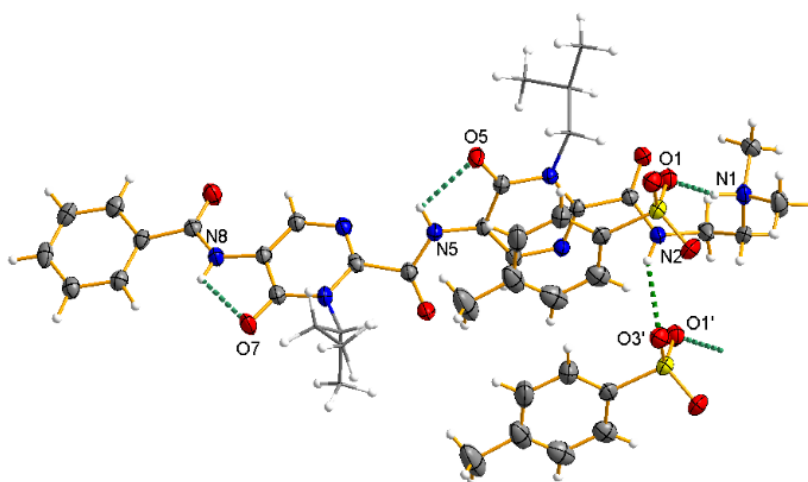
Die Konformation von  $\alpha$ -Helixmimetika ist relevant für die Entwicklung biologisch aktiver Verbindungen zur Nachahmung von Protein-Protein-Interaktionen. Zur Untersuchung der Seitenkettenanordnung der Pyrimidonamide in unterschiedlichen Lösungsmitteln wurden ROESY-Experimente in DMSO-*d*<sub>6</sub> und CDCl<sub>3</sub> mit **10b** durchgeführt (Abbildung 26).



**Abbildung 26:** Ausschnitte der ROESY-Spektren von **10b** in DMSO-*d*<sub>6</sub> (A) und CDCl<sub>3</sub> (B).

Die Verwendung von D<sub>2</sub>O oder Methanol-*d*<sub>4</sub> wurde durch Vorproben ausgeschlossen: Im Fall von D<sub>2</sub>O war die Löslichkeit auch bei pH 1 (1 M DCl) nicht ausreichend für die Durchführung eines ROESY-Experiments. Spektren von **10b** in Methanol-*d*<sub>4</sub> waren nicht auswertbar, da es zu einem Austausch der Amid-Wasserstoffkerne durch Deuterium kam und dadurch keine Kopplungen der Kerne beobachtet werden konnten. Die ROESY-Spektren in DMSO-*d*<sub>6</sub> weisen Kreuzsignale zwischen dem Pyrimidonringproton und dem zentralen Amidproton (I) und dem Pyrimidonringproton und dem Methinproton der *sec*-Butylgruppe auf (III). Dies deutet auf eine gestaffelte Konformation der Seitenketten im Fall von **10b** in DMSO-*d*<sub>6</sub> hin. Das Kreuzsignal zwischen dem C-terminalen Amidproton und den Methylenprotonen der *iso*-Butylgruppe (II) deutet

auf eine Konformation hin bei der die Carbonylgruppe des Amids gestaffelt zur *iso*-Butylgruppe vorliegt. Das ROESY-Spektrum von **10b** in CDCl<sub>3</sub> weist Kreuzsignale zwischen dem zentralen Amidproton und dem C-terminalen Pyrimidonringproton (V) sowie dem N-terminalen Pyrimidonringproton (VI) auf. Ferner wird ein Kreuzsignal zwischen dem N-terminalen Pyrimidonringproton und dem Methinproton der *sec*-Butylgruppe (VII) beobachtet. Zusammengenommen deuten die beobachteten Kreuzsignale auf das Vorliegen einer Konformation von **10b** hin bei der die Seitenketten der Pyrimidonringe gestaffelt zueinander vorliegen. Eine Lösungsmittelabhängigkeit der Konformation von **10b** oder das Vorliegen einer ekliptischen neben einer gestaffelten Konformation, ließ sich für die untersuchten Lösungsmittel nicht beobachten.



**Abbildung 27:** Kristallstruktur<sup>t</sup> von **10b**-Tosylat mit inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Das Bipyrimidonamid-Tosylat kristallisiert in der monoklinen Raumgruppe P2(1)/n.

Die Kristallstrukturuntersuchung von **10b**-Tosylat ergab, dass sich die Pyrimidonringe im Festkörper um *circa* 90° zueinander gereicht vorliegen (Abbildung 27). Die Konformation des Bipyrimidonamids wird durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den drei Amidprotonen und den Pyrimidon-Sauerstoffatomen sowie  $\pi$ - $\pi$ -Interaktionen zwischen den Aryl- und Heteroarylgruppen gesteuert<sup>u</sup>. Die Wasserstoffbrückenbindungsstärke zwischen der NH-Bindung und dem sp<sup>2</sup>-Hybridisierten Carbonylsauerstoffen ist dabei als schwach einzuschätzen.

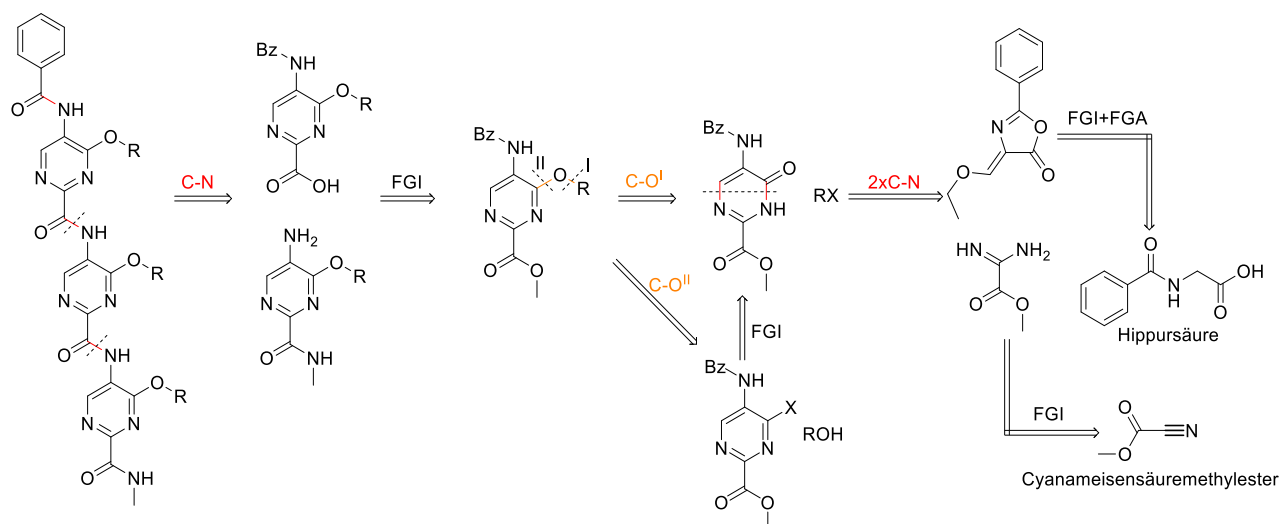
<sup>t</sup> Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK. Weitere Abbildungen, die Interaktionen veranschaulichen, befinden sich im Anhang.

<sup>u</sup> Weitere Abbildungen, die Interaktion von **10b**-Tosylat im Festkörper veranschaulichen, befinden sich im Anhang.

## Darstellung von Pyrimidinamid-basierter $\alpha$ -Helixmimetika

### Retrosynthetische Analyse

Zur Untersuchung der Auswirkungen von *Scaffold Hopping* von einem Pyrimidonamid-Strukturgerüst zu einem Pyrimidinamid-Gerüst auf die biologische Aktivität der  $\alpha$ -Helixmimetika, wurde zunächst eine retrosynthetische Analyse einer Tripyrimidinamid-Zielstruktur durchgeführt (Schema 3). Der Retrosynthesebaum führt ausgehend von einem Tripyrimidinamid über eine C-N-Zerlegung zu einem substituierten Aminopyrimidin und einem geschützten Pyrimidincarbonsäure Syntheseäquivalent. Durch eine FGI (*functional group interconversion*) lassen sich beide Syntheseäquivalente auf ein gemeinsames Syntheseäquivalent in Form eines Carbonsäuremethylesters zurückführen.



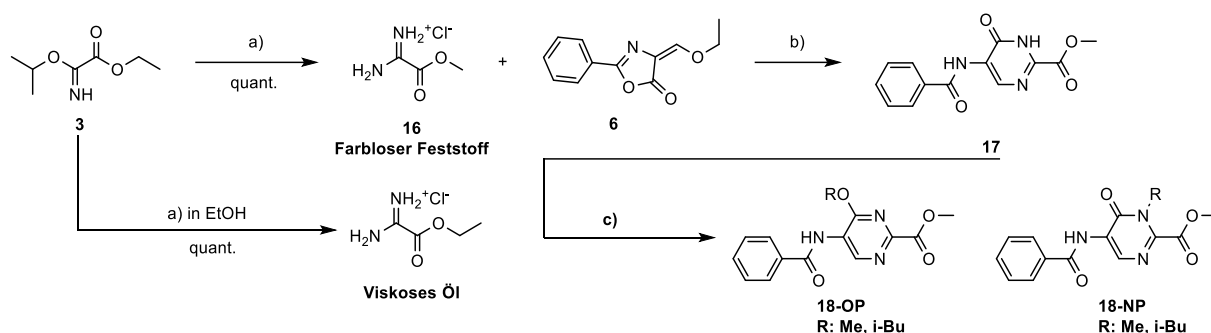
**Schema 3:** Retrosynthesebaum für Tripyrimidonamid  $\alpha$ -Helixmimetika (Synthons nicht dargestellt).

Die Funktionalisierung der 4-Position des Pyrimidinrings kann *via* zweier unterschiedlicher C-O-Zerlegungen erzielt werden. Im ersten Fall (C-O<sup>I</sup>) kann die Zielstruktur aus einem Pyrimidon und ein Alkylanz als Syntheseäquivalente abgeleitet werden. Im Zweiten Fall (C-O<sup>II</sup>) wird das Alkoxyypyrimidin auf einen Nucleofug-funktionalisierten Baustein und einen Alkohol als Syntheseäquivalente zurückgeführt. Die nucleofuge Gruppe muss allerdings, im Fall der zweiten Strategie, in einem zusätzlichen FGI-Schritt eingeführt werden. Beide Strategien lassen sich dabei auf denselben Pyrimidonbaustein zurückführen. Dieses lässt sich durch zwei C-N-Zerlegungen auf ein Azlacton und ein Amidin als Syntheseäquivalente zurückführen, deren Darstellung zuvor beschrieben wurde. Die verfolgte Synthesestrategie in dieser Arbeit zur Darstellung von Alkoxyypyrimidin-Derivaten verfolgt den C-O<sup>I</sup>-Pfad und basiert auf Vorarbeiten von DIEDRICH und SPANIER aus der KURZ Gruppe. Die Strategie für die Synthese von 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen verfolgt den C-O<sup>II</sup>-Pfad *via* nukleophiler aromatischer

Substitution. Die Strategie für die Darstellung der Oligomere orientiert sich an Vorarbeiten von HAMILTON *et al.* sowie SPANIER *et al.*<sup>210,177</sup> Die Synthese unterschiedlich substituierter Pyrimidine eröffnet die Möglichkeit diese mit den beschriebenen Pyrimidonen-Bausteinen zu neuen Strukturgerüsten zu kombinieren, um die Auswirkungen auf die biologische Aktivität zu untersuchen.

### Vorarbeiten zur Darstellung von 4-Alkoxypyrimidin-Derivaten

Basierend auf der retrosynthetischen Analyse wurde zunächst das Pyrimidon **17** nach SPANIER *et al.* synthetisiert (Schema 4).<sup>210</sup> Dazu wurde zunächst das Amidinhydrochlorid **16**, in Anlehnung an eine Vorschrift von MARTINU *et al.*, ausgehend von dem Imidat **3** hergestellt.<sup>218</sup> Hierbei wurde das Imidat **3** mit Ammoniumchlorid in Methanol bei Raumtemperatur umgesetzt. Dabei fand nicht nur eine Umsetzung zum entsprechenden Amidin statt, sondern durch den hohen Überschuss an Methanol auch eine Umesterung des Ethylesters zum Methylester (Schema 4). Diese zunächst unbeabsichtigte Umwandlung stellte sich als vorteilhaft heraus: Führt man die Synthese des Amidinhydrochlorids in Ethanol durch findet keine Umesterung statt. Der entsprechende Ethylester von **16** ist ein halbfestes hochviskoses Öl, das sich aufgrund seiner Eigenschaften schlechter handhaben lässt, als der Methylester, der als farbloser Feststoff gewonnen werden konnte. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass für die Synthese von **16** der preislich günstigere Cyanameisensäureester **1** anstelle des entsprechenden Methylesters verwendet werden kann, um im nachfolgenden Schritt den reaktiveren<sup>v</sup> Pyrimidonmethylester **17** zu erhalten.



**Schema 4:** Synthese von **17**: a) 1,00 äq.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , MeOH, RT 18 h; b) 1,00 äq. **16**, 1,00 äq. **6**, 1,30 äq.  $\text{Et}_3\text{N}$ , Acetonitril, 80 °C, 3 h, dann konz. HCl; c) MITSUNOBU-Reaktion.

In einer Kondensationsreaktion wurde anschließend **16** mit dem Azlacton **6** umgesetzt. Dabei wurde Triethylamin als Base zur Deprotonierung des Hydrochlorids verwendet. Das Pyrimidon **17** begann bereits nach einer Stunde aus dem siedenden

<sup>v</sup> FISCHER beobachtete bei seinen Untersuchungen zum Alanin und anderen Aminosäuren, dass Methylester reaktiver gegenüber Hydro- und Aminolysebedingungen sind als entsprechende Ethylester<sup>304</sup>.

Reaktionsgemisch in Acetonitril auszufallen. Nach der Bestätigung des vollständigen Umsatzes mittels DC wurde die Reaktion unter Eiskühlung mit konzentrierter Salzsäure gequencht. Da die Aufreinigung von **17** mittels Säulenchromatographie aufgrund der großen Substanzmenge nicht praktikabel war, wurde der amorphe Feststoff nach mehrmaligem Waschen mit destilliertem Wasser in einer Lösung aus Ethylacetat/Methanol, im Verhältnis 9:1, ausgekocht und eine Stunde bei Raumtemperatur gealtert. Die anschließende Alkylierung erfolgte mittels MITSUNOBU-Reaktionen. Vorarbeiten von SPANIER und DIEDRICH ergaben, dass diese dazu geeignet ist 4-Alkoxy pyrimidin-Derivate ausgehend von **17** darzustellen. Da es sich bei **17** um ein ambidentes Nukleophil handelt ist sowohl eine O- als auch eine N-Alkylierung möglich. KORNBLUM *et al.* untersuchten den Einfluss von Silbersalzen auf das Produktverhältnis bei der Alkylierung ambidenter Nukleophile, wobei eine O-Selektivität beobachtet wurde.<sup>219</sup> MAYR *et al.* rationalisierten die höhere O-Regioselektivität in ihren Untersuchungen durch eine sterische Hinderung der N-Alkylierung durch das Silber-Kation.<sup>220</sup> Entsprechende Ansätze mit Methyljodid und resultierten entweder in einer sehr geringen Ausbeute oder zeigten keinen Umsatz von **17**. Die Verwendung von Cäsiumcarbonat als alternative Base oder Dimethylsulfat als Alkylanz zeigten ebenso keinen Umsatz zum angestrebten Produkt. Ein nahezu vollständiger Umsatz wurde unter MITSUNOBU-Bedingungen beobachtet. Dabei kann zwischen dem O- und dem N-alkylierten Produkt unter anderem anhand der chemischen Verschiebung des Pyrimidin- bzw. Pyrimidon-Ringprotons im <sup>1</sup>H-NMR unterschieden werden und so auf den Produktanteil geschlossen werden (Abbildung 30). Die Produkte konnten allerdings nicht isoliert werden. Als Grund dafür wurde die quantitative Verunreinigung der Produkte durch Triphenylphosphinoxid (TPPO) sowie Dihydro-DEAD angeführt. Im Folgenden wird eine stufenweise Optimierung der Reaktionsbedingungen vorgestellt. Außerdem werden erfolgreiche Methoden aufgeführt die Nebenprodukte der MITSUNOBU-Reaktion abzutrennen.

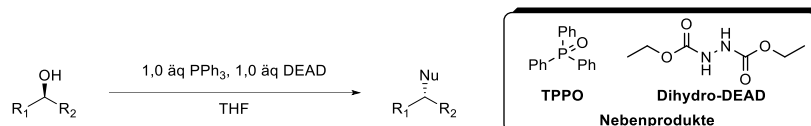
### **MITSUNOBU-Reaktion zur Darstellung von 4-Alkoxy pyrimidin-Derivaten**

Die von OYO MITSUNOBU erforschte und nach ihm benannte Reaktion ist eine Redox-Kondensation die zur Derivatisierung von Alkoholen zu Ethern, Thioethern, Aminen und Estern verwendet werden kann.<sup>221</sup> Dabei wird ein Phosphin-Reagenz oxidiert während das Azo-Reagenz reduziert wird. Der pK<sub>s</sub>-Wert des Pronukleophils darf dabei nicht höher als 11 sein, da das im Reaktionsmechanismus entstehende Betain (pK<sub>s</sub> 13) das Pronukleophil sonst nicht vollständig deportieren kann. Werden chirale sekundäre Alkohole verwendet kommt zur Inversion der Konfiguration des Stereozentrums.<sup>222</sup> Die nukleophile Substitution erfolgt dabei über einen S<sub>N</sub>2-Mechanismus. Aktuelle Methoden wurden entwickelt bei denen eines oder beide Reagenzien in katalytischen

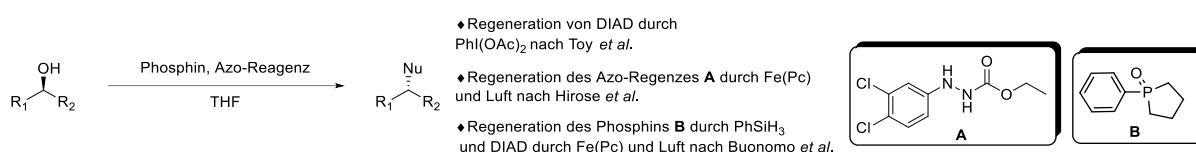
## ALLGEMEINER TEIL

Mengen eingesetzt werden und durch externe Redoxsubstrate regeneriert werden können.<sup>223</sup> Vor kurzem wurde auch eine redoxneutrale Variante der MITSUNOBU-Reaktion vorgestellt, die mit einem Organokatalysator auskommt (Abbildung 28). Durch den Einsatz dieser Methoden kann die schlechte Atomökonomie, bedingt durch das quantitative Anfallen von TPPO und des reduzierten Azo-Reagenzes verbessert werden. TOY *et al.* fanden, dass Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) in der MITSUNOBU-Reaktion katalytisch eingesetzt werden kann, wenn es durch Zugabe von (Diacetoxyiodo)benzen im Verlauf der Reaktion oxidativ regeneriert wird.<sup>224</sup> Durch den Einsatz eines Eisen(II)-phthalcyanin-Katalysators (Fe(Pc)) lässt sich unter Luftsauerstoffatmosphäre das Hydrazin-Derivat **A** zum Azo-Reagenz oxidieren und so die Funktionalisierung von Alkoholen nach HIROSE *et al.* durchführen.<sup>225</sup>

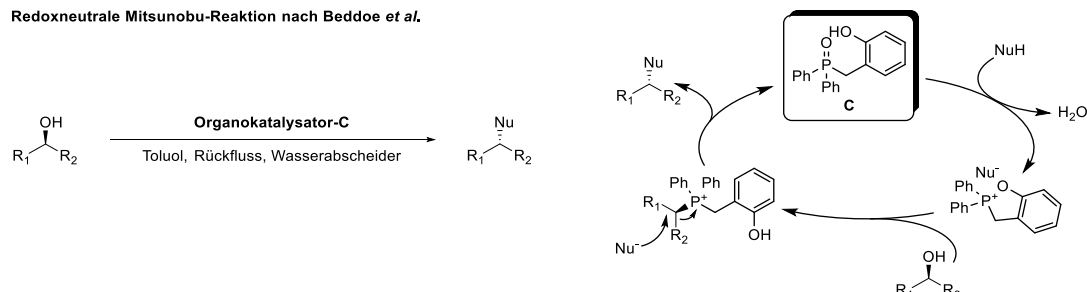
### Mitsunobu-Reaktion



### Mitsunobu-Reaktion unter Regeneration der Reagenzien durch externe Redoxsubstrate



### Redoxneutrale Mitsunobu-Reaktion nach Beddoe *et al.*

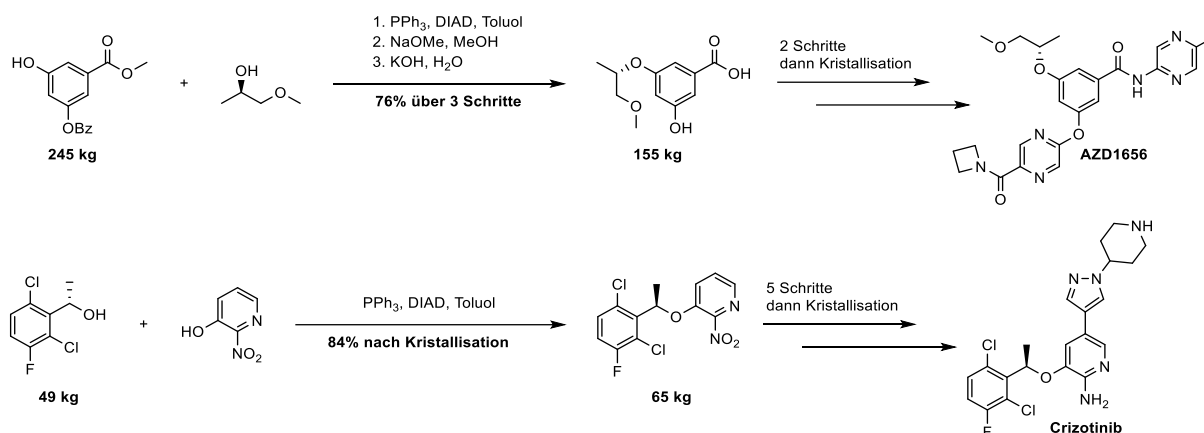


**Abbildung 28:** Varianten der MITSUNOBU-Reaktion.

BUONOMO *et al.* beschrieben die Regeneration und die katalytische Nutzung des Phosphin- als auch des Azo-Reagenzes in der MITSUNOBU-Reaktion durch Zugabe von Phenylsilan und Fe(Pc) unter Luftsauerstoffatmosphäre.<sup>226</sup> BEDDOE *et al.* publizierten die erste redoxneutrale MITSUNOBU-Reaktion. Dabei wird das Phosphinoxid **C** als Organokatalysator für die Reaktion verwendet und erlaubt u. a. Inversionsreaktionen an chiralen Alkoholen mit bis zu 99% e.e.<sup>227</sup> Möglichkeiten zur Verbesserung des Katalysators durch Fluor-Substitution wurden von ZOU *et al.* vorgestellt.<sup>228</sup> Trotz ihrer schlechten Atomökonomie wird die MITSUNOBU-Reaktion weiterhin für die Herstellung von klinischen Kandidaten im Pilotmaßstab herangezogen: Für die Entwicklung des Glukokinase-Aktivators AZD1656 durch AstraZeneca wurde nach Abwägen mehrerer

## ALLGEMEINER TEIL

Prozessfaktoren die MITSUNOBU-Reaktion für die Funktionalisierung des Resorzin-Derivats mit einem chiralen Alkohol herangezogen. Die Nebenprodukte konnten durch Animpfen<sup>w</sup> größtenteils auskristallisiert und abfiltriert werden. Das verbleibende Nebenprodukt konnte nach *Telescoping* des Reaktionsprodukts über zwei Schritte und anschließende Zwei-Phasen-Extraktion abgetrennt werden.<sup>229</sup>



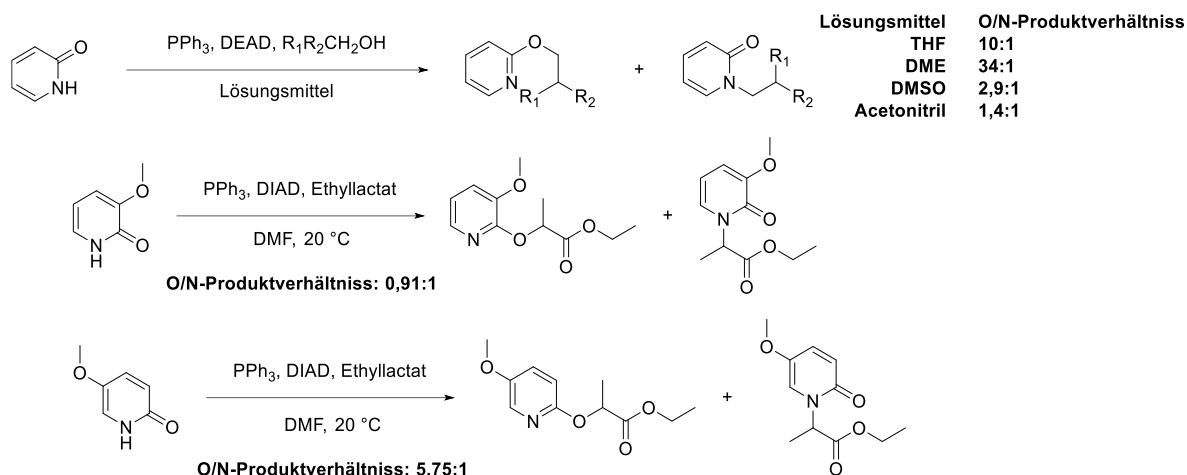
**Schema 5:** Einsatz der MITSUNOBU-Reaktion in der Entwicklung von Wirkstoffen.

Nachdem ein Erhitzen der Reaktionslösung aus Sicherheitsgründen<sup>x</sup> ausgeschlossen werden musste wendete Pfizer bei der Entwicklung einer Route zum c-Met/ALK-Inhibitor Crizotinib die MITSUNOBU-Kondensation an (Schema 5). Nachdem festgestellt wurde, dass der chirale Ether schlecht in Ethanol löslich ist, konnten die Nebenprodukte aufgrund ihrer guten Löslichkeit in Ethanol leicht abgetrennt werden.<sup>230</sup> Neben der Option die Nebenprodukte durch Kristallisation oder geeignete Lösungsmittelwahl abzutrennen, besteht die Möglichkeit immobilisierte Polystyrol-Phosphine und Azo-Reagenzien zu verwenden. Diese lassen sich leicht nach der Reaktion durch Filtration abtrennen.<sup>231, 232</sup> COMINS *et al.* demonstrierten den Einfluss des Lösungsmittels auf die Produktzusammensetzung bei der Alkylierung von 2-Pyridon unter MITSUNOBU-Bedingungen. Sie beobachteten einen höheren O-alkylierten Produktanteil in unpolaren Lösungsmitteln, während in polaren Lösungsmitteln ein Gemisch aus *N*- und O-alkylierten Produkten erhalten wurde (Schema 6).<sup>233</sup>

<sup>w</sup> Zugabe von TPPO und Dihydro-DIAD zur Einleitung der Kristallisation.

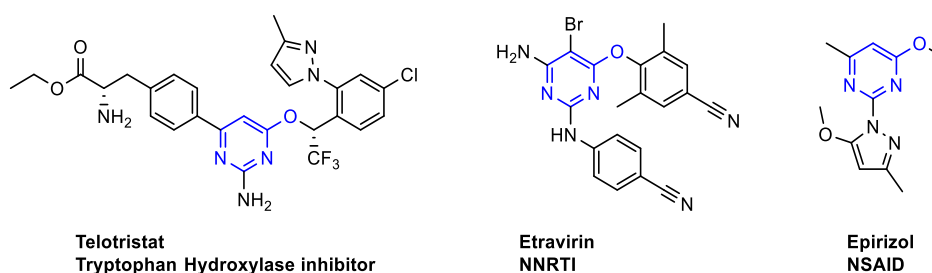
<sup>x</sup> Das Erhitzen des Nitropyridin-Derivats über 60 °C stellt aufgrund erhöhter Explosionsgefahr, ein Sicherheitsrisiko dar.

## ALLGEMEINER TEIL



**Schema 6:** Untersuchungen zur Alkylierung von Pyridonen unter MITSUNOBU-Bedingungen.

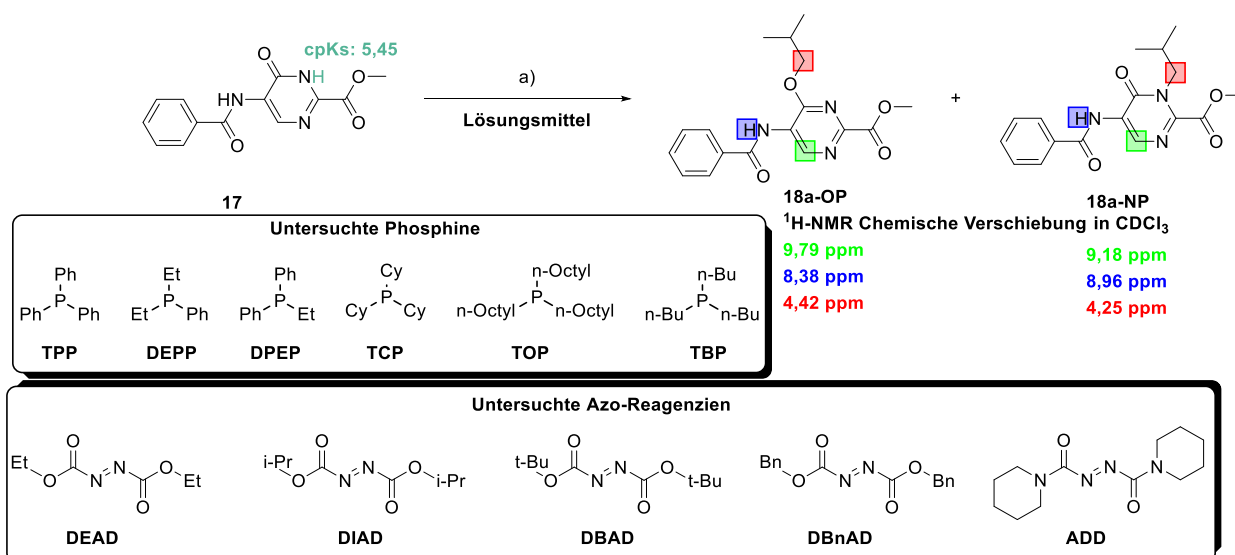
TORHAN *et al.* zeigten in ihren Untersuchungen zur Alkylierung substituierter Pyridone eine Korrelation zwischen dem Resonanzbeitrag der Substituenten und dem Produktverhältnis der MITSUNOBU-Reaktion. So lieferte die Reaktion mit 3-Methoxy-substituierten Pyridonen ein nahezu gleiches Verhältnis von *N*- und *O*-alkylierten Produkten während 5-Methoxy-substituierte Pyridone einen Überschuss an *O*-alkyliertem Produkt lieferten (Schema 6).<sup>234</sup>



**Abbildung 29:** Auswahl von Wirkstoffen mit dem Alkoxy-pyrimidin-Motiv (blau).

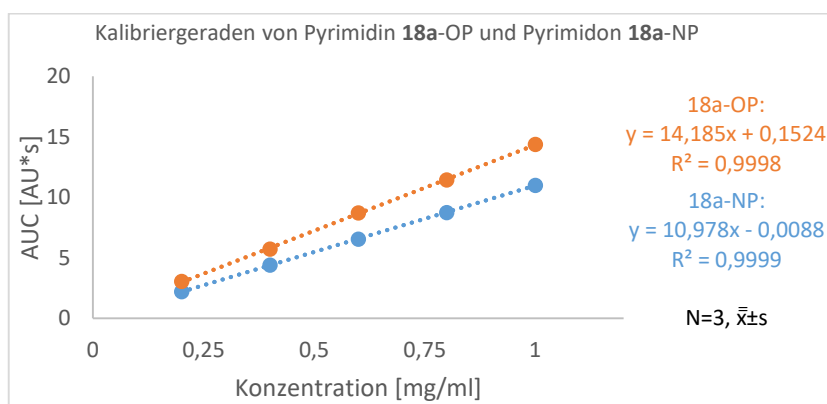
Alkoxy-pyrimidine stellen ein interessantes Strukturmotiv für die Entwicklung von Wirkstoffen dar. In Abbildung 29 sind einige Motiv-Vertreter aufgeführt: Telotristat ist ein Vertreter aus der Klasse der Tryptophan-Hydroxylase-Inhibitoren. Er wurde 2017 für die Behandlung von Diarrhoe verbunden mit dem Karzinoidsyndrom von der FDA und im selben Jahr von der EMA zugelassen. Der nicht-nukleosidische Reverse-Transkriptase-Inhibitor Etravirin wird seit 2008 zur Behandlung von HIV-Infektionen eingesetzt. Epirazol ist ein nichtsteroidales Antirheumatikum, das zur Behandlung von rheumatoider Arthritis entwickelt wurde. Weitere Untersuchungen wurden, wegen des Auftretens von Zwölffingerdarmgeschwüren in präklinischen Untersuchungen, nicht vorgenommen.<sup>235</sup>

## ALLGEMEINER TEIL



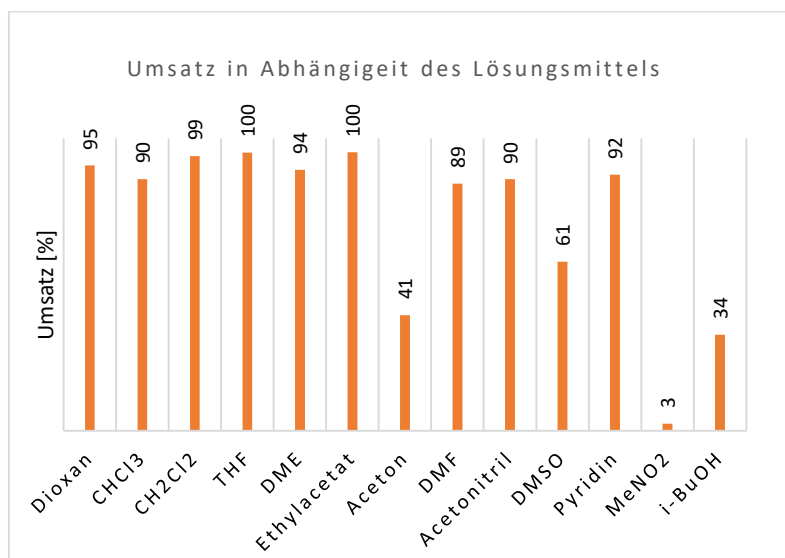
**Abbildung 30:** Synthese von **18a-OP** und **18a-NP**: a) 1,30 äq. Phosphin, 1,30 äq. Azo-Reagenz, 1,30 äq. *iso*-Butanol, Lösungsmittel, 0,25 M, 0 °C-RT, 24 h, 0,5 mmol Maßstab. Chemische Verschiebung der Protonen von **18a-OP** und **18a-NP** in CDCl<sub>3</sub> sowie verwendetes Phosphine und Azo-Reagenzien. cpKs von **17** kalkuliert mit MarvinSketch (ChemAxon).

In Anlehnung an die Studien von COMINS *et al.* wurde der Lösungsmiteleinfluss auf das Verhältnis von *N*- und *O*-alkylierten Produkten bei der Alkylierung von **17** unter MITSUNOBU-Bedingungen untersucht. Dazu wurden **17**, Triphenylphosphin und *iso*-Butanol im entsprechenden Lösungsmittel suspendiert. Die Suspension wurde mit einem Eisbad abgekühlt und tropfenweise mit DIAD versetzt, wonach sich eine klare Reaktionslösung bildete. Der Reaktionsansatz wurde nach entfernen des Eisbads 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach chromatographischer Auftrennung der Regioisomere von **18a** konnten diese Anhand der chemischen Verschiebung (Pyrimidinringproton, Benzamidproton und Methylengruppe) unterschieden werden (Abbildung 30).<sup>210</sup> Beide Regioisomere wurden mittels HPLC untersucht, um die Retentionszeiten zu ermitteln.



**Abbildung 31:** Kalibriergerade von **18a-OP** und **18a-NP**; Auftragung der AUC gegen fünf Konzentrationen.

Anschließend wurden durch das Vermessen der AUC (*area under the curve*) bei fünf unterschiedlichen Konzentrationen von **18a-OP** und **18a-NP** eine Kallibriergeraden für beide Verbindungen erstellt (Abbildung 31). Damit war es möglich die Produktzusammensetzung und den Umsatz von **17** im Anschluss an die Reaktion mittels HPLC zu bestimmen.

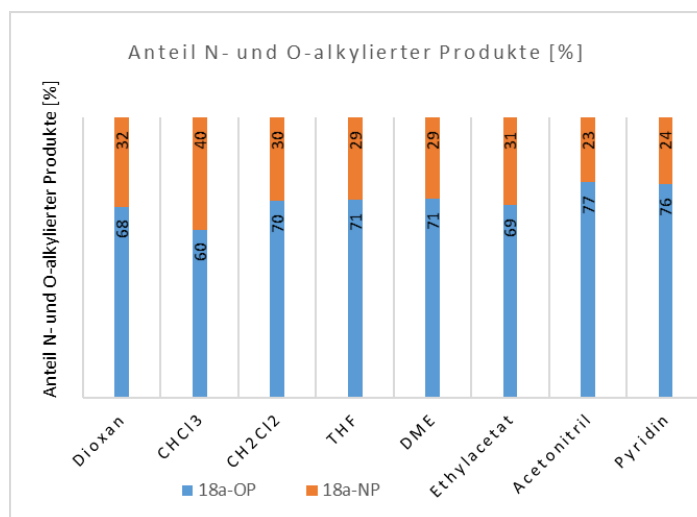


**Abbildung 32:** Umsatz von **17** in Abhängigkeit vom verwendeten Lösungsmittel. Berechnet nach:  $\frac{[\text{Produktfläche}]}{([\text{Produktfläche}] + [\text{Eduktfläche}]})$ . Triphenylphosphin und DIAD wurden als Reagenzien eingesetzt.

Insgesamt wurden 13 Lösungsmittel untersucht. Der Umsatz wurde in Abbildung 32 für die verwendeten Lösungsmittel aufgetragen. Vier der verwendeten Lösungsmittel lieferten Umsätze über 95%. Im Fall von Lösungsmitteln die einem Umsatz unter 50% aufweisen, löste sich das Edukt **17** nach der Zugabe von DIAD nicht oder nur teilweise<sup>y</sup>. Für die Betrachtung des *O/N*-Verhältnisses bezieht sich Abbildung 33 daher nur auf die Lösungsmittel, die einen Umsatz  $\geq 90\%$  aufwiesen.

<sup>y</sup> Diethylether wurde deswegen aus der Untersuchung ausgeschlossen.

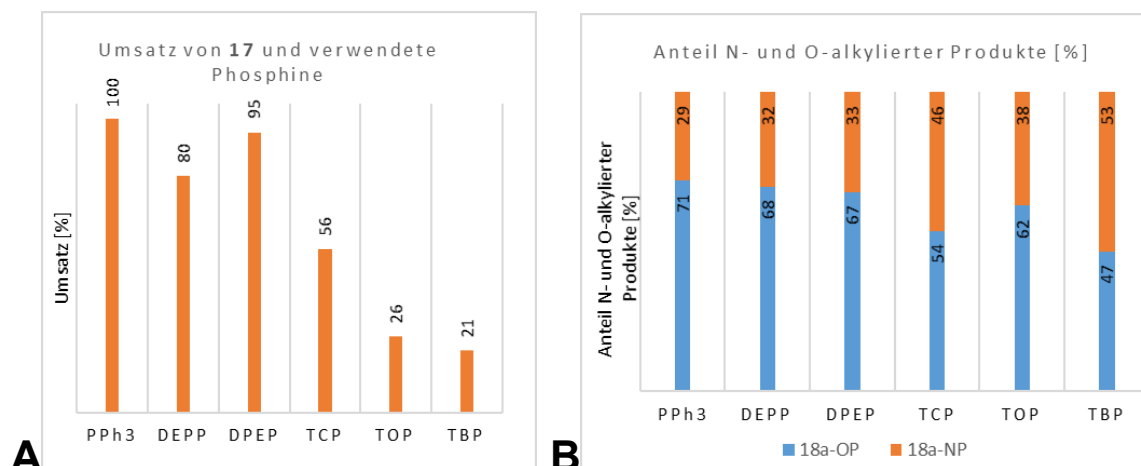
## ALLGEMEINER TEIL



**Abbildung 33:** Anteile von **18a-OP** und **18a-NP** in Prozent in Abhängigkeit des verwendeten Lösungsmittels. Triphenylphosphin und DIAD wurden als Reagenzien eingesetzt.

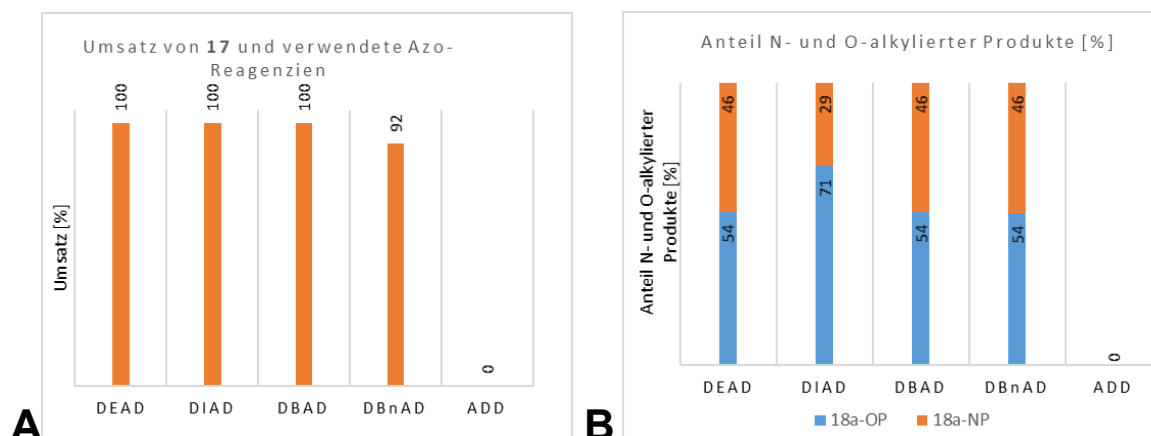
Acetonitril und Pyridin zeigten mit 77% und 76% den höchsten Anteil an O-alkyliertem Produkt allerdings einen unvollständigen Umsatz (90% und 92%). Dioxan, THF, Dichlormethan, DME und Ethylacetat bilden die Gruppe mit dem zweithöchsten Anteil an O-alkyliertem Produkt (68% - 71%) und einem Umsatz von 95% bis 100%. Das Produktverhältnis ließ sich allerdings nicht mit Lösungsmiteleigenschaften wie Dipolmoment oder Dielektrizitätskonstante korrelieren. Ferner ließ sich kein signifikanter Unterschied im O/N-Verhältnisses der untersuchten Lösungsmittel beobachten. Für die weiteren Untersuchungen wurde THF als Lösungsmittel ausgewählt, da es einen hohen Umsatz mit einem hohen Anteil an **18a-OP** aufwies. Im nächsten Schritt wurde der Einfluss des Phosphins auf den Reaktionsumsatz und das Produktverhältnis untersucht. Aufgrund der Reaktivität einiger Phosphine gegenüber Feuchtigkeit und Sauerstoff wurde die Reaktion in trockenem THF und unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Nur zwei der sechs untersuchten Phosphine lieferten einen Umsatz  $\geq 95\%$  (Triphenylphosphin und Diphenylethylphosphin). Der Einsatz von TCP, TOP oder TBP dagegen lieferte einen geringeren Umsatz. Beim O/N-Verhältnis zeigte PPh<sub>3</sub> mit 71% den höchsten Anteil an **18a-OP** (Abbildung 34).

## ALLGEMEINER TEIL



**Abbildung 34:** Reaktionsumsatz in Abhängigkeit vom eingesetzten Phosphin (A) und Anteile von *N*- und *O*-alkylierter Produkte (B). DIAD als Azo-Reagenz und THF als Lösungsmittel wurden bei dieser Untersuchung verwendet.

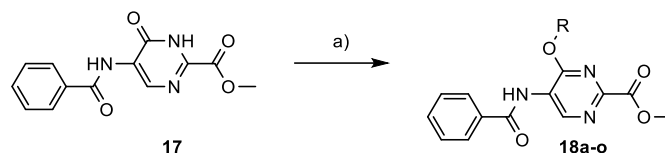
In weiteren Ansätzen wurde der Einfluss der Azo-Reagenzien auf die Reaktion untersucht (Abbildung 35). Drei der fünf untersuchten Reagenzien lieferten einen vollständigen Umsatz wobei ADD keinen Umsatz von **17** zeigte. Der Einsatz von DIAD lieferte den höchsten Anteil an **18a-OP**. Bei der Alkylierung von 4-Chinolonen mittels MITSUNOBU-Reaktion beobachteten HARTUNG *et al.* eine Erhöhung des *O/N*-Verhältnis durch eine Steigerung der Alkohol-Äquivalente.<sup>236</sup> Eine Anheben der Äquivalente des Proelektrophils führten jedoch zu keiner Veränderung des *O/N*-Verhältnisses.



**Abbildung 35:** Reaktionsumsatz in Abhängigkeit vom eingesetzten Azo-Reagenz (A) und Anteile von *N*- und *O*-alkylierter Produkte (B). PPh<sub>3</sub> als Phosphin und THF als Lösungsmittel wurden bei dieser Untersuchung verwendet.

Nachdem die Kombination aus PPh<sub>3</sub>, DIAD und THF als geeignet identifiziert wurde, um einen möglichst hohen Anteil an **18a-OP** bei der Umsetzung von **17** zu erhalten wurden unter diesen Bedingungen eine Reihe unterschiedlich substituierter 4-Alkoxyypyrimidine **18a-o** synthetisiert (Schema 7).

## ALLGEMEINER TEIL



**Schema 7:** Umsetzung von **17** mit verschiedenen Alkoholen zu den 4-Alkoxypyrimidinen **18a-o**: a) 1,30 äq. PPh<sub>3</sub>, 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. ROH, THF, 0 °C-RT, 24 h.

**Tabelle 3:** Übersicht der Derivate **18a-o** mit den entsprechenden Resten und Ausbeuten.

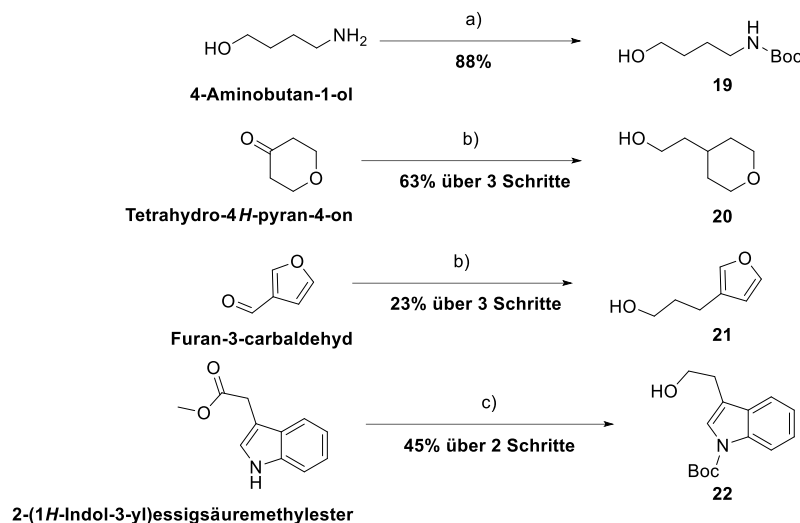
| Verbindung | R | Ausbeute <sup>I</sup> |
|------------|---|-----------------------|
| <b>18a</b> |   | 59%                   |
| <b>18b</b> |   | 45%                   |
| <b>18c</b> |   | 37%                   |
| <b>18d</b> |   | 22%                   |
| <b>18e</b> |   | 4%                    |
| <b>18f</b> |   | 6%                    |
| <b>18g</b> |   | 35%                   |
| <b>18h</b> |   | 24%                   |
| <b>18i</b> |   | 30%                   |
| <b>18j</b> |   | 6%                    |
| <b>18k</b> |   | 45%                   |
| <b>18l</b> |   | 27%                   |
| <b>18m</b> |   | 31%                   |
| <b>18n</b> |   | 35%                   |
| <b>18o</b> |   | 65%                   |

<sup>I</sup> Bezogen auf das isolierte Produkt nach Abtrennung der Nebenprodukte und Chromatographie.

Die Ausbeuten beziehen sich auf die O-alkylierten Produkte, da die N-alkylierte Pyrimidone, die unter den MITSUNOBU-Bedingungen gebildet wurden, selbst nach chromatographischer Aufreinigung mit den Nebenprodukten der Reaktion verunreinigt waren (Tabelle 3). Diese konnten erst nach weiterer Umsetzung des Produktgemischs in

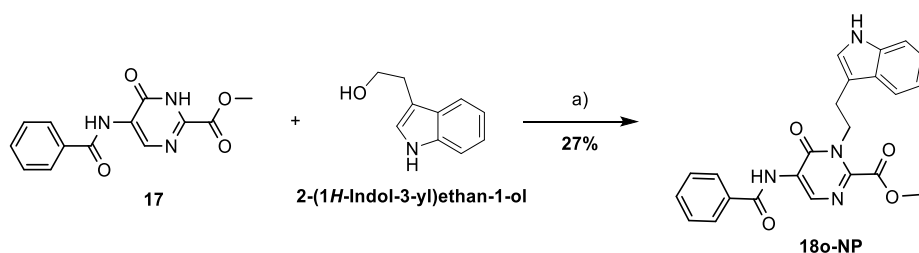
## ALLGEMEINER TEIL

Folgereaktionen entfernt werden. Für die Synthese der Verbindungen **18g**, **18i**, **18m** und **18o** wurden die Alkohole nach Literaturvorschriften hergestellt (Schema 8).



**Schema 8:** Synthese der Alkohole **20**, **21** und **22** für die MITSUNOBU-Reaktion mit **17**: a) 1,10 äq.  $\text{Boc}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C-RT, 4 h; b) 1,25 äq. NaH, 1,25 äq.  $(\text{EtO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ , THF, 0 °C-RT, 14 h, dann 10% w/t Pd(C),  $\text{H}_2$ , EtOH, RT, 8 h, dann 1,10 äq.  $\text{LiAlH}_4$ , THF, 0 °C-RT, 6 h; c) 0,20 äq. DMAP, 3,00 äq.  $\text{Boc}_2\text{O}$ , Acetonitril, 0 °C-RT, dann 1,30 äq.  $\text{LiAlH}_4$ , THF, 0 °C-RT.

Der Alkohol **19** wurde durch Umsetzung von 4-Aminobutan-1-ol mit Boc-Anhydrid in Dichlormethan nach einer Vorschrift von DOHNO *et al.* erhalten.<sup>237</sup> Das Produkt konnte nach chromatographischer Aufreinigung mit einer Ausbeute von 88% erhalten werden. Die Alkohole **20** und **21** wurden über drei Schritte ohne säulenchromatographische Reinigung der Zwischenstufen synthetisiert. Dabei wurde die Reaktionsfolge einer HORNER-WADSWORTH-EMMONS-Olefinierung, gefolgt von einer Reduktion des Olefins unter Verwendung von Palladium auf Aktivkohle und einer Wasserstoff-Atmosphäre sowie einer Reduktion der Esterfunktionalität mit Lithiumaluminiumhydrid in THF zu den entsprechenden Alkoholen eingesetzt.<sup>238,239</sup> Nach chromatographischer Aufreinigung konnten die Alkohole **19** und **22** mit einer Ausbeute von 63% bzw. 23% isoliert werden. Das Indol-Derivat **22** wurde synthetisiert, da 2-(1H-Indol-3-yl)ethan-1-ol nach einer Umsetzung mit **17** unter MITSUNOBU-Bedingungen nur das N-substituierte Pyrimidon **18o-NP** lieferte (Schema 9).



**Schema 9:** Darstellung des Pyrimidons **18o-NP**: a) 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq.  $\text{PPh}_3$ , 1,30 äq. 2-(1H-Indol-3-yl)ethan-1-ol, THF, 0 °C-RT, 24 h.

Nach der Boc-Schützung von 2-(1*H*-Indol-3-yl)essigsäuremethylesters mit Boc-Anhydrid in Acetonitril wurde das Zwischenprodukt nach einer wässrigen Aufarbeitung mit Lithiumaluminiumhydrid in THF umgesetzt, um die Estergruppe zu reduzieren. Der Alkohol **22** konnte nach einer chromatographischen Aufreinigung in einer Ausbeute von 45% isoliert werden.

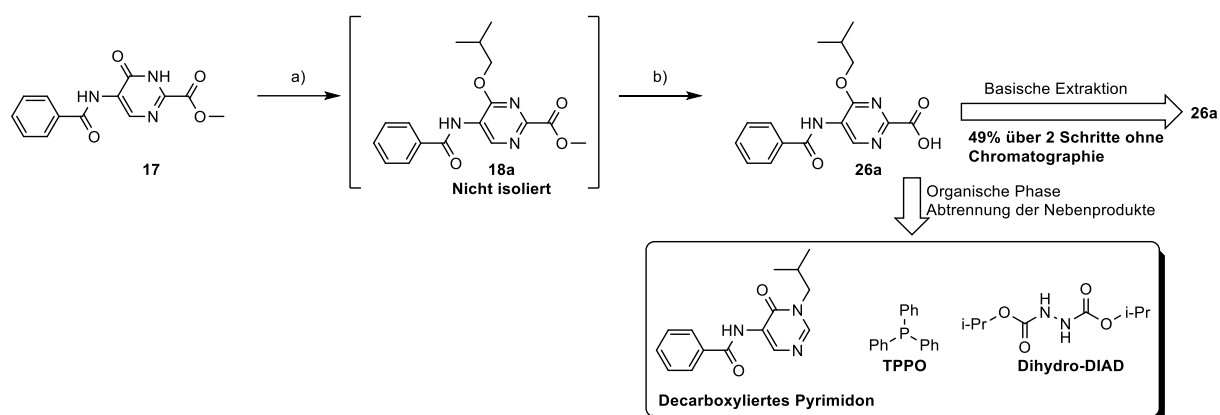
**Tabelle 4:** Methoden zur Abtrennung von TPPO.

| Eintrag | Bedingungen                                    | Prinzip                  | Resultat <sup>1</sup> |
|---------|------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 1       | 2,0 äq. ZnCl <sub>2</sub> , EtOAc, RT, 3 h     | Komplexbildung mit TPPO  | Spuren von TPPO (DC)  |
| 2       | 2,0 äq. MgCl <sub>2</sub> , Toluol, 60 °C, 3 h | Komplexbildung mit TPPO  | Kein TPPO Spot (DC)   |
| 3       | Et <sub>2</sub> O/ <i>n</i> -Hexan, 9:1        | Kristallisation von TPPO | Spuren von TPPO (DC)  |
| 4       | Toluol/Cyclohexan 9.1                          | Kristallisation von TPPO | Spuren von TPPO (DC)  |

<sup>1</sup>Vergleich mittels DC-Kontrolle vor und nach der Abtrennung.

Das anfallende TPPO und Dihydro-DIAD erschwerte die chromatographische Aufreinigung der 4-Alkoxypyrimidine. Darum wurden Möglichkeiten untersucht diese im Vorfeld zu entfernen. Neben der Kristallisation oder Präzipitation der Nebenprodukte ergeben sich Einsatzmöglichkeiten von Lewis-Säuren zur Komplexierung von TPPO. BATESKY *et al.* beschrieben die Komplexbildung von TPPO mit Zinkchlorid in Ethanol oder Ethylacetat, die es erlaubt den entstehenden Zn-TPPO-Komplex durch Filtration abzutrennen.<sup>240</sup> Ferner lieferten sie eine Übersicht von Methoden, die erfolgreich zur Abtrennung von TPPO eingesetzt wurden. Eine weitere Möglichkeit stellt die Nutzung von Magnesiumchlorid in Toluol dar. LUKIN *et al.* konnten auf diese Weise den entstandenen TPPO-Komplex nach einer Pilotreaktion erfolgreich durch Filtration abtrennen.<sup>241</sup> Die Möglichkeit durch den Einsatz unpolarer Lösungsmittel TPPO zu kristallisieren und so abzutrennen, besteht wenn das Reaktionsprodukt löslich in dem verwendeten Lösungsmittelgemisch ist. Diethylether und *n*-Hexan sowie Toluol und Cyclohexan stellen geeignete Lösungsmittelkombinationen dar.<sup>242,243</sup> Da für die Synthesen von Alkoxypyrimidin-basierten Inhibitoren Multigramm-Mengen von **18a** und **18b** benötigt wurden, wurden die in Tabelle 4 aufgeführten Methoden verwendet, um das TPPO vor der Chromatographie teilweise abzutrennen. Von den Untersuchten Methoden eignete sich Kristallisationsmethode unter Nutzung von Diethylether und *n*-Hexan am besten für das Hochskalieren, da sie ohne Lewis-Säuren auskommt, die Produkte darin löslich sind und

die Lösungsmittel sich leichter als das Toluol/Cyclohexan-Gemisch entfernen lassen. Dabei wurde das Rohprodukt nach dem Entfernen des THF in Diethylether gelöst und anschließend mit *n*-Hexan versetzt. Wenn nach wenigen Minuten keine Kristallisation eintrat, wurde die Lösung mit einem Eisbad gekühlt, umso die Kristallisation zu initiieren. Nach der Filtration und chromatographischen Auftrennung der Regioisomere wurden die Produkte durch Umkristallisation weiter aufgereinigt. Da beide Regioisomere isoliert wurden konnte eine Strategie die ohne Chromatographie auskommt nur im Gramm-Maßstab erprobt werden (Schema 10). Dabei wird die Beobachtung genutzt, dass die Lithiumcarboxylat-Salze der substituierten Pyrimidone (**15a-c**) beim Überführen in die konjugierte Säure decarboxylieren.<sup>211,210</sup>



**Schema 10:** Synthese und Isolation von **18a** ohne Chromatographie: a) 1,30 äq.  $\text{PPh}_3$ , 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. ROH, THF, 0 °C-RT, 3 h; dann b) 1,8 äq. LiOH, THF/ $\text{H}_2\text{O}$ , RT, 24; dann 1 M HCl und Zwei-Phasen-Extraktion  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{aq.})$ .

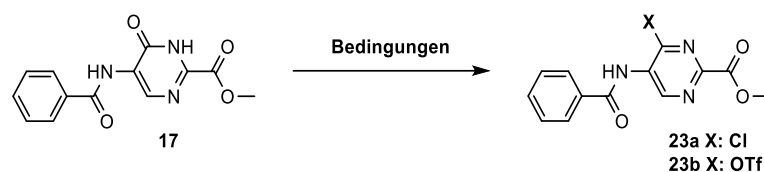
Nach der Umsetzung von **17** wurde das Produktgemisch direkt mit einer wässrigen Lösung von Lithiumhydroxid versetzt. Im Anschluss an die Umsatzbestätigung der Regioisomere mittels DC, wurde die Reaktionslösung mit Salzsäure auf pH 1 eingestellt, das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, mit Natriumcarbonat-Lösung versetzt und solange gerührt bis sich zwei klare Phasen bildeten. Die organische Phase wurde mit Natriumcarbonat-Lösung extrahiert und die wässrige Phase mit Dichlormethan extrahiert. Anschließend wurde die wässrige Phase mit Salzsäure versetzt, wodurch **26a** als farbloser Feststoff präzipitierte (Schema 10). Die isolierte Carbonsäure **26a** konnte nach der Umkristallisation aus Wasser/Ethanol in Amidkupplungsreaktionen zur Synthese von Bipyrimidinamiden eingesetzt werden.

### Synthese von 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen mittels nukleophiler aromatischer Substitution

Der bioisostere Ersatz von Molekülstrukturen ist eine Strategie zur Verbesserung der Eigenschaften von Wirkstoffen. Tetrazole stellen aufgrund ihrer ähnlichen Acidität, Raumerfüllung und Wasserstoff-Brücken-Eigenschaften eine Gruppe für den bioisosteren

Ersatz von Carbonsäuregruppen dar.<sup>244</sup> Daneben wurden Möglichkeiten für den bioisosteren Austausch von Ester-, Amide-, Aryl-, Wasserstoff-, Halogen-, Hydroxyl- und Alkyl-Substituenten gefunden und erfolgreich eingesetzt.<sup>245</sup> Thioether stellen in diesem Kontext einen bioisostere Ersatzmöglichkeit für Ether dar. Im Gegensatz zu Ethern weisen Thioether längere Heteroatom-Kohlenstoff-Bindungen sowie einen kleineren Kohlenstoff-Heteroatom-Kohlenstoff-Winkel auf als Ether.<sup>246</sup> Der Ersatz von Ethergruppen durch Thioether bei der Entwicklung von Wasserstoffbrücken-gesteuerten  $\alpha$ -Helix-Mimetika noch nicht untersucht. Vor diesem Hintergrund stellt die Synthese von 4-Thioalkylpyrimidinen, deren Einsatz als Bausteine für die Synthese von  $\alpha$ -Helix-Mimetika und der Vergleich ihrer Wirksamkeit mit den Ether-Analoga in biologischen Systemen ein interessantes Forschungsfeld dar. Für die Synthese von 4-Thioalkylpyrimidinen sollte **17** mit einer Abgangsgruppe in 4-Position funktionalisiert werden, um anschließend eine nukleophile aromatische Substitution mit Alkanthiolen und Thiophenolen durchführen zu können (Tabelle 5). Die Triflatgruppe stellt eine gute Abgangsgruppe für die Funktionalisierung von Aromaten in Substitutionsreaktionen oder Kreuzkupplungsreaktionen dar.<sup>247,248</sup> Li *et al.* beschreiben die Triflatierung 2,6-disubstituierter Pyrimidone mittels Trifluormethansulfonsäureanhydrid ( $\text{ Tf}_2\text{O}$ ) und Diisopropylethylamin (DIPEA) in Dichlormethan.<sup>249</sup> Die Umsetzung von **17** in Anlehnung an diese Vorschrift führte zwar zu einem Umsatz des Edukts, jedoch konnte das Produkt **23b** durch eine chromatographische Aufreinigung nicht isoliert werden. In der Annahme, dass das O-Triflylpyrimidin instabil ist wurde im Anschluss an die Umsetzung von **17** mit  $\text{ Tf}_2\text{O}$  versucht das Zwischenprodukt **23b** direkt mit 2-Mercaptobutan umzusetzen. Das Produkt konnte jedoch nicht aus dem Reaktionsgemisch nach durchgeführter Aufreinigung isoliert werden. Eine Desoxychlorierung der 4-Position von **17** in Gegenwart von Phosphoroxychlorid ( $\text{ POCl}_3$ ) war die zweite Strategie die verfolgt wurde. Den Ausgangspunkt für diesen Ansatz stellte die Vorschrift von Oka *et al.* für die Chlorierung von 2-Acetamidohydroxypyrimidin-Derivaten mit einem Überschuss an  $\text{ POCl}_3$  in Acetonitril dar.<sup>250</sup> Ein analoger Ansatz zeigte zwar eine rasche Umsetzung von **17**, die Isolation des angestrebten Produkts war jedoch nicht möglich. Robins *et al.* beschrieben den Einfluss einer sekundären Chlorid-Quelle, in Form von Tetraethylammoniumchlorid, auf den Verlauf der Desoxychlorierung von Adenosin-Derivaten und beobachteten eine deutliche Verbesserung der Ausbeute.<sup>251</sup> Savall *et al.* nutzten diese Beobachtung für die Optimierung der  $\text{ POCl}_3$ -medierten Chlorierung substituierter Hydroxypyrimidine.<sup>252</sup> In Anlehnung an diese Vorschrift wurde **17** mit einem Überschuss an  $\text{ POCl}_3$  und  $\text{ Et}_4\text{NCl}$  umgesetzt und **23a** mit einer Ausbeute von 38% isoliert (Schema 11 und Tabelle 5).

## ALLGEMEINER TEIL



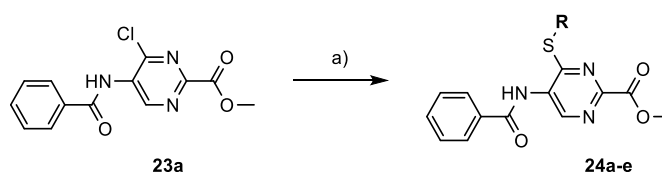
**Schema 11:** Umsetzungsversuche von **17** zur Einführung einer Abgangsgruppe in 4-Position nach den Bedingungen in Tabelle 5.

**Tabelle 5:** Bedingungen für die Umsetzung von **17** zur Einführung einer Abgangsgruppe in 4-Position.

| Eintrag | Bedingungen                                                                                                                                          | Ausbeute                     |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| 1       | 1,30 äq. Tf <sub>2</sub> O, 1.80 äq. DIPEA, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C-RT, 3 h                                                           | Nicht isoliert <sup>I</sup>  |
| 2       | 1,30 äq. Tf <sub>2</sub> O, 1.80 äq. DIPEA, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C-RT, 3 h,<br>dann 2.00 äq. DIPEA, 1.10 äq. 2-Mercaptobutan, RT, 1h | Nicht isoliert <sup>I</sup>  |
| 3       | 5,00 äq. POCl <sub>3</sub> , 2,00 äq. DIPEA, Acetonitril, 80 °C, 1 h                                                                                 | Nicht isoliert <sup>II</sup> |
| 4       | 5,00 äq. POCl <sub>3</sub> , 2,00 äq. NEt <sub>4</sub> Cl, 0,50 äq. NEt <sub>3</sub> ,<br>Acetonitril 80 °C, 1 h                                     | 38% <sup>II</sup>            |
| 5       | 5,00 äq. POCl <sub>3</sub> , 2,00 äq. NEt <sub>3</sub> HCl, 0,50 äq. NEt <sub>3</sub> ,<br>Acetonitril 80 °C, 1 h                                    | 55% <sup>II,III</sup>        |

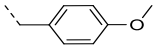
<sup>I</sup> Durchgeführt im 1,3 mmol Maßstab; <sup>II</sup> Durchgeführt im 1,8 mmol Maßstab; Ausbeute von 68% im 44 mmol Maßstab.

Eine Verbesserung der Ausbeute auf 55% wurde erreicht, indem Et<sub>3</sub>NHCl als sekundäre Chlorid-Quelle verwendet wurde. **23a** ließ sich nach Quenchen der Reaktionslösung durch Filtration und Umkristallisation aus *n*-Hexan/Ethylacetat isolieren. Die Umsetzung von **23a** zu den Thioethern **24a-e** erfolgte nach einer Vorschrift von SETO *et al.*<sup>253</sup> Dabei wurde **23a** zusammen mit Kaliumcarbonat in DMF suspendiert und die Suspension mit einem entsprechenden Thiol versetzt. Nach einer Stunde bei 60 °C wurde das Produkt durch eine wässrige Aufarbeitung und anschließende Flash-Chromatographie isoliert. Im Weiteren wurde versucht **23a** zu nutzen, um 4-Alkoxy-pyrimidine darzustellen, die nicht durch die MITSUNOBU-Reaktion zugänglich waren oder nur in geringe Ausbeuten erhalten werden konnten (Schema 12 und Tabelle 6).

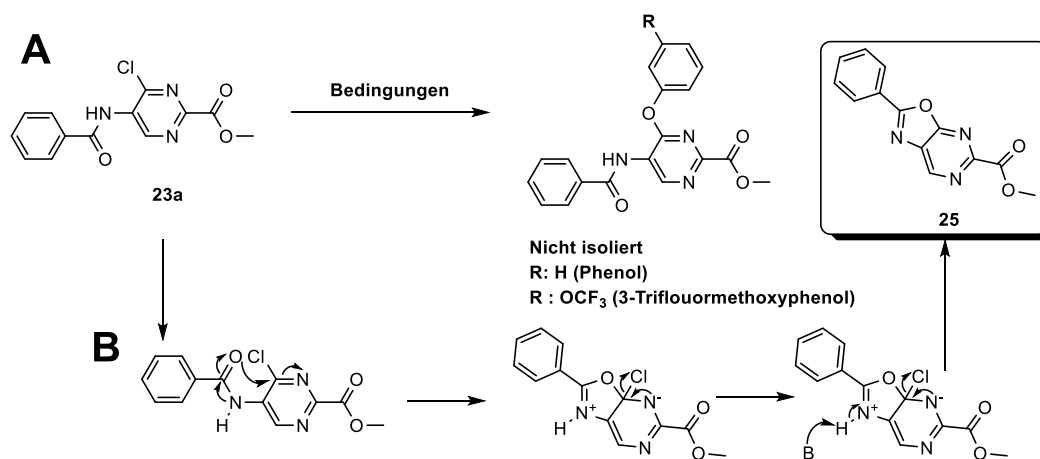


**Schema 12:** Umsetzung von **23a** mit verschiedenen Thiolen zu den 4-Thioalkylpyrimidinen **24a-e**: a) 2,00 äq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1,10 äq. Thiol, DMF, 60 °C, 1 h.

**Tabelle 6:** Übersicht der Seitenketten von **24a-e** mit den entsprechenden Ausbeuten.

| Verbindung | R                                                                                 | Ausbeute |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>24a</b> |  | 82%      |
| <b>24b</b> |  | 67%      |
| <b>24c</b> |  | 68%      |
| <b>24d</b> |  | 30%      |
| <b>24e</b> |  | 68%      |

Diarylether sind nicht über die MITSUNOBU-Reaktion zugänglich. Unter Anwendung einer Patentvorschrift von NUNES *et al.* wurde versucht Arylether-Derivate ausgehend von **23a** darzustellen.<sup>254</sup> Dazu wurde eine eiskalte Lösung eines Phenoles in Acetonitril mit Natriumhydrid versetzt und anschließend **23a** hinzugegeben. Nach zwei Stunden wurde ein deutlicher Umsatz des Startmaterials beobachtet. Die Analyse des Produkts mittels <sup>1</sup>H-NMR und ESI-MS zeigt allerdings nicht wie erwartet Signale des Diarylethers, sondern des Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidins **25**. Weitere Reaktionsbedingungen unter Variation der Base, des Phenols und der Temperatur wurden untersucht (Schema 13 und Tabelle 7).

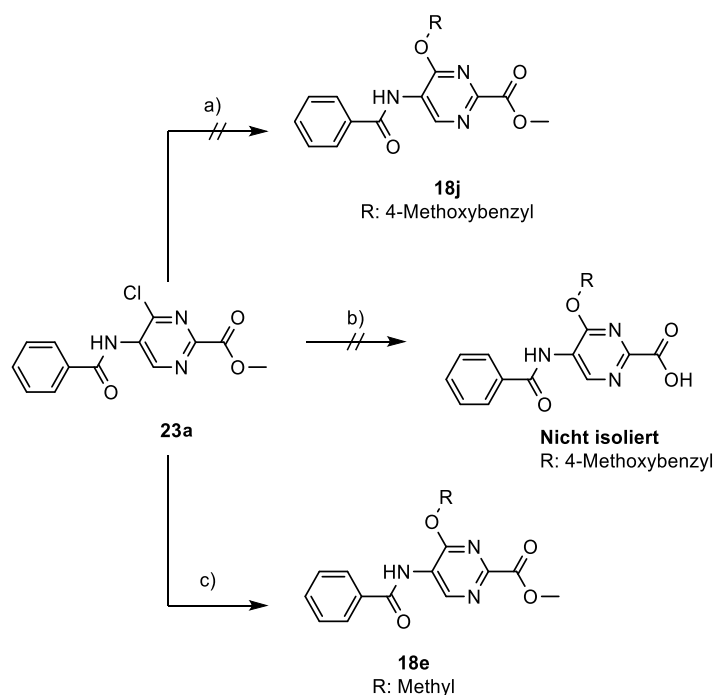
**Schema 13:** Ansätze zur Darstellung von Diarylethern ausgehend von **23a** (A). Möglicher Mechanismus der Bildung des Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidins **25** (B). Die Bedingungen sind in Tabelle 7 aufgeführt.

**Tabelle 7:** Reaktionsbedingungen für die Umsetzung von **23a** zu Diarylethern .

| Eintrag | Bedingungen                                                                       | Ausbeute <sup>1</sup> |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 1       | 1,00 äq. NaH, 1,00 äq. 3-Trifluormethoxyphenol,<br>Acetonitril, 0 °C-RT, 2 h      | 16%                   |
| 2       | 2,00 äq. DABCO, 1,00 äq. 3-Trifluormethoxyphenol<br>DMF, MW: 150W, 80 °C, 10 min. | 42%                   |
| 3       | 2,00 äq. Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1,00 äq. Phenol DMF, 80 °C, 2 h        | Nicht isoliert        |
| 4       | 2,00 äq. NEt <sub>3</sub> , 1,00 äq. Phenol DMF, 80 °C, 2 h                       | Nicht isoliert        |

<sup>1</sup> Bezogen auf das isolierte Oxazolo[5,4-*d*]pyrimidin **25**.

Die Reaktion von **23a** unter Mikrowellenbedingungen in DMF mit DABCO als Base lieferte das intramolekulare Kondensationsprodukt **25** mit verbesserter Ausbeute als einziges isoliertes Produkt. Auch andere Basen wie Cäsiumcarbonat oder Triethylamin lieferten nicht den beabsichtigten Diarylether (Schema 13). Eine mögliche Erklärung für die Beobachtung der Bildung von **25** anstelle des Diarylethers ist, dass intramolekulare Reaktionen schneller ablaufen als intermolekulare Reaktionen. Ein möglicher Mechanismus für die intramolekulare Ringschlussreaktion ist in Schema 13 dargestellt.



**Schema 14:** Ansätze zur Darstellung von 4-Alkoxypyrimidinen ausgehend von **23a**: a) 1,00 äq. NaH, 1,00 äq. 4-Methoxybenzylalkohol, DMF, 0 °C-RT, 1 h; b) 1,00 äq. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O, RT, 16 h, dann 1,10 äq. NaH, 1,20 äq. 4-Methoxybenzylalkohol, DMF, 0 °C-RT, 1 h, dann 60 °C, 3 h; c) 3,00 äq. NaOMe, MeOH, 0 °C-RT, 18 h.

Die Umsetzung des Pyrimidons **17** unter MITSUNOBU-Bedingungen mit Methanol und Benzylalkoholen lieferte die Produkte **18e** und **18j** nur in geringen Ausbeuten. HARRIS *et al.* beschreiben die Funktionalisierung von 4-Chlor-2-(methylthio)pyrimidin-5-carbonsäureethylestern mittels nukleophiler aromatischer Substitutionen.<sup>255</sup> Eine Umsetzung von **23a** in Gegenwart von Natriumhydrid mit 4-Methoxybenzylalkohol in DMF, in Anlehnung an diese Vorschrift, ergab eine rasche Umsetzung des Edukts zu einem komplexen Produktgemisch aus dem **18j** nicht isoliert werden konnte (Schema 14). Da die Estergruppe von **23a** reaktiv gegenüber Hydrolysebedingungen ist und damit unter den verwendeten Bedingungen zu Nebenreaktionen führen kann, wurde in einem weiteren Ansatz zunächst der Ester unter Verwendung von Lithiumhydroxid zum Lithiumcarboxylat-Salz von **23a** umgesetzt. Das Zwischenprodukt wurde nach einem Lösungsmitteltausch unter Verwendung von DMF nach der Vorschrift von HARRIS *et al.* weiter umgesetzt. Allerdings konnte selbst nach einer langsamen Steigerung der Reaktionstemperatur auf 60 °C kein Umsatz<sup>z</sup> des Zwischenprodukts beobachtet werden. Der alternative Zugang zu **18e** wurde mit der Vorschrift von LEE *et al.* als Ausgangspunkt untersucht (Schema 14).<sup>256</sup> Anstelle Methanol *in situ* durch Natriumhydrid zu deprotonieren, wurde Natriummethanolat zur Lösung von **23a** in DMF hinzugefügt und die Reaktionslösung bei 60 °C gerührt. Nach 30 Minuten wurde nur ein geringer Umsatz von **23a** beobachtet. Daher wurde die Reaktion insgesamt für 18 Stunden weitergerührt. Nach der Aufreinigung des Rohprodukts konnte **18e** mit einer Ausbeute von 32% isoliert werden. Die isolierte Ausbeute konnte weiter durch einen Lösungsmittelwechsel von DMF zu Methanol und eine Erhöhung der Natriummethanolat-Äquivalente, verbessert werden. Allerdings wurde unter diesen Bedingungen die Bildung von Nebenprodukten durch Reaktionskontrollen beobachtet. Durch eine Verringerung der Reaktionstemperatur während der Zugabe von Natriummethanolat und im Verlauf der Reaktion, konnte die Ausbeute von **18e** auf 81% verbessert werden (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Reaktionsbedingungen für die Umsetzung von **23a** zu **18e**.

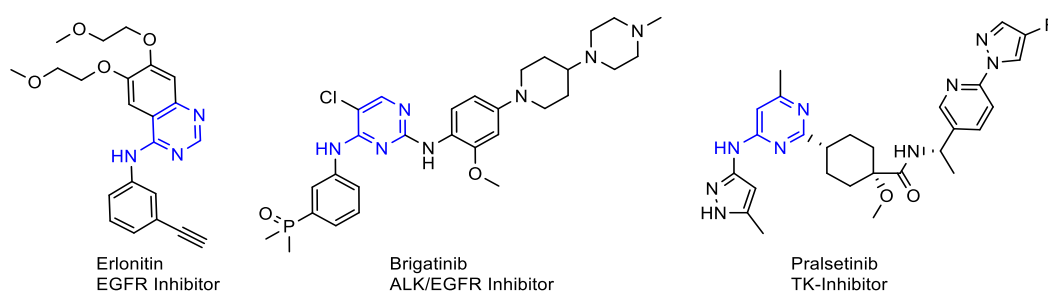
| Eintrag | Bedingungen                         | Ausbeute |
|---------|-------------------------------------|----------|
| 1       | 2,00 äq. NaOMe, DMF, 60 °C, 18 h    | 32%      |
| 2       | 4,00 äq. NaOMe, MeOH, 60 °C, 18 h   | 41%      |
| 3       | 3,00 äq. NaOMe, MeOH, 0 °C-RT, 18 h | 81%      |

Das Aminopyrimidin-Motiv tritt vermehrt in der Wirkstoffklasse der Kinase-Inhibitoren auf und interagiert über Wasserstoffbrückenbindungen mit der *Hinge*-Region der Kinasen.

<sup>z</sup> Mittels HPLC beobachtet.

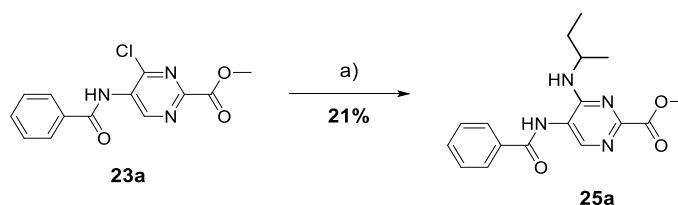
## ALLGEMEINER TEIL

Vertreter dieser Substanzklasse sind in Abbildung 36 dargestellt. Erlotinib ist seit 2004 zur Behandlung von NSCL und des Pankreaskarzinoms zugelassen. Der Wirkstoff ist ein reversibler EGFR-Inhibitor der über mehrere Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophobe Interaktionen des Chinazolin-Gerüsts an die EGFR-Tyrosinkinase-Domäne bindet. Brigatinib ist ein ALK/EGFR-Inhibitor der zur Behandlung von NSCL zugelassen ist. Ferner ist der Inhibitor auch gegenüber Kinasen mit der T790M-Mutation aktiv, die bei *circa* 50% der Patienten auftritt, die längere Zeit mit Erlotinib und anderen EGFR-Inhibitoren der ersten Generation behandelt wurden. Pralsetinib ist ein selektiver RET-Tyrosinkinase-Inhibitor. Er wurde 2020 zur Behandlung von RET-fusionspositivem (*rearranged during transfection*) NSCLC durch die FDA zugelassen.<sup>257,258,259</sup>



**Abbildung 36:** Auswahl von Wirkstoffen mit einem Aminopyrimidin-Motiv (blau).

Initiale Versuche **25a**, als Aza-Analogon der Verbindungen **18b** und **24a**, ausgehend von **23a** zu synthetisieren wurden nach einer abgewandelten Vorschrift von POWELL *et al.* in einem Mikrowellenreaktor durchgeführt (Schema 15).<sup>260</sup>



**Schema 15:** Initialer Ansatz zur Darstellung des 4-Aminoalkylpyrimidins **25a** ausgehend von **23a**: a) 1,10 äq. 2-Aminobutan, 2.00 eq. NEt<sub>3</sub>, Acetonitril, MW: 150 W, 100 °C, 30 min.

Dabei wurde zunächst **23a** in Acetonitril gelöst mit Triethylamin und 2-Aminobutan versetzt und anschließend im Mikrowellenreaktor erhitzt. Nach der Aufreinigung mittel Chromatographie wurde **25a** als gelbes Öl mit einer Ausbeute von 21% isoliert (Schema 15). Eine Analyse der Reaktionslösung ergab, dass ein Grund für die geringe Ausbeute, der unvollständige Umsatz von **23a** sein könnte. Ausgehend von den initialen Reaktionsbedingungen wurden die Reaktionsparameter zur Darstellung von **25a** optimiert (Tabelle 9). Dazu wurden die Reaktionslösungen mittels HPLC untersucht und der Umsatz von **23a** als Optimierungskriterium verwendet. Zunächst wurde ermittelt, ob eine Erhöhung der Reaktionstemperatur zu einer Umsatzsteigerung führt. Eine Umsetzung bei höheren

## ALLGEMEINER TEIL

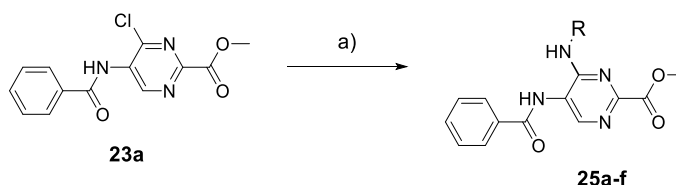
Temperaturen (150 °C) führte zur Zersetzung der Reaktionsprodukte, während Reaktionen die zwischen 110 °C und 120 °C durchgeführt wurden Umsätze zwischen 90% und über 99% ergaben. Ein Wechsel der Base von DIPEA zu Triethylamin, DABCO oder DBU führte zu einem geringeren Umsatz von 91%, oder zu Zersetzungsreaktionen. Der Lösungsmittelwechsel von DMF zu Toluol (40%), Acetonitril (61%) oder DMSO (94%) ergab einen geringeren Umsatz von **23a** als mit den Reaktionsbedingungen in Eintrag 4 (Tabelle 9). Die Umsetzung von **23a** mit 2-Aminobutan in Gegenwart von DIPEA als Base in DMF bei 115 °C lieferte den besten Reaktionsumsatz. Nach der Umsetzung von **23a** im 4 mmol Maßstab unter den ausgearbeiteten Reaktionsbedingungen konnte **25a** mit einer Ausbeute von 69%, nach Flash-Chromatographie, isoliert werden.

**Tabelle 9:** Optimierung der Synthese von **25a** ausgehend von **23a**. Folgende Reaktionsbedingungen wurden dabei eingesetzt: 1.10 äq. 2-Aminobutan, 2.00 äq. Base, Lösungsmittel, MW: 150 W, Temperatur, 20 min.

| Eintrag | Temperatur [°C] | Base             | Lösungsmittel | Umsatz [%] <sup>1</sup> |
|---------|-----------------|------------------|---------------|-------------------------|
| 1       | 150             | DIPEA            | DMF           | Zersetzung              |
| 2       | 110             | DIPEA            | DMF           | 91                      |
| 3       | 120             | DIPEA            | DMF           | 99                      |
| 4       | 115             | DIPEA            | DMF           | >99                     |
| 5       | 115             | DABCO            | DMF           | Zersetzung              |
| 6       | 115             | DBU              | DMF           | Zersetzung              |
| 7       | 115             | NEt <sub>3</sub> | DMF           | 91%                     |
| 8       | 115             | DIPEA            | Toluol        | 40                      |
| 9       | 115             | DIPEA            | Acetonitril   | 61                      |
| 10      | 115             | DIPEA            | DMSO          | 94                      |

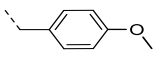
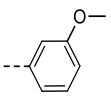
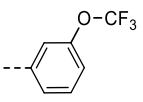
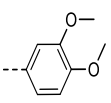
<sup>1</sup> Bestimmt mittels HPLC und Berechnet nach:  $\frac{[\text{Produktfläche}]}{([\text{Produktfläche}] + [\text{Eduktfläche}]}$ .

Unter Verwendung der optimierten Reaktionsbedingungen wurde **23a** mit einer Reihe von Aminen umgesetzt (Schema 16). Die Reaktionsprodukte **25a-f** sind mit den entsprechenden Ausbeuten in Tabelle 10 aufgeführt.



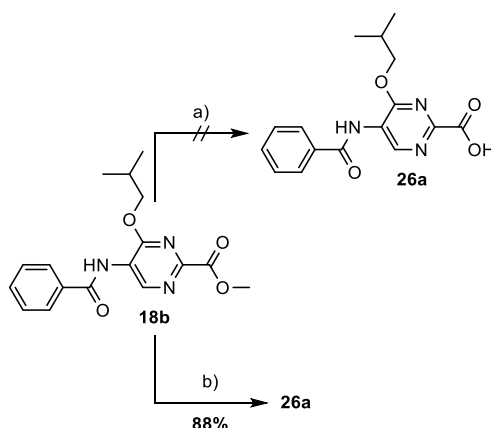
**Schema 16:** Umsetzung von **23a** mit verschiedenen Aminen zu den 4-Aminoalkylpyrimidinen **25a-f**.  
a) 1.10 äq. 2-Amin, 2.00 äq. DIPEA, DMF, 115 °C, 16 h.

**Tabelle 10:** Übersicht der Substituenten der Verbindungen **25a-f** mit den entsprechenden Ausbeuten.

| Verbindung | R                                                                                 | Ausbeute |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>25a</b> |  | 69%      |
| <b>25b</b> |  | 44%      |
| <b>25c</b> |  | 70%      |
| <b>25d</b> |  | 38%      |
| <b>25e</b> |  | 19%      |
| <b>25f</b> |  | 75%      |

### Esterhydrolyse und Aminolyse von 4-Alkoxypyrimidinen, 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen

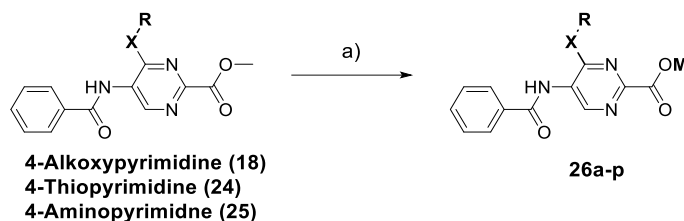
Entsprechend der retrosynthetischen Analyse werden Pyrimidincarbonsäuren benötigt, um Wasserstoffbrücken-gesteuerte, Pyrimidin-basierte  $\alpha$ -Helixmimetika über Amidkupplungsreaktionen aufzubauen. Initial wurde versucht die Estergruppe der synthetisierten Pyrimidine nach der Vorschrift von SPANIER *et al.* zu hydrolysieren.<sup>210</sup> Die Umsetzung von **18b** mit Lithiumhydroxid-Monohydrat in Methanol lieferte nach der Aufarbeitung ein komplexes Produktgemisch aus dem die Carbonsäure **26a** nicht isoliert werden konnte.


**Schema 17:** Ansätze zur Darstellung der Pyrimidincarbonsäure **26a** ausgehend von **18b**: a) 1,00 äq. LiOH·H<sub>2</sub>O, MeOH, 24 h, RT, dann H<sub>2</sub>O, 1 M HCl(aq.), RT; b) 1,00 äq. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O, 24 h, RT.

Daraufhin wurde die Umsetzung von **18b** mit Lithiumhydroxid in THF nach einer Vorschrift von CAMMARANO *et al.* untersucht. Dabei wurde **18b** in THF anstelle von Methanol mit

## ALLGEMEINER TEIL

einer wässrigen Lithiumhydroxid-Lösung bei Raumtemperatur zur Reaktion gebracht (Schema 17).



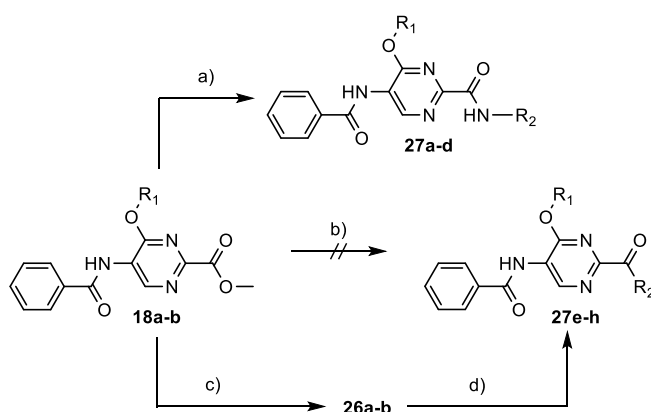
**Schema 18:** Umsetzung von 4-Alkoxypyrimidinen, 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen zu den Carbonsäuren und Lithiumcarboxylaten **26a-p**. b) 1,00 äq. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O, 24 h, RT, dann für Carbonsäuren: 1 M HCl(aq.), RT; für Lithiumcarboxylate: Entfernen des Lösungsmittels und versetzen mit Diethylether.

**Tabelle 11:** Auflistung der Substituenten der Pyrimidine **26a-p** mit den Ausbeuten.

| Edukt | Verbindung | X | R | M  | Ausbeute |
|-------|------------|---|---|----|----------|
| 18a   | 26a        | O |   | H  | 88%      |
| 18b   | 26b        | O |   | H  | 90%      |
| 18c   | 26c        | O |   | H  | 91%      |
| 18d   | 26d        | O |   | H  | 60%      |
| 18f   | 26e        | O |   | Li | 87%      |
| 18i   | 26f        | O |   | Li | 94%      |
| 18k   | 26g        | O |   | Li | 98%      |
| 18m   | 26h        | O |   | Li | 87%      |
| 18n   | 26i        | O |   | Li | 95%      |
| 18o   | 26j        | O |   | Li | 86%      |
| 24a   | 26k        | S |   | H  | 86%      |
| 24b   | 26l        | S |   | Li | 97%      |
| 24c   | 26m        | S |   | Li | 99%      |
| 25a   | 26n        | N |   | Li | 99%      |
| 25d   | 26o        | N |   | Li | 96%      |
| 25f   | 26p        | N |   | Li | 99%      |

Die Carbonsäure **26a** konnte nach dem Ansäuern der Lösung mit wässriger Salzsäure als farbloser Feststoff mit einer Ausbeute von 88% isoliert werden. Unter Verwendung dieser

Vorschrift konnten die Estergruppen weiterer 4-Alkoxyppyrimidine<sup>aa</sup> sowie 4-Thioalkylpyrimidine und 4-Aminoalkylpyrimidine in die entsprechenden Carbonsäuren bzw. Lithiumcarboxylate **26a-p** überführt werden (Schema 18 und Tabelle 11). Im Gegensatz zu den Lithiumcarboxylaten der Pyrimidone, die nach versetzen mit wässrigen Säuren decarboxylieren, wurde dies für die dargestellten Pyrimidine nicht beobachtet. Diese Beobachtung kann nicht ohne weitere Untersuchungen erklärt werden. Der Verzicht auf die Überführung der Lithiumcarboxylate aus dem Set der Verbindungen **26a-p** hat praktische Gründe: Die Carbonsäuren einiger 4-Alkoxyppyrimidine und 4-Thioalkylpyrimidine bilden ölige Emulsionen mit der wässrigen Phase beim Ansäuern der konjugierten Basen. Bei Abtrennungsversuchen durch Filtration und Extraktion konnten diese nur in geringen Ausbeuten erhalten, oder nicht aus den Emulsionen extrahiert werden. Außerdem wurde nicht riskiert, die Boc-Schutzgruppen der Verbindungen **18f** und **18o**, durch die Überführung in die Carbonsäuren, abzuspalten. Die 4-Aminoalkylpyrimidine **26n**, **26o** und **26p** konnten nach dem Ansäuern in wässriger Lösung nur in geringen Ausbeuten durch Aussalzen mit Natriumsulfat nach einer Vorschrift von HYDE *et al.* extrahiert werden.<sup>261</sup> Unabhängig davon konnten die gewonnen Lithiumcarboxylate ebenso erfolgreich in Amidkupplungsreaktionen eingesetzt werden, wie die konjugierten Säuren. Die Aminolyse der 4-Alkoxyppyrimidine **18a** und **18b** wurde in Anlehnung an die Vorschrift von SPANIER *et al.* durchgeführt. Dazu wurden die Edukte **18a-b** in Ethanol vorgelegt und mit einem Überschuss primärer bzw. sekundärer Aminen versetzt, um die tertiären Amide **27a-h** zu gewinnen (Schema 19).

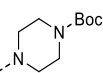
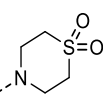


**Schema 19:** Umsetzung von **18a-b** mit primären und sekundären Aminen zu den Amiden **27a-h**. a) 8,00 äq. Amin, EtOH, RT, 18-24 h; b) 8,00 äq. sek. Amin, EtOH, RT-60 °C; c) 1,00 äq. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O, RT, 24 h, dann 1 M HCl(aq.), RT; d) 1,10 äq. sek. Amin, 1,10 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT.

<sup>aa</sup> Mit der Ausnahme von **18j**: Weitere Ansätze, etwa nach JUNG *et al.* durch Umsetzung von **18j** mit TMSI in Tetrachlormethan, oder nach WU *et al.* durch Umsetzung von **18j** mit LiCl-DMF im Mikrowellenreaktor, waren nicht erfolgreich.<sup>305,306</sup>

Die Reaktion von **18a-b** mit primären Aminen in Ethanol führte zu den gewünschten sekundären Amiden **27a-d**, die nach chromatographischer Aufreinigung, in Ausbeuten von 70% bis 97% isoliert wurden. Die direkte Umsetzung von **18a-b** mit Morpholin oder *N*-Methylpiperazin in Ethanol lieferte hingegen nicht die sekundären Amide **27e** und **27g**. Für die Synthese von tertiären Amiden wurden **18a** stattdessen zunächst zu den Carbonsäuren **26a** hydrolysiert. Anschließend wurden diese mit sekundären Aminen und HATU als Amidkupplungsreagenz zu den tertiären Amiden **27e-h** umgesetzt (Tabelle 12).

**Tabelle 12:** Übersicht der Verbindungen **27a-h** mit den entsprechenden Substituenten und Ausbeuten.

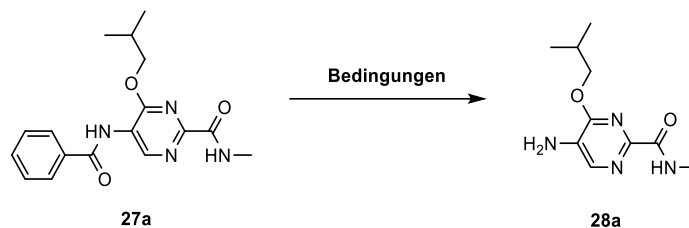
| Verbindung | R <sub>1</sub>                                                                      | R <sub>2</sub>                                                                      | Ausbeute          |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>27a</b> |    |    | 97% <sup>I</sup>  |
| <b>27b</b> |    |    | 75% <sup>I</sup>  |
| <b>27c</b> |    |    | 79% <sup>I</sup>  |
| <b>27d</b> |    |    | 70% <sup>I</sup>  |
| <b>27e</b> |   |   | 71% <sup>II</sup> |
| <b>27f</b> |  |  | 60% <sup>II</sup> |
| <b>27g</b> |  |  | 51% <sup>II</sup> |
| <b>27h</b> |  |  | 63% <sup>II</sup> |

<sup>I</sup> Synthetisiert *via* Route a) in Schema 19; <sup>II</sup> Synthetisiert *via* Route c) und d) in Schema 19.

### Hydrolyse der Benzoylschutzgruppe zur Darstellung von 5-Aminopyrimidinen

Die Benzoylgruppe wird in der organischen Chemie als Schutzgruppe für Alkohole und Amine in der Kohlenhydrat-, Nukleosid- und Oligonukleotid-Synthese eingesetzt.<sup>262,263</sup> Die Methoden zur Spaltung von Benzamiden und Estern sind substanzabhängig. Tendenziell erfolgt die Abspaltung von Benzylestern mild, unter Verwendung von methanolischer Ammoniak- oder Carbonat-Lösung bei Raumtemperatur.<sup>264</sup> Dagegen erfolgt die Spaltung von Benzamiden etwa durch Salzsäure-medierte Hydrolyse unter Rückfluss, die Verwendung von Hydrazin in Ethanol, oder eine partielle Reduktion der Benzamide zum Hemiaminalen unter Einsatz von DIBAL oder Lithiumtriethylborhydrid.<sup>265,266,267,268</sup> Vor diesem Hintergrund sollte die Benzoylschutzgruppe bislang hergestellter Pyrimidin-Derivate abgespalten werden, um 5-Aminopyrimide als Kupplungsbausteine für die Synthese von  $\alpha$ -Helixmimetika zu

erhalten. Darüber hinaus sollten die Bipyrimidinamide **32** und **33** ohne Benzamidgruppe hergestellt werden, um deren pharmakologische Eigenschaften zu untersuchen.

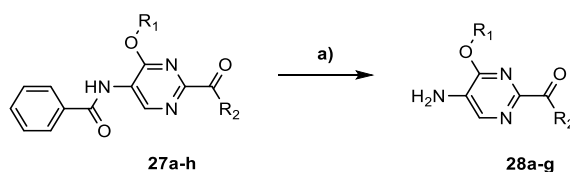


**Schema 20:** Hydrolyse der Benzamidgruppe von **27a**. Die Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 13 aufgeführt.

**Tabelle 13:** Reaktionsbedingungen zur Darstellung von **28a**.

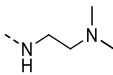
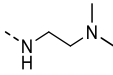
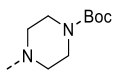
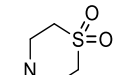
| Eintrag | Bedingungen                                                    | Ausbeute <sup>I</sup> |
|---------|----------------------------------------------------------------|-----------------------|
| 1       | 3,00 äq. NaOH, MeOH, RT-Rückfluss, 3 h                         | Zersetzung            |
| 2       | 8,00 äq. N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> , EtOH, Rückfluss 3 h   | Kein Umsatz           |
| 3       | 7 M NH <sub>3</sub> , MeOH, Rückfluss, 3 h                     | Kein Umsatz           |
| 4       | 1,00 äq. DIBAL, Toluol, -78 °C-RT                              | Zersetzung            |
| 5       | 1,30 äq. NaOH, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH, RT, 18 h | 70%                   |

Als Modellverbindung zur Untersuchung der Hydrolysebedingungen der Benzamide wurde das Pyrimidin **27a** eingesetzt (Schema 20). Unter Verwendung eingangs beschriebener Literaturbedingungen, wurde entweder kein Umsatz des Startmaterials beobachtet, oder es fand eine Zersetzung des Edukts statt (Tabelle 13). Erfolgreich war die Umsetzung zu **28a** nach einer Vorschrift von THEODOROU *et al.*<sup>269</sup> Mit Dichlormethan und Methanol als Lösungsmittel konnte eine Umsetzung von **27a** mit Natriumhydroxid bereits bei Raumtemperatur beobachtet werden. **28a** ist gut in 1 M Salzsäure löslich und konnte durch Zwei-Phasen-Extraktion vom Benzoat aus der Reaktionslösung abgetrennt werden. Geringere Natriumhydroxid-Äquivalente führten zu geringeren Ausbeuten, während höhere zu mehr Nebenprodukten führten. Die Benzoyl-geschützten Pyrimidine konnten so zu den 5-Aminopyrimidinen **28b-g** umgesetzt werden (Schema 21 und Tabelle 14).

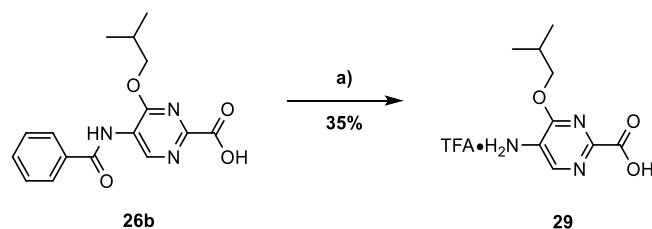


**Schema 21:** Abspaltung der Benzoylschutzgruppe zur Darstellung der 5-Aminopyrimidine **28a-g**. a) 1,30 äq. NaOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, RT, 24 h.

**Tabelle 14:** Übersicht der Verbindungen **28a-g** mit den entsprechenden Substituenten und Ausbeuten.

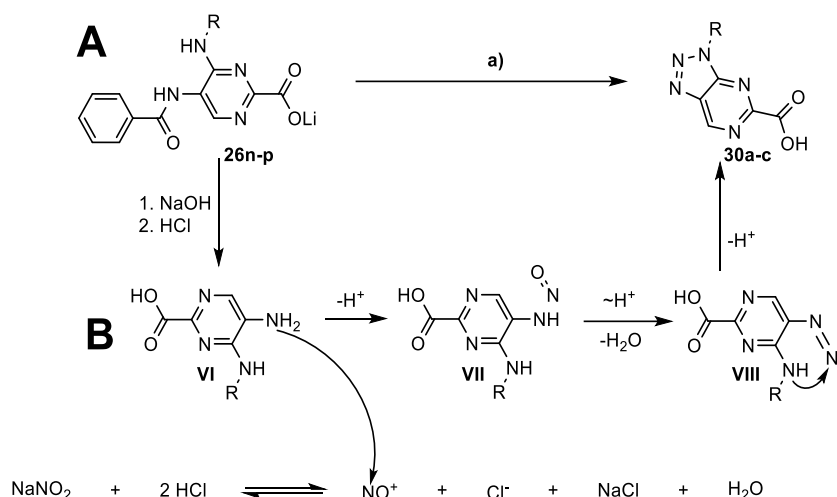
| Verbindung | R <sub>1</sub>                                                                    | R <sub>2</sub>                                                                    | Ausbeute |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>28a</b> |  |  | 70%      |
| <b>28b</b> |  |  | 73%      |
| <b>28c</b> |  |  | 81%      |
| <b>28d</b> |  |  | 43%      |
| <b>28e</b> |  |  | 34%      |
| <b>28f</b> |  |  | 42%      |
| <b>28g</b> |  |  | 33%      |

Für den Zugang zu den Bipyrimidinamiden **33** und **34a-d**, die am N-Terminus keine Benzoylgruppe aufweisen, wurde die Benzamid-Hydrolyse der 4-Alkoxypyrimidincarbonsäure **26b** und 4-Aminoalkylpyrimidincarboxylaten **26n-p** durchgeführt. In Anlehnung an eine Vorschrift von TERAUCHI *et al.* wurde die Benzoyl-geschützte Pyrimidincarbonsäure **26b** mit einem Überschuss 1 M Natriumhydroxid-Lösung zum Rückfluss erhitzt.<sup>270</sup> Die Produktbildung wurde dabei mittels HPLC beobachtet. Die entstandenen 5-Aminopyrimidin-2-carbonsäure **29** konnte nach Umkehrphasenchromatographie und azeotroper Entfernung des Elutionsmittels als TFA-Salz isoliert werden (Schema 22).

**Schema 22:** Synthese der 5-Aminopyrimidin-2-carbonsäure **29** durch Hydrolyse von **27a**. a) 1 M NaOH, H<sub>2</sub>O, Rückfluss, 5 h, dann Umkehrphasenchromatographie Acetonitril/H<sub>2</sub>O (0,5% TFA).

Analog dazu konnten die Benzoylgruppen der geschützten 4-Aminoalkylpyrimidine **26n-p** zunächst durch Umsetzung mit Natronlage abgespalten werden und die entstandenen Zwischenprodukte in einer Eintopfsynthese direkt weiter zu den 3*H*-[1,2,3]Triazolo[4,5-*d*]pyrimidinen **30a-c** umgesetzt werden. Nachdem der Umsatz von

**26n-p** mittels HPLC bestätigt wurde, wurde die Reaktionslösung in Anlehnung an eine Vorschrift von HANSEN *et al.* unter Eiskühlung mit Ethanol verdünnt und pH 1 mit Hilfe von Salzsäure eingestellt.<sup>271</sup> Die saure Reaktionslösung wurde anschließend mit einer wässrigen Natriumnitrit-Lösung versetzt. Der Reaktionsmechanismus für die Triazolbildung ist in Schema 23 dargestellt. Im Anschluss an die Hydrolyse des Benzamids reagiert die Aminogruppe des 5-Aminopyrimidins **VI** mit einem Nitrosyl-Kation<sup>bb</sup>. Aus dem Nitrosamin **VII** entsteht durch Tautomerie ein Diazohydroxid, das nach Wasserabspaltung zum Aryldiazonium-Intermediat **VIII** reagiert. Im letzten Schritt greift das freie Elektronenpaar der Aminogruppe in 4-Position die positiv geladene Diazoniumgruppe unter Bildung des Triazolrings an. Die Verbindungen **30a-c** wurden in Ausbeuten von 49% bis 69% isoliert (Tabelle 14).



**Schema 23:** Synthese der 3H-[1,2,3]Triazolo[4,5-d]pyrimidine **30a-c** (A): a) 1 M NaOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , Rückfluss, 5-9 h, dann 1,5 äq.  $\text{NaNO}_2$  in  $\text{H}_2\text{O}$ , 0 °C-RT, 5 h. Mechanismus der Ringbildung der 3H-[1,2,3]Triazolo[4,5-d]pyrimidine **30a-c** (B).

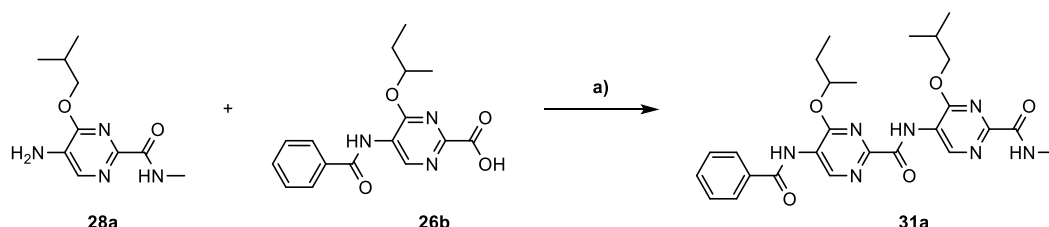
**Tabelle 15:** Übersicht der Verbindungen **30a-c** mit den entsprechenden Substituenten und Ausbeuten.

| Verbindung | R | Ausbeute |
|------------|---|----------|
| <b>30a</b> |   | 49%      |
| <b>30b</b> |   | 69%      |
| <b>30c</b> |   | 54%      |

<sup>bb</sup> Nitrosyl-Kationen entstehen *in situ* durch die Dehydratisierung von Natriumnitril in saurer Lösung.

### Synthese von Bipyrimidinamiden durch Amidkupplungsreaktionen

Mit den dargestellten 5-Aminopyrimidinen **28a-g**, Pyrimidincarbonsäuren und Lithiumcarboxylaten **26a-p** war es möglich die Amidkupplung zu den Pyrimidinamid-Dimeren **31a-r** durchzuführen. Dafür wurden zunächst die Kupplungsbedingungen mit den Pyrimidinen und **26b** und **28a** untersucht. Ausgehend von der Kupplungsvorschrift für die Pyrimidon-Regioisomere von SPANIER *et al.* wurde bei der Umsetzung mit dem Kupplungsreagenz COMU® das Dimer **31a** mit einer Ausbeute von 20% isoliert (Schema 24).<sup>210</sup> Die Untersuchung des Reaktionsumsatzes beim Einsatz vier verschiedener Kupplungsreagenzien zeigte, dass die Reaktion mit HATU in DMF und DIPEA als Base den höchsten Umsatz lieferte (Tabelle 16). Unter diesen Reaktionsbedingungen konnte **31a** mit einer Ausbeute von 72% isoliert werden.



**Schema 24:** Darstellung von **31a** unter Variation der Bedingungen, die in Tabelle 16 aufgeführt sind. Folgende allgemeine Reaktionsbedingungen wurden dabei eingesetzt: 1,00 äq. **28a**, 1,00 äq. **26b**, 1,00 äq. Kupplungsreagenz, 2,00 äq. DIPEA (außer Einträge 3 und 4), Lösungsmittel, RT, 24 h.

**Tabelle 16:** Optimierung der Synthese von **31a** ausgehend von **26b** und **28a**.

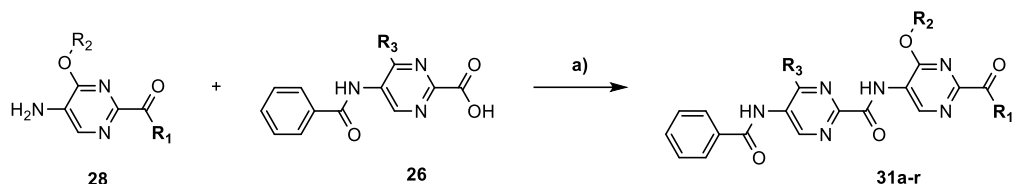
| Eintrag | Kupplungsreagenz         | Lösungsmittel                   | Base  | Umsatz [%] <sup>I</sup> |
|---------|--------------------------|---------------------------------|-------|-------------------------|
| 1       | HATU                     | DMF                             | DIPEA | 92                      |
| 2       | HATU                     | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | DIPEA | 84                      |
| 3       | EDC/DMAP <sup>II</sup>   | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | -     | 82                      |
| 4       | EDC/Oxyma <sup>III</sup> | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | -     | 82                      |
| 5       | COMU®                    | DMF                             | DIPEA | 71                      |
| 6       | PyBOP                    | DMF                             | DIPEA | 59                      |

<sup>I</sup> Bestimmt mittels HPLC und berechnet nach: [Produktfläche]/([Produktfläche]+[Eduktfläche]).

<sup>II</sup> 0,20 äq. wurden eingesetzt. <sup>III</sup> 1,00 äq. wurden eingesetzt.

Die optimierten Reaktionsbedingungen wurden genutzt, um die Pyrimidinamid-Dimere **31a-r** mit verschiedenen Seitenketten R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> herzustellen. Dabei wurden basische Seitenketten am C-Terminus eingeführt, um, wie im Fall der Pyrimidon-Analoga, die Löslichkeit der Verbindungen zu verbessern. Zusätzlich weisen alle Verbindungen aus diesem Set eine N-terminale Benzoylgruppe auf (Schema 25 und Tabelle 17).

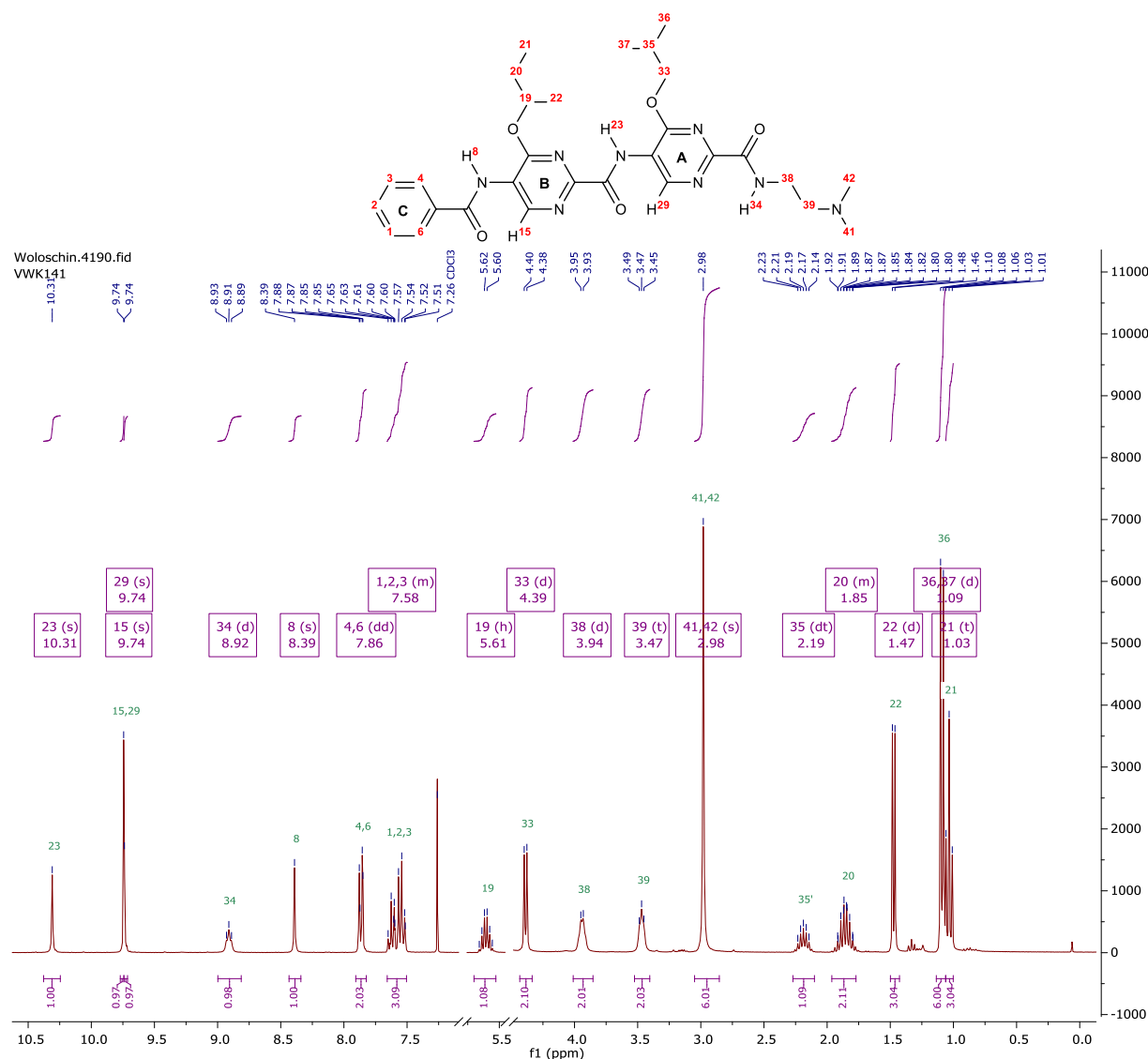
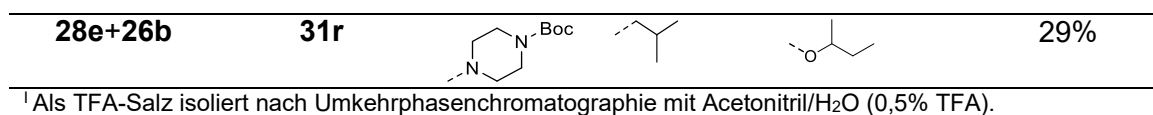
# ALLGEMEINER TEIL



**Schema 25:** Synthese der Pyrimidinamid-Dimere **31a-r** durch Amidkupplung unterschiedlicher 5-Aminopyrimidine **28** und Pyrimidinecarbonsäuren oder Lithiumcarboxylaten **26**. 1.10 äq. **28**, 1.00 äq. **26**, 1,10 äq. HATU, 2.00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h.

**Tabelle 17:** Übersicht der Substituenten der Verbindungen **31a-r** mit den entsprechenden Ausbeuten. Die Reaktionsbedingungen sind unter Schema 25 aufgeführt.

| Edukte  | Verbindung | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub> | Ausbeute         |
|---------|------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
| 28a+26b | 31a        |                |                |                | 72%              |
| 28b+26b | 31b        |                |                |                | 47%              |
| 28c+26a | 31c        |                |                |                | 62%              |
| 28b+26d | 31d        |                |                |                | 64%              |
| 28b+26c | 31e        |                |                |                | 24%              |
| 28b+26a | 31f        |                |                |                | 18%              |
| 28c+26b | 31g        |                |                |                | 42%              |
| 28b+26n | 31h        |                |                |                | 29%              |
| 28b+26k | 31i        |                |                |                | 27% <sup>l</sup> |
| 28c+26f | 31j        |                |                |                | 56%              |
| 28c+26i | 31k        |                |                |                | 30%              |
| 28c+26g | 31l        |                |                |                | 29%              |
| 28c+26m | 31m        |                |                |                | 36%              |
| 28c+26e | 31n        |                |                |                | 82%              |
| 28c+26j | 31o        |                |                |                | 29%              |
| 28g+26b | 31p        |                |                |                | 96%              |
| 28d+26b | 31q        |                |                |                | 82%              |



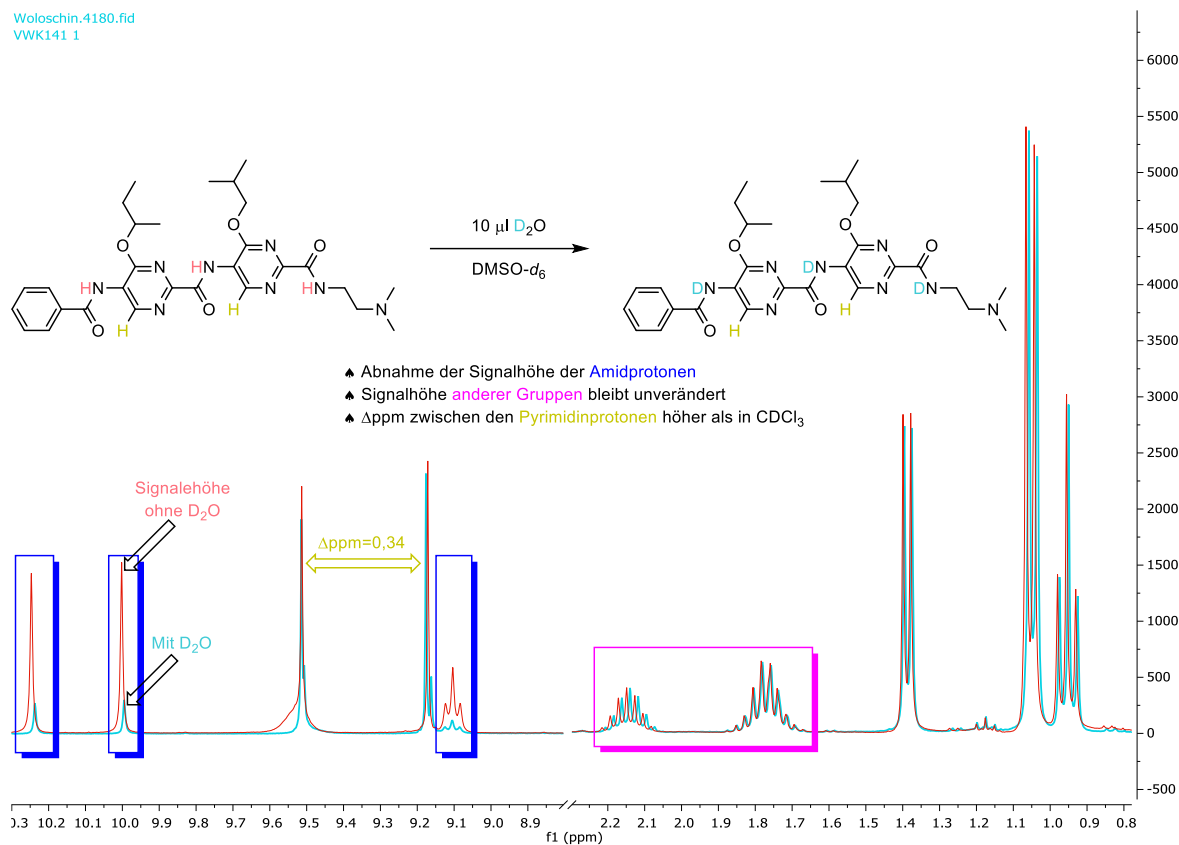
**Abbildung 37:** Bearbeitetes <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) der Verbindung **31b**.

In Abbildung 37 ist das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum des Bipyrimidinamids **31b** dargestellt. Das am weitesten im Tieffeld auftretende Singulett lässt sich dem Amidproton H<sup>23</sup> (10.31 ppm), zwischen dem Ether-Sauerstoff von Ring A und dem Pyrimidin-Stickstoff von Ring B zuordnen. Der C-terminale Proton H<sup>23</sup> des Amid-Stickstoffs tritt, bedingt durch die Konjugation zum Pyrimidin Ring A, als Triplett bei 8,92 ppm auf. Die Protonen H<sup>15</sup> und H<sup>23</sup> an Ring A und Ring B treten beide als Singulets bei 9,74 ppm auf und sind nicht anhand des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums unterscheidbar. Die Protonen H<sup>1-6</sup> von Ring C bilden Multipletts bei 7,86 ppm und 7,58 ppm. Das Sextett bei 5,61 ppm lässt sich dem Methinproton H<sup>19</sup> des *sec*-Butyl-Substituenten zuweisen, während das Dublett bei 4,39 ppm den

## ALLGEMEINER TEIL

Methylenprotonen  $H^{33}$  des *iso*-Butyl-Substituenten zugewiesen werden können. Das Dublett bei 3,94 ppm lässt sich den Methylen-Protonen  $H^{38}$  zuordnen.

Sie sind aufgrund der Nähe zum Pyrimidincarbonsäureamid gegenüber der zweiten Methylengruppe bei 3,47 ppm tieffeldverschoben. Die beiden Methylgruppen des tertiären Amins treten aufgrund der schnellen Rotation um die Einfachbindung der Ethylengruppe als Singulett bei 2,98 ppm auf. Die Methylprotonen  $H^{22}$  bei 1,47 ppm spalten aufgrund der  $^3J$ -Kupplung zum Methinproton  $H^{19}$  zu einem Dublett auf, während das zweite Set Methylprotonen  $H^{21}$  wegen der  $^3J$ -Kupplung mit den Methylenprotonen  $H^{20}$  zu einem Triplett aufspalten. Durch die Zugabe von  $D_2O$  zu einer Lösung von **31b** in  $DMSO-d_6$  konnte mittels  $^1H$ -NMR gezeigt werden, dass alle Amid-Wasserstoffatome von **31b** gegen Deuterium ausgetauscht werden<sup>cc</sup> (Abbildung 38).



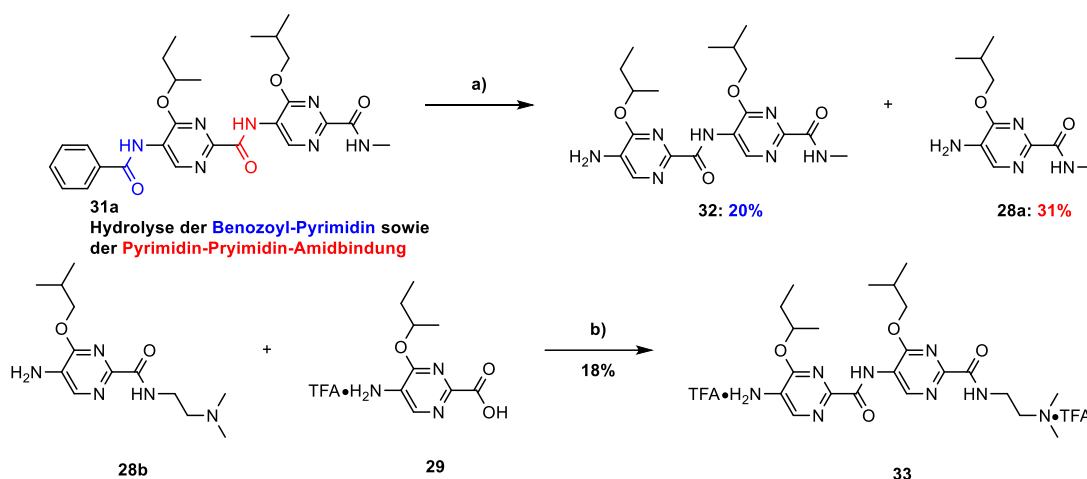
**Abbildung 38:** Untersuchung des Einflusses von  $D_2O$  auf die Signalehöhe der Amidprotonen des Bipyrimidinamids **31b** ( $^1H$ -NMR, 300 MHz, **31b** in  $DMSO-d_6$  und **31b** in  $DMSO-d_6$  nach Zugabe von  $D_2O$ ).

**31b** wurde in 500 µl  $DMSO-d_6$  gelöst ein  $^1H$ -NMR aufgenommen. Anschließend wurden 10 µl  $D_2O$  zu der Lösung von **31b** gegeben und ein zweites  $^1H$ -NMR aufgenommen. Beide Spektren wurden überlagert: Während die Amidprotonen-Signalehöhe signifikant

<sup>cc</sup> Eine vergleichbare Beobachtung wurde auch im  $^1H$ -NMR bei der Zugabe von Methanol- $d_4$  zu **31b** in  $CDCl_3$  gemacht.

abnimmt, bleibt die Signalhöhe der anderen Protonen von **31b** unverändert. Ferner fiel bei diesen Untersuchungen auf, dass die Signale der Pyrimidinprotonen nicht wie in  $\text{CDCl}_3$  unmittelbar nebeneinander auftreten ( $\Delta=0,01$  ppm), sondern als voneinander getrennte Singulets vorliegen ( $\Delta=0,34$  ppm). Dieser Effekt wurde bereits vor der Zugabe von  $\text{D}_2\text{O}$  beobachtet und wird im weiteren Verlauf beschrieben.

Wie auch bereits bei den Pyrimidin-Monomeren war es nun möglich Pyrimidinamid-Dimere ohne Benzoylgruppe am N-Terminus herzustellen. Etwa durch die Kupplung von **28b** und **29** oder durch alkalische Hydrolyse der Benzoylgruppe des Dimers **31a** (Schema 26).

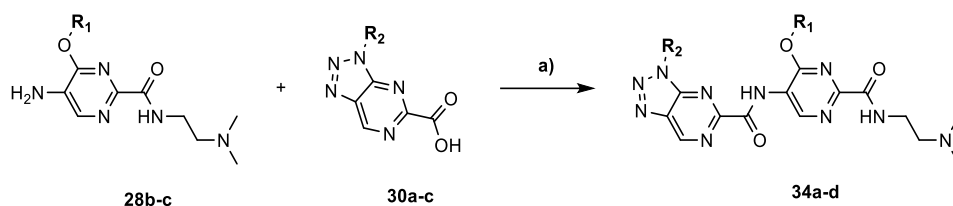


**Schema 26:** Synthese der Pyrimidinamid-Dimere **32** und **33**. a) 1,30 äq. NaOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , RT, 24 h., dann Umkehrphasenchromatographie mit Acetonitril; b) 1,10 äq. **28b**, 1,00 äq. **29**, 1,10 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h., dann Umkehrphasenchromatographie mit Acetonitril/ $\text{H}_2\text{O}$  (0,5% TFA)<sup>dd</sup>.

Im Gegensatz zu der Hydrolyse der Benzoylgruppe von Bipyrimidonamiden findet bei der Hydrolyse der Benzoylgruppe von Bipyrimidinamiden auch eine Spaltung der Amidbindung zwischen den Pyrimidinringen statt. Das 5-Aminopyrimidin **28a** konnte nach der Umkehrphasenchromatographie mit 31% isoliert werden. Weitere Dimere ohne Benzoylgruppe konnten durch die Kupplung der 3*H*-[1,2,3]Triazolo[4,5-*d*]pyrimidine **30a-c** mit den 5-Aminopyrimidinen **28b-c** synthetisiert werden (Schema 27 und Tabelle 18).

<sup>dd</sup> Tertiäre Amine ließen sich mittels Umkehrphasenchromatographie mit Acetonitril/Wasser und Zusatz von 0,5% TFA aufreinigen. Ohne Zusatz von TFA eluierten die Verbindungen nicht von der C18-Phase.

## ALLGEMEINER TEIL



**Schema 27:** Synthese der Triazolopyrimidin-Pyrimidinamide **34a-d**. a) 1,10 äq. **28b-c**, 1,00 äq **30a-c**, 1,00 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h.

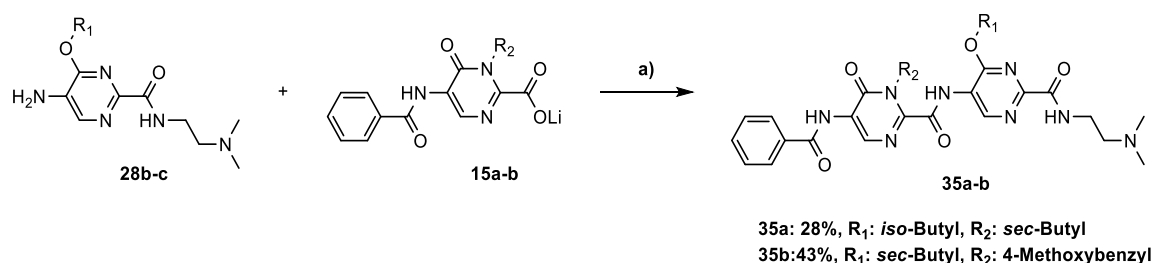
**Tabelle 18:** Übersicht der Substituenten der Verbindungen **34a-d** mit den entsprechenden Ausbeuten.

| Edukte         | Verbindung | R <sub>1</sub> | R <sub>2</sub> | Ausbeute         |
|----------------|------------|----------------|----------------|------------------|
| <b>28a+26b</b> | 34a        |                |                | 30%              |
| <b>28b+26b</b> | 34b        |                |                | 44% <sup>1</sup> |
| <b>28c+26a</b> | 34c        |                |                | 47%              |
| <b>28b+26d</b> | 34d        |                |                | 33%              |

<sup>1</sup> Als TFA-Salz isoliert nach Umkehrphasenchromatographie mit Acetonitril/H<sub>2</sub>O (0,5% TFA).

## Synthese von Pyrimidin-Pyrimidonamiden, Bipyrimidon-Pyrimidinamiden und Tripyrimidinamiden

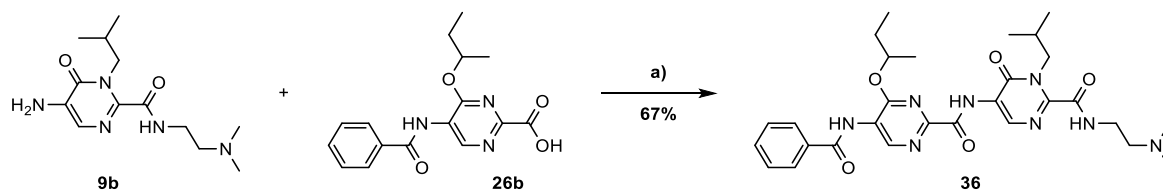
Da nun sowohl substituierte Pyrimidin- als auch Pyrimidon-Derivate zur Darstellung von  $\alpha$ -Helix-Mimetika zugänglich waren, sollten beide Heterocyclen für die Synthese der Pyrimidin-Pyrimidonamiden verwendet werden. Hierzu wurden die 5-Aminopyrimidine **28b-c** mit den Pyrimidon-Lithiumcarboxylaten **15a-b** mit COMU® in DMF umgesetzt (Schema 28).



**Schema 28:** Synthese der Pyrimidin-Pyrimidonamide **35a-b**. a) 1,00 äq. **28b-c**, 1,30 äq. **15a-b**, 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h.

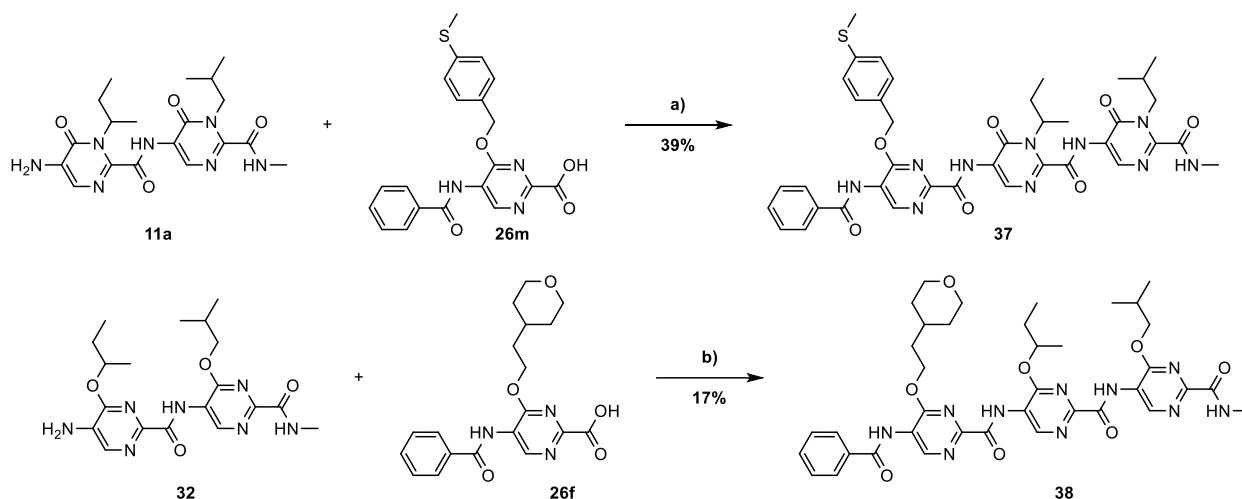
# ALLGEMEINER TEIL

Die Pyrimidin-Pyrimidonamide **35a-b** konnten mit Ausbeuten von 28% und 43% isoliert werden. Die Umsetzung des 5-Aminopyrimidons **9b** und der Pyrimidincarbonsäure **26b** mit HATU in DMF lieferte das Amid-Dimer **36** mit einer Ausbeute von 67% (Schema 29).



**Schema 29:** Synthese des Pyrimidin-Pyrimidonamids **36**. a) 1,10 äq. **9b**, 1,00 äq **26b**, 1,10 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h.

Zudem war es möglich durch Amidkupplung des Bipyrimidonamids **11a** mit der Pyrimidincarbonsäure **26m** bzw. des Bipyrimidinamids **32** mit der Pyrimidincarbonsäure **26f** die Trimere **37** und **38** zu erhalten (Schema 30).



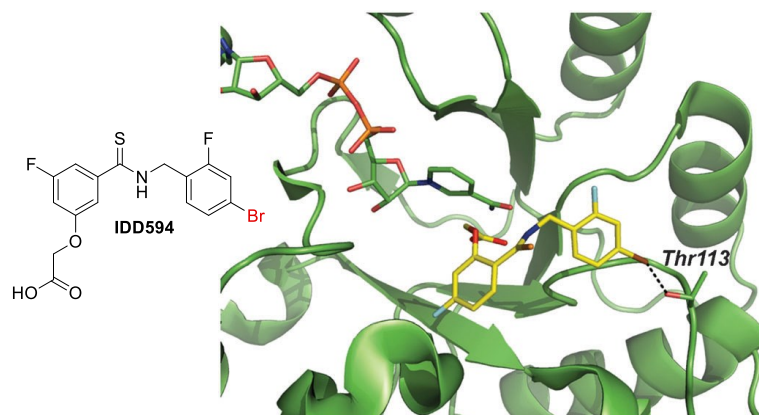
**Schema 30:** Synthese des Bipyrimidon-Pyrimidinamids **37** und des Tripyrimidinamids **38**. a) 1,00 äq. **11a**, 1,30 äq. **26m**, 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h.; b) 1,00 äq. **32**, 1,30 äq. **26f**, 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h.

Die Bipyrimidinamide mit einem C-terminalen *N,N*-Dimethylaminoethyl-Rest **31a-r** waren bis zu 120 mM in DMSO löslich. Im Gegensatz dazu löste sich das Tripyrimidinamid **38** zunächst mit einer Konzentration von 20 mM in DMSO, präzipitierte aber teilweise nach wenigen Minuten in Lösung und war anschließend, selbst nach Erhitzen auf 60 °C bei gleichzeitiger Behandlung im Ultraschallbad, nicht vollständig löslich. Auch die Zugabe von TFA zog keine Lösung des Präzipitats nach sich.

### Synthese von 2-Brombenzoyl-Derivaten der Bipyrimidinamide 31c und 31f

Die Einführung von Brom-Substituenten als Halogenbindungs-Donatoren (X-Donor) bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe kann die Selektivität zur Zielstruktur erhöhen. Ein Beispiel dafür stellt der Aldoreduktase-Inhibitor IDD594 dar. Die Halogenbindung

zwischen dem Brom und Thr113 ist in Abbildung 39 dargestellt.<sup>272</sup> Ferner wird das Potenzial des Substituenten als X-Donor zur Adressierung von Cystein- und Methionin-Seitenketten erforscht.<sup>273,274</sup>



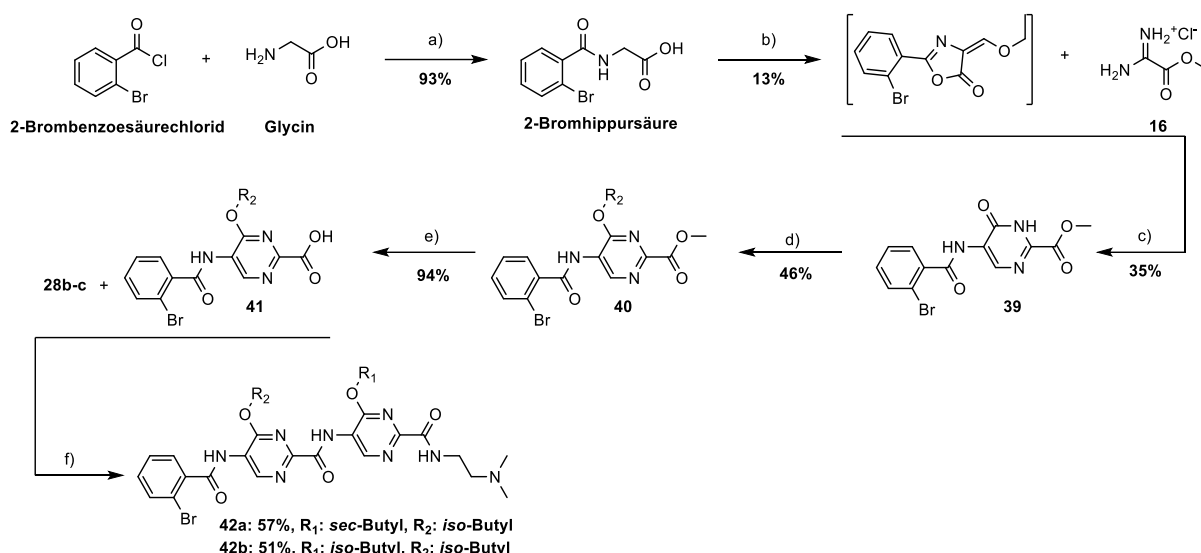
**Abbildung 39:** Kristallstruktur des Inhibitors IDD594 im Komplex mit der humanen Aldoreduktase (PDB ID 1US0). Der Brom-Substituent bildet eine Halogenbindung zum Sauerstoff von Thr113 aus. (abgewandelt nach PARISINI *et al.*<sup>272</sup>).

Für die Synthese 2-Brombenzoyl-substituierter Bipyrimidinamide wurde zunächst das Brom-substituierte Azlacton dargestellt. 2-Bromhippursäure, welche für die ERLÉNMEYER-Synthese notwendig war, wurde im Vorfeld durch Umsetzung von 2-Brombenzoylchlorid und Glycin nach der SCHOTTEN-BAUMANN-Methode synthetisiert. Initiale Versuche das Brom-substituierte Azlacton zu kristallisieren<sup>ee</sup>, waren nicht erfolgreich. Das Produkt wurde zur Aufreinigung chromatographiert und direkt mit dem Amidin-Hydrochlorid **16** zum Pyrimidon **39** umgesetzt<sup>ff</sup>.

<sup>ee</sup> Die geringe Ausbeute von 13% ist auf die Kristallisationsversuche zurückzuführen.

<sup>ff</sup> Das <sup>1</sup>H-NMR sowie eine DC-Kontrolle des Produkts nach einem Tag deutet auf die Zersetzung des Azlactons hin. Im ESI-MS-Spektrum konnte nur der Peak der 2-Bromhippursäure beobachtet werden.

## ALLGEMEINER TEIL



**Schema 31:** Synthese der 2-Brombenzoyl-substituierten Bipyrimidinamide **42a-b**. a) 1,00 äq 2-Brombenzoylchlorid, 1,30 äq Glycin, 2,2 äq NaOH (0,5 M), H<sub>2</sub>O, pH8, 0 °C-RT, dann konz. HCl; b) 1,00 äq 2-Bromhippursäure, 2,00 äq Ac<sub>2</sub>O, 1,00 äq TEOF, 0,5mol% DMAP, 130 °C; c) 1,00 äq. **16**, 1,00 äq. Azlacton, 1,30 äq. Et<sub>3</sub>N, Acetonitril, 80 °C, 3 h, dann konz. HCl; d) 1,30 äq *iso*-Butanol, 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq PPh<sub>3</sub>, THF, 0 °C-RT, 24 h; e) 1,20 äq. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O, RT, dann 1 M HCl, RT.; f) 1,00 äq. **28b-c**, 1,00 äq. **41**, 1,00 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 18 h.

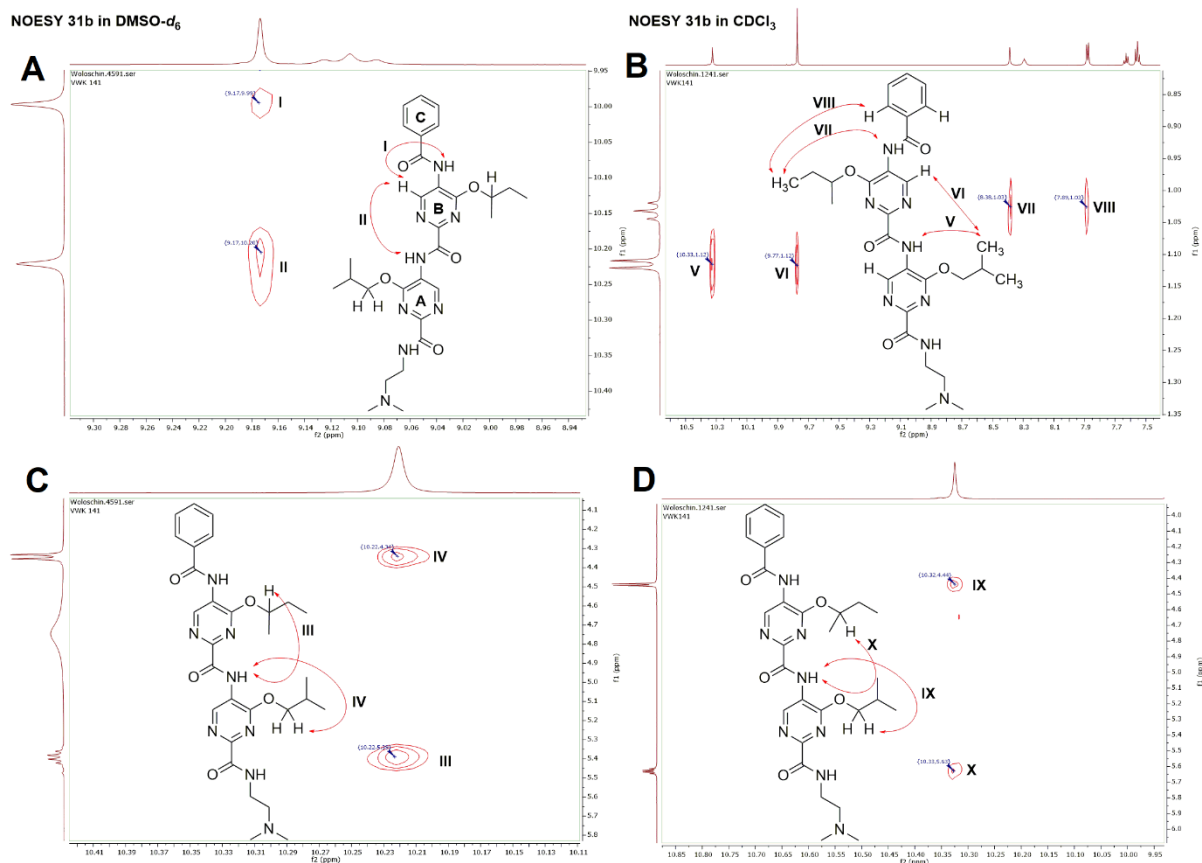
Die MITSUNOBU-Reaktion von **39** mit *iso*-Butylalkohol lieferte das 4-Alkoxypyrimidin **40** mit einer Ausbeute von 46%. Durch eine Methylesterhydrolyse mit Lithiumhydroxid in einem Gemisch aus THF und Wasser und anschließendes Ansäuern konnte die Pyrimidincarbonsäure **41** gewonnen werden. Mittels einer HATU-medierten Amidkupplung von **41** mit den 5-Aminopyrimidinen **28b-c** gelang es schließlich die 2-Brombenzoyl-substituierten Bipyrimidinamide **42a-b** zu synthetisieren (Schema 31).

### Konformationsanalyse des Bipyrimidinamids **31b**

Wie bereits für das Bipyrimidonamid **10b** wurde eine Konformationsanalyse mittels 2D-NMR-Spektroskopie für das Bipyrimidinamid-Regioisomer **31b** durchgeführt. Dazu wurden NOESY-Spektren<sup>99</sup> von **31b** in DMSO-*d*<sub>6</sub> und in CDCl<sub>3</sub> aufgenommen, ausgewertet und miteinander verglichen (Abbildung 40).

<sup>99</sup> Die Verwendung von D<sub>2</sub>O oder Methanol-*d*<sub>4</sub> wurde durch Vorproben ausgeschlossen: Im Fall von D<sub>2</sub>O war die Löslichkeit auch bei pH 1 (1 M DCl) nicht ausreichend für die Durchführung eines ROESY-Experiments. Spektren von **10b** in Methanol-*d*<sub>4</sub> waren nicht auswertbar, da es zu einem Austausch der Amid-Wasserstoffkerne durch Deuterium kam und dadurch keine Kopplung der Kerne beobachtet werden konnten.

## ALLGEMEINER TEIL



**Abbildung 40:** Ausschnitte der NOESY-Spektren von **31b** in DMSO- $d_6$  (A, C) und  $CDCl_3$  (B, D); gestaffelte Konformation (A, B) und eklipsierte Konformation (C, D).

Im NOESY-Spektrum vom **31b** in DMSO- $d_6$  lassen sich zwei Kreuzsignale zwischen dem Proton von Ring B und dem zentralen Amidproton (II) sowie dem Proton des Benzamids (I) beobachten. Kreuzsignal (II) deutet darauf hin, dass **31b** eine Konformation annimmt in der die aliphatischen Seitenketten gestaffelt vorliegen. Gleichzeitig lässt sich ein Kreuzsignal zwischen dem Methinproton der *sec*-Butylgruppe und dem zentralen Amidproton (III) sowie zwischen der Methylengruppe der *iso*-Butylgruppe (IV) beobachten. Beide Kreuzsignale lassen den Schluss zu, dass die Seitenketten von **31b** eine eklipsierte Konformation annehmen. Im NOESY-Spektrum von **31b** in  $CDCl_3$  werden ähnliche Kreuzsignale beobachtet: Das Proton von Ring B koppelt mit den Methylgruppen der *iso*-Butylgruppe (VI). Diese koppelt wiederum mit dem Proton der zentralen Amidbindung (V). Beide Kreuzsignale deuten auf eine gestaffelte Konformation von **31b** hin. Wie auch in DMSO- $d_6$  treten Kreuzsignale zwischen dem zentralen Amidproton und der Methingruppe der *sec*-Butylgruppe (X) sowie der Methylengruppe der *iso*-Butylgruppe (IX) auf, was auf eine eklipsierte Konformation hindeutet. Zusammengefasst lässt sich weder eine eklipsierte noch eine gestaffelte Konformationspräferenz für **31b**, weder in DMSO- $d_6$  noch in  $CDCl_3$  beobachten. In beiden Lösungsmitteln lassen sich Raumkopplungen für **31b** beobachten, die sowohl auf das Vorliegen einer eklipsierten,

als auch einer gestaffelten Konformation hindeuten. Dadurch lässt sich **31b** vom Bipyrimidonamid **10b**, das in beiden Lösungsmitteln eine gestaffelte Konformation annimmt, abgrenzen<sup>hh</sup>.

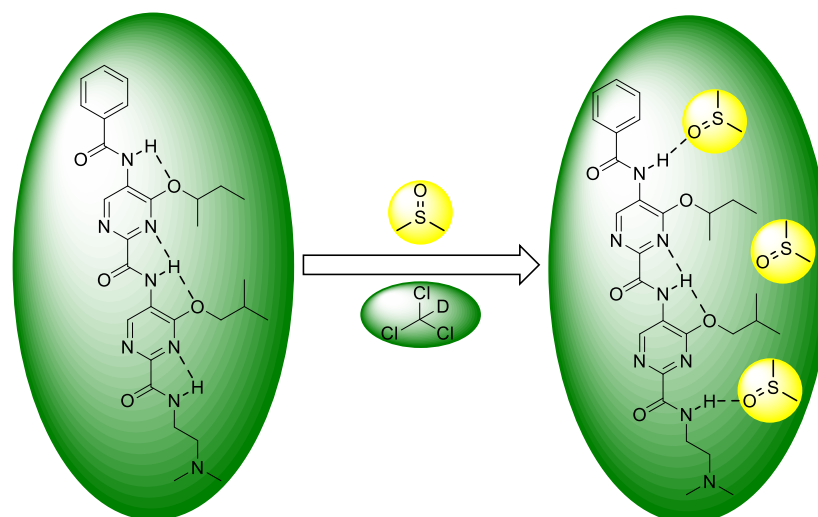
### **<sup>1</sup>H-NMR-Titration von 31b zur qualitativen Differenzierung intramolekularer Wasserstoffbrücken**

Intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen erlauben eine Steuerung der Konformation und damit der Seitenkettenausrichtung von  $\alpha$ -Helix-Mimetika. Um die Eigenschaften vorhandener intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen in Diphenylacetylen-basierter  $\alpha$ -Helixmimetika zu untersuchen, nutzen JUNG *et al.* <sup>1</sup>H-NMR-Titration. Dazu lösten sie BH3-Helixmimetika in CDCl<sub>3</sub> und vermaßen <sup>1</sup>H-NMR-Spektren vor und nach der Zugabe von DMSO-*d*<sub>6</sub>. Wechselwirkungen zwischen Amidprotonen, die an H-Brückenbindungen beteiligt sind und DMSO-*d*<sub>6</sub> führen zu einer Entschirmung der Protonen und damit zu einer Tieffeldverschiebung des Signals. Amidprotonen, die an starken intramolekularen Wasserstoffbrücken beteiligt sind, wechselwirken hingegen weniger ausgeprägt mit DMSO-*d*<sub>6</sub>; es wird keine signifikante Signalverschiebung beobachtet. Mit dieser Methode konnten JUNG *et al.* konformationsstabilisierende Wasserstoffbrücken identifizieren.<sup>200</sup> Auch JANSMA *et al.* nutzen diese Methode, um designte intramolekulare Wasserstoffbrücken von Tyrosinkinase-Inhibitoren zu identifizieren.<sup>275</sup> Zur Untersuchung der Wasserstoffbrücken von **31b** wurde eine <sup>1</sup>H-NMR-Titration in CDCl<sub>3</sub> mit DMSO-*d*<sub>6</sub> durchgeführt (Abbildung 41).

---

<sup>hh</sup> Da weder für **10b** noch in **31b** ein Abstands-Volumenintegral Standard vorlag ließen sich keine Abstände für die Kreuzsignale der Verbindungen berechnen.

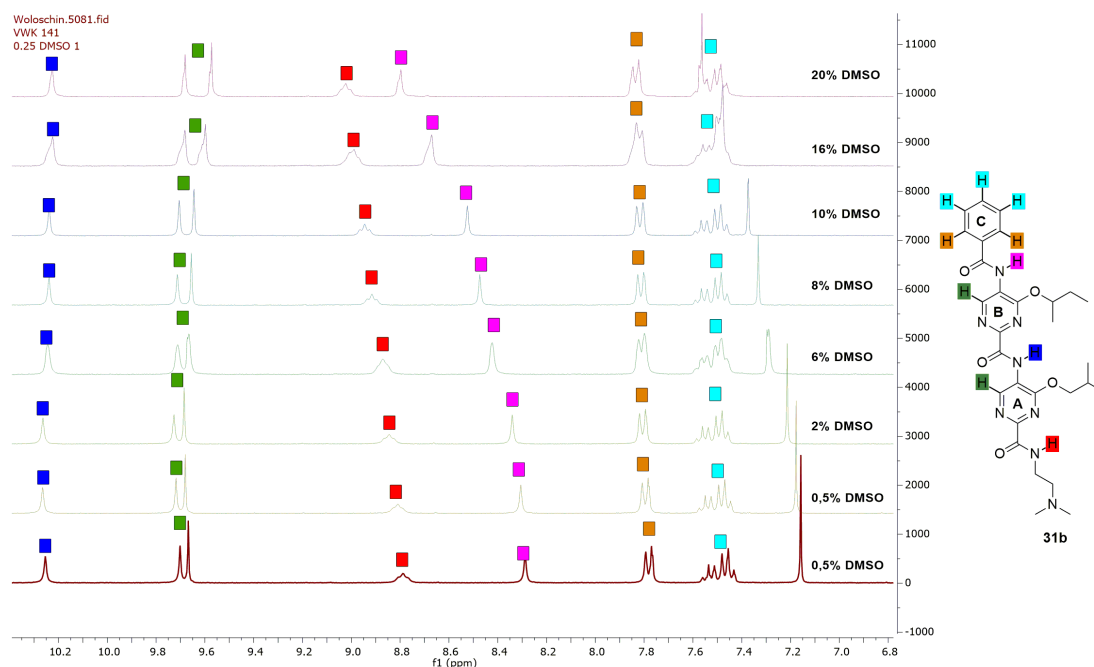
## ALLGEMEINER TEIL



- ◆ Aufnahme von  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von **31b** in  $\text{CDCl}_3$  mit  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentration von 0,5-20%
- ◆ Interaktionen zwischen NH-Protonen und  $\text{DMSO-}d_6$  führen zu einer Tieffeldverschiebung der NH-Signale
- ◆ Qualitative Differenzierung zwischen intramolekularen H-Brücken möglich

**Abbildung 41:**  $^1\text{H}$ -NMR-Titration zur qualitativen Differenzierung der intramolekularen Wasserstoffbrücken von **31b**.

In Anlehnung an das Vorgehen von JUNG *et al.* und JANSMA *et al.* wurden  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von **31b** in  $\text{CDCl}_3$  bei acht verschiedenen  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentrationen (0,5% bis 20%) vermessen (Abbildung 41). Das  $\text{DMSO-}d_5$ -Signal (2,50 ppm) wurde als Referenz eingesetzt. Die Spektren wurden überlagert und in Abbildung 42 dargestellt.

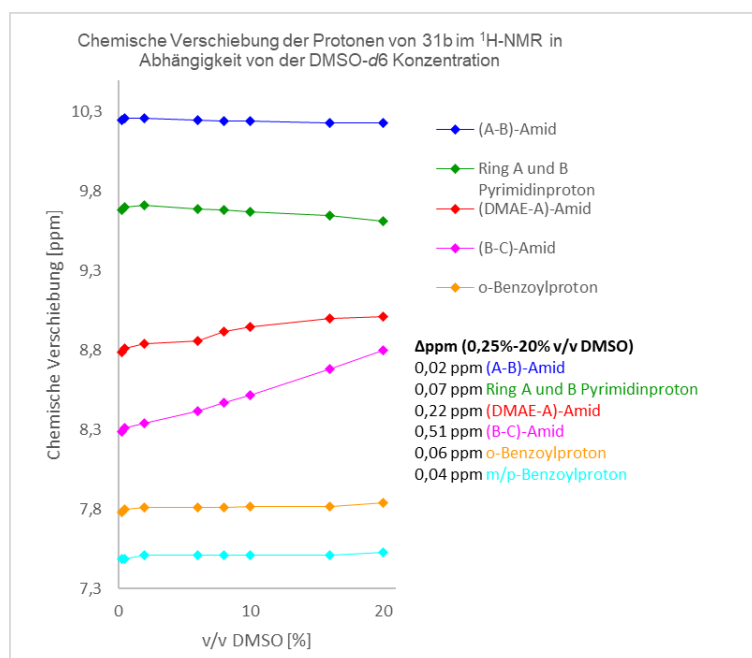


**Abbildung 42:** Superposition der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren von **31b** bei  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentrationen zwischen 0,5% und 20%. Die Protonensignale sind farblich gekennzeichnet und korrespondieren mit der Kennzeichnung der Wasserstoffatome von **31b**.

Eine Erhöhung der  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentration wirkt sich unterschiedlich stark auf die Signalverschiebung aus. Während die Amidprotonen des Benzamids ( $\Delta=0,51$  ppm) und

## ALLGEMEINER TEIL

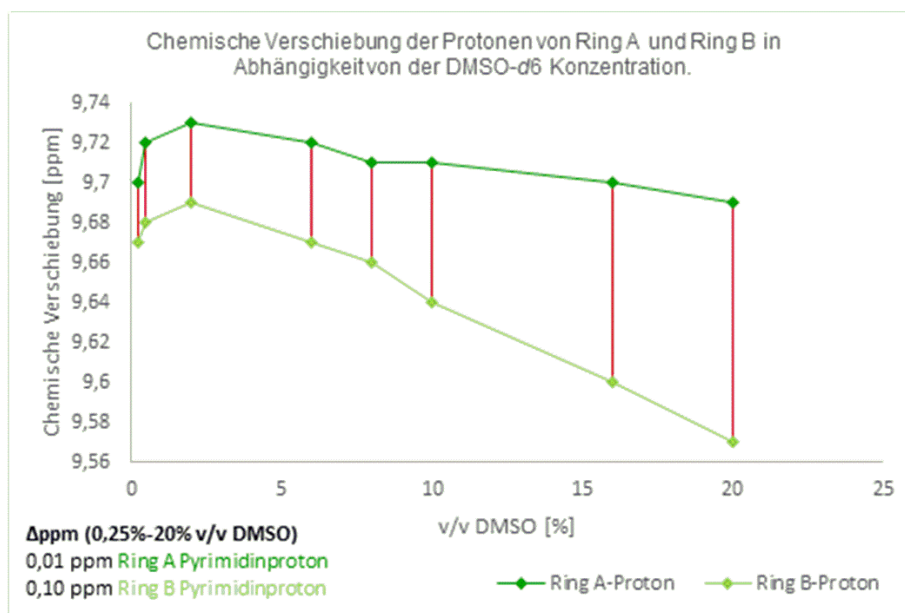
des *N,N*-Dimethylaminoethylamids ( $\Delta=0,22$  ppm) tieffeldverschoben werden, verändert sich die Signallage des Amidprotons zwischen den Pyrimidinen nur geringfügig ( $\Delta=0,02$  ppm) (Abbildung 43).



**Abbildung 43:** Auftragung der chemischen Verschiebung einzelner Protonensignale von **31b** gegen die  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentration. Die chemische Verschiebung der Pyrimidinprotonen wird gemeinsam dargestellt.

Vor dem Hintergrund des eingangs beschriebenen Einflusses von  $\text{DMSO-}d_6$  auf die chemische Verschiebung von Amidprotonen, wechselwirken die Amidprotonen der Benzamidgruppe und des *N,N*-Dimethylaminoethylamids stärker mit  $\text{DMSO-}d_6$  als das Amidproton der zentralen Amidbindung zwischen Ring A und B. Dies deutet darauf hin, dass der Amidwasserstoff zwischen den Pyrimidinringen stärkere intramolekulare Wasserstoffbrücken bildet, als die beiden anderen Amidwasserstoffe von **31b**. Während sich die Signallage der *ortho*, *meta* und *para*-Protonen des Benzamidrings kaum verändern, kommt es bei einer Zunahme der  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentration zu einer Hochfeldverschiebung eines Pyrimidinproton-Signals. Dabei verändert sich die Signallage des Protons von Ring A, im dargestellten  $\text{DMSO-}d_6$ -Konzentrationsintervall, insgesamt um 0,01 ppm, während das Signal von Ring B um 0,10 ppm hochfeldverschoben ist (Abbildung 44).

## ALLGEMEINER TEIL



**Abbildung 44:** Auftragung der chemischen Verschiebung der Pyrimidinprotonen von Ring A und Ring B gegen die DMSO- $d_6$ -Konzentration.

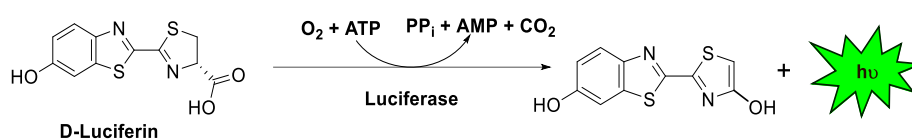
Da es durch die intermolekulare Wechselwirkung zwischen dem Benzamidproton und DMSO- $d_6$  zu einer Schwächung der intramolekularen Wasserstoffbrücke zum Ethersauerstoff von Ring B kommt, steht mehr Elektronendichte für die Konjugation zu Ring B am Ethersauerstoff zur Verfügung. Dies lässt die Vermutung zu, dass die Hochfeldverschiebung des Protons von Ring B auf diesen Lösungsmittelleffekt zurückzuführen ist.

## Biologische Evaluation

Da der Fokus der vorliegenden Arbeit auf der Synthese und Strukturoptimierung von Pyrimidin- und Pyrimidon-basierten  $\alpha$ -Helixmimetika liegt, werden in folgendem Abschnitt nur eine Auswahl der Methoden zur biologischen Evaluation, die von Kooperationspartnern durchgeführt wurden, zusammengefasst beschrieben sowie diskutiert. Die dargestellten Informationen basieren auf vorläufigen Ergebnissen und wurden bisher nicht publiziert.

### Bestimmung der antileukämischen Aktivität der synthetisierten $\alpha$ -Helixmimetika gegenüber Leukämiezellen mittels CellTiter-Glo®-Assay

Die antileukämische Aktivität der synthetisierten  $\alpha$ -Helixmimetika wurde in der Arbeitsgruppe BHATIA durch NIKLAS DIENSTBIER und HEINZ AHLERT evaluiert. Der Assay identifiziert durch photometrische Quantifizierung von ATP die Anzahl lebender Zellen. Dafür wird eine Luciferase-katalysierte Oxidationsreaktion von Luziferin zu Oxyluciferin genutzt, die unter Lichtemission stattfindet. Das Lumineszenz-Signal ist proportional zur Konzentration von ATP und somit zur Anzahl viabler Zellen mit intakten Mitochondrien (Schema 32).



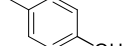
**Schema 32:** Luciferase-katalysierte Oxidation vom D-Luciferin zu Oxyluciferin unter Lichtemission.

Die halbmaximale Inhibitorkonzentrationen ( $IC_{50}$ ) wurden exemplarisch für die CML-Zelllinie K562 und damit inkubierte Tripyrimidonamide **12a** und **13** in Tabelle 19 aufgeführt. Als Referenzen wurden die N-terminalen Hsp90i 17-AAG und PU-H71 verwendet.

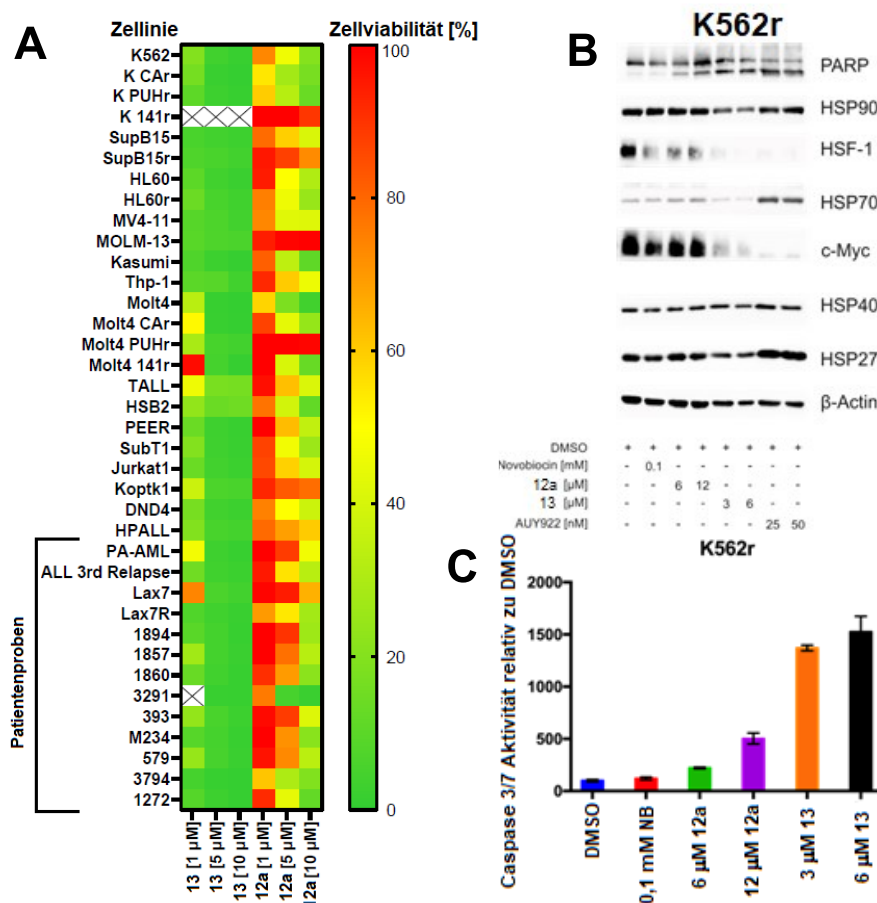
**Tabelle 19:**  $IC_{50}$ -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den Tripyrimidonamiden **12a** und **13** sowie den N-terminalen Hsp90i 17-AAG und PU-H71.

| Bezeichnung         | R1                 | R2        | R3        | R4              | R5      | $IC_{50}$ K562 [ $\mu$ M] |
|---------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------------|---------|---------------------------|
| <b>12a</b> (LSK82)  | Me                 | isopropyl | isopropyl | 4-methoxybenzyl | benzoyl | 4,55                      |
| <b>12c</b> (VWK472) | N,N-dimethylpropyl | isopropyl | isopropyl | 4-methoxybenzyl | benzoyl | 1,56                      |
| <b>13</b> (VWK147)  | Me                 | isopropyl | isopropyl | 4-methoxybenzyl | H       | 2,26                      |

# BIOLOGISCHE EVALUATION

|                    |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                    |   |      |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---|------|
| <b>14</b> (VWK534) |  |  |  |  | H | 44,3 |
| 17-AAG             |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                    |   | 0,23 |
| PU-H71             |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                   |                                                                                    |   | 0,31 |

Die antileukämische Aktivität der  $\alpha$ -Helixmimetika wurde durch das CellTiter-Glo®-Assay gegenüber der CML Zelllinie K562 quantifiziert. Dabei wiesen die Verbindungen **13** ( $IC_{50}$ : 2,26  $\mu$ M) und **12c** ( $IC_{50}$ : 1,56  $\mu$ M) einen niedrigeren  $IC_{50}$ -Wert als die Tripyrimidonamid-Leitstruktur **12a** ( $IC_{50}$ : 4,45  $\mu$ M) auf. Ein möglicher Grund dafür kann in der besseren Löslichkeit von **12c** und **13** in DMSO sowie im Zellmedium im Vergleich zu **12a** liegen. Das Tripyrimidonamid **14** ( $IC_{50}$ : 44,3  $\mu$ M), zeigte eine verringerte antileukämische Aktivität im Vergleich zu **13** ( $IC_{50}$ : 2,26  $\mu$ M). Dies ist bemerkenswert, da beide  $\alpha$ -Helixmimetika mit Gruppen funktionalisiert sind, die es erlauben die *hot spot* Seitenketten Ile688, Tyr689, Ile692 und Leu696 nachzuahmen und sich nur in einer Methylgruppe unterscheiden.



**Abbildung 45:** Heatmap der Zellviabilität von 37 Leukämiezelllinien nach Inkubation mit **12a** und **13** bei drei Konzentrationen (A). Western Blot der K562r-Zelllinie nach Inkubation mit Novobiocin, **12a**, **13** und AUY922 (B). Auftragung der Caspase-3/7 Aktivität gegen die eingesetzten Inhibitorkonzentrationen (C).

Aufgrund der ausgeprägten antileukämischen Aktivität von **13** gegenüber der CML Zelllinie K562 im Vergleich zu den anderen Tripyrimidonamiden, wurden die Aktivität der Verbindungen gegen 36 weitere Leukämiezelllinien evaluiert. Die Zellviabilität für drei Konzentrationen von **12a** und **13** ist als *Heatmap* in Abbildung 45 dargestellt. Die Zellviabilität der meisten Zelllinien liegt bei Verwendung von **13** in einem Konzentrationsbereich von 1  $\mu$ M bis 10  $\mu$ M zwischen 0% und 20%. Im Gegensatz dazu ist im gleichen Konzentrationsbereich für **12a** überwiegend eine Zellviabilität oberhalb von 50% zu beobachten. **13** wirkte antileukämisch gegen die BCR-ABL positive CML-Zelllinie K562 sowie Coumermycin A1- und PU-H71-resistente Varianten dieser Zelllinie (K Car und K PUHr). Ebenso wirkte **13** gegen die c-Myc-amplifizierte AML-Zelllinie HL60 sowie die Imatinib-resistenten Zelllinien HL60r (AML) und SUPB15r (ALL). Mittels Western Blot wurde untersucht, ob es zu einer Überexpression der HSR-assoziierten Proteine Hsp27, Hsp40 und Hsp70 in der K562-Zellen nach Inkubation mit den Tripyrimidonamiden **12a** und **13** bei zwei verschiedenen Konzentrationen kommt. Im Fall des N-terminalen Hsp90i AUY922 lässt sich eine intensivere Bande sowohl für Hsp70 als auch für Hsp27 beobachten. Dies lässt auf eine HSR schließen. Für den C-terminalen Hsp90i Novobiocin sowie für **12a** und **13** wurde dagegen keine intensive Bande für die Hitzeschockproteine im Vergleich zur DMSO-Kontrolle beobachtet. K562r-Zellen, die mit **13** inkubiert wurden, weisen im Vergleich zur Kontrolle eine schwächere Bande für das Onkoprotein c-Myc<sup>ii</sup> auf. Die Inhibition von Hsp90 ist assoziiert mit einer Destabilisierung und Herabregulierung von c-Myc.<sup>276</sup> Für das Tripyrimidonamid **12a** konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden. BHATIA *et al.* berichteten außerdem, dass **13** zu einer Destabilisierung der BCR-ABL1-Kinase in Leukämiezelllinien führt. Um festzustellen, ob die antileukämische Aktivität der Tripyrimidonamide auf Apoptose zurückzuführen ist, wurde ein Caspase-3/7-Assay durchgeführt. Dabei kann die Aktivierung von Caspase-3/7 entweder über den extrinsischen Signalweg der Caspase-8 oder den intrinsischen Signalweg der Caspase-9 stattfinden. Im Assay hydrolysiert Caspase-3/7 die Bindung zwischen der Aminosäurekette und Luciferin eines DEVD-Luciferin-Konjugats. Durch eine Luciferase-katalysierte Oxidation des freigesetzten Luciferins entsteht ein Lumineszenzsignal, das photometrisch detektiert werden kann und zur Quantifizierung der Caspase-Aktivität dient. Sowohl **12a** als auch **13** führen zur Aktivierung von Caspase-3/7. Dabei führt **13** zu einer stärkeren Aktivierung bei 3  $\mu$ M als **12a** bei 12  $\mu$ M. Nach heutigem Forschungsstand ist die antileukämische Aktivität beider Tripyrimidonamide auf Apoptose-Induktion zurückzuführen (Abbildung 45).

---

<sup>ii</sup> Das Onkoprotein c-Myc ist ein Transkriptionsfaktor der zur Expression von Proteinen führt, die an der Zellproliferation von Krebszellen beteiligt sind.<sup>307</sup>

## BIOLOGISCHE EVALUATION

**Tabelle 20:** IC<sub>50</sub>-Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Bipyrimidonamiden.

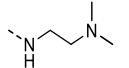
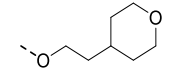
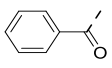
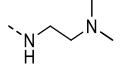
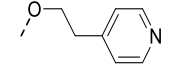
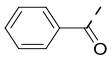
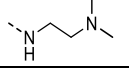
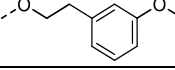
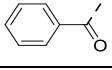
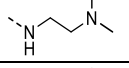
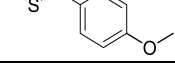
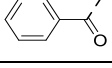
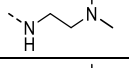
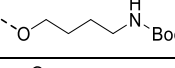
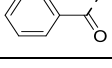
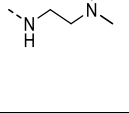
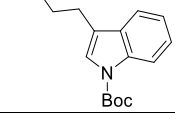
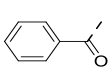
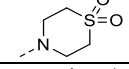
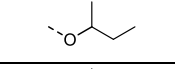
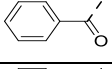
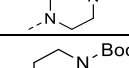
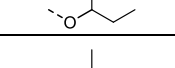
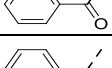
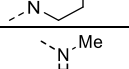
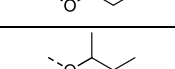
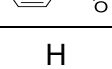
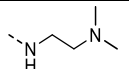
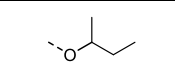
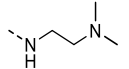
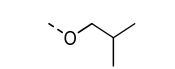
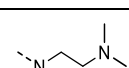
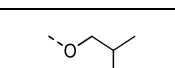
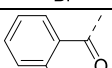
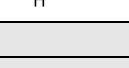
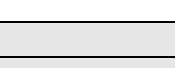
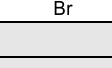
| Bezeichnung         | R1 | R2 | R3 | R4 | IC <sub>50</sub> K562 [μM] |
|---------------------|----|----|----|----|----------------------------|
| <b>10b</b> (VWK346) |    |    |    |    | 2,26                       |
| <b>11b</b> (VWK469) |    |    |    | H  | 85,3                       |
| <b>10c</b> (VWK396) |    |    |    |    | >100                       |
| <b>11c</b> (VWK402) |    |    |    | H  | >100                       |

Die antileukämische Aktivität der Bipyrimidin- und Bipyrimidonamide wird im Folgenden exemplarisch gegenüber der CML-Zelllinie K562 beschrieben. Durch die Einführung einer basischen *N,N*-Dimethylaminoethylgruppe konnten die Bipyrimidonamide **10b** und **11b** mit verbesserter Löslichkeit hergestellt werden. Während **10b** eine gute antileukämische Aktivität mit einem IC<sub>50</sub> von 2,26 μM zeigte, kam es im Fall der Verbindung ohne Benzoylgruppe **11b** (IC<sub>50</sub>: 85,3 μM), zu einer Verringerung der antileukämischen Aktivität.

**Tabelle 21:** IC<sub>50</sub>-Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Bipyrimidinamiden.

| Bezeichnung         | R1 | R2 | R3 | R4 | IC <sub>50</sub> K562 [μM] |
|---------------------|----|----|----|----|----------------------------|
| <b>31a</b> (VWK56)  |    |    |    |    | >100                       |
| <b>31b</b> (VWK141) |    |    |    |    | 1,56                       |
| <b>31c</b> (VWK291) |    |    |    |    | 1,61                       |
| <b>31d</b> (VWK260) |    |    |    |    | 2,34                       |
| <b>31e</b> (VWK370) |    |    |    |    | 1,74                       |
| <b>31f</b> (VWK255) |    |    |    |    | 1,10                       |
| <b>31g</b> (VWK278) |    |    |    |    | 1,15                       |
| <b>31h</b> (VWK372) |    |    |    |    | 19,9                       |
| <b>31i</b> (VWK517) |    |    |    |    | 2,47                       |

## BIOLOGISCHE EVALUATION

|                        |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |      |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>31j</b> (VWK258)    |    |    |    |    | 4,68 |
| <b>31k</b> (VWK252)    |    |    |    |    | 8,71 |
| <b>31l</b> (VWK262)    |    |    |    |    | 3,31 |
| <b>31m</b> (VWK284)    |    |    |    |    | 2,24 |
| <b>31n</b> (VWK503)    |    |    |    |    | 3,16 |
| <b>31o</b> (VWK603)    |    |    |    |    | 0,83 |
| <b>31p</b> (VWK305)    |    |    |    |    | >100 |
| <b>31q</b> (VWK319)    |    |    |    |    | 28,2 |
| <b>31r</b> (VWK318)    |    |    |    |    | 15,1 |
| <b>32</b> (VWK86)      |   |   |   | H                                                                                    | >100 |
| <b>33-TFA</b> (VWK506) |  |  |  | H                                                                                    | 17,1 |
| <b>42a</b> (VWK624)    |  |  |  |  | 0,84 |
| <b>42b</b> (VWK627)    |  |  |  |  | 0,56 |
| 17-AAG                 |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      | 0,23 |
| PU-H71                 |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      | 0,31 |

Die Dimere **10c** und **11c**, in denen die C-terminale Aminogruppe als Boc-Carbamat geschützt vorliegt, sind nicht antileukämisch aktiv ( $IC_{50}$ : >100  $\mu$ M; Tabelle 20). Bemerkenswert ist, dass es im Fall des Tripyrimidonamids **13** ( $IC_{50}$ : 2,26  $\mu$ M) durch das Entfernen der Benzoylgruppe nicht zu einer Abnahme der antileukämischen Aktivität kam. Das Bipyrimidinamid **10b** ( $IC_{50}$ : 2,26  $\mu$ M) demonstrierte eine verbesserte antileukämische Aktivität gegenüber dem Tripyrimidonamid **12a**. Alle evaluierten Pyrimidonamide wiesen höhere  $IC_{50}$ -Werte als 17-AAG ( $IC_{50}$ : 0,23  $\mu$ M) und PU-H71 ( $IC_{50}$ : 0,31  $\mu$ M) auf. *Scaffold Hopping* vom Bipyrimidonamid-Gerüst zum Bipyrimidinamid-Gerüst lieferte die in den in Tabelle 21 aufgeführten  $\alpha$ -Helixmimetika. **31b** wurde als erster *Hit* im CellTiter-Glo<sup>®</sup>-Assay identifiziert und diente für die darauffolgenden Strukturmodifikationen als Leitstruktur bei der Synthese von Bipyrimidinamiden. Das Strukturgerüst von **31b** ist mit einer *iso*-Butyl- ( $R_2$ -Position) und *sec*-Butylseitenkette ( $R_3$ -Position) funktionalisiert und kann dadurch die *hot spot* Seitenketten Ile688, Ile692 und Leu696 der C-terminalen

Dimerisierungsdomäne von Hsp90 nachahmen. Wie im Fall der Bipyrimidonamide, wiesen die Bipyrimidinamide **31a** ( $IC_{50}$ : >100  $\mu$ M) und **32** ( $IC_{50}$ : >100  $\mu$ M) ohne *N,N*-Dimethylaminoethylgruppe eine deutliche Abnahme der antileukämischen Aktivität auf, im Vergleich zu Verbindungen die mit dieser basischen Gruppe am C-Terminus funktionalisiert sind. Dagegen wurde für **31b** ein mit dem Regioisomer **10b** vergleichbarer  $IC_{50}$ -Wert von 1,10  $\mu$ M ermittelt. Die Alkoxyppyrimidine **31b-g** mit aliphatischen Seitenketten in R<sub>2</sub>- und R<sub>3</sub>-Position zeigten ähnliche  $IC_{50}$ -Werte zwischen 1,10  $\mu$ M und 2,34  $\mu$ M. Die Einführung von *N*-Methylpiperazin und *N*-Boc-Piperazin in R<sub>1</sub>-Position führte im Fall der Bipyrimidinamide **31q-r** (**31q**  $IC_{50}$ : 28,2  $\mu$ M; **31r**  $IC_{50}$ : 15,1  $\mu$ M) zu einer Abnahme der antileukämischen Aktivität um eine Größenordnung im Vergleich zu **31b**. Ein Thiomorpholindioxid-Substituent in R<sub>1</sub>-Position führte zu einem Verlust der antileukämischen Aktivität (**31p**  $IC_{50}$ : >100  $\mu$ M). Während das zu **31b** bioisostere Thio-Analogon **31i** eine vergleichbare antileukämische Aktivität zeigte ( $IC_{50}$ : 2,47  $\mu$ M), erzeugte das Aza-Analogon **31h** ( $IC_{50}$ : 19,9  $\mu$ M) eine geringere Aktivität. Die Funktionalisierung des Bipyrimidinamid-Gerüsts mit Tetrahydro-2*H*-pyranylethyl- oder Pyridinylethyl-Resten in R<sub>3</sub>-Position resultierte für die Verbindungen **31j-k** (**31j**  $IC_{50}$ : 4,68  $\mu$ M; **31k**  $IC_{50}$ : 8,71  $\mu$ M) in einer Abnahme der antileukämischen Aktivität im Vergleich zur Leitstruktur **31b**.

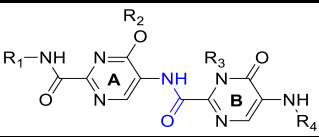
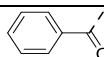
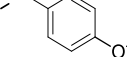
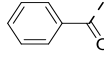
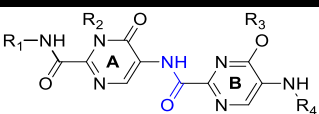
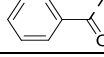
**Tabelle 22:**  $IC_{50}$ -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Triazolopyrimidin-Pyrimidinamiden.

| Bezeichnung         | R1 | R2 | R3 | $IC_{50}$ K562 [ $\mu$ M] |
|---------------------|----|----|----|---------------------------|
| <b>34a</b> (VWK505) |    |    |    | >20                       |
| <b>34b</b> (VWK474) |    |    |    | >20                       |
| <b>34c</b> (VWK513) |    |    |    | 5,12                      |
| <b>34d</b> (VWK400) |    |    |    | 3,80                      |

Die stärkste antileukämische Aktivität wurde für die 2-Brombenzoyl-substituierten Bipyrimidinamid-Derivate **42a** ( $IC_{50}$ : 0,84  $\mu$ M) und **42b** ( $IC_{50}$ : 0,56  $\mu$ M) sowie für das Boc-Indolyethyl-substituierte Derivat **31o** ( $IC_{50}$ : 0,83  $\mu$ M) beobachtet (Tabelle 21). Wie bereits im Fall der Bipyrimidonamide, zeigte das Analogon **33-TFA** ( $IC_{50}$ : 17,1  $\mu$ M), ohne Benzoylgruppe in R<sub>4</sub>-Position, eine geringere antileukämische Aktivität als das

Benzoyl-Analogon **31b**.<sup>jj</sup> Um diese Beobachtung weiter zu untersuchen, wurden die Triazolopyrimidin-Pyrimidinamide **34a-d** hinsichtlich ihrer antileukämischen Aktivität in K562-Zellen analysiert. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 22 aufgeführt. Die antileukämische Aktivität der aliphatisch-substituierten Verbindungen **34a-b** ( $IC_{50}$ : >20  $\mu$ M) war geringer als die der Leitstruktur **31b** und mit jener von **33** vergleichbar. Dagegen ergeben die Messungen für die Verbindungen **34c-d** (**34c**  $IC_{50}$ : 3,80  $\mu$ M; **34d**  $IC_{50}$ : 5,12  $\mu$ M) mit einem Methoxyphenyl- bzw. Dimethoxyphenyl-Substituenten in R<sub>3</sub>-Position mit der Leitstruktur **31b** vergleichbare Aktivitäten.

**Tabelle 23:**  $IC_{50}$ -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Pyrimidin-Pyrimidonamiden. Die zentrale Amidbindung zwischen Ring A und B ist blau dargestellt.

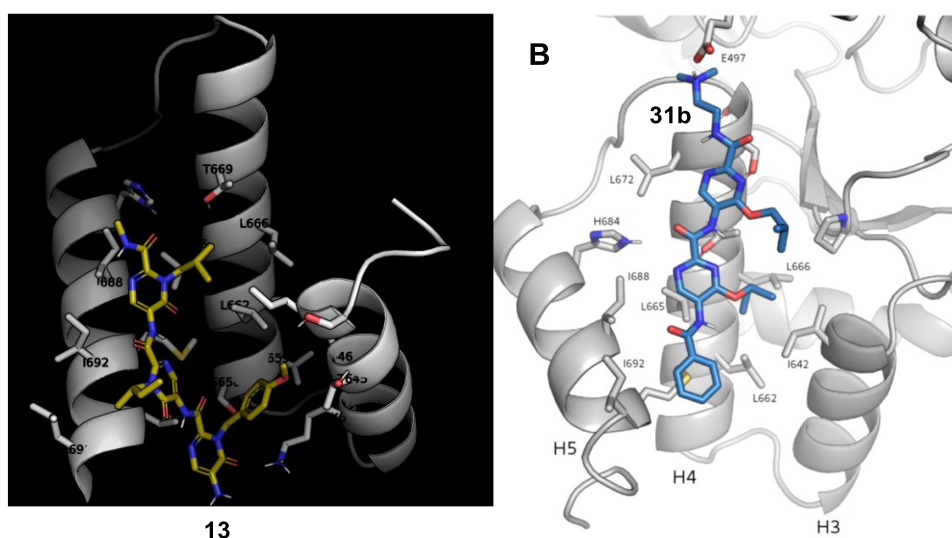
|    |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Bezeichnung                                                                         | R1                                                                                  | R2                                                                                  | R3                                                                                  | R4                                                                                   | $IC_{50}$ K562 [ $\mu$ M] |
| <b>35a</b> (VWK432)                                                                 |    |    |    |    | 3,80                      |
| <b>35b</b> (VWK127)                                                                 |   |   |   |   | 7,08                      |
|  |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                      |                           |
| <b>36</b> (VWK331)                                                                  |  |  |  |  | 11,75                     |

Zur Untersuchung des Einflusses des Abstands der Substituenten in R<sub>2</sub>- und R<sub>3</sub>-Position von der Amidbindung zwischen Ring A und B auf die antileukämische Aktivität, wurden die Pyrimidin-Pyrimidonamide **35a-b** und **36** synthetisiert. Die Pyrimidin-Pyrimidonamide sind mit *iso*-Butyl-, *sec*-Butyl- und *p*-Methoxybenzylseitenketten funktionalisiert, die es ermöglichen sollten die *hot spot* Seitenketten Ile688, Tyr689, Ile692 und Leu696 der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 nachahmen. Die anhand der K562-Zelllinie ermittelten  $IC_{50}$ -Werte für die Dimere **35a-b** und **36** sind in Tabelle 23 aufgeführt. Im Vergleich zur Leitstruktur **31b** liegt der Substituent in R<sub>3</sub>-Position von **35a** näher an der zentralen Amidbindung zwischen Ring A und B; der  $IC_{50}$ -Wert beträgt 3,80  $\mu$ M. Im Fall von **36** befindet sich die Seitenkette in R<sub>2</sub>-Position, sodass sich im Vergleich zur Leitstruktur eine größere Entfernung zur zentralen Amidbindung ergibt. Hier wurde ein um eine Größenordnung höherer  $IC_{50}$ -Wert von 11,75  $\mu$ M beobachtet.

<sup>jj</sup> Die Trimere **37** und **38** wurden aufgrund der schlechten Löslichkeit in DMSO nicht biologisch evaluiert.

### Evaluation der Bindungsmodi von **13** und **31b** an der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 $\alpha$ mittels Molekulardynamik-Simulationen

Um Informationen über die Bindung der  $\alpha$ -Helixmimetika an die CTD von Hsp90 $\alpha$  zu erhalten, wurde in der Arbeitsgruppe GOHLKE durch DAVID BICKEL die freie Diffusion der Liganden in Anwesenheit des verkürzten Hsp90 $\alpha$ -Monomers (AS: 294-699) mit dem Amber18 Programmsuite simuliert.<sup>277</sup> Mögliche Bindungsmodi für **13** bzw. **31b** an der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 $\alpha$  sind in Abbildung 46 dargestellt. Das Tripyrimidonamid **13** befindet sich in dem dargestellten Bindungsmodus im C-terminalen Dimerisierungs-*Interface*.



**Abbildung 46:** Mögliche Bindungsmodi von **13** (A) und **31b** (B) an der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 $\alpha$ . Die abgebildeten Helices H3-H5 bilden das Hauptdimerisierungs-*Interface* von Hsp90.<sup>138</sup> (Die Abbildungen wurden von DAVID BICKEL aus der Arbeitsgruppe GOHLKE erstellt).

Während der *sec*-Butylrest nicht direkt mit dem Interface zu interagieren scheint, liegen sowohl der Methoxybenzyl-Substituent als auch der *iso*-Butyl-Substituent in einer hydrophoben Tasche, die durch Ile642, Leu662, Leu665 und Leu666 auf den Helices H3 und H4 geformt wird. Analog dazu sind auch im dargestellten Bindungsmodus des Bipyrimidinamids **31b** der *sec*-Butyl- sowie der *iso*-Butyl-Substituent in der hydrophoben Tasche zwischen den Helices H3 und H4 positioniert. Darüber hinaus liegt die protonierte *N,N*-Dimethylaminogruppe in der Nähe von Glu497 und ist potenziell in der Lage, eine Salzbrücke zu bilden. Der Benzamid-Substituent befindet sich in einem hydrophoben Bereich zwischen H4 und H5 in der Nähe einer Methionin-Seitenkette und könnte möglicherweise zu einer Methionin-Aryl-Interaktion führen.<sup>278</sup> Obgleich die Bindungsmodi darauf hindeuten, dass die Verbindungen in unterschiedlichen Orientierungen mit dem *Interface* interagieren können, zeigt sich in beiden dargestellten Bindungsmodi, dass das Tripyrimidon- bzw. Bipyrimidin-Grundgerüst weitgehend parallel zu H4 ausgerichtet ist, was der Position von H5' in der Dimer-Struktur entspricht. Ferner adressieren beide

Liganden mit ihren hydrophoben *iso*-Butyl, *sec*-Butyl und 4-Methoxybenzyl<sup>kk</sup>-Substituenten die hydrophobe Tasche zwischen H3 und H4.

### Präklinische Formulierungen von **13** und **31b** zur Untersuchung der antileukämischen *in vivo* Aktivität

Die Untersuchung zur Auffindung einer geeigneten Formulierung wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe BHATIA vom Universitätsklinikum Düsseldorf durchgeführt. Eine Formulierung, in der die Verbindungen stabil und solubilisiert vorliegen, ist wichtig für die späteren *in vivo* Applikation in einem Leukämie-Maus-Modell. Die Löslichkeiten von **13** und **31b**-HCl wurden in drei Konzentrationen und in zehn Formulierungen geprüft. Für die Herstellung Kolliphor<sup>®</sup> HS-haltigen Formulierungen **A-B** wurde der Lösungsvermittler zunächst bei 50 °C aufgeschmolzen, zu den Verbindungen gegeben und bei 40 °C im Ultraschallbad homogenisiert. Anschließend wurden Hilfsstoffe (PEG 400 oder 0,9%ige NaCl-Lösung) hinzugefügt und die Vials bei 40 °C im Ultraschallbad homogenisiert. Für Vehikel **C** wurden die Substanzen in Kolliphor<sup>®</sup> EL homogenisiert und anschließend mit 0,9%iger NaCl-Lösung versetzt. Zur Herstellung von Vehikel **D** wurden die Verbindungen in DMSO gelöst, mit Kolliphor<sup>®</sup> HS versetzt und homogenisiert. Nach Zugabe einer 5%igen Mannitol-Lösung wurde das Gemisch 30 Minuten lang bei 40 °C im Ultraschallbad behandelt. Für die Vehikel **E-H** wurden die Verbindungen zunächst im organischen Lösungsmittel suspendiert, fünf Minuten bei 40 °C im Ultraschallbad behandelt, mit den wässrigen Bestandteilen versetzt und 30 Minuten lang bei 40 °C im Ultraschallbad homogenisiert. Für die Vehikel **I** und **J** wurden die Lösungsvermittler zu den Verbindungen hinzugegeben, gemischt, mit 0,9%iger NaCl-Lösung versetzt und das Gemisch für 30 Minuten bei 40 °C im Ultraschallbad homogenisiert.

**Tabelle 24:** Löslichkeitsuntersuchung von **13** und **31b** in verschiedenen Vehikeln. L: gelöst; NL: nicht gelöst; S: suspendiert.

|   | Vehikel                                                                | <b>13</b> |     |         |     |         |     | <b>31b-HCl</b> |     |         |     |         |     |
|---|------------------------------------------------------------------------|-----------|-----|---------|-----|---------|-----|----------------|-----|---------|-----|---------|-----|
|   |                                                                        | 6 mg/ml   |     | 4 mg/ml |     | 2 mg/ml |     | 6 mg/ml        |     | 4 mg/ml |     | 2 mg/ml |     |
|   |                                                                        | 3h        | 24h | 3h      | 24h | 3h      | 24h | 3h             | 24h | 3h      | 24h | 3h      | 24h |
| A | Kolliphor <sup>®</sup> HS-0,9% NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(20%:80%, v/v) | NL        | NL  | NL      | NL  | NL      | NL  | NL             | NL  | NL      | NL  | L       | L   |
| B | PEG 400-Kolliphor <sup>®</sup> HS<br>(50%:50%, v/v)                    | L         | NL  | L       | L   | -       | -   | S              | NL  | L       | L   | -       | -   |
| C | Kolliphor <sup>®</sup> EL-0,9% NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(20%:80%, v/v) | NL        | NL  | NL      | NL  | NL      | NL  | NL             | NL  | NL      | NL  | L       | L   |
| D | DMSO-Kolliphor <sup>®</sup> EL-5%<br>Mannitol (10%:10%:80%, v/v/v)     | NL        | NL  | NL      | NL  | NL      | NL  | NL             | NL  | NL      | NL  | L       | L   |
| E | DMSO-PEG 400-0,9% NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(20%:50%:30%)               | NL        | NL  | NL      | NL  | L       | L   | NL             | NL  | NL      | NL  | L       | L   |
| F | PEG 400-5% Dextrose <sub>(aq.)</sub><br>(25%:75%, v/v)                 | NL        | NL  | NL      | NL  | NL      | NL  | NL             | NL  | NL      | NL  | NL      | NL  |

<sup>kk</sup> Nur im Fall vom Tripyrimidonamid **13**.

## BIOLOGISCHE EVALUATION

|   |                                                            |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---|------------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| G | DMA-PEG400- NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(20%:20%:60%)         | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | D  | S  |
| H | Ethanol-DMA-PG- NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(10%:10%:30%:50%) | NL | NL | NL | NL | NL | NL | L  | NL | L  | L  | -  | -  |
| I | Captisol-NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(30%:70%)                | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL |
| J | 2HPβCD-NaCl <sub>(aq.)</sub><br>(20%:80%)                  | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL | NL |

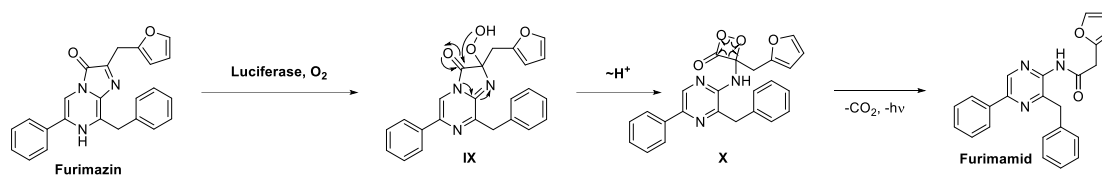
Die Formulierungen von **13** und **31b**-HCl wurden bei Raumtemperatur<sup>II</sup> gelagert und nach 3 und 24 Stunden optischen Löslichkeitskontrollen unterzogen (Tabelle 24). **13** war vollständig im Vehikel **B** aus PEG 400 und Kolliphor® HS bei einer Konzentration von 4 mg/ml nach 24 Stunden löslich. Höhere Konzentrationen führten zu Präzipitation. Im Vehikel **E** aus DMSO, PEG 400 und 0,9%iger NaCl-Lösung war **13** nur bis 2 mg/ml löslich. **31b**-HCl war vollständig in den Vehikeln **A**, **C** und **E** bis zu einer Konzentration von 2 mg/ml für 24 Stunden löslich. Im Vehikel **B** war die Lösung von **31b** bei einer Konzentration von 4 mg/ml für 24 Stunden stabil, bildete bei höheren Konzentrationen aber eine Suspension. In Vehikel **H** verblieb die Verbindung bei einer Konzentration von 4 mg/ml in Lösung, erwies sich bei höheren Konzentrationen allerdings als instabil. Zusammenfassend bieten die Vehikel **B** (PEG 400-Kolliphor® HS) und **H** (Ethanol-DMA-PG-0,9% NaCl<sub>(aq.)</sub>) die Möglichkeit, stabile Formulierungen von **31b**-HCl bis zu 4 mg/ml herzustellen, während Vehikel **B** für **13** eingesetzt werden kann.

### cBRET-Assay zur Untersuchung des Einflusses von **10b** und **13** auf die Dimerisierung von Hsp90

Der Einfluss der Verbindungen **10b** und **13** auf die C-terminale Dimerisierung von Hsp90 wurde in der Arbeitsgruppe WANKER am Max-Delbrück-Centrum Berlin mittels BRET (Biolumineszenz-Resonanzenergietransfer)-Assays *in vitro* untersucht. Dabei wurden das Köder-Fusionsprotein aus *mCitrine* (mCit), *Protein Tag A* (PA) und dem induzierbaren Hsp90α (HSP90AA1) bzw. dem konstitutiv exprimierten Hsp90β (HSP90AB1), sowie das Beute-Fusionsprotein aus NanoLuc<sup>TM</sup> (NL) und Hsp90α bzw. Hsp90β, nach Transfektion entsprechender Plasmide, in der Nierenzelllinie HEK293 exprimiert. Durch die NanoLuc<sup>TM</sup>-katalysierte Oxidation des Luziferins Furimazin, einem Coelenterazin-Derivat zu Furimamid, kommt es zu einer Energieübertragung zum Fluoreszenzprotein mCit. Der Mechanismus der Furimazin-Oxidation durch NanoLuc<sup>TM</sup> wurde von JANIN *et al.* diskutiert.<sup>279</sup> Dabei wird Furimazin zunächst mit Sauerstoff durch die Luciferase zum Hydroperoxid **IX** umgesetzt. In einer anschließenden Umlagerungsreaktion entsteht aus **IX** das Dioxetanon **X**. Durch die Decarboxylierung von

<sup>II</sup> Kolliphor® HS-haltige Vehikel wurden bei 37 °C gelagert.

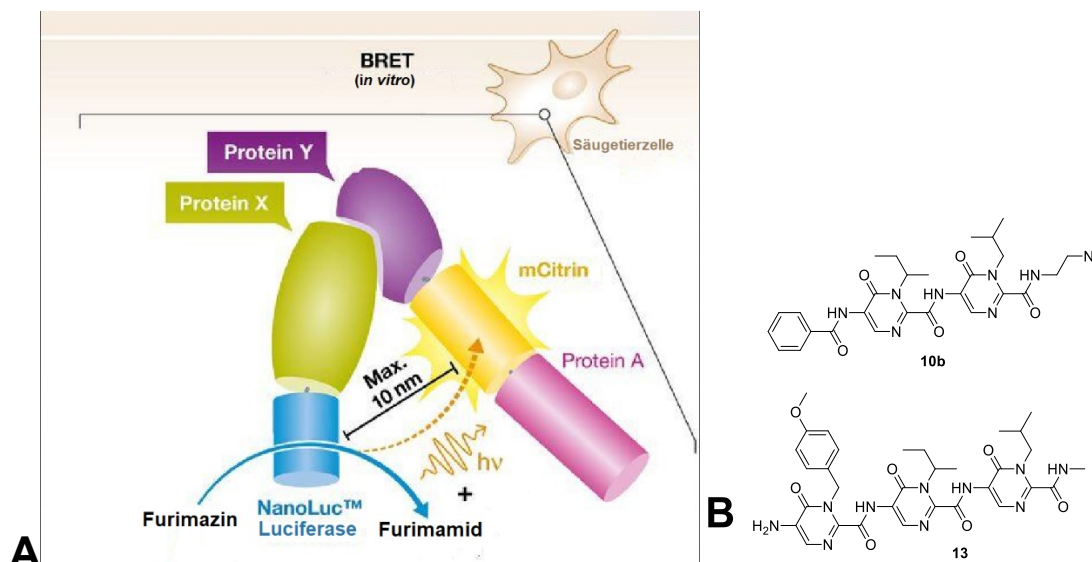
**X** entsteht Furimamid in einem angeregten Zustand, der unter Emission eines Photons relaxiert (Schema 33).



**Schema 33:** Mechanismus der Umsetzung von Furimazin zu Furimamid durch NanoLuc™ nach JANIN *et al.*

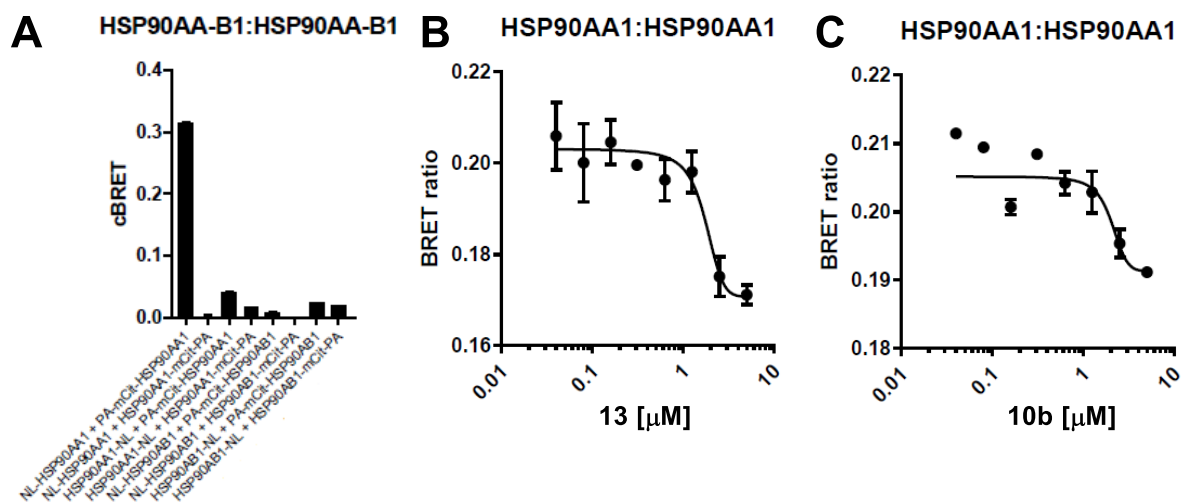
Die BRET-Emission von mCit wurde anschließend detektiert. Der Abstand der Donor- und Akzeptorproteine sollte dabei nicht größer als 10 nm sein, um eine ausreichende BRET-Effizienz zu gewährleisten (Abbildung 49).<sup>280</sup> Zuvor wurden mehrere Hybrid-Konstrukte von Hsp90-NL bzw. Hsp90-PA-mCit hinsichtlich ihrer cBRET-Signalintensität evaluiert. Das höchste cBRET-Signal wurde für Hybrid-Konstrukte beobachtet, bei denen NL bzw. PA-mCit am C-Terminus von Hsp90 angebracht waren (Abbildung 50). Bemerkenswert ist, dass die entsprechende Kombination von Hybridproteinen mit Hsp90β anstelle von Hsp90α ein niedrigeres BRET-Signal zeigte. Da die Dimerisierung von Hsp90 über Protein-Protein-Interaktionen am C-Terminus stattfindet, kann diese Beobachtung vermutlich dadurch erklärt werden, dass in den Konstrukten die Distanz und Orientierung von NL und mCit zu einem besseren Energietransfer führt. Eine ähnliche Beobachtung wurde auch von TREPTE *et al.* bei der Untersuchung der Interaktion<sup>mm</sup> zwischen VCP (*valosin-containing protein*) und UBX (*ubiquitin regulatory X*) gemacht.<sup>280</sup>

<sup>mm</sup> Die VCP-UBX-Interaktion findet zwischen der C-terminalen Domäne von UBX und der N-terminalen Domäne von VCP statt. Die höchsten cBRET Verhältnisse wurden für Hybrid-Proteine beobachtet, bei denen die Protein-*Tags* in der Nähe dieser Domäne angebracht wurden.<sup>280</sup>



**Abbildung 47:** Darstellung des BRET-Mechanismus bei Protein-Protein-Interaktionen zwischen zwei Fusionsproteinen *in vitro* (A, abgewandelt von TAIPALE *et al.*<sup>281</sup>). Strukturformeln von **10b** und **13** (B).

Nach der Inkubation von transfizierten HEK293-Zellen mit **10b** bzw. **13** wurde eine konzentrationsabhängige Abnahme des BRET Verhältnisses beobachtet. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass beide Verbindungen einen Einfluss auf die Distanz oder die Orientierung der Protein-Tags an Hsp90 nehmen, was auf eine Modulation der Dimerisierung von Hsp90 $\alpha$  durch **10b** und **13** hindeutet.

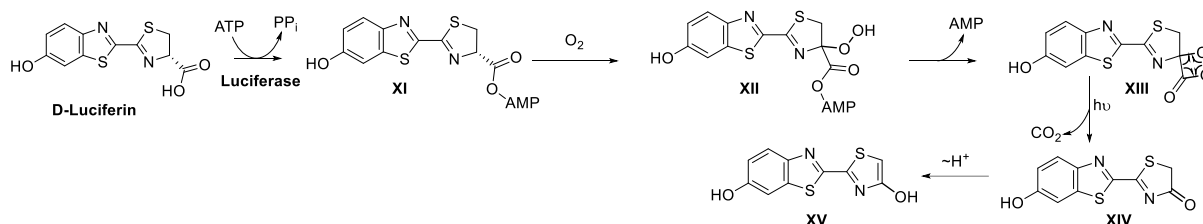


**Abbildung 48:** cBRET zur Untersuchung der Hsp90-Dimerisierung: cBRET-Signale für verschiedene Kombinationen von Hsp90-NL und Hsp90-PA-mCit Hybridproteinen *in vitro* (A). Konzentrationsabhängige Abnahme des cBRET Verhältnisses in transfizierten HEK293-Zellen nach Inkubation mit **13** (B) und **10b** (C).

### Untersuchung von **10b**, **12a**, **13** und **31b** mittels Luciferase-Renaturierungs Assay

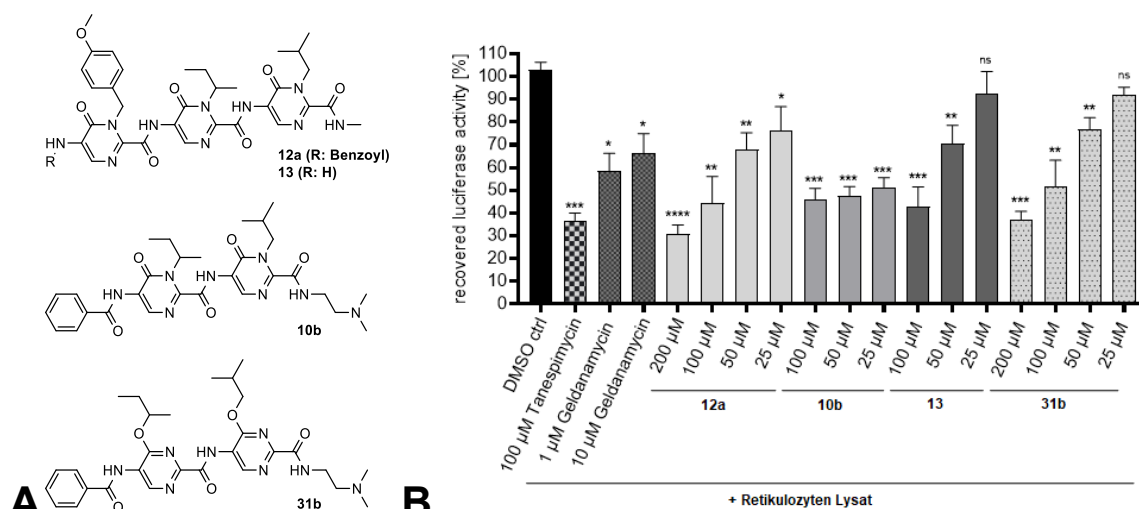
Die Eigenschaft des Chaperons Hsp90, die Funktion denaturierter Luciferase wiederherzustellen, wurde ausgenutzt, um zu untersuchen, ob ausgewählt synthetisierte  $\alpha$ -Helixmimetika diesen Prozess inhibieren. Die Untersuchungen wurden in der

Arbeitsgruppe BHATIA am Universitätsklinikum Düsseldorf von MELINA VOGT und NIKLAS DIENSTBIER durchgeführt. Die Luciferase wurde zunächst acht Minuten bei 38 °C denaturiert. Anschließend wurde das denaturierte Protein mit Retikulozyten-Zelllysats<sup>nn</sup> versetzt, um, durch darin enthaltene Cochaperone, die Proteinaktivität wiederherzustellen. Die renaturierte Luciferase katalysiert die ATP-abhängige Oxidation von D-Luciferin unter Lichtemission. Diese ist proportional zur Aktivität der renaturierten Luciferase. Im Zuge der Oxidation von D-Luciferin entsteht zunächst das gemischtes Anhydrid **XI** durch eine Reaktion mit ATP.



**Schema 34:** Oxidation von D-Luciferin katalysiert durch Luciferase.

Ähnlich wie bei der Oxidation von Furimazin entsteht aus dem gemischten Anhydrid **XI** durch Reaktion mit Sauerstoff das Hydroperoxid **XII**. Durch eine intramolekulare Cyclisierung entsteht das Dioxetanon **XIII**. Über eine Decarboxylierung entsteht das Thiazolon **XIV** in einem angeregten Zustand, der nach Relaxation durch Lichtemission und Aromatisierung zu Oxyluciferin **XV** umgewandelt wird (Schema 32).



**Abbildung 49:** Die Renaturierung von Luciferase wird durch die synthetisierten  $\alpha$ -Helixmimetika **12a**, **13**, **10b** und **31b** (A) und N-terminale Hsp90i inhibiert. Die wiederhergestellte Luciferase Aktivität kann photometrisch bestimmt werden (B).

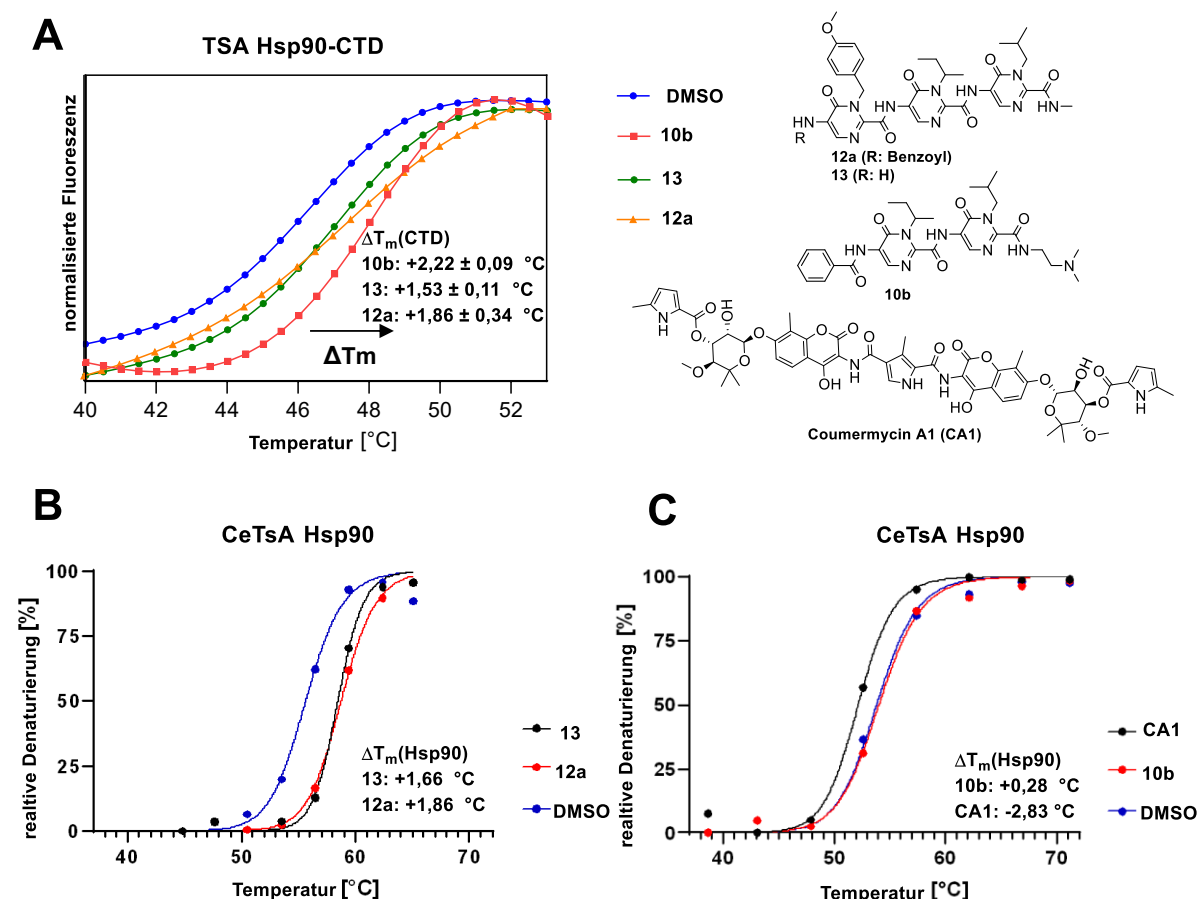
<sup>nn</sup> Retikulozyten-Lysat enthält hohe Konzentrationen an Hitzeschockproteinen (Hsp90, Hsp70). SCHUMACHER *et al.* beschrieben hier eine Korrelation zwischen der Konzentration von Hsp90 und Hsp70 in Retikulozyten und der ATP-abhängigen Wiederherstellung der Aktivität von Luciferase.<sup>308</sup>

Nachdem die denaturierte Luciferase zusammen mit den Inhibitoren **12a**, **13**, **10b** und **31b** im Konzentrationsbereich zwischen 25  $\mu\text{M}$  bis 200  $\mu\text{M}$  und dem Retikulozyten-Zelllysats inkubiert wurde, wurde die jeweilige Lichtemission vermessen (Abbildung 51). Sowohl die N-terminalen Hsp90i Referenzinhibitoren, als auch die synthetisierten  $\alpha$ -Helixmimetika **12a**, **13**, **10b** und **31b** führen zu einer Verringerung der wiederhergestellten Luciferase-Aktivität im Vergleich zur DMSO-Kontrolle. Ob dieser Effekt auf eine Inhibition der C-terminalen Dimerisierung von Hsp90 zurückzuführen ist, oder auf die Modulation eines anderen Mechanismus der Renaturierung, lässt sich nicht eindeutig feststellen. Ein signifikanter Effekt tritt, sowohl im Fall der N-terminalen Hsp90i, als auch im Fall der  $\alpha$ -Helixmimetika erst bei Konzentrationen auf die eine bis zwei Größenordnungen über den  $\text{IC}_{50}$  Werten für die Zellviabilität der Verbindungen liegen.

#### **Untersuchung der Verbindungen 10b, 12a und 13 mittels *Thermal Shift Assay* und *Cellular Thermal Shift Assay***

Die Denaturierungstemperatur eines Proteins wird durch die Bindung von Liganden verändert. Um die thermische Stabilisierung der Hsp90-CTD sowie Hsp90 im Zelllysats durch **10b**, **12a** und **13** zu ermitteln wurden TSAs (*thermal shift assays*) und CeTsAs (*cellular thermal shift assays*) durchgeführt. Die Untersuchungen wurden in der Arbeitsgruppe BHATIA von MELINA VOGT und NIKLAS DIENSTBIER durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 52 dargestellt. Zur Messung der thermischen Denaturierung der CTD von Hsp90 im TSA, wurde die temperaturabhängige Fluoreszenzzunahme des Fluorophors SYPRO-Orange, mit einem Fluorimeter bestimmt. Während im ungebundenen Zustand die Fluoreszenz von SYPRO-Orange durch Wasser gequencht wurde, kam es durch die Denaturierung zur Exponierung hydrophober Oberflächen im Protein, an die der Fluorophor binden konnte. Im gebundenen Zustand kam es durch den Ausschluss von Wasser zu einer Erhöhung des Fluoreszenzsignals, das während des TSA detektiert werden konnte.<sup>282</sup> Sowohl das Bispyrimidonamid **10b** ( $\Delta T_m$ : +2,22 °C) als auch die Tripyrimidonamide **12a** ( $\Delta T_m$ : +1,86 °C) und **13** ( $\Delta T_m$ : +1,53 °C) führten zu einer Erhöhung der Schmelztemperatur der CTD von Hsp90 im Vergleich zur DMSO-Kontrolle (Abbildung 52). Im CeTsA wurden **10b**, **12a** und **13** mit K562-Zellen inkubiert. Nach dem Erhitzen der Zellen auf verschiedenen Temperaturen und anschließender Lyse der Zellen, konnten aggregierte Proteine durch Zentrifugation entfernt werden. Stabile Proteine konnten durch ein automatisiertes Westernblot-Analysegerät (Jess) im Überstand quantifiziert werden. Die Auftragung der relativen Denaturierung von Hsp90 im Zelllysats gegen die Temperatur ist in Abbildung 52 dargestellt. Sowohl **12a** ( $\Delta T_m$ : +1,86 °C) als auch **13** ( $\Delta T_m$ : +1,66 °C) führten zu einer Erhöhung der Schmelztemperatur von Hsp90 relativ zur DMSO-Kontrolle. Im Vergleich

dazu führte das Bipyrimidonamid **10b** zu einer geringeren Verschiebung der Schmelztemperatur ( $\Delta T_m$ : +0,28 °C). Auffallend ist, dass der C-terminale Hsp90i Coumermycin A1 (CA1), der im Assay als Referenz verwendet wurde, zu einer negativen Verschiebung der Schmelztemperatur von Hsp90 führte ( $\Delta T_m$ : -2,83 °C). Diese Beobachtung deutet auf eine Destabilisierung<sup>oo</sup> von Hsp90 durch CA1 hin.



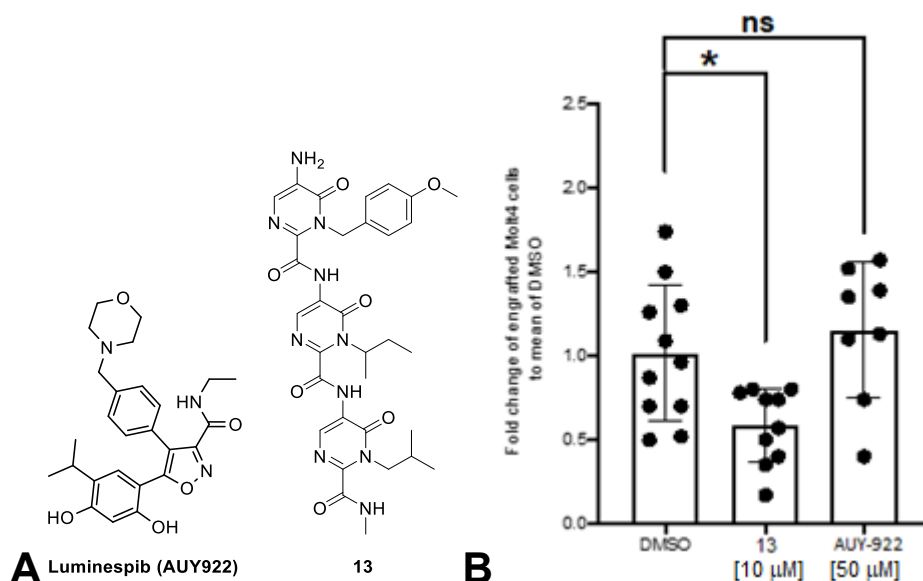
**Abbildung 50:** TSA für die CTD von Hsp90 nach Inkubation mit den  $\alpha$ -Helixmimetika **10b**, **12a** und **13** (A). CeTsA für Hsp90 im Zelllysate von K562-Zellen nach Inkubation mit **12a** und **13** (B) sowie **10b** und CA1 (C).  $T_m$  wird als Schmelzpunkt der Proteine bezeichnet und stellt die Wendestelle einer Kurve dar.

### **In vivo Evaluation des Tripyrimidonamids 13 in einem Zebrafisch-Xenograft-Modell**

Aufgrund der vielversprechenden *in vitro* Aktivität des Tripyrimidonamids **13** gegenüber verschiedenen Leukämiezelllinien, wurde die Verbindung durch Kooperationspartner auf ihre *in vivo* Aktivität untersucht. Die Evaluation erfolgte am Universitätsklinikum Tübingen in der Arbeitsgruppe BAJOGHLI durch NARGESSADAT AGHAALLAEI. Zebrafische stellen, aufgrund der Homologie von Zellzyklusgenen, Tumorsuppression- und Onkogenen zum Menschen, geeignete Systeme zur *in vivo* Untersuchung von Wirkstoffkandidaten in

<sup>oo</sup> CIMPERMAN *et al.* postulierten ein Modell nachdem einige Liganden an eine nicht-native Konformation eines Proteins binden können, die eine geringere thermische Stabilität aufweist als die native Konformation. Eine solche Interaktion äußert sich in einer negativen Verschiebung der Schmelztemperatur  $T_m$  eines Proteins.<sup>309</sup>

Xenograft-Modellen dar.<sup>283,284</sup> Um die antileukämische Aktivität der Verbindungen gegenüber den Zebrafisch-Embryos zu untersuchen, wurden die Embryos mit unterschiedlichen Konzentrationen des N-terminalen Hsp90i AUY922 und **13** über zwei Tage hinweg behandelt. Im Fall von **13** überlebten alle Embryos, die mit Konzentrationen zwischen 10  $\mu$ M und 50  $\mu$ M behandelt wurden. Höhere Konzentrationen waren toxisch, wobei eine vollständige Letalität bei 500  $\mu$ M beobachtet wurde. Im Fall von AUY922 überlebten die Embryos Konzentrationen zwischen 10  $\mu$ M und 50  $\mu$ M. Dabei zeigten Embryos bei 50  $\mu$ M einen verschlechterten Gesundheitszustand. Eine vollständige Letalität wurde bei 100  $\mu$ M beobachtet. Zur Untersuchung der *in vivo* Aktivität der Verbindungen wurden 150-200 Fluoreszenz-markierte Molt4<sup>PP</sup>-Zellen in Zebrafisch-Embryos einen Tag nach der Befruchtung (dpf) injiziert. Zwei Tage nach der Befruchtung wurden die Embryos mit **13** (10  $\mu$ M) und AUY922 (50  $\mu$ M) behandelt. Drei Tage nach der Befruchtung wurden die Embryos mittels FACS (*fluorescence-activated cell sorting*) untersucht. Drei Embryos stellen ein biologisches Replikat dar. Das Verhältnis aus *in vivo* mit **13** und AUY922 behandelten Molt4-Zellen und dem Mittelwert der DMSO-Kontrolle ist in Abbildung 53 dargestellt.



**Abbildung 51:** *In vivo* Untersuchung des Einflusses von **13** und AUY922 auf transplantierte Molt4-Zellen in Zebrafisch-Embryos. Strukturformeln von AUY922 und **13** (A). Verhältnis transplanteder Molt4-Zellen in mit **13** und AUY922 behandelten Zebrafisch-Embryos zum Mittelwert der DMSO-Kontrolle (B; 3 dpf; ein biologisches Replikat ist als schwarzer Punkt dargestellt und entspricht drei Embryos. Die Abbildung wurde von NARGESSADAT AGHAALLAEI aus der Arbeitsgruppe BAJOGHLI zur Verfügung gestellt.).

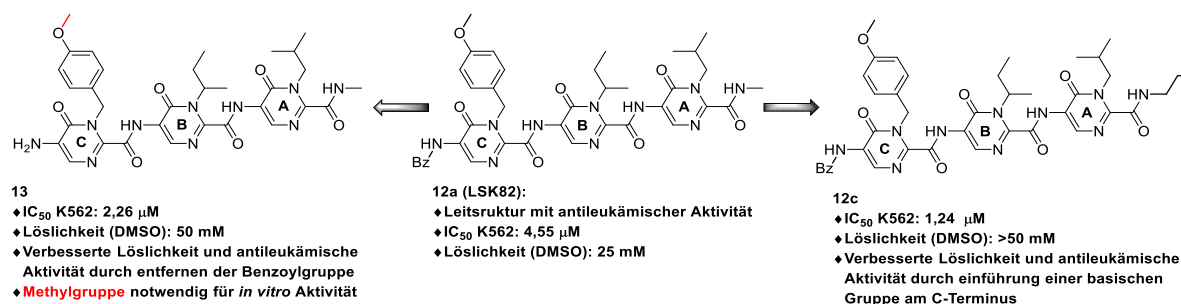
<sup>PP</sup> Eine T-Zell-Leukämiezelllinie.

## BIOLOGISCHE EVALUATION

Das Tripyrimidonamid **13** führte zu einer signifikanten Verringerung des Verhältnisses transplanterter Molt4-Zellen in Zebrafisch-Embryos, während der N-terminale Hsp90i AUY922 keinen signifikanten Effekt auf das Verhältnis hatte.

## Zusammenfassung und Ausblick

Die Strukturoptimierung der antileukämisch-aktiven Leitstruktur **12a** führte zur Synthese von vier neuen  $\alpha$ -Helixmimetika Strukturtypen basierend auf Pyrimidin- und Pyrimidonamiden mit verbesserter Löslichkeit und verbesserter antileukämischer Aktivität. Die dargestellten Derivate wurden zur biologische Evaluation für Kooperationspartner bereitgestellt. Ausgewählte Ergebnisse der vorläufigen biologischen Untersuchungen wurden in dieser Arbeit zusammengefasst. Ausgehend von Tripyrimidonamid **12a** als Leitstruktur gelang es durch Entfernen der Benzoylgruppe oder Einführung einer basischen *N,N*-Dimethylaminoethylgruppe, die Derivate **12c**, **13**, **14** mit verbesserter Löslichkeit herzustellen (Abbildung 54). Die Synthesen der Tripyrimidonamide **12c**, **13** und **14** sowie der Pyrimidon-Monomere sind in Schema 1 und Schema 2 dargestellt. Die *in vitro* Evaluation der Tripyrimidonamide **12c** und **13** zeigte, dass sowohl das Entfernen der Benzoylgruppe als auch die Einführung eines basischen tertiären Amins am C-Terminus zu einer Verbesserung der Löslichkeit und der antileukämischen Aktivität führte. Im Fall des Phenol-funktionalisierten Tripyrimidonamids **14** ( $IC_{50}$  K562: 44,34  $\mu$ M) kam es zu starken Abnahme der antileukämischen Aktivität im Vergleich zum Phenolether-funktionalisierten Analogon **13** ( $IC_{50}$  K562: 2,26  $\mu$ M). Dies ist bemerkenswert, da sich beide Verbindungen lediglich in einer Methylgruppe am Substituenten von Ring C unterscheiden. Darüber hinaus demonstrierte **13** *in vivo* Aktivität gegen die T-Zell-Leukämiezelllinie Molt4 in einem Zebrafisch-Xenograft-Modell.

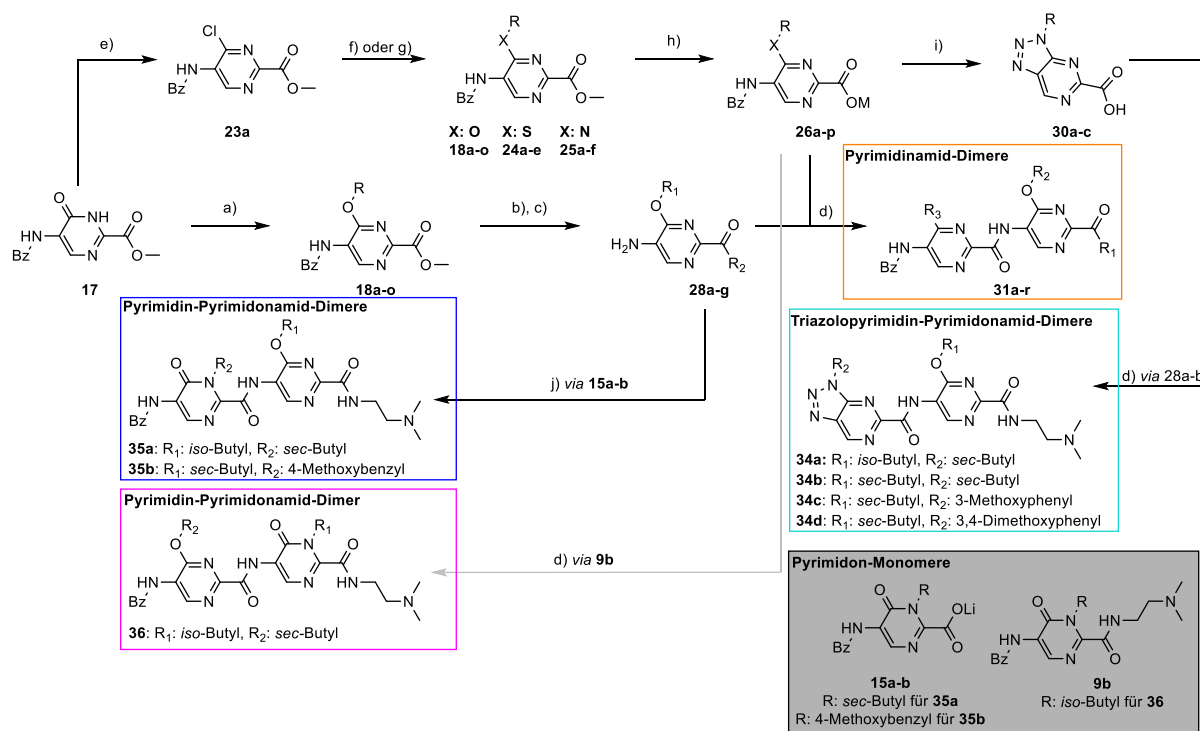


**Abbildung 52:** Die Tripyrimidonamide **12c** und **13** weisen eine verbesserte Löslichkeit und antileukämische *in vitro* Aktivität gegenüber der K562-Zelllinie auf, als die Leitstruktur **12a**.

Durch *Scaffold Hopping* vom Tripyrimidonamid- zum Bipyrimidonamid-Strukturtyp konnte **10b** über eine kürzere Syntheseroute hergestellt werden. Das Bipyrimidonamid **10b** zeigte eine verbesserte antileukämische *in vitro* Aktivität gegenüber der Leukämiezelllinie K562 im Vergleich zum Tripyrimidonamid **12a** und konnte aufgrund der verbesserten Löslichkeit ohne das Auftreten von Präzipitaten durch Pipettierroboter im Rahmen der *in vitro* Untersuchungen appliziert werden. Sowohl das Tripyrimidonamid **13** als auch das Bipyrimidonamid **10b** führten zu einer thermischen Stabilisierung der C-terminalen Domäne von Hsp90 und zellulärem Hsp90 im *Thermal Shift Assay* und *Cellular Thermal*

## ZUSAMMENFASSUNG

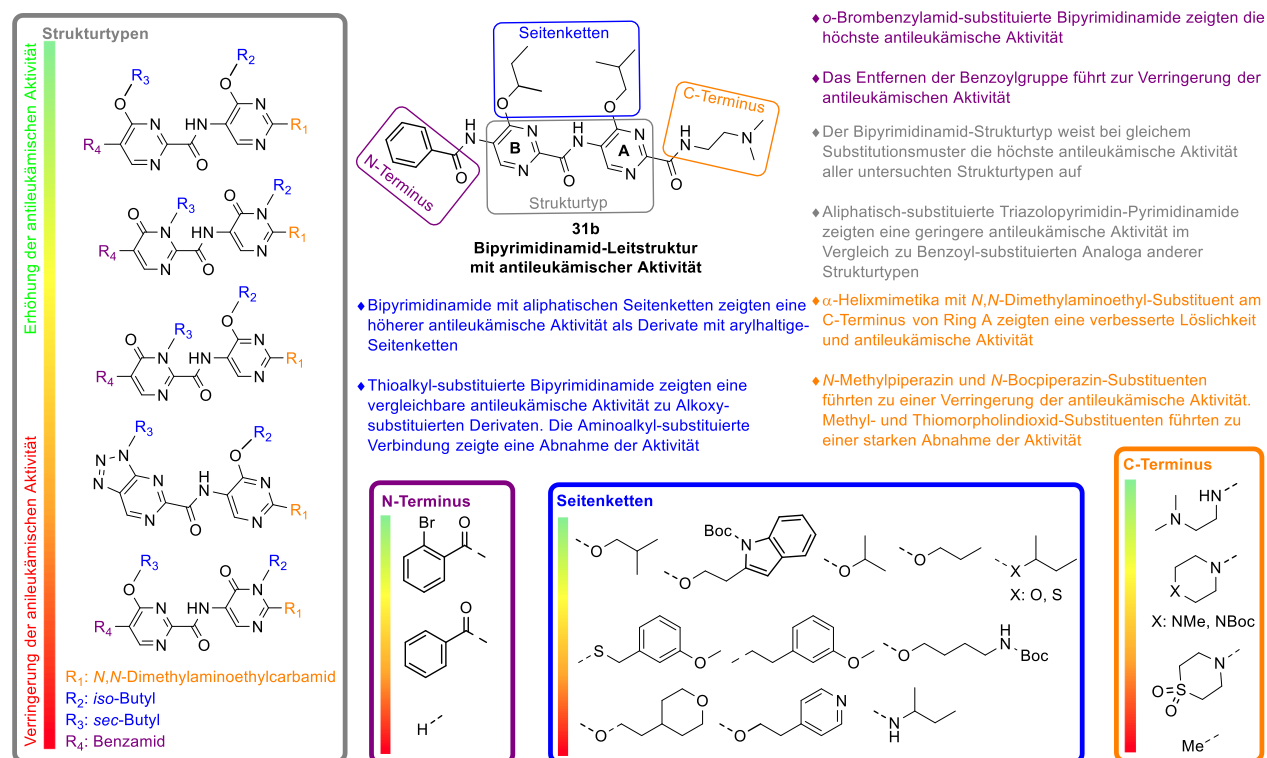
**Shift Assay.** Beide Verbindungen inhibierten die Renaturierung von Luciferase durch den Hsp90-Chaperon-Komplex, wobei für **13** auch eine Destabilisierung der Hsp90-Klientproteine c-Myc und BCR-ABL1 ohne Überexpression der HSR-assoziierten Proteine HSF1, Hsp27 und Hsp70 nachgewiesen werden konnte. Mittels *Cellular Bioluminescence Resonance Energy Transfer*-Assay konnte eine konzentrationsabhängige Abnahme des cBRET-Signals für die Hsp90 $\alpha$ -Fusionsproteine durch **10b** und **13** *in vitro* beobachtet werden. Diese Beobachtung deutet auf eine Modulation des Abstands und der Orientierung zwischen den Hsp90 $\alpha$ -Monomere durch **10b** und **13** hin. Der Zugang zu Bipyrimidinamid-basierten  $\alpha$ -Helixmimetika **31a-r** konnte durch Derivatisierung des Pyrimidons **17** erzielt werden (Schema 35). Hierzu wurde zunächst die O-Alkylierung von **17** mittels MITSUNOBU-Reaktion unter Variation der Reaktionsbedingungen untersucht und Methoden zur Abtrennung der Nebenprodukte evaluiert. Die optimierte Methode wurde im Anschluss zur erfolgreichen Darstellung der 4-Alkoxypyrimidin-Derivate **18a-o** eingesetzt. Die Desoxychlorierung von **17** ermöglichte die Synthese der 4-Thioalkylpyrimidine **24a-e** und 4-Aminoalkylpyrimidine **25a-f**.



Schema 35 Synthese von vier  $\alpha$ -Helixmimetika-Strukturtypen aus dieser Arbeit ausgehend von **17**: a) 1,30 äq. PPh<sub>3</sub>, 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. ROH, THF, 0 °C-RT, 24 h; b) 8,00 äq. Amin, EtOH, RT, 18-24 h; c) 1,30 äq. NaOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, RT, 24 h; d) 1.10 äq. 5-Aminopyrimidin, 1.00 äq. Pyrimidin-2-carbonsäure, 1.10 äq. HATU, 2.00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h; e) 5.00 äq. POCl<sub>3</sub>, 2.00 äq. NEt<sub>3</sub>HCl, 0.50 äq. NEt<sub>3</sub>, Acetonitril 80 °C, 1 h; **24a-e** mittels f) 2.00 äq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1.10 äq. Thiol, DMF, 60 °C, 1 h; **25a-f** mittels g) 1.10 äq. Amin, 2.00 äq. DIPEA, DMF, 115 °C, 16 h; h) 1.00 äq. LiOH, THF/H<sub>2</sub>O, 24 h, RT, dann für Carbonsäuren: 1 M HCl(aq.), RT; für Lithiumcarboxylat: Entfernen des Lösungsmittels und versetzen mit Diethylether; i) 1 M NaOH, H<sub>2</sub>O, Rückfluss, 5-9 h, dann 1.5 äq. NaNO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O, 0 °C-RT, 5 h; j) 1.00 äq. 5-Aminopyrimidin, 1.30 äq. Lithiumpyrimidon-2-carboxylat, 1.70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h.

## ALLGEMEINER TEIL

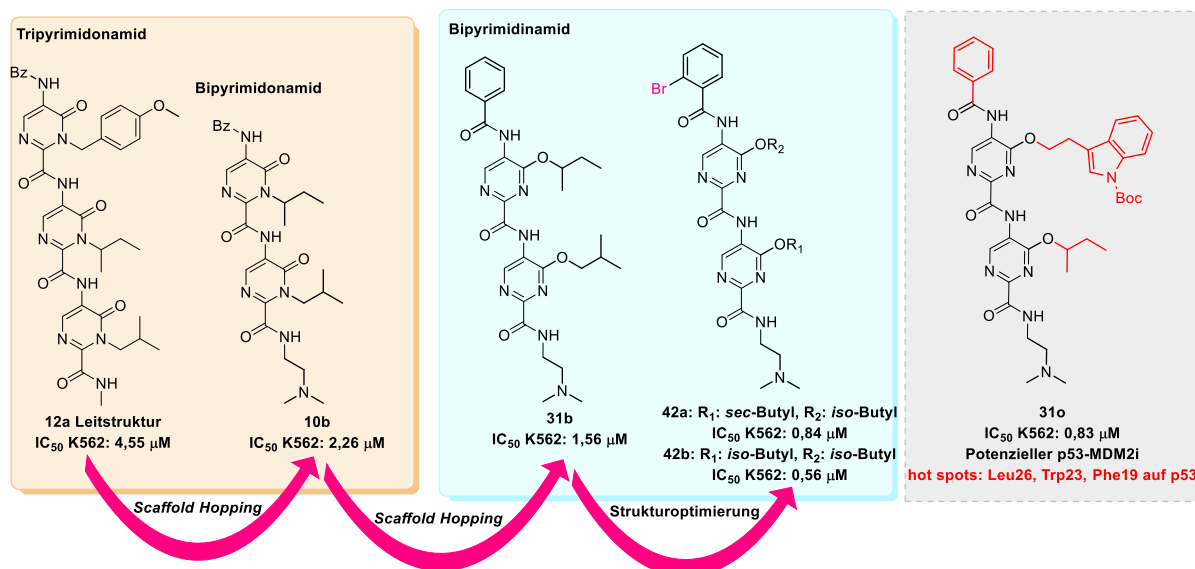
Die Pyrimidin-Monomere wurden mittel alkalischer Hydrolyse und anschließender Umsetzung mit primären und sekundären Aminen zu den sekundären und tertiären Pyrimidin-2-carbamiden **27a-h** umgesetzt. Durch Abspaltung der Benzoylschutzgruppe wurde der Zugang zu den 5-Aminopyrimidinen **28a-g** und den 3*H*-[1,2,3]Triazolo[4,5-*d*]pyrimidinen **30a-c** ermöglicht. Die optimierten Bedingungen für die Amidkupplungsreaktion zur Darstellung von Bipyrimidinamiden sowie die Vorschrift von SPANIER wurde genutzt, um die synthetisierten Pyrimidin- und Pyrimidon-Monomere zu den Dimeren **31a-r**, **33**, **34a-d**, **35a-b**, **36** und **42a-b** umzusetzen (Schema 31 und Schema 35).



**Abbildung 53:** Struktur-Aktivitäts-Beziehung der untersuchten  $\alpha$ -Helixmimetika-Strukturtypen.

Die Konformationsanalyse des Bipyrimidonamids **10b** und des regioisomeren Bipyrimidinamids **31b** mittels NMR-Spektroskopie ergab, dass **10b** eine Konformation annimmt in der die *sec*-Butyl- und *iso*-Butyl-Seitenketten gestaffelt zueinander vorliegen, während im Fall von **31b** neben der gestaffelten auch eine ekliptische Konformation der Seitenketten vorliegt. In diesem Zusammenhang wäre es interessant zu untersuchen, ob eine konformative Restriktion der Seitenketten der Bipyrimidinamide zu einer Verbesserung der *in vitro* Aktivität führt. Kürzlich wurde demonstriert, dass konformativ eingeschränkte  $\alpha$ -Helixmimetika eine höhere Bindungsaffinität zu Zielstrukturen sowie eine verbesserte Zellmembranpermeabilität und Löslichkeit aufweisen können.<sup>285,189,286</sup>

Das Bipyrimidinamid **31b** ( $IC_{50}$  K562: 1,56  $\mu$ M) zeigte eine vergleichbare antileukämische Aktivität mit dem Bipyrimidonamid **10b** ( $IC_{50}$  K562: 2,26  $\mu$ M). Nach Strukturoptimierungen der Leitstruktur **31b** war es möglich die 2-Brombenzoyl-substituierten Bipyrimidinamide **42a** ( $IC_{50}$  K562: 0,84  $\mu$ M) und **42b** ( $IC_{50}$  K562: 0,56  $\mu$ M) herzustellen, die eine submikromolare antileukämische Aktivität aufwiesen (Abbildung 55 und Abbildung 56).



**Abbildung 54:** Erhöhung der antileukämischen Aktivität gegenüber der Zelllinie K562 durch *Scaffold Hopping* und Variation der Seitenketten ausgehend von der Leitstruktur **12a**.

Die Evaluation potenzieller Interaktionen zwischen den Bipyrimidinamiden **31b**, **31c** und **42a-b** und Hsp90 mittels TSA, CeTsA, cBRET- und Luciferase-Renaturierungs-Assay sowie die *in vivo* Untersuchungen im Zebrafisch- und Maus-Xenograft-Modell sind zum Zeitpunkt der Anfertigung dieser Arbeit noch ausstehend. Für die Validierung der Bindungsmodi der  $\alpha$ -Helixmimetika wäre es interessant eine Kokristallstruktur mit der C-terminalen Domäne von Hsp90 oder einem Konstrukt, das weitere Domänen von Hsp90 beinhaltet, erhalten zu können<sup>99</sup>. Da der TSA und CeTsA nur eine Aussage hinsichtlich der thermischen Stabilisierung von Hsp90 durch die untersuchten Verbindungen **10b**, **12a** und **13** liefert, wären weitergehende Untersuchungen mit orthogonalen Methoden wie MST (*microscale thermophoresis*) oder ITC (*isothermal titration calorimetry*) zur Bestimmung der Bindungsstöchiometrie und thermodynamischer Parameter der Liganden bei der Assoziation mit Hsp90 von Interesse.

<sup>99</sup> In diesem Kontext wäre es interessant zu untersuchen, ob das Boc-Indolyethyl-substituierte Bipyrimidinamid **31o** in der Lage ist Protein-Protein-Interaktionen zu adressieren. **31o** zeigte eine submikromolare antileukämische Aktivität ( $IC_{50}$  K562: 0,83  $\mu$ M). **31o** ist mit Seitenketten funktionalisiert, die es erlauben könnten die *hot spot* Aminosäuren Phe19, Trp23 und Leu26 von p53 nachzuahmen (Abbildung 56). Damit ist **31o** möglicherweise in der Lage die p53/MDM2-Interaktion zu modulieren.<sup>310,311,312</sup>

### Experimenteller Teil

#### Arbeitsmaterialien und Methoden

##### Reagenzien und Lösungsmittel

Sämtliche Reagenzien, die nicht selbst dargestellt wurden, wurden von den Herstellern abcr, Acros Organics, Alfa Aesar, Apollo Scientific Limited, BLDpharm, Carbolution Chemicals, Carl Roth, Fisher Scientific, Fluka, Fluorochem, Glentham Life Sciences, J&K Scientific, Oakwood, Sigma-Aldrich, TCI in einer Reinheit von  $\geq 95\%$  bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Trockene Lösungsmittel über Molsieb wurden von der Firma Acros Organics bezogen. COMU® wurde von der Firma Carl Roth bezogen.

##### Mikrowellenreaktionen

Synthesen in der Mikrowelle wurden an einer Discovery Mikrowelle (CEM) in 10 ml Mikrowellengefäßen durchgeführt.

##### Dünnschichtchromatographie

Für Reaktionskontrollen wurden Fertigfolien der Firma Machery Nagel (ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254) verwendet. Die Eluation erfolgte mit Lösungsmittelgemischen aus *n*-Hexan, Ethylacetat, Dichlormethan und Methanol unterschiedlicher Zusammensetzungen mit, oder ohne Zusatz von Triethylamin, Essigsäure oder Ameisensäure. Die Visualisierung der Analyten erfolgte dabei entweder mittels Fluoreszenzlöschung unter UV-Lampen (253 nm und 356 nm) oder durch anfärben mit einer Kaliumpermanganat- oder Cer-Phosphormolybdat-Lösung.

##### Säulenchromatographie und Flash-Chromatographie

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel der Firma Macherey-Nagel (Silica 60, 0.04-0.063 mm, für die Säulenchromatographie) verwendet. Dafür wurde das Rohprodukt entweder auf eine geringe Menge Celite (durch Lösen in einem geeigneten Lösungsmittel und anschließendes entfernen des Lösungsmittels) aufgezogen, oder direkt auf die Säule aufgetragen. Die Flash-Chromatographie wurde auf der CombiFlash® 200 (Teledyne Isco) mit vorgepackten RediSep® (NP) Normalphase oder RediSep® Rf C-18 (RP) Umkehrphase Kartuschen (Teledyne Isco) durchgeführt. Im Fall der Normalphasenchromatographie wurden als Eluationsmittel *n*-Hexan und Ethylacetat oder Dichlormethan und Methanol verwendet. Bei der Umkehrphasenchromatographie wurde Acetonitril (Fisher Scientific) und deionisiertes Wasser mit oder ohne Zusatz von 0,1% TFA verwendet.

### Substanztrocknung

Alle synthetisierten Verbindungen wurden mindestens 24 h an einer HV-Linie mit einer HV-Pumpe (RV3; Edwards) getrocknet.

### Schmelzpunktbestimmung

Die Schmelzpunkte wurden am Melting Point M-565 (Büchi) bestimmt und sind unkorrigiert.

### HPLC-Methode

Hierzu wurde ein Knauer HPLC-System mit einer AzuraP 6.1L Pumpe, einem Optimas 800 Autosampler, einem K-2600 Photometer und einer Umkehrphasensäule (Knauer; Seriennummer: FK36) verwendet. Die Probenvorbereitung erfolgte durch Lösen von 1 mg Analyten in 1 ml Acetonitril oder DMSO. Die Messung wurde durchgeführt an einer HPLC (Knauer) mit einer Umkehrphasensäule. Die Absorption wurde bei einer Wellenlänge von 254 nm detektiert. Als mobile Phase A wurde Wasser für die Gradienten-HPLC mit 0,1% TFA und als mobile Phase B Acetonitril für die Gradienten HPLC mit 0,1% TFA verwendet. Die Laufzeit betrug 30 Minuten bei einer Flussrate von 1 ml/min. Die Analyten wurden bei 254 nm detektiert.

**Tabelle 25:** Gradient-Verlaufstabelle für die Analyse mittels HPLC.

| Zeitintervall [min.] | Mobile Phase A [%] | Mobile Phase B [%] |
|----------------------|--------------------|--------------------|
| 0 - 0,5              | 90                 | 10                 |
| 0,5 - 20             | 90 → 0             | 10 → 100           |
| 20 - 30              | 0                  | 100                |

### Kernresonanzspektroskopie

Für die Messung von NMR-Spektren wurden folgende Geräte verwendet: Avance™ III-300 (Bruker) ( $^1\text{H}$  300 MHz;  $^{13}\text{C}$  75 MHz;  $^{19}\text{F}$  282 MHz), Avance™ III-600 (Bruker) ( $^1\text{H}$  600 MHz;  $^{13}\text{C}$  151 MHz;  $^{19}\text{F}$  565 MHz), Avance™ DRX-500 (Bruker) ( $^1\text{H}$  500 MHz;  $^{13}\text{C}$  126 MHz;  $^{19}\text{F}$  471 MHz). Alle in dieser Arbeit aufgeführten  $^{13}\text{C}$  und  $^{19}\text{F}$ -NMR-Spektren sind  $^1\text{H}$ -Breitbandentkoppelt. Die chemische Verschiebung  $\delta$  der Signale in NMR-Spektren wird relativ zum externen Standard TMS in ppm angegeben. Zur Feststellung eines geeigneten Lösungsmittels für ein NMR-Spektrum wurden alle Substanzen hinsichtlich ihrer Löslichkeit auf einer Tüpfelplatte untersucht. NMR-Spektren wurden in  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\text{Aceton}-d_6$ ,  $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\text{Methanol}-d_4$  und  $\text{DMF}-d_7$  aufgenommen. Die Spektren wurden auf die Signale der undeuterten Lösungsmittelanteile der verwendeten Lösungsmittel normiert.<sup>287</sup>

### **Massenspektrometrie**

ESI-HRMS Massenspektren wurden an einem UHR-QTOF maXis 4G (Bruker Daltonics) Spektrometer vermessen. Dafür wurde 1 mg Analyt in 1 ml Acetonitril, Methanol, Wasser, oder einer Kombination dieser Lösungsmittel gelöst.

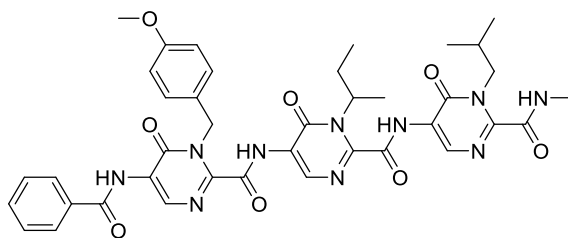
### **Kristallstrukturanalyse**

Die Röntgenstrukturuntersuchung wurden am Oxford Excalibur E Diffraktometer durch Mitarbeiter des Arbeitskreises von Prof. FRANK am Institut für Anorganische Chemie und Strukturchemie der Heinrich-Heine-Universität durchgeführt.

### **Kristallisationsmethode zur Gewinnung der Einkristalle von 10b-Tosylat**

15 mg (0,021 mmol) **10b** wurden in 1 ml abs. Methanol gelöst. Zu der Lösung von **10b** wurden 3 ml einer 1 M *p*-Toluolsulfonsäurelösung in trockenem Methanol gegeben, sodass die Konzentration der Lösung 5 mg/ml betrug. Je 1 ml der Lösung wurde in ein HPLC-Vial gefüllt und in ein Rollrandglas gestellt, das mit 3 ml Diethylether gefüllt war. Das Rollrandglas wurde verschlossen und der Verschluss mit Parafilm umwickelt. Das Gefäß wurde 7 Tage über der Arbeitsbank gelagert, bis Kristalle am Boden des HPLC-Vials beobachtet wurden (Vapour Diffusion Methode). Für Kristallstrukturuntersuchungen wurde das Lösungsmittel mit einer Spritze abgezogen.

**5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-*iso*-butyl-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 12a (VWK143/LSK82)<sup>210</sup>**



C<sub>39</sub>H<sub>42</sub>N<sub>10</sub>O<sub>8</sub>  
778,83 g/mol

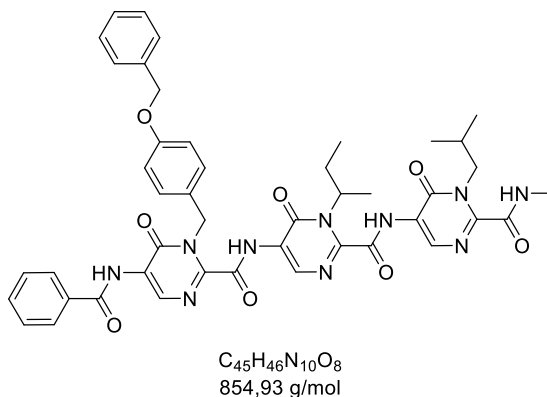
Hergestellt nach einer Vorschrift von SPANIER *et al.* aus 610 mg (1,46 mmol) 5-Amino-1-(*sec*-butyl)-*N*-(1-*iso*-butyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid **10a**.

**Ausbeute:** 70%; 794 mg (1,02 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 263 °C

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.48 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 7.97 – 7.88 (m, 2H), 7.70 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H), 7.63 – 7.45 (m, 3H), 7.36 – 7.29 (m, 2H), 6.88 – 6.78 (m, 2H), 6.01 (s, 2H), 5.20 (h, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.68 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.98 (d, *J* = 5.0 Hz, 3H), 2.28 (dq, *J* = 7.6, 15.1 Hz, 1H), 2.04 (ddq, *J* = 7.0, 14.3, 35.5 Hz, 2H), 1.70 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.94 – 0.91 (m, 6H), 0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**5-Benzamido-1-(4-(benzyloxy)benzyl)-N-(1-(sec-butyl)-2-((1-iso-butyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid**  
**12b (VWK531/LSK95)**<sup>210</sup>



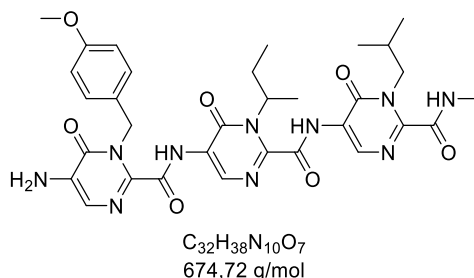
Hergestellt nach einer Vorschrift von SPANIER *et al.* aus 898 mg (2,15 mmol) 5-Amino-1-(sec-butyl)-N-(1-iso-butyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid **10a**.

**Ausbeute:** 52%; 960 mg (1,12 mmol), gelber Feststoff

**Schmelzpunkt:** 258 °C

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.51 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 7.96 – 7.90 (m, 2H), 7.68 (q,  $J$  = 4.8 Hz, 1H), 7.59 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.51 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.39 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 7.37 – 7.28 (m, 5H), 6.92 – 6.89 (m, 2H), 6.01 (s, 2H), 5.20 (dt,  $J$  = 6.7, 8.0 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 4.68 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 2.98 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 3H), 2.29 (tt,  $J$  = 7.5, 15.2 Hz, 1H), 2.11 (dp,  $J$  = 6.9, 13.9 Hz, 1H), 2.00 (dp,  $J$  = 7.4, 14.5 Hz, 1H), 1.70 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3H), 0.93 (dd,  $J$  = 1.3, 6.7 Hz, 6H), 0.86 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**5-Amino-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-*iso*-butyl-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 13 (VWK147)<sup>288</sup>**



1,05 g **12a** (1,35 mmol, 1,0 äq.) wurden in 6 ml einer methanolischen 0,5 M Natriumhydroxid Lösung gelöst. Die Lösung wurde unter Rückflusskühlung auf 80 °C erhitzt. Nach 5 h wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Nach entfernen des Lösungsmittels wurde die Hauptfraktion aus *n*-Hexan/Ethylacetat umkristallisiert. Der Feststoff wurden unter Ölpumpenvakuum getrocknet

**Ausbeute:** 40%; 362 mg (0,537 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 226 °C.

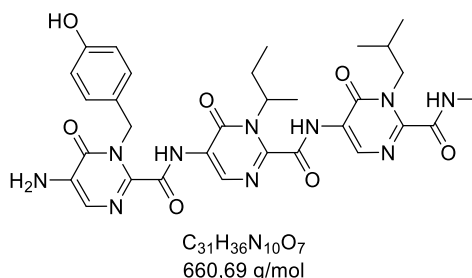
**HPLC:** 15,567 min.; 97,2%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.44 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 7.84 – 7.65 (m, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.81 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.98 (s, 2H), 2.06 – 1.86 (m, 1H), 5.31 – 5.11 (m, 2H), 4.66 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 2.99 (s, 3H), 2.36 – 2.20 (m, 1H), 2.18 – 1.90 (m, 2H), 1.68 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H), 0.93 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H), 0.84 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 160.92, 158.99, 158.89, 158.73, 157.94, 157.88, 144.75, 144.31, 136.83, 136.52, 134.20, 132.99, 129.64, 129.01, 128.29, 126.98, 123.50, 113.85, 59.98, 55.23, 51.03, 46.56, 28.81, 26.65, 25.88, 19.82, 17.87, 11.36.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>32</sub>H<sub>38</sub>N<sub>10</sub>O<sub>7</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 675.2998; gef.: 675,2995

**5-Amino-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-*iso*-butyl-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 **14** (VWK534)**



923 mg **12b** (1,35 mmol, 1,0 äq.) wurden in 3 ml einer methanolischen 1 M Natriumhydroxid Lösung gelöst. Die Lösung wurde unter Rückflusskühlung auf 80 °C erhitzt. Nach 3 h wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Das gelbe Zwischenprodukt wurde in 11 ml einer Lösung aus Methanol/1,4-Dioxan/Essigsäure 8:2:1 aufgenommen. Zur Suspension wurden 59 mg 10%wt Pd(C) (Degussa) gegeben. Der Rundkolben wurde mit einem Rückflusskühler versehen; die Apparatur wurde drei Mal mit einer Wasserstrahlpumpe evakuiert und mit H<sub>2</sub> geflutet. Der Ansatz wurde unter H<sub>2</sub> (1 atm) zum Rückfluss erhitzt. Nach 3 h wurde die Reaktionslösung durch Celite filtriert (10 ml Methanol zum nachspülen). Nach entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt mittels Umkehrphasenchromatographie (Acetonitril/Wasser) aufgereinigt. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet

**Ausbeute:** 20% (über 2 Schritte); 145 mg (0,219 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 230 °C.

**HPLC:** 13,391 min.; 96,0%.

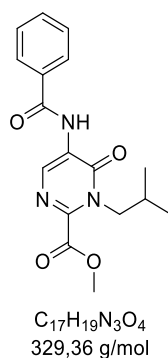
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.68 (s, 1H), 10.28 (s, 1H), 9.33 (s, 1H), 8.98 (q, *J* = 4.7 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.66 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.12 (s, 2H), 5.73 (s, 2H), 4.37 – 4.27 (m, 1H), 4.14 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 2.78 (d, *J* = 4.7 Hz, 3H), 2.16 (dp, *J* = 7.4, 14.9 Hz, 1H), 2.02 (dp, *J* = 6.9, 13.9 Hz, 1H), 1.88 (dp, *J* = 7.2, 14.4 Hz, 1H), 1.54 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.84 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H), 0.80 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.50, 160.39, 158.61, 156.88, 156.75, 156.68, 156.41, 148.62, 147.30, 137.90, 137.04, 135.05, 133.46, 128.60, 127.51, 126.77, 125.81, 121.48, 114.98, 60.06, 50.64, 46.01, 27.64, 25.86, 25.34, 19.69, 17.07, 10.98.

## EXPERIMENTELLER TEIL

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_{10}\text{O}_7+\text{H}^+]$  m/z: 661,2841; gef.: 661,2839

**Methyl-5-benzamido-1-*iso*-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-2-carboxylat 7a<sup>210</sup>**



Hergestellt nach einer Vorschrift von SPANIER *et al.* aus 5,83 g (26,9 mmol) **6**.

**Ausbeute:** 26%, 2,30 g (6,98 mmol), oranger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 89 °C

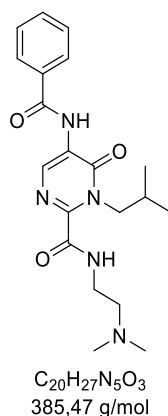
**HPLC:** 11,517 min.; 99,4%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.51 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 7.98 – 7.91 (m, 2H), 7.67 – 7.60 (m, 1H), 7.58 – 7.51 (m, 2H), 4.01 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.95 (s, 3H), 2.03 (hept, *J* = 7.0 Hz, 1H), 0.86 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.52, 161.08, 156.86, 144.46, 136.52, 133.18, 132.41, 128.74, 127.62, 127.47, 53.77, 51.53, 27.69, 19.61.

**AAV1: Synthese der Pyrimidone 8a-c und Pyrimidine 27a-d**

1 mmol Pyrimidin oder Pyrimidon wurden in 5 ml Ethanol gelöst, die Lösung wurde mit 8 mmol des entsprechenden Amins versetzt. Die Lösung wurde 16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 20 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser und Brine gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) aufgereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**5-Benzamido-*N*-(2-(dimethylamino)ethyl)-1-*iso*-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid 8b (VWK326)**

Hergestellt nach **AAV1** aus 3,97 g (10,3 mmol) **7a**.

**Ausbeute:** 66%; 1,91 g (6,79 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 80 °C

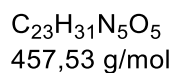
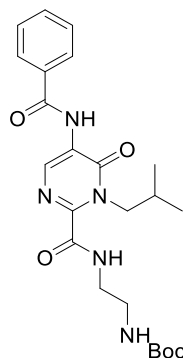
**HPLC:** 8,950 min.; 98,9%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.09 (s, 1H), 8.96 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.94 – 7.90 (m, 2H), 7.57 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.49 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 4.63 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.47 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.51 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.28 (s, 6H), 0.92 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 160.35, 155.45, 153.11, 138.72, 128.55, 127.16, 123.59, 122.03, 64.75, 52.33, 45.77, 39.85, 32.07, 23.53, 16.65, 14.56.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***tert*-Butyl-(2-(5-benzamido-1-*iso*-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)ethyl)carbamate **8c** (VWK379)**



Hergestellt nach **AAV1** aus 2,00 g (6,07 mmol) **7a**.

**Ausbeute:** 76%; 2,10 g (4,59 mmol), hellgelber Feststoff.

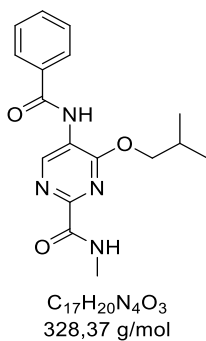
**Schmelzpunkt:** 89 °C

**HPLC:** 13,883 min.; 98,8%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.07 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.97 – 7.88 (m, 2H), 7.58 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 4.65 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.51 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.38 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.08 (dp, *J* = 6.9, 13.9 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 0.92 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.83, 161.27, 158.45, 156.57, 143.62, 133.72, 133.49, 132.69, 129.04, 127.81, 127.43, 80.00, 51.10, 40.80, 40.19, 29.02, 28.48, 22.08, 20.00.

**5-Benzamido-4-*iso*-butoxy-*N*-methylpyrimidin-2-carboxamid 27a (VWK527)**



Hergestellt nach **AAV1** aus 1,59 g (4,83 mmol) **18a**.

**Ausbeute:** 97%; 1,53 g (4,66 mmol), farbloser Feststoff.

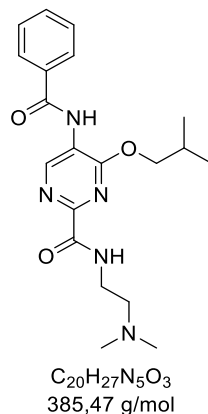
**Schmelzpunkt:** 165 °C

**HPLC:** 11,085 min; 96,5%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.68 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.87 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.66 – 7.48 (m, 3H), 4.42 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 3.04 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 3H), 2.21 (dp,  $J$  = 6.5, 13.6 Hz, 1H), 1.07 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.44, 162.93, 159.01, 151.28, 144.31, 133.61, 132.82, 129.26, 127.16, 123.00, 74.09, 28.03, 26.63, 19.36.

**5-Benzamido-*N*-(2-(dimethylamino)ethyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxamid  
27b (VWK436)**



Hergestellt nach **AAV1** aus 1,49 g (4,52 mmol) **18a**.

**Ausbeute:** 75%; 1,31 g (3,40 mmol), farbloser Feststoff.

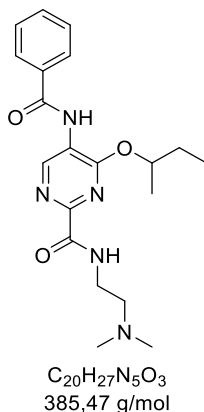
**Schmelzpunkt:** 84 °C

**HPLC:** 9,167 min.; 98,7%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  9.44 (d,  $J$  = 2.2 Hz, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.07 – 7.97 (m, 2H), 7.71 – 7.49 (m, 3H), 4.36 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 3.55 – 3.40 (m, 2H), 2.50 (t,  $J$  = 6.3 Hz, 2H), 2.25 (s, 6H), 1.05 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  166.41, 162.40 (d,  $J$  = 5.0 Hz), 161.06, 153.13, 146.88 (d,  $J$  = 9.0 Hz), 134.79, 133.17, 129.62, 128.43, 123.62, 74.32, 58.91, 45.60, 37.92 (d,  $J$  = 8.3 Hz), 28.53, 19.41.

**5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(2-(dimethylamino)ethyl)pyrimidin-2-carboxamid  
27c (VWK458)**



Hergestellt nach **AAV1** aus 6,59 g (20,0 mmol) **18b**.

**Ausbeute:** 79%; 6,12 g (15,9 mmol), farbloser Feststoff.

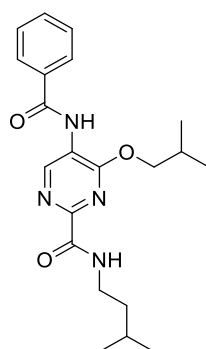
**Schmelzpunkt:** 125 °C

**HPLC:** 8,917 min.; 99,1%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  9.53 (d,  $J$  = 2.1 Hz, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.72 (t,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 8.05 – 7.90 (m, 2H), 7.72 – 7.50 (m, 3H), 5.41 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 3.78 – 3.68 (m, 2H), 3.06 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 2.71 (s, 6H), 1.75 (dtd,  $J$  = 6.8, 14.0, 21.6 Hz, 2H), 1.34 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 0.92 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  166.55 (d,  $J$  = 6.1 Hz), 163.70 (d,  $J$  = 5.1 Hz), 160.21 (d,  $J$  = 4.8 Hz), 151.98, 146.67 (d,  $J$  = 8.8 Hz), 134.62 (d,  $J$  = 2.8 Hz), 133.40, 129.71, 128.49, 124.24 (d,  $J$  = 6.6 Hz), 77.05, 58.93, 45.12, 37.27 (d,  $J$  = 8.0 Hz), 29.29, 19.35, 9.90.

**5-Benzamido-4-*iso*-butoxy-*N*-*iso*-pentylpyrimidin-2-carboxamid 27d (VWK259)**



C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>  
384,48 g/mol

Hergestellt nach **AAV1** aus 1,50 g (4,55 mmol) **18a**.

**Ausbeute:** 70%; 1,23 g (3,20 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 116 °C.

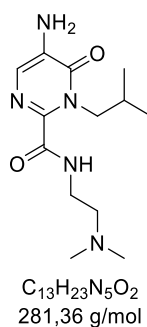
**HPLC:** 15,333 min.; 99,9 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.67 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.92 – 7.82 (m, 2H), 7.69 – 7.42 (m, 3H), 4.43 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.54 – 3.44 (m, 2H), 2.21 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.70 (dp, *J* = 6.6, 13.2 Hz, 1H), 1.60 – 1.46 (m, 2H), 1.07 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 0.95 (d, *J* = 6.5 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.43, 161.88, 159.24, 151.17, 143.84, 133.54, 132.83, 129.24, 127.19, 123.02, 74.23, 38.48, 38.27, 28.00, 26.01, 22.61, 19.33.

**AAV2: Synthese der Pyrimidone 9a-c und 11a-c**<sup>289</sup>

1 mmol Pyrimidon (**8a-c**, **10a-c**) wurden in in 3 ml einer frisch angesetzten methanolischen 1M NaOH-Lösung suspendiert. Die Suspension wurde unter Rückflusskühlung auf 80 °C erhitzt. Nach 3 h wurde das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand mit 20 ml Ethylacetat und 10 ml Wasser versetzt und gerührt bis eine Phasentrennung zu erkennen war. Die wässrige Phase wurde zwei Mal mit 10 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit 20 ml gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, Wasser und Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) aufgereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**5-Amino-N-(2-(dimethylamino)ethyl)-1-iso-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid 9b (VWK329)**

Hergestellt nach **AAV2** aus 2,00 g (5,19 mmol) **8b**.

**Ausbeute:** 43%; 629 mg (2,24 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 154 °C.

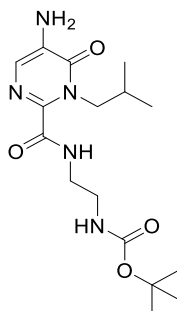
**HPLC:** 4,833 min.; 99,0 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.79 (s, 1H), 4.59 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 4.36 (s, 2H), 3.42 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.48 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.25 (s, 6H), 2.06 (hept, *J* = 6.8 Hz, 1H), 0.88 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 161.39, 158.32, 139.94, 135.42, 124.14, 57.90, 50.37, 45.40, 37.41, 28.87, 19.97.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***tert*-Butyl-(2-(5-amino-1-*iso*-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)ethyl)carbamate **9c** (VWK382)**



$C_{16}H_{27}N_5O_4$   
353,42 g/mol

Hergestellt nach **AAV2** aus 2,18 g (4,76 mmol) **8c**.

**Ausbeute:** 70%; 1,18 g (3,35 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 217 °C (Zersetzung)

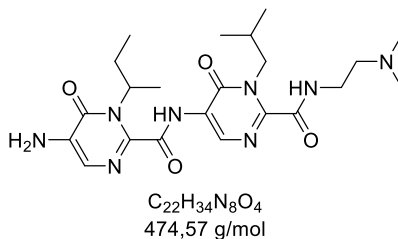
**HPLC:** 9,383 min., 96,8%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.93 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 4.93 (s, 1H), 4.61 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 3.49 – 3.43 (m, 2H), 3.38 – 3.26 (m, 2H), 2.05 (dp,  $J$  = 6.9, 13.8 Hz, 1H), 1.42 (s, 9H), 0.88 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  161.91, 158.28, 156.49, 139.28, 135.62, 123.87, 79.80, 50.35, 40.40, 28.96, 28.47, 19.98.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-Amino-1-(sec-butyl)-N-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-1-iso-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid 11b (VWK469)



Hergestellt nach **AAV2** aus 3,11 g (5,21 mmol) **10b**.

**Ausbeute:** 41%; 1,02 g (2,15 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 187 °C

**HPLC:** 8,416 min.; 98,4%.

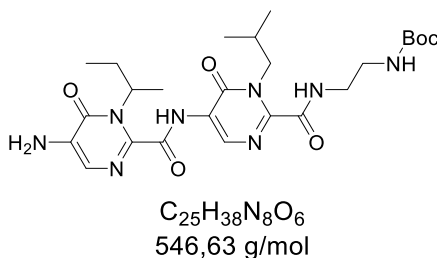
**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.07 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 7.96 (t,  $J$  = 5.5 Hz, 1H), 7.24 (s, 1H), 5.21 (h,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.54 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 4.44 (s, 2H), 3.44 (q,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 2.52 (t,  $J$  = 6.1 Hz, 2H), 2.27 (s, 6H), 2.20 (dt,  $J$  = 13.7, 7.6 Hz, 1H), 2.03 (hept,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 1.90 (dp,  $J$  = 14.5, 7.3 Hz, 1H), 1.60 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3H), 0.85 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H), 0.76 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  160.88, 159.55, 158.37, 158.18, 144.67, 139.66, 136.84, 134.06, 127.43, 123.14, 58.95, 57.75, 51.16, 45.25, 37.44, 28.87, 26.22, 19.99, 18.07, 11.47.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für  $[\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{N}_8\text{O}_4 + \text{H}^+]$   $m/z$ : 475.2776; gef.: 475,2781

## EXPERIMENTELLER TEIL

**tert-Butyl-(2-(5-(5-amino-1-(sec-butyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-1-iso-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)ethyl)carbamate 11c**  
(VWK402)



Hergestellt nach **AAV2** aus 1,38 g (2,12 mmol) **10c**.

**Ausbeute:** 47%; 0,55 g (1,00 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 120 °C

**HPLC:** 13,383 min.; 95,3%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.18 (s, 1H), 9.02 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 8.76 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.85 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 5.82 (s, 2H), 4.90 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 4.15 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 3.28 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 3.09 (q, J = 6.4 Hz, 2H), 2.23 – 2.12 (m, 1H), 2.03 (dq, J = 6.7, 13.4 Hz, 1H), 1.87 (dt, J = 7.1, 13.9 Hz, 1H), 1.55 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 1.38 (s, 9H), 0.83 (d, J = 6.7 Hz, 6H), 0.75 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

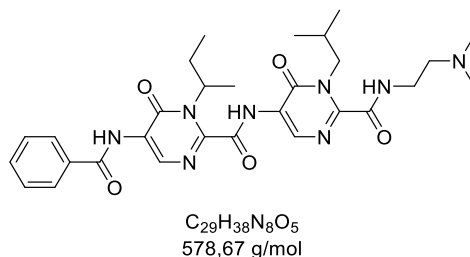
**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.14, 159.86, 157.19, 156.97, 155.54, 147.19, 138.47, 137.56, 134.53, 126.28, 121.31, 77.73, 57.71, 50.69, 39.04, 28.12, 27.66, 25.36, 19.64, 17.51, 10.94.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O<sub>6</sub>+H<sup>+</sup>] m/z: 547,2987; gef.: 547,2988

**AAV3: Synthese der Pyrimidone und Pyrimidine 10a-c, 12c, 34a-b, 37 und 38**

1 mmol Aminopyrimidon oder Aminopyrimidin, 1,3 mmol Lithiumcarboxylat und 1,7 mmol COMU® wurden in 3 ml trockenem DMF gelöst und bei RT gerührt. Nach 24 h wurde der Reaktionsansatz mit 20 ml Dichlormethan verdünnt. Die organische Phase wurde mit 10 ml gesättigter Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung, 10 ml Wasser und 10 ml Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) aufgereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**5-Benzamido-1-(sec-butyl)-N-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-1-iso-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamid 10b (VWK346)**



Hergestellt nach **AAV3** aus 1,91 g (6,79 mmol) **9b**.

**Ausbeute:** 79%; 3,11 g (5,37 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 110 °C

**HPLC:** 11,983 min.; 95,5%.

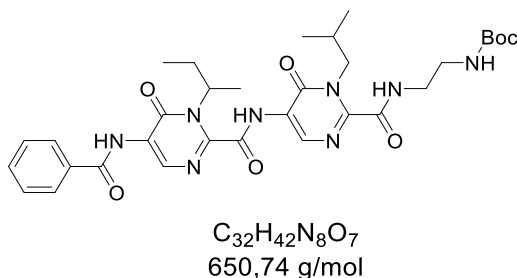
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.75 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 9.02 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.01 – 7.94 (m, 2H), 7.66 – 7.61 (m, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 4.33 (q, *J* = 7.2 Hz, 1H), 4.14 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.57 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.32 (s, 6H), 2.23 – 2.15 (m, 1H), 2.08 (dt, *J* = 6.9, 13.8 Hz, 1H), 1.96 – 1.87 (m, 1H), 1.57 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.86 – 0.80 (m, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.34, 161.12, 160.59, 157.21, 156.82, 148.78, 148.10, 137.31, 136.64, 133.24, 132.33, 128.72, 127.61, 127.16, 125.81, 57.08, 50.81, 44.62, 36.47, 27.69, 25.49, 19.75, 17.21, 11.09.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 579,3038; gef.: 579,3047

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***tert*-Butyl-(2-(5-(5-benzamido-1-(*sec*-butyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-1-*iso*-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)ethyl)carbamate 10c (VWK396)**



Hergestellt nach **AAV3** aus 1,14 g (3,23 mmol) **9c**.

**Ausbeute:** 67%; 1,40 g (2,15 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 142 °C

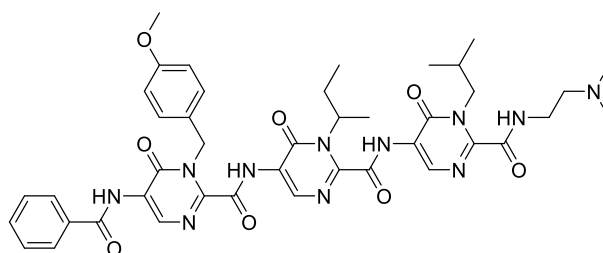
**HPLC:** 16,850 min; 95,4%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.75 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 9.04 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.02 – 7.95 (m, 2H), 7.67 – 7.60 (m, 1H), 7.55 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 6.86 (t,  $J$  = 5.5 Hz, 1H), 4.34 (q,  $J$  = 7.2 Hz, 1H), 4.14 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 3.29 (q,  $J$  = 6.3 Hz, 2H), 3.10 (q,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.19 (dp,  $J$  = 7.3, 14.8 Hz, 1H), 2.05 (dt,  $J$  = 6.5, 13.3 Hz, 1H), 1.91 (dp,  $J$  = 6.6, 14.0 Hz, 1H), 1.57 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3H), 1.38 (s, 9H), 0.85 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 6H), 0.82 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.31, 161.22, 160.63, 157.21, 156.85, 155.61, 148.51, 148.15, 137.12, 136.60, 133.24, 132.30, 128.70, 127.59, 127.11, 77.80, 59.96, 50.73, 28.21, 27.76, 25.48, 19.77, 17.19, 11.08.

**HR-MS (ESI $^+$ ):** ber. für  $[C_{32}H_{42}N_8O_7+H]^+$   $m/z$ : 651,3249; gef.: 651, 3245

**5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-1-*iso*-butyl-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 12c (VWK472)**



$C_{42}H_{49}N_{11}O_8$   
835,92 g/mol

Hergestellt nach **AAV3** aus 142 mg (0,30 mmol) **11b**.

**Ausbeute:** 62%; 155 mg (0,185 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 245 °C

**HPLC:** 15,127 min.; 96,2%.

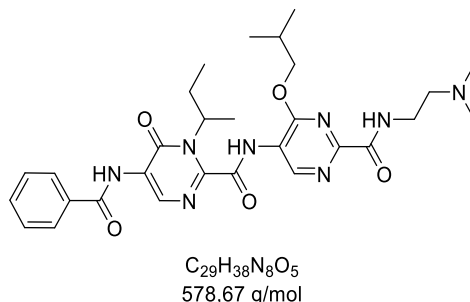
**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.47 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 9.02 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.95 – 7.90 (m, 2H), 7.61 – 7.55 (m, 1H), 7.50 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.32 (d,  $J$  = 8.8 Hz, 2H), 6.85 – 6.80 (m, 2H), 6.00 (s, 2H), 5.19 (h,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.61 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.57 (q,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 2.68 (t,  $J$  = 6.2 Hz, 2H), 2.42 (s, 6H), 2.28 (dp,  $J$  = 15.1, 7.6 Hz, 1H), 2.10 (hept,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 1.99 (dp,  $J$  = 14.4, 7.3 Hz, 1H), 1.69 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3H), 0.93 (dd,  $J$  = 6.6, 1.2 Hz, 6H), 0.85 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.77, 160.89, 159.54, 158.94, 158.51, 158.44, 158.07, 157.94, 145.22 (d,  $J$  = 2.3 Hz), 141.64, 134.77, 133.81, 133.60, 133.54, 132.75, 129.88, 129.07, 128.85, 128.49, 128.10, 127.54, 127.07, 114.27, 60.26, 57.74, 55.40, 51.27, 47.48, 45.09, 37.17, 28.92, 26.16, 20.02, 17.99, 11.47.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für  $[C_{42}H_{49}N_{11}O_8+H^+]$   $m/z$ : 836,3838; gef.: 836,3833.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-(5-Benzamido-1-(sec-butyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-N-(2-(dimethylamino)ethyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxamid 35a (VWK432)



Hergestellt nach **AAV3** aus 93 mg (0,331 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 28%; 53 mg (0,092 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 227 °C

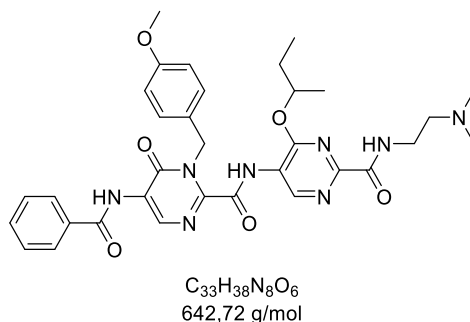
**HPLC:** 12,300 min.; 98,1%.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.95 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.87 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 7.98 (d,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.64 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.56 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 4.33 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3H), 3.51 (d,  $J = 5.8$  Hz, 2H), 2.86 (s, 2H), 2.52 (s, 6H), 2.27 (dp,  $J = 7.2, 14.8$  Hz, 1H), 2.12 (dp,  $J = 6.6, 13.2$  Hz, 1H), 1.87 (dp,  $J = 7.1, 14.0$  Hz, 1H), 1.59 (d,  $J = 6.7$  Hz, 3H), 1.01 (d,  $J = 6.7$  Hz, 6H), 0.82 (t,  $J = 7.5$  Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, DMSO)  $\delta$  165.26, 161.76, 161.24, 160.37, 157.04, 153.54, 149.21, 148.17, 136.53, 133.16, 132.20, 128.60, 127.45, 127.19, 120.51, 73.23, 60.06, 56.98, 44.02, 36.03, 27.26, 25.26, 18.78, 17.34, 10.86.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_5 + \text{H}^+]$  m/z: 579,3038; gef.: 579,3047

**5-(5-Benzamido-1-(4-methoxybenzyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxamido)-4-(sec-butoxy)-N-(2-(dimethylamino)ethyl)pyrimidin-2-carboxamid 35b (VWK203)**



Hergestellt nach **AAV3** aus 218 g (0,775 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 43%; 214 mg (0,333 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 188 °C

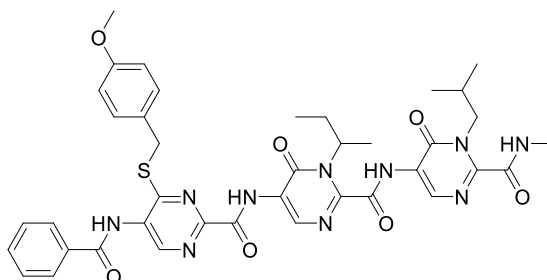
**HPLC:** 12,517 min.; 99,2%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform- $d$ )  $\delta$  10.22 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 9.19 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 8.35 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 7.97 – 7.90 (m, 2H), 7.65 – 7.47 (m, 3H), 7.39 – 7.31 (m, 2H), 6.88 – 6.78 (m, 2H), 6.04 (s, 2H), 5.52 (h,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.62 (q,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 2.66 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.38 (s, 6H), 1.96 – 1.69 (m, 2H), 1.44 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.03 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  161.14, 159.86, 157.19, 156.97, 155.54, 147.19, 138.47, 137.56, 134.53, 126.28, 121.31, 77.73, 57.71, 50.69, 39.04, 28.12, 27.66, 25.36, 19.64, 17.51, 10.94.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[\text{C}_{33}\text{H}_{38}\text{N}_8\text{O}_6 + \text{H}^+]$  m/z: 643,2987; gef.: 643,2985

**5-Benzamido-*N*-(1-(*sec*-butyl)-2-((1-*iso*-butyl-2-(methylcarbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)carbamoyl)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)-4-((4-methoxybenzyl)thio)pyrimidin-2-carboxamid 37 (VWK280)**



$C_{39}H_{42}N_{10}O_7S$   
794,89 g/mol

Hergestellt nach **AAV3** aus 60 mg (0,144 mmol) **11a**.

**Ausbeute:** 39%; 44 mg (0,055 mmol); gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 262 °C

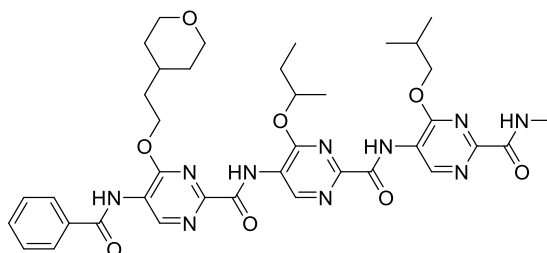
**HPLC:** 17,183 min.; 95,2%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.69 (s, 1H), 10.14 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 8.93 (s, 1H), 7.89 (d, *J* = 7.6 Hz, 3H), 7.72 (s, 1H), 7.61 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.52 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.85 (d, *J* = 7.7 Hz, 2H), 5.22 (q, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.66 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.98 (d, *J* = 4.0 Hz, 3H), 2.32 (dt, *J* = 7.4, 14.5 Hz, 1H), 2.11 (tt, *J* = 6.1, 12.6 Hz, 1H), 2.00 (dd, *J* = 7.0, 13.9 Hz, 1H), 1.72 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.93 (d, *J* = 5.9 Hz, 6H), 0.87 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.39, 160.98, 160.32, 159.91, 159.45, 159.04, 158.05, 157.94, 151.09, 145.95, 144.98, 144.61, 134.14, 133.62, 133.11, 131.94, 130.88, 129.27, 128.46, 127.55, 127.51, 127.12, 114.34, 60.14, 55.43, 51.21, 35.09, 28.90, 26.79, 26.02, 19.96, 18.01, 11.54.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für  $[C_{39}H_{42}N_{10}O_7S+H^+]$  *m/z*: 795,3031; gef.: 795,3032

**5-Benzamido-*N*-(4-(*sec*-butoxy)-2-((4-*iso*-butoxy-2-(methylcarbamoyl)pyrimidin-5-yl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)-4-(2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxamid 38 (VWK192)**



$C_{38}H_{46}N_{10}O_8$   
770,85 g/mol

Hergestellt nach **AAV3** aus 50 mg (0,119 mmol) **32**.

**Ausbeute:** 17%; 16 mg (0,0207 mmol); farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 265 °C

**HPLC:** 17,300 min.; 98,3%.

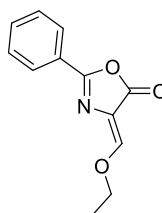
**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.39 (s, 1H), 10.33 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.88 (td,  $J$  = 3.0, 8.0, 9.0 Hz, 2H), 7.69 – 7.61 (m, 1H), 7.61 – 7.53 (m, 2H), 5.62 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.77 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 4.44 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.99 (dd,  $J$  = 3.7, 11.2 Hz, 2H), 3.40 (td,  $J$  = 1.8, 11.8 Hz, 2H), 3.05 (d,  $J$  = 5.0 Hz, 3H), 2.25 (dp,  $J$  = 6.6, 13.3 Hz, 1H), 1.90 (tt,  $J$  = 3.7, 5.5, 7.4 Hz, 4H), 1.79 – 1.68 (m, 5H), 1.51 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.47 (d,  $J$  = 4.4 Hz, 2H), 1.13 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H), 1.08 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.62, 162.64, 160.33, 160.28, 159.40, 159.16, 151.11, 150.06, 149.86, 144.32, 144.06, 143.55, 133.35, 133.15, 129.34, 127.27, 123.76, 123.57, 122.82, 77.36, 74.31, 67.98, 66.45, 35.80, 33.22, 32.60, 29.06, 28.14, 26.70, 19.45, 19.32, 9.62.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für  $[C_{38}H_{46}N_{10}O_8+H^+]$   $m/z$ : 771.3573; gef.: 771,3577

## EXPERIMENTELLER TEIL

### (Z)-4-(Ethoxymethylene)-2-phenyloxazol-5(4H)-on 6 (VWK558)<sup>290</sup>



C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>  
217,22 g/mol

120 g Hippursäure (670 mmol, 1,0 äq.) wurden zusammen mit 109 g Triethylorthoformiat (737 mmol, 1,10 äq.), 150 g Essigsäureanhydrid (1474 mmol, 2,20 äq.) und 0,41 g DMAP (3,35 mmol, 0,5mol%.) in einem Rundkolben zum Rückfluss erhitzt (110 °C). Nach 4 h wurden die flüchtigen Bestandteile am Rotationsverdampfer entfernt. Der dunkelrote Rückstand wurde drei Mal mit 100 ml Toluol koevaporiert. Der dunkelrote, ölige Rückstand wurde mit 150 ml 2-Propanol versetzt und 24 h bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend wurden rotbraune Kristalle abgesaugt und mit 200 ml 2-Propanol gewaschen. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 44%; 63,9 g (294 mmol), rotbrauner Feststoff.

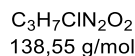
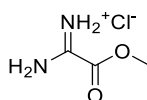
**Schmelzpunkt:** 94 °C.

**HPLC:** 11,917 min.; 95,5%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.12 – 7.98 (m, 2H), 7.57 – 7.40 (m, 3H), 7.34 (s, 1H), 4.43 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.48 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 168.39, 159.36, 156.83, 152.34, 132.30, 128.69, 127.69, 72.70, 15.22.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 218.0772; gef.:

**1-Amino-2-methoxy-2-oxoethan-1-iminiumchlorid 16 (VWK587)<sup>218</sup>**

50,0 g Cyanameisensäureethylester (505 mmol, 1,0 äq.) wurden in 400 ml Diethylether gelöst und mit 30,6 g 2-Propanol (505 mmol, 1,0 äq.) versetzt. Die Lösung wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Gasförmige Salzsäure wurde erzeugt indem über einen Tropftrichter ohne druckausgleich konzentrierte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf NaCl in einem Rundkolben getropft wurde. Das entstandene Gas wurde über einen Schlauch zunächst durch eine Saugflasche (um Rückströmen der Reaktionslösung in den HCl-Generator zu vermeiden) und anschließend durch einen Glasrohraufsatz direkt in die eiskalte Reaktionslösung geleitet. Das ausströmende Gas wurde in eine 2 M NaOH Lösung geleitet. HCl Gas wurde solange eingeleitet, bis eine deutliche Trübung der Lösung festgestellt wurde (0,5 h – 1 h). Nach Beendigung der Gaszufuhr wurde der Reaktionskolben verschlossen 5 d bei 4 °C im Kühlschrank gelagert. Der entstandene farblose Feststoff wurde abgesaugt und mit 150 ml Diethylether gewaschen. Der Feststoff wurde direkt in einen Rundkolben überführt mit 200 ml Diethylether überschichtet und mit 100 ml gesättigter K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> Lösung versetzt. Die Suspension wurde solange gerührt bis zwei Phase entstanden sind. Die obere Phase wurde abdekantiert und der Vorgang zwei Mal mit 100 ml Diethylether wiederholt. Die vereinigten Ether Phasen wurden mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel Am Rotationsverdampfer entfernt. Die farblose Flüssigkeit wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet und in 500 ml Methanol gelöst. Zur Lösung wurden unter Rühren 24,2 g Ammoniumchlorid (452 mmol; 1,0 äq.) gegeben. Die Suspension wurde 18 h bei RT gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel entfernt und der erhaltene Feststoff in 300 ml Ether aufgenommen und abgesaugt. Der farblose Feststoff wurde mit 200 ml Diethylether gewaschen und unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 80% (über 3 Schritte); 60,7 g (438 mmol), farbloser Feststoff.

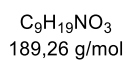
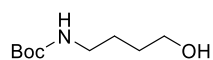
**Schmelzpunkt:** 265 °C.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.81 (s, 4H), 3.90 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 157.14, 154.58, 54.46.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***tert*-Butyl (4-hydroxybutyl)carbamat 19 (VWK414)<sup>237</sup>**

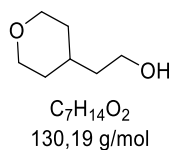


1,25 g 4-Aminobutanol (14,0 mmol, 1,0 äq.) wurden in 30 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt und portionsweise mit 3,36 g Di-*tert*-butyldicarbonat (15,4 mmol, 1,1 äq.) versetzt. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung die Lösung bei RT gerührt. Nach 4 h Wurde das Lösungsmittel entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) aufgereinigt. Das ölige Produkt wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 88%; 2,32 g (12,3 mmol), farbloses Öl.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.65 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 3.14 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 1.61 – 1.52 (m, 4H), 1.43 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 156.28, 79.35, 62.59, 40.67, 29.94, 28.59, 26.81.

**2-(Tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethan-1-ol 20 (VWK182)<sup>238</sup>**

1,45 g NaH (36,2 mmol, 1,25 äq.) wurden in 100 ml trockenem THF suspendiert. Die Suspension wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. 8,40 g Ethyl-2-(diethoxyphosphoryl)acetat (36,3 mmol, 1,25 äq.) wurden in 30 ml trockenem THF gelöst und tropfenweise zur eiskalten Suspension von NaH gegeben. Die Suspension wurde 20 min bei 0 °C weitergerührt und anschließend tropfenweise mit einer Lösung von 3,00 g Tetrahydro-4H-pyran-4-on (29,1 mmol, 1,00 äq.) in 30 ml trockener THF versetzt. Die Lösung wurde 5 min. bei 0 °C und 14 h bei RT weitergerührt. Anschließend wurde die Lösung zunächst tropfenweise mit 5 ml Ethanol und anschließend mit 50 ml Eiswasser versetzt. Die wässrige Phase wurde drei Mal mit 50 ml Diethylether extrahiert. Die Etherphase wurde mit Wasser und Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet. Das farblose Öl wurde in Ethanol gelöst und mit 100 mg 10%wt Pd (C) (Degussa) versetzt. Der Reaktionskolben wurde drei Mal mit einer Wasserstrahlpumpe evakuiert und mit H<sub>2</sub> geflutet. Der Ansatz wurde bei RT unter H<sub>2</sub> (1 atm) gerührt. Nach 8 h wurde die Reaktionslösung durch Celite filtriert (20 ml Ethanol zum nachspülen). Nach entfernen des Lösungsmittels, wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet. Das hellgelbe Öl wurde in 10 ml trockenem THF gelöst und anschließend bei 0 °C tropfenweise zu Suspension von 0,87 g LiAlH<sub>4</sub> (22,9 mmol, 1,10 äq.) in 25 ml trockenem THF gegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde die Suspension zum Rückfluss erhitzt. Nach 6 h wurde die Suspension auf 0 °C abgekühlt und zunächst portionsweise mit 10 ml Aceton und anschließend mit 10 ml Wasser versetzt. Nach aufwärmen auf RT wurden 50 ml gesättigte Seignettesalz Lösung und 100 ml Ethylacetat hinzugegeben. Die Suspension wurde bei RT gerührt bis eine Phasentrennung zu erkennen war. Die organische Phase wurde abdekantiert und die wässrige Phase zwei Mal mit 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Das ölige Produkt wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

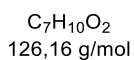
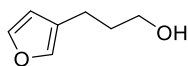
**Ausbeute:** 63% (über 3 Schritte); 2,40 g (18,4 mmol), farbloses Öl.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 3.98 – 3.89 (m, 2H), 3.69 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.37 (td, *J* = 2.1, 11.9 Hz, 2H), 1.75 – 1.65 (m, 1H), 1.65 – 1.56 (m, 2H), 1.51 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.39 – 1.22 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 68.10, 60.09, 39.78, 33.21, 31.75.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 3-(Furan-3-yl)propan-1-ol **21** (VWK199)<sup>239</sup>

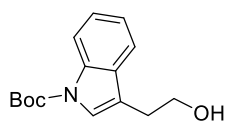


Hergestellt in Anlehnung an die Synthese von BANDO *et al.* analog zu **15** aus 2,50 g (26,0 mmol) 3-Furaldehyd. Das Produkt wurde mittels Flash-Chromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Das ölige Produkt wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 23% (über 3 Schritte); 0,76 g (6,02 mmol), hellgelbes Öl.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.35 (t,  $J$  = 1.6 Hz, 1H), 7.25 – 7.21 (m, 1H), 6.28 (s, 1H), 3.68 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.61 – 2.44 (m, 2H), 1.93 – 1.75 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  142.97, 139.05, 124.59, 111.07, 62.37, 33.01, 21.19.

***tert*-Butyl 3-(2-hydroxyethyl)-1*H*-indol-1-carboxylat 22 (VWK596)<sup>291</sup>**

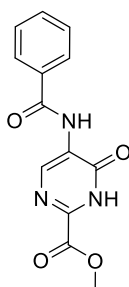
C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub>  
261,32 g/mol

2,50 g Methyl-indol-3-acetat (13,2 mmol, 1,00 äq.) und 0,32 g DMAP (2,64 mmol, 0,20 äq.) wurden in 26 ml trockenem Acetonitril gelöst. Die Lösung wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. 8,65 g Di-*tert*-butyldicarbonat (39,6 mmol, 3,00 äq.) wurden aufgeschmolzen und portionsweise zur Reaktionslösung gegeben. Die Reaktion wurde anschließend bei RT weitergeführt. Nach 16 h wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 30 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit Wasser und Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels, wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet. Das gelbe Öl wurde in 28 ml trockenem THF gelöst und bei 0 °C tropfenweise zu einer Suspension von 0,68 g LiAlH<sub>4</sub> (18,0 mmol, 1,30 äq.) in 18 ml trockenem THF gegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde die Suspension bei RT weitergerührt. Nach 2 h wurde die Suspension auf 0 °C abgekühlt, tropfenweise mit 10 ml Ethylacetat und anschließend mit 10 ml gesättigter Seignettesalz Lösung versetzt. Nach Zugabe von 30 ml Ethylacetat und 10 ml Wasser wurde die Suspension solange gerührt bis eine Phasentrennung zu erkennen war. Die organische Phase wurde abdekantiert und die wässrige Phase zwei Mal mit 30 ml Ethylacetat extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit Wasser und Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt mittels Flash-Chromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Das ölige Produkt wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 45% (über 2 Schritte); 1,54 g (5,89 mmol), hellgelbes Öl.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.14 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.33 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.24 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.93 (td, *J* = 1.0, 6.3 Hz, 2H), 2.97 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 1.67 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 149.83, 135.76, 130.59, 124.62, 123.72, 122.61, 119.05, 117.17, 115.48, 83.69, 62.11, 28.36.

**Methyl-5-benzamido-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat 17 (VWK590)<sup>210</sup>**

$C_{13}H_{11}N_3O_4$   
273,25 g/mol

41,1 g **6** (189 mmol, 1 äq.) und 26,2 g **16** (189 mmol, 1,0 äq.) wurden in 400 ml Acetonitril suspendiert. Anschließend wurden 24,9 g Triethylamin (246 mmol, 1,3 äq.) zur Suspension gegeben und die tiefrote Suspension zum Rückfluss erhitzt. Nach 3 h wurde die Reaktionssuspension mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und unter Rühren mit 10 ml 37%-iger Salzsäurelösung versetzt. Der rotbraune Feststoff wurde abgesaugt, mit 300 ml Wasser und 150 ml Methanol gewaschen. Der Feststoff wurde in einem Rundkolben mit 260 ml einer Lösung aus Ethylacetat und Methanol (9:1) versetzt und zum Rückfluss erhitzt. Nach abkühlen auf RT wurde der Feststoff abgesaugt und mit 100 ml Ethylacetat/Methanol (9:1) gewaschen. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 51%; 26,2 g (95,9 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 220 °C (Zersetzung).

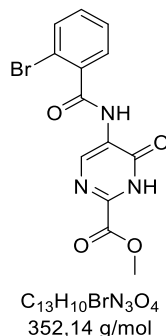
**HPLC:** 7,301 min.; 95,7%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.48 (s, 1H), 9.44 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 7.98 – 7.90 (m, 2H), 7.67 – 7.59 (m, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 2H), 3.89 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.40, 160.01, 133.16, 132.41, 128.77, 127.56, 53.31.

**Methyl-5-(2-brombenzamido)-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-2-carboxylat**  
**(VWK616)<sup>292</sup>**

39



Hergestellt in Anlehnung an die Synthese von TAKAHASHI *et al.* analog zu **17** aus 3,36 g (24,0 mmol) **16**.

**Ausbeute:** 36%; 3,01 g (8,55 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 218 °C (Zersetzung).

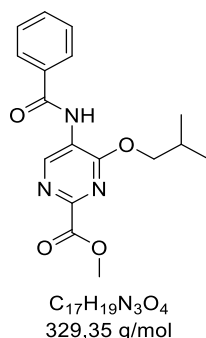
**HPLC:** 8,094 min.; 95,0%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.41 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 1.6, 7.5 Hz, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 1H), 7.41 (td, *J* = 1.7, 7.7 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 166.69, 160.05, 137.62, 132.69, 131.58, 129.23, 127.56, 118.91, 53.28.

**AAV4: Synthese der Pyrimidine 18a-o und 40<sup>293,294</sup>**

1 mmol **17** oder **39** wurde zusammen mit 1,3 mmol PPh<sub>3</sub> und 1,3 mmol eines Alkohols in 4 ml trockenem THF suspendiert. Die Suspension wurde mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und tropfenweise mit 1,3 mmol DIAD versetzt. Nach vollständiger Zugabe wurde die Lösung 10 Minuten bei 0 °C weitergerührt und anschließend auf RT aufgewärmt. Nach 4 h wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 10 ml Diethylether gelöst. Die Lösung wurde unter Rühren mit 1 ml *n*-Hexan versetzt und 30 min bei RT weitergerührt. Die Suspension wurde anschließend abgesaugt und der Filterkuchen (TPPO) mit 10 ml Diethylether:*n*-Hexan 1:1 gewaschen. Die Etherphase wurde eingengt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat 100:0→7:3→1:1) aufgereinigt. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Methyl-5-benzamido-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxylat 18a (VWK480)**

Hergestellt nach **AAV4** aus 12,0 g (44,0 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 59%; 8,60 g (26,1 mmol), farbloser Feststoff.

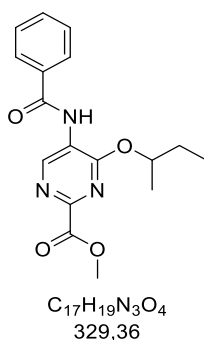
**Schmelzpunkt:** 98 °C.

**HPLC:** 12,817 min.; 98,7%

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.79 (s, 1H), 8.38 (s, 1H), 7.92 – 7.83 (m, 2H), 7.67 – 7.49 (m, 3H), 4.42 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 2.22 (dp, *J* = 6.6, 13.3 Hz, 1H), 1.08 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.43, 163.63, 158.81, 149.31, 144.69, 133.49, 132.92, 129.29, 127.20, 123.75, 74.18, 53.45, 28.02, 19.34.

**Methyl-5-benzamido-4-(sec-butoxy)pyrimidin-2-carboxylat 18b (VWK522)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 10,93 g (40,0 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 45%; 5,92 g (18,0 mmol), farbloser Feststoff.

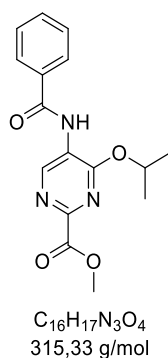
**Schmelzpunkt:** 98 °C.

**HPLC:** 12,767 min.; 98,2 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.77 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.95 – 7.79 (m, 2H), 7.66 – 7.49 (m, 3H), 5.55 (h, J = 6.2 Hz, 1H), 4.01 (s, 3H), 1.94 – 1.73 (m, 2H), 1.43 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 1.01 (t, J = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.48, 163.66, 158.45, 149.31, 144.75, 133.58, 132.85, 129.24, 127.23, 123.81, 76.53, 53.35, 28.95, 19.41, 9.72.

**Methyl-5-benzamido-4-*iso*-propoxypyrimidin-2-carboxylat 18c (VWK342)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 2,50 g (9,15 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 37%; 1,06 g (3,36 mmol), hellgelber Feststoff.

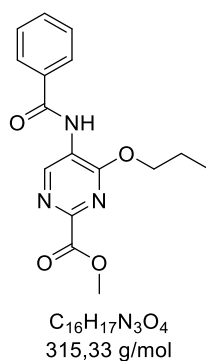
**Schmelzpunkt:** 140 °C.

**HPLC:** 11,833 min.; 97,8 %.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.77 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.87 (dt,  $J$  = 1.1, 8.3 Hz, 2H), 7.61 (td,  $J$  = 1.2, 7.3 Hz, 1H), 7.54 (td,  $J$  = 1.1, 6.7, 7.3 Hz, 2H), 5.70 (hept,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.01 (s, 3H), 1.47 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.51, 163.66, 158.24, 149.31, 144.80, 133.57, 132.84, 129.22, 127.27, 123.78, 72.11, 53.35 (d,  $J$  = 1.8 Hz), 22.03.

**Methyl-5-benzamido-4-propoxypyrimidin-2-carboxylat 18d (VWK233)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 2,00 g (7,32 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 22%; 516 mg (1,64 mmol), hellgelber Feststoff.

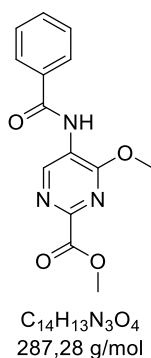
**Schmelzpunkt:** 119 °C.

**HPLC:** 11,983 min.; 99,3 %.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.77 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.94 – 7.79 (m, 2H), 7.68 – 7.46 (m, 3H), 4.59 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 1.91 (h,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 1.07 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.49, 163.52, 158.77, 149.20, 144.60, 133.45, 132.88, 129.22, 127.23, 123.72, 69.89, 53.42, 22.17, 10.51.

**Methyl-5-benzamido-4-methoxypyrimidin-2-carboxylat 18e (VWK568)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 787 mg (2,88 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 4%; 34 mg (1,18 mmol), farbloser Feststoff.

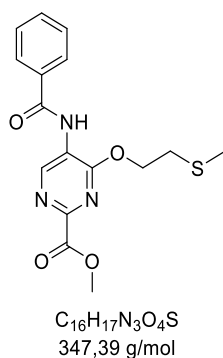
**Schmelzpunkt:** 122 °C.

**HPLC:** 9,170 min.; 99,9%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.80 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.96 – 7.85 (m, 2H), 7.63 – 7.59 (m, 1H), 7.53 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 4.24 (d,  $J$  = 0.9 Hz, 3H), 4.03 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.66, 163.57, 158.95, 149.27, 144.81, 133.42, 132.93, 129.20, 127.36, 123.85, 55.32, 53.49.

**Methyl-5-benzamido-4-(2-(methylthio)ethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 18f (VWK427)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 1,69 g (6,19 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 6%; 129 mg (0,37 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 120 °C.

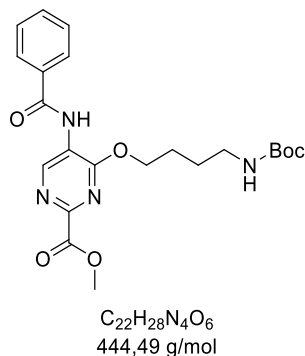
**HPLC:** 11,383 min.; 99,2 %.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.98 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 7.99 – 7.95 (m, 2H), 7.64 (tt,  $J$  = 1.2, 6.9 Hz, 1H), 7.56 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 4.65 (t,  $J$  = 6.8 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.92 (t,  $J$  = 6.9 Hz, 2H), 2.15 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.72, 162.89, 160.81, 150.45, 149.44, 133.25, 132.17, 128.45, 127.74, 122.84, 65.96, 52.59, 31.44, 14.91.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Methyl-5-benzamido-4-(4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butoxy)pyrimidin-2-carboxylat **18g** (VWK428)



Hergestellt nach **AAV4** aus 1,63 g (5,97 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 35%; 928 mg (2,09 mmol), farbloser Feststoff.

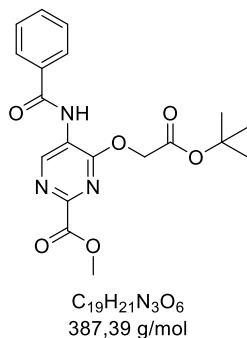
**Schmelzpunkt:** 159 °C.

**HPLC:** 11,383 min.; 99,2 %.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.97 (s, 1H), 9.12 (s, 1H), 7.96 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 7.64 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.56 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 6.81 (t,  $J$  = 5.3 Hz, 1H), 4.47 (t,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 3.89 (s, 3H), 2.98 (q,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 1.77 (p,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 1.53 (p,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 1.34 (s, 9H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.75, 163.01, 161.15, 155.48, 150.70, 149.28, 133.36, 132.09, 128.45, 127.73, 122.80, 77.27, 67.00, 52.56, 39.37, 28.12, 25.80, 25.37.

**Methyl-5-benzamido-4-(2-(*tert*-butoxy)-2-oxoethoxy)pyrimidin-2-carboxylat  
18h (VWK430)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 1,66 g (6,08 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 24%; 568 mg (1,46 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 153 °C.

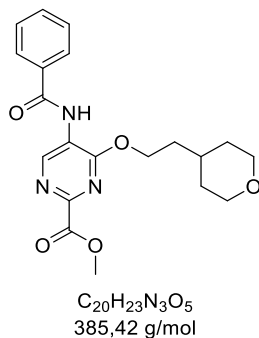
**HPLC:** 12,333 min.; 97,3 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.85 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.95 – 7.89 (m, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.53 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 5.04 (s, 2H), 4.00 (s, 3H), 1.50 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 166.51, 165.65, 163.23, 157.79, 149.05, 145.82, 133.49, 132.89, 129.19, 127.46, 123.93, 83.26, 64.14, 53.26, 28.21.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Methyl-5-benzamido-4-(2-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 18i (VWK183)



Hergestellt nach **AAV4** aus 1,37 g (5,00 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 30%; 581 mg (1,51 mmol), farbloser Feststoff.

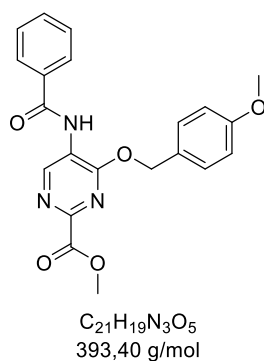
**Schmelzpunkt:** 116 °C.

**HPLC:** 11,250 min.; 99,9 %

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.77 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.94 – 7.82 (m, 2H), 7.72 – 7.43 (m, 3H), 4.69 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.99 – 3.92 (m, 2H), 3.37 (td, *J* = 1.9, 11.9 Hz, 2H), 1.90 – 1.80 (m, 2H), 1.79 – 1.64 (m, 3H), 1.51 – 1.32 (m, 2H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.47, 163.39, 158.66, 149.15, 144.73, 133.41, 132.96, 129.23, 127.23, 123.68, 67.95, 66.21, 53.44, 35.76, 33.13, 32.48.

**Methyl-5-benzamido-4-((4-methoxybenzyl)oxy)pyrimidin-2-carboxylat 18j**



Hergestellt nach **AAV4** aus 5,00 g (18,3 mmol) **17**.

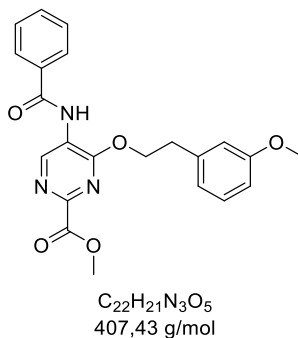
**Ausbeute:** 6%; 396 mg (1,01 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 111 °C.

**HPLC:** 10,357 min.; 95,2 %.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.79 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.87 – 7.79 (m, 2H), 7.64 – 7.55 (m, 1H), 7.50 (td, *J* = 1.4, 6.9 Hz, 2H), 6.97 – 6.89 (m, 2H), 5.61 (s, 2H), 4.05 (s, 3H), 3.82 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.58, 163.53, 160.21, 158.47, 149.05, 145.07, 133.41, 132.82, 131.05, 129.15, 127.29, 127.13, 123.79, 114.21, 69.82, 55.42, 53.42.

**Methyl-5-benzamido-4-(3-methoxyphenethoxy)pyrimidin-2-carboxylat (VWK188)****18k**

Hergestellt nach **AAV4** aus 683 mg (2,50 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 45%; 458 mg (1,13 mmol), farbloser Feststoff.

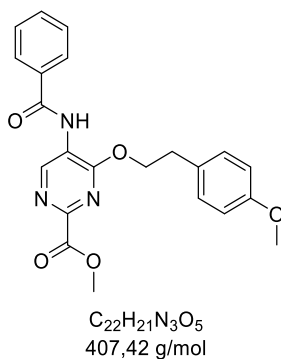
**Schmelzpunkt:** 116 °C.

**HPLC:** 13,917 min.; 99,8 %.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.77 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.81 – 7.70 (m, 2H), 7.66 – 7.45 (m, 3H), 7.22 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.92 – 6.76 (m, 3H), 4.87 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.14 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.40, 163.49, 160.06, 158.41, 149.12, 144.69, 139.25, 133.24, 132.84, 129.83, 129.16, 127.29, 123.82, 121.22, 114.95, 111.96, 68.22, 55.27, 53.44, 35.20.

**Methyl-5-benzamido-4-(4-methoxyphenethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 18I (VWK151)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 1,00 g (3,66 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 27%; 400 mg (0,98 mmol), farbloser Feststoff.

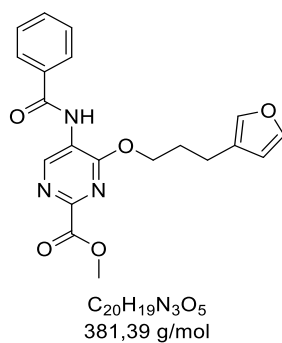
**Schmelzpunkt:** 128 °C.

**HPLC:** 13,367 min.; 98,9 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.76 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.79 – 7.68 (m, 2H), 7.67 – 7.45 (m, 3H), 7.24 – 7.16 (m, 2H), 6.90 – 6.78 (m, 2H), 4.83 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.11 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.41, 163.44, 158.62, 158.49, 149.08, 144.56, 133.27, 132.89, 129.92, 129.49, 129.12, 127.30, 123.84, 114.27, 68.47, 55.37, 53.45, 34.29.

**Methyl-5-benzamido-4-(3-(furan-3-yl)propoxy)pyrimidin-2-carboxylat 18m (VWK202)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 0,683 g (2,50 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 31%; 291 mg (0,763 mmol), farbloser Feststoff.

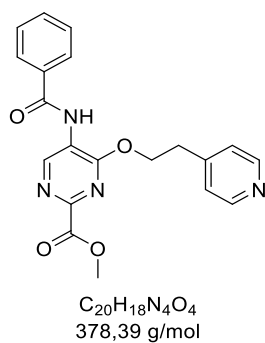
**Schmelzpunkt:** 111 °C.

**HPLC:** 13,367 min; 99,2 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.78 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 7.90 – 7.83 (m, 2H), 7.66 – 7.49 (m, 3H), 7.34 – 7.27 (m, 2H), 6.29 (dd, *J* = 0.9, 1.9 Hz, 1H), 4.68 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 2.63 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.17 (p, *J* = 7.0 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.53, 163.46, 158.63, 149.18, 144.80, 143.25, 139.16, 133.45, 132.93, 129.23, 127.28, 123.74, 123.72, 110.83, 67.88, 53.44, 28.96, 21.49.

**Methyl-5-benzamido-4-(2-(pyridin-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 18n (VWK189)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 683 mg (2,50 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 35%: 329 mg (0,87 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 144 °C.

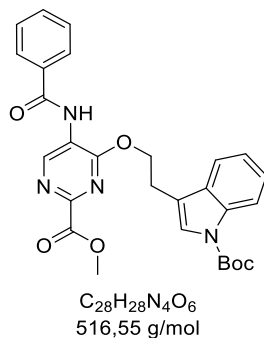
**HPLC:** 6,450 min.; 99,7 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.76 (s, 1H), 8.60 – 8.52 (m, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.74 – 7.66 (m, 2H), 7.65 – 7.47 (m, 3H), 7.31 – 7.26 (m, 2H), 4.91 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.20 (t, J = 6.5 Hz, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.41, 163.38, 158.09, 149.84, 149.12, 147.12, 145.15, 133.18, 133.01, 129.22, 127.13, 124.42, 123.69, 66.85, 53.45, 34.54.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***tert*-Butyl-3-(2-((5-benzamido-2-(methoxycarbonyl)pyrimidin-4-yl)oxy)ethyl)-1*H*-indol-1-carboxylat 18o (VWK597)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 1,20 g (4,40 mmol) **17**.

**Ausbeute:** 65%, 1,47 g (2,85 mmol), hellgelber Feststoff.

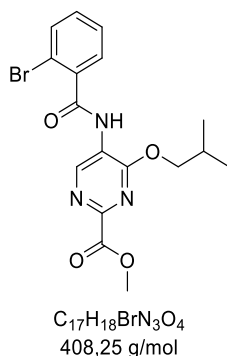
**Schmelzpunkt:** 158 °C.

**HPLC:** 18,052 min.; 98,9%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.92 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.92 – 7.87 (m, 2H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.65 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.29 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.15 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.75 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.23 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.57 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.51, 163.51, 158.39, 149.73, 149.20, 145.02, 135.53, 133.25, 132.81, 130.54, 129.22, 127.23, 124.83, 123.83, 123.59, 122.85, 118.89, 116.47, 115.54, 83.96, 67.39, 53.45, 28.30, 24.73.

**Methyl-5-(2-brombenzamido)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxylat 40 (VWK619)**



Hergestellt nach **AAV4** aus 2,46 g (7,00 mmol) **39**.

**Ausbeute:** 46%; 1,32 g (3,23 mmol), hellgelbes Öl

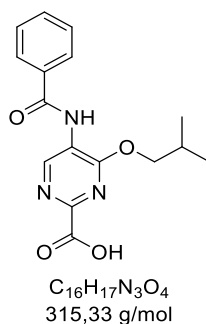
**HPLC:** 13,899 min.; 97,3%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.79 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.39 (td, *J* = 1.7, 7.8 Hz, 1H), 4.38 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 4.02 (s, 3H), 2.17 (dp, *J* = 6.7, 13.4 Hz, 1H), 1.04 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.22, 163.60, 159.00, 149.64, 144.98, 135.86, 134.12, 132.82, 131.29, 128.22, 123.34, 119.13, 74.38, 53.46, 27.97, 19.34.

**AAV5: Synthese der Pyrimidin-2-carbonsäuren sowie der Lithium-pyrimidin-2-carboxylate 26a-p und 41<sup>295</sup>**

1 mmol Pyrimidin wurden in 5 ml THF gelöst. Zur Lösung wurde 1 ml einer frisch hergestellten wässrigen 1 M LiOH-Lösung gegeben. Die Lösung wurde bei RT gerührt. Nach 24 h wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 15 ml Wasser gelöst. pH 1 wurde mit 1 M HCl-Lösung eingestellt. Der suspendierte Feststoff wurde abgesaugt, mit 20 ml Wasser gewaschen und unter Ölpumpenvakuum getrocknet. Für die Lithiumcarboxylate wurde der Rückstand nach vollständigem entfernen des Lösungsmittels in 30 ml Diethylether aufgenommen und für 5 min im Ultraschallbad geschwenkt. Anschließend wurde der Feststoff abfiltriert, mit 10 ml Diethylether gewaschen und unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**5-Benzamido-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carbonsäure 26a (VWK456)**

Hergestellt nach **AAV5** aus 1,30 g (3,95 mmol) **18a**.

**Ausbeute:** 88%; 1,10 g (3,49 mmol), farbloser Feststoff.

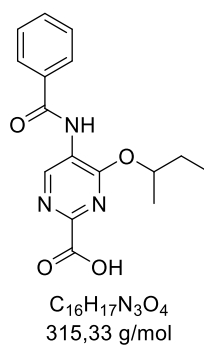
**Schmelzpunkt:** 125 °C.

**HPLC:** 9,183 min.; 99,1%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.01 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.02 – 7.91 (m, 2H), 7.66 – 7.61 (m, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 2H), 4.24 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.08 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 0.97 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.85, 164.23, 162.11, 152.46, 150.49, 133.51, 132.29, 128.68, 127.83, 122.39, 73.00, 27.38, 18.95.

**5-Benzamido-4-(sec-butoxy)pyrimidin-2-carbonsäure 26b (VWK533)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 5,20 g (15,8 mmol) **18b**.

**Ausbeute:** 90%; 4,5 g (14,3 mmol), farbloser Feststoff.

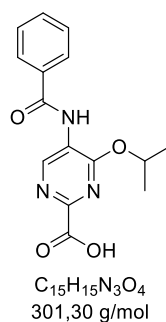
**Schmelzpunkt:** 162 °C.

**HPLC:** 10,400 min.; 95,5%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  9.31 (s, 1H), 7.99 – 7.80 (m, 2H), 7.65 – 7.39 (m, 3H), 5.50 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 1.95 – 1.64 (m, 2H), 1.39 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 0.98 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  168.43, 165.77, 162.15, 151.87, 148.01, 134.86, 133.63, 129.86, 128.72, 124.79, 77.82, 29.76, 19.42, 9.96.

**5-Benzamido-4-*iso*-propoxypyrimidin-2-carbonsäure 26c (VWK360)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 946 mg (3,00 mmol) **18c**.

**Ausbeute:** 91%; 823 mg (2,73 mmol), farbloser Feststoff.

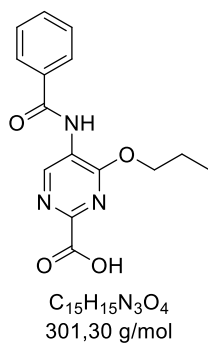
**Schmelzpunkt:** 172 °C.

**HPLC:** 9,183 min.; 99,1%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.86 (s, 1H), 9.07 (s, 1H), 7.96 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 7.64 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.56 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 5.46 (hept,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 1.37 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.86, 164.23, 160.92, 151.96, 149.70, 133.52, 132.25, 128.61, 127.89, 122.61, 70.75, 21.52.

**5-Benzamido-4-propoxypyrimidine-2-carbonsäure 26d (VWK236)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 472 mg (1,50 mmol) **18d**.

**Ausbeute:** 60%; 270 mg (0,896 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 119 °C.

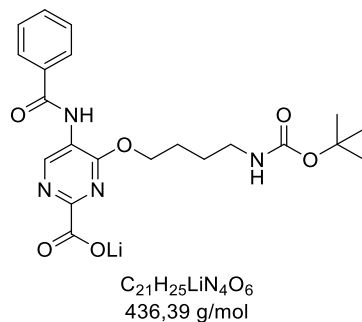
**HPLC:** 9,400 min.; 95,3%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.77 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 7.70 – 7.45 (m, 3H), 4.64 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 1.93 (h,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 1.08 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.65, 161.99, 159.55, 148.00, 143.40, 133.22, 133.09, 129.31, 127.29, 124.31, 70.46, 22.13, 10.49.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Lithium-5-benzamido-4-(4-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)butoxy)pyrimidin-2-carboxylat 26e (VWK502)



Hergestellt nach **AAV5** aus 371 mg (0,83 mmol) **18g**.

**Ausbeute:** 87%; 312 mg (0,73 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 96 °C.

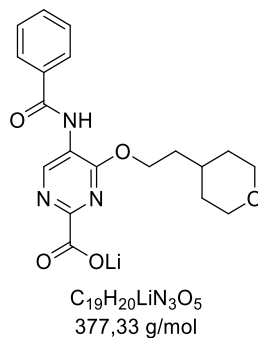
**HPLC:** 10,693 min.; 99,8 %

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.74 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 4.70 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.24 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.94 (p, *J* = 6.8 Hz, 2H), 1.68 (p, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.40 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.88, 162.22, 159.50, 156.28, 148.17, 144.02, 133.32, 133.02, 129.27, 127.44, 124.32, 79.53, 68.55, 40.23, 28.51, 26.83, 25.86.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Lithium-5-benzamido-4-(2-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 26f (VWK185)



Hergestellt nach **AAV5** aus 537 mg (1,39 mmol) **18i**.

**Ausbeute:** 94%; 493 mg (1,31 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 213 °C.

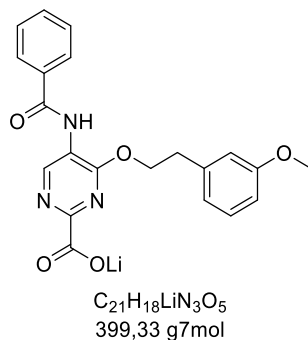
**HPLC:** 9.050 min.; 100.00%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  11.27 (s, 1H), 10.34 – 10.19 (m, 2H), 10.05 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 9.94 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 6.99 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 2H), 6.32 (dd,  $J$  = 3.5, 11.3 Hz, 2H), 5.77 (t,  $J$  = 11.1 Hz, 2H), 4.27 – 4.01 (m, 5H), 3.85 – 3.63 (m, 2H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  170.00, 168.85, 162.23, 157.57, 149.23, 132.92, 132.34, 128.81, 127.31, 120.46, 67.71, 65.75, 34.56, 32.03, 31.29.

**Lithium-5-benzamido-4-(3-methoxyphenethoxy)pyrimidin-2-carboxylat  
(VWK191)**

**26g**



Hergestellt nach **AAV5** aus 440 mg (1,08 mmol) **18k**.

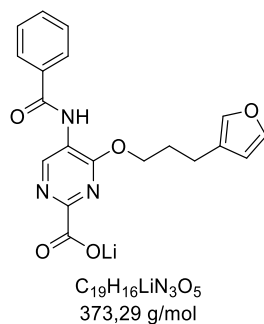
**Ausbeute:** 98%; 423 mg (1,06 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 151 °C (Zersetzung).

**HPLC:** 11,133 min; 99,9%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.85 (s, 1H), 8.78 (d,  $J = 2.3$  Hz, 1H), 8.03 – 7.85 (m, 2H), 7.72 – 7.47 (m, 3H), 7.11 (t,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 6.88 (t,  $J = 5.7$  Hz, 2H), 6.74 (dd,  $J = 2.5, 8.2$  Hz, 1H), 4.61 (t,  $J = 6.6$  Hz, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.02 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (151 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  166.31, 165.65, 161.70, 159.30, 149.79, 139.83, 133.66, 132.05, 129.22, 128.53, 127.79, 121.31, 114.59, 111.89, 67.22 (d,  $J = 5.7$  Hz), 54.87, 34.51.

**Lithium-5-benzamido-4-(3-(furan-3-yl)propoxy)pyrimidin-2-carboxylat (VWK205)****26h**

Hergestellt nach **AAV5** aus 254 g (0,67 mmol) **18m**.

**Ausbeute:** 87%; 216 mg (0,579 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 211 °C.

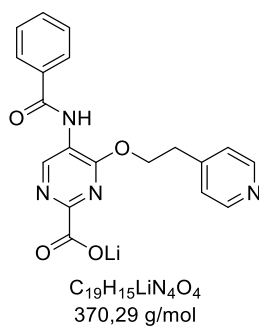
**HPLC:** 11,133 min; 99,9%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  9.99 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.03 – 7.81 (m, 2H), 7.60 – 7.43 (m, 4H), 7.39 (t,  $J$  = 1.3 Hz, 1H), 6.31 (dd,  $J$  = 0.9, 1.8 Hz, 1H), 4.34 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.50 – 2.44 (m, 2H), 2.00 – 1.82 (m, 2H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  166.36, 165.75, 162.35, 160.89, 150.57, 143.09, 139.18, 133.70, 131.99, 128.53, 127.81, 123.91, 119.72, 111.19, 65.75, 28.53, 20.46.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Lithium-5-benzamido-4-(2-(pyridin-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 26i (VWK190)



Hergestellt nach **AAV5** aus 290 mg (0,77 mmol) **18n**.

**Ausbeute:** 95%; 271 mg (0,732 mmol), farbloser Feststoff.

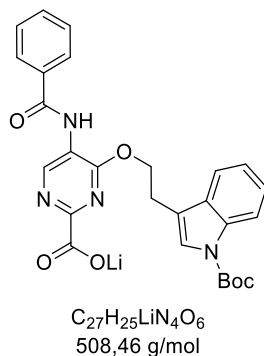
**Schmelzpunkt:** 279 °C (Zersetzung).

**HPLC:** 3,867 min.; 99,9%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  8.70 (s, 1H), 8.18 – 8.07 (m, 2H), 7.57 – 7.45 (m, 3H), 7.44 – 7.34 (m, 2H), 7.22 – 7.17 (m, 2H), 4.72 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 3.02 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 2H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  169.89, 168.35, 161.46, 156.94, 149.19, 148.69, 148.23, 132.78, 132.36, 128.72, 127.15, 124.80, 121.19, 66.45, 33.69.

**Lithium-5-benzamido-4-(2-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indol-3-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxylat 26j (VWK599)**



Hergestellt nach **AAV2** aus 517 mg (1,00 mmol) **18o**.

**Ausbeute:** 86%; 438 mg (0,861 mmol), farbloser Feststoff.

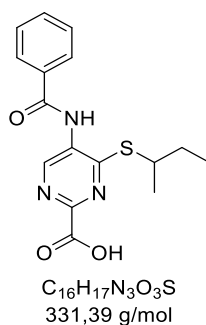
**Schmelzpunkt:** 206 °C. (Zersetzung)

**HPLC:** 15,574 min.; 99,5%

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.83 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.65 – 7.56 (m, 2H), 7.51 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.27 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.69 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.18 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.56 (s, 9H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 166.25, 165.59, 161.59, 149.90, 149.01, 134.63, 133.81, 131.86, 130.25, 128.42, 127.75, 124.31, 123.48, 122.52, 119.65, 117.06, 114.58, 83.45, 79.19, 27.64, 23.90.

**5-Benzamido-4-(sec-butylthio)pyrimidin-2-carbonsäure 26k (VWK515)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 350 mg (1,01 mmol) **24a**.

**Ausbeute:** 86%; 290 mg (0,875 mmol), farbloser Feststoff

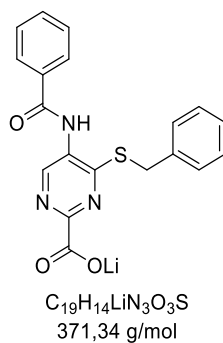
**Schmelzpunkt:** 151 °C

**HPLC:** 10,983 min.; 97,7%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  9.20 (s, 1H), 9.00 (s, 0H), 8.99 (s, 1H), 8.09 – 8.05 (m, 2H), 7.69 – 7.63 (m, 1H), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 4.20 (h,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 1.78 (dh,  $J$  = 6.9, 14.0 Hz, 2H), 1.44 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 1.03 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Acetone- $d_6$ )  $\delta$  166.47, 166.12, 163.59, 153.06, 150.79, 134.44, 133.39, 132.78, 129.69, 128.69, 42.97, 20.84, 11.76.

**Lithium-5-benzamido-4-(benzylthio)pyrimidin-2-carboxylat 26l (VWK269)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 228 mg (0,601 mmol) **24b**.

**Ausbeute:** 97%; 217 mg (0,584 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 225 °C (Zersetzung)

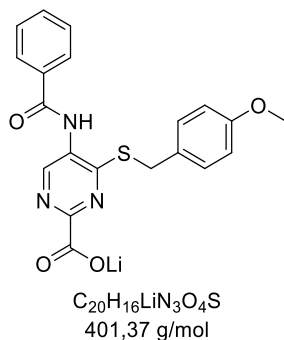
**HPLC:** 11,183 min.; 99,8%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8.53 (s, 1H), 8.01 – 7.97 (m, 2H), 7.52 – 7.47 (m, 3H), 7.47 – 7.42 (m, 2H), 7.28 – 7.23 (m, 2H), 7.21 – 7.17 (m, 1H), 4.63 (s, 2H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 171.17, 170.18, 167.70, 158.14, 150.53, 139.26, 137.33, 136.27, 132.31, 130.55, 129.39, 129.28, 129.12, 128.08, 34.48.

**Lithium-5-benzamido-4-((4-methoxybenzyl)thio)pyrimidin-2-carboxylat  
(VWK277)**

**26m**



Hergestellt nach **AAV5** aus 440 mg (1,07 mmol) **24c**.

**Ausbeute:** 99%; 431 mg (1,07 mmol), farbloser Feststoff.

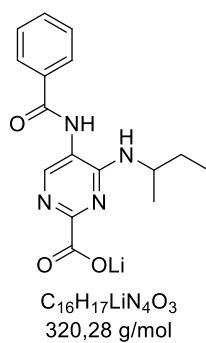
**Schmelzpunkt:** 204 °C.

**HPLC:** 11,183 min.; 97, 8%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.35 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.99 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 7.63 – 7.47 (m, 3H), 7.44 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 6.82 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 4.42 (s, 2H), 3.70 (s, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  166.73, 165.93, 165.83, 161.66, 158.38, 151.88, 133.58, 131.95, 130.63, 129.62, 128.92, 128.45, 127.85, 113.78, 55.04, 31.95.

**Lithium-5-benzamido-4-(sec-butylamino)pyrimidin-2-carboxylat 26n (VWK449)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 743 mg (2,26 mmol) **25a**.

**Ausbeute:** 99%; 720 mg (2,25 mmol), hellgelber Feststoff.

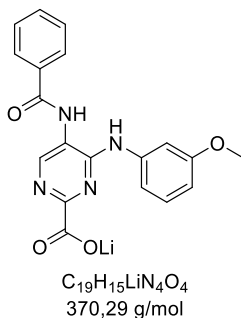
**Schmelzpunkt:** 208 °C.

**HPLC:** 6,750 min.; 95,9%.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz,  $\text{DMF-}d_7$ )  $\delta$  9.96 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.08 – 8.05 (m, 2H), 7.67 – 7.63 (m, 1H), 7.57 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.27 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 4.41 (hept,  $J$  = 6.6 Hz, 1H), 1.66 – 1.53 (m, 2H), 1.20 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3H), 0.92 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz,  $\text{DMF-}d_7$ )  $\delta$  167.42, 165.83, 158.38, 155.30, 150.52, 134.82, 132.66, 129.15, 128.74, 119.43, 48.45, 29.71, 20.32, 10.97.

**Lithium-5-benzamido-4-((3-methoxyphenyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat  
26o (VWK496)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 397 mg (1,05 mmol) **25d**

**Ausbeute:** 96%; 373 mg (1,01 mmol), hellbrauner Feststoff.

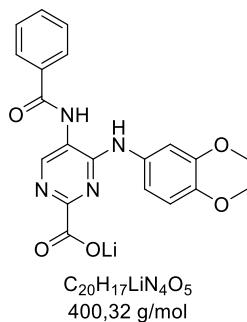
**Schmelzpunkt:** 232 °C (Zersetzung).

**HPLC:** 6,957 min.; 98,7%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.51 (d,  $J$  = 5.1 Hz, 1H), 9.60 (s, 1H), 8.59 (d,  $J$  = 4.3 Hz, 1H), 8.14 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.76 – 7.71 (m, 1H), 7.66 – 7.59 (m, 1H), 7.54 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.34 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.22 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 6.64 (dd,  $J$  = 8.2, 2.5 Hz, 1H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  166.54, 164.57, 159.42, 154.72, 152.71, 151.68, 140.36, 133.62, 132.10, 129.18, 128.45, 128.32, 119.69, 113.19, 108.95, 106.64, 55.05.

**Lithium-5-benzamido-4-((3,4-dimethoxyphenyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat  
26p (VWK395)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 793 mg (1,94 mmol) **25f**.

**Ausbeute:** 99%; 770 mg (1,92 mmol), graublauer Feststoff.

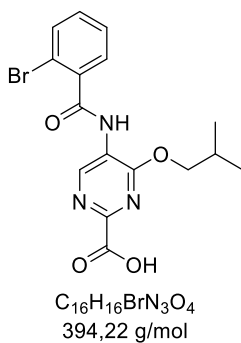
**Schmelzpunkt:** 232 °C.

**HPLC:** 6,950 min.; 96,7%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.35 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.06 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.33 (dd, *J* = 2.5, 8.7 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 3.72 (s, 3H), 3.69 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 167.28, 166.50, 160.23, 155.28, 151.30, 148.31, 144.40, 134.13, 133.26, 131.69, 128.21, 128.17, 117.25, 112.76, 111.81, 106.48, 55.75, 55.39.

**5-(2-Brombenzamido)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carbonsäure 41 (VWK621)**



Hergestellt nach **AAV5** aus 426 mg (1,04 mmol) **40**.

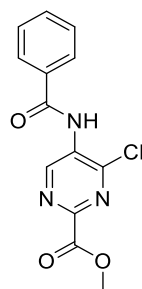
**Ausbeute:** 94%; 388 mg (0,948 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 137 °C.

**HPLC:** 11,283 min.; 99,5%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.42 (s, 1H), 10.35 (s, 1H), 9.14 (s, 1H), 7.73 (dd,  $J$  = 1.0, 7.9 Hz, 1H), 7.58 (dd,  $J$  = 1.9, 7.5 Hz, 1H), 7.52 (td,  $J$  = 1.2, 7.4 Hz, 1H), 7.44 (td,  $J$  = 2.0, 7.6 Hz, 1H), 4.23 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 2.11 (dp,  $J$  = 6.7, 13.4 Hz, 1H), 0.99 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  166.63, 164.11, 161.06, 151.99, 149.08, 137.98, 132.83, 131.62, 129.22, 127.71, 121.97, 118.96, 73.15, 27.27, 19.00.

**Methyl-5-benzamido-4-chlorpyrimidin-2-carboxylat 23a (VWK530)<sup>296</sup>**

$C_{13}H_{10}ClN_3O_3$   
291,69 g/mol

17,8 g **17** (65,0 mmol, 1,00 äq.), 17,9 g Triethylamin-Hydrochlorid (130 mmol, 2,00 äq.) und 3,29 g Triethylamin (32,5 mmol, 0,50 äq.) wurden in 130 ml Acetonitril suspendiert. Die Suspension wurde mit 49,8 g  $POCl_3$  (325 mmol, 5,00 äq.) versetzt und auf 80 °C erwärmt. Nach 1 h wurde der Ansatz mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt und anschließend langsam, portionsweise und unter Rühren auf 300 ml eiskalte gesättigte  $NaHCO_3$ -Lösung gegeben (Achtung verzögerte Gasentwicklung!). Nach vollständiger Zugabe wurde die Suspension abgesaugt und mit 100 ml gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung und 100 ml Wasser gewaschen. Der Feststoff wurde in Dichlormethan gelöst, die organische Phase mit Brine gewaschen und mit  $Na_2SO_4$  getrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

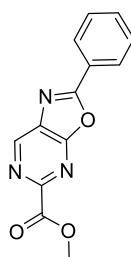
**Ausbeute:** 68%; 12,9 g (44,2 mmol), hellbrauner Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 142 °C.

**HPLC:** 12,300 min.; 99,5%

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.06 (s, 1H), 8.48 (s, 1H), 7.98 – 7.84 (m, 2H), 7.72 – 7.41 (m, 3H), 4.05 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.42, 162.34, 150.01, 149.44, 148.56, 133.50, 133.02, 132.64, 129.40, 127.44, 53.84.

**Methyl-2-phenyloxazolo[5,4-*d*]pyrimidin-5-carboxylat 25 (VWK375)<sup>254</sup>**

C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>  
255,23 g/mol

246 mg 3-Trifluormethylphenol (1,65 mmol, 1,1äq.) wurden in 3 ml Acetonitril gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C abgekühlt und mit NaH (60% in Mineralöl) 67 mg (1,65 mmol, 1,1 äq.) versetzt. Nach 20 min. wurde **23a** (1,50 mmol, 1,00 äq.) zur Suspension hinzugegeben und die Reaktionslösung ohne Eisbad für 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Suspension in 10 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit je 10 ml 1 M HCl-Lösung, gesättigter Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und Brine gewaschen, mit NaSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde mittels Flash-Chromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 16%; 61 mg (0,24 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 188 °C

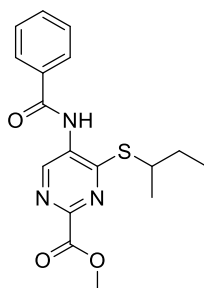
**HPLC:** 10,000 min.; 92,0%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.19 (s, 1H), 8.27 – 8.19 (m, 2H), 7.62 – 7.58 (m, 1H), 7.53 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 4.05 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 166.15, 165.58, 163.12, 151.15, 148.59, 134.91, 133.94, 129.51, 128.78, 125.14, 53.90 (d, *J* = 2.2 Hz).

**AAV6: Synthese der Pyrimidine 24a-e**

1 mmol **23a** und 2 mmol  $K_2CO_3$  wurden in 5 ml DMF suspendiert. Die Suspension wurde mit 1,1 mmol Thiol versetzt und auf 60 °C erwärmt. Nach 1 h wurde der Ansatz auf RT abgekühlt und mit 20 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit 10 ml Wasser und Brine gewaschen und mit  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde der Rückstand mittels Flash-Chromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Der Feststoff wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Methyl-5-benzamido-4-(sec-butylthio)pyrimidin-2-carboxylat 24a (VWK514)**

$C_{17}H_{19}N_3O_3S$   
345,42 g/mol

Hergestellt nach **AAV6** aus 358 mg (1,23 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 82%; 350 mg (1,01 mmol), hellgelbes Öl.

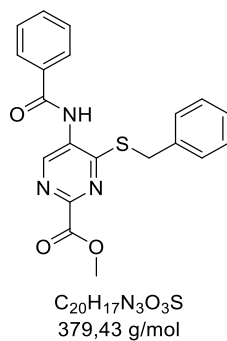
**HPLC:** 13,267 min.; 95,2 %.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.60 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.91 (dt,  $J$  = 1.1, 8.2 Hz, 2H), 7.64 – 7.60 (m, 1H), 7.54 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 2H), 4.28 (h,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 4.02 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3H), 1.81 (ddh,  $J$  = 7.3, 14.1, 21.3 Hz, 2H), 1.49 (d,  $J$  = 6.9 Hz, 3H), 1.06 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.38, 163.58, 159.87, 150.54, 145.58, 133.26, 133.02, 132.21, 129.25, 127.39, 53.38, 43.86, 29.70, 20.66, 11.53.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Methyl-5-benzamido-4-(benzylthio)pyrimidin-2-carboxylat 24b (VWK268)



Hergestellt nach **AAV6** aus 228 mg (0,601 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 67%; 255 mg (0,672 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 141 °C.

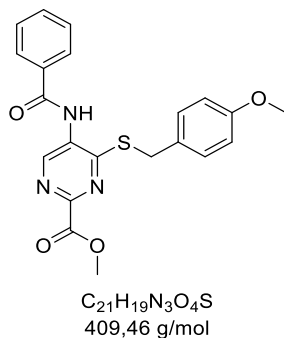
**HPLC:** 13,217 min.; 98,2 %.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.57 (s, 1H), 7.90 – 7.85 (m, 2H), 7.83 (s, 1H), 7.60 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.51 (dd,  $J$  = 7.2, 13.0 Hz, 4H), 7.32 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 2H), 7.28 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H), 4.67 (s, 2H), 4.07 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.37, 163.44, 159.27, 150.50, 146.18, 136.21, 133.08, 133.06, 131.97, 129.62, 129.24, 128.85, 128.02, 127.40, 53.50, 34.98.

**Methyl-5-benzamido-4-((4-methoxybenzyl)thio)pyrimidin-2-carboxylat**  
**(VWK275)**

**24c**



Hergestellt nach **AAV6** aus 500 mg (1,71 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 68%; 479 mg (1,17 mmol), farbloser Feststoff.

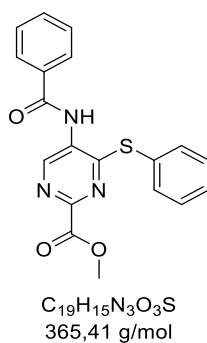
**Schmelzpunkt:** 155 °C

**HPLC:** 13,117 min.; 98,0 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.57 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.83 (s, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.51 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.43 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 6.84 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.64 (s, 2H), 4.07 (s, 3H), 3.78 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.36, 163.50, 159.40, 159.34, 150.50, 146.09, 133.10, 133.07, 132.01, 130.88, 129.25, 128.05, 127.44, 114.25, 55.41, 53.54, 34.75.

**Methyl-5-benzamido-4-(phenylthio)pyrimidin-2-carboxylat 24d (VK516)**



Hergestellt nach **AAV6** aus 404 mg (1,39 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 30%; 154 mg (0,421 mmol), farbloser Feststoff.

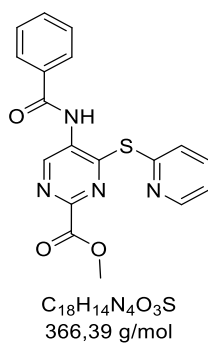
**Schmelzpunkt:** 151 °C

**HPLC:** 12,030 min.; 99,4%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.62 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.05 – 8.02 (m, 2H), 7.68 – 7.65 (m, 1H), 7.61 – 7.56 (m, 4H), 7.47 (dd,  $J$  = 1.8, 5.0 Hz, 3H), 3.80 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.89, 165.79, 162.90, 153.45, 152.77, 134.62, 132.82, 132.48, 131.41, 129.46, 129.35, 128.65, 127.97, 127.51, 52.82.

**Methyl-5-benzamido-4-(pyridin-2-ylthio)pyrimidin-2-carboxylat 24e (VWK560)**



Hergestellt nach **AAV6** aus 292 mg (1,00 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 68%; 248 mg (0,677 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 179 °C.

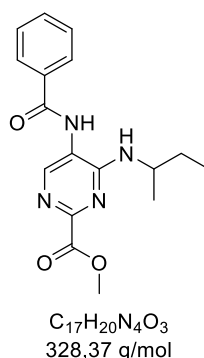
**HPLC:** 9,459 min.; 98,4%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.24 (s, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.46 – 8.33 (m, 1H), 7.97 – 7.88 (m, 2H), 7.72 (td,  $J$  = 1.9, 7.7 Hz, 1H), 7.69 – 7.64 (m, 1H), 7.62 – 7.57 (m, 1H), 7.50 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 7.24 (ddd,  $J$  = 1.1, 4.9, 7.4 Hz, 1H), 4.03 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.83, 163.10, 154.58, 154.08, 150.64, 150.33, 150.02, 138.37, 137.32, 133.22, 132.98, 129.08, 127.71, 127.30, 123.34, 53.64.

**AAV7: Synthese der Pyrimidine 25a-f<sup>297</sup>**

1 mmol **23a** wurde in 3 ml DMF gelöst. Die Lösung wurde mit 2 mmol DIPEA und 1,2 mmol Amin versetzt und auf 110 °C erhitzt. Nach 16 h wurde der Ansatz auf RT abgekühlt und mit 20 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde jeweils mit 10 ml 10%iger Citronensäure-Lösung, gesättigter Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und Brine gewaschen. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Chromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt. Das Produkt wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Methyl-5-benzamido-4-(sec-butylamino)pyrimidin-2-carboxylat 25a (VWK434)**

Hergestellt nach **AAV7** aus 1,29 g (4,00 mmol) **23a**.

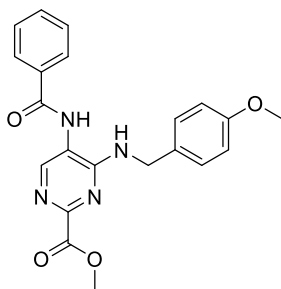
**Ausbeute:** 69%; 910 mg (2,77 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 164 °C

**HPLC:** 8,933 min.; 95,5%

<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.50 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.89 – 7.76 (m, 2H), 7.51 – 7.41 (m, 1H), 7.38 – 7.28 (m, 2H), 6.19 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.21 (dq, *J* = 6.6, 8.1 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 1.42 (pd, *J* = 2.7, 7.2 Hz, 2H), 1.05 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.81 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 167.59, 165.05, 156.91, 152.64, 149.26, 133.48, 132.30, 128.50, 127.74, 119.14, 53.14 (d, *J* = 2.1 Hz), 48.02, 29.41, 19.99, 10.38.

**Methyl-5-benzamido-4-((4-methoxybenzyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat (VWK171)****25b**

$C_{21}H_{20}N_4O_4$   
392,42 g/mol

Hergestellt nach **AAV7** aus 584 mg (2,00 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 44%; 248 mg (0,89 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 184 °C.

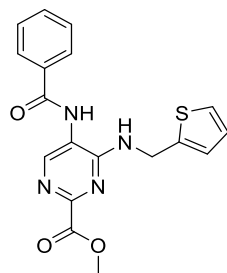
**HPLC:** 9,850 min.; 98,5%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.22 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.82 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.44 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.31 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 7.18 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.87 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 1H), 6.75 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 2H), 4.57 (d,  $J$  = 5.3 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.71 (s, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  167.42, 164.43, 159.04, 156.88, 151.99, 148.51, 133.09, 132.52, 129.90, 129.59, 128.59, 127.85, 119.37, 114.02, 55.34, 53.31, 44.74.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Methyl-5-benzamido-4-((thiophen-2-ylmethyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat 25c (VWK426)



C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S  
368,41 g/mol

Hergestellt nach **AAV7** aus 875 mg (3,00 mmol) **23a**.

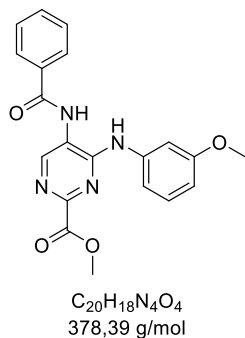
**Ausbeute:** 70%; 711 mg (1,93 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 175 °C.

**HPLC:** 9,400 min.; 97,0%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.88 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.04 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.37 (dd, *J* = 1.2, 5.1 Hz, 1H), 7.11 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 6.95 (dd, *J* = 3.5, 5.0 Hz, 1H), 4.78 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.87 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 166.06, 164.09, 156.91, 153.14, 150.77, 141.68, 133.69, 131.75, 128.15, 127.94, 126.40, 126.04, 125.03, 118.81, 52.31, 38.43.

**Methyl-5-benzamido-4-((3-methoxyphenyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat (VWK418)****25d**

Hergestellt nach **AAV7** aus 875 mg (3,00 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 38%; 431 mg (1,14 mmol), beiger Feststoff.

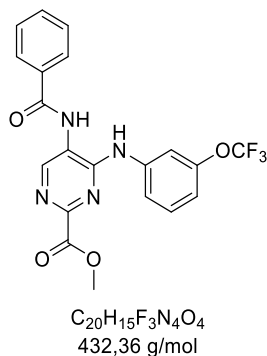
**Schmelzpunkt:** 220 °C

**HPLC:** 10,517 min.; 95,1%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.06 (s, 1H), 9.15 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.10 – 8.04 (m, 2H), 7.76 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.67 – 7.62 (m, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.29 – 7.26 (m, 1H), 7.24 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.65 (ddd, *J* = 1.0, 2.4, 7.9 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.79 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 166.34, 163.68, 159.36, 154.74, 152.20, 152.06, 140.11, 133.77, 131.85, 129.00, 128.20, 128.07, 119.92, 113.05, 109.15, 106.37, 54.89, 52.45.

**Methyl-5-benzamido-4-((3-(trifluormethoxy)phenyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat  
25e (VWK421)**



Hergestellt nach **AAV7** aus 875 mg (3,00 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 19%; 193 mg (0,45 mmol), rosa Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 230 °C

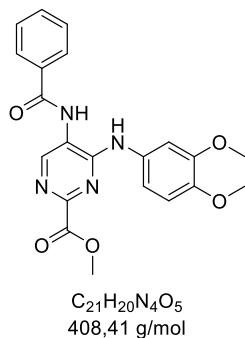
**HPLC:** 12,817 min.; 97,3%.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.10 (s, 1H), 9.38 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.19 – 8.12 (m, 1H), 8.11 – 8.04 (m, 2H), 7.78 – 7.72 (m, 1H), 7.65 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.58 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2H), 7.47 (t,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.05 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 3.88 (s, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  166.26, 163.47, 154.56, 152.63, 151.92, 148.47 – 148.30 (m), 140.65, 133.64, 131.92, 129.90, 128.23, 128.07, 120.21, 119.32, 114.93, 112.89 (d,  $J = 1.6$  Hz), 52.46.

**$^{19}\text{F}$  NMR** (565 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -56.61.

**Methyl-5-benzamido-4-((3,4-dimethoxyphenyl)amino)pyrimidin-2-carboxylat  
25f (VWK391)**



Hergestellt nach **AAV7** aus 583 mg (1,80 mmol) **23a**.

**Ausbeute:** 75%; 547 mg (1,34 mmol), grüner Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 230 °C (Zersetzung).

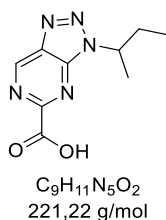
**HPLC:** 9,217 min; 96,9%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.01 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 8.10 – 8.04 (m, 2H), 7.79 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.64 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.16 (dd, *J* = 2.5, 8.7 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.75 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 166.40, 163.88, 155.00, 152.29, 152.13, 148.29, 144.89, 133.82, 132.39, 132.01, 128.35, 128.21, 119.57, 112.99, 111.78, 106.48, 55.74, 55.30, 52.60.

**AAV8: Synthese der 3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pyrimidine 30a-c<sup>271, 270</sup>**

1 mmol Lithiumcarboxylat (**27a-c**) wurden in 5 ml einer frisch hergestellten 1 M NaOH-Lösung suspendiert. Die Suspension wurde zum Rückfluss erhitzt und der Umsatz der Reaktion alle 90 min. mittels HPLC kontrolliert. Nachdem 90% Umsatz erreicht wurde (5-9 h) wurde die Reaktionslösung auf RT abgekühlt, mit 5 ml Wasser und 10 ml Ethanol verdünnt und mit einem Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Der pH der Suspension wurde mit konzentrierter HCl-Lösung auf 1 eingestellt und die Lösung anschließend mit 1,5 mmol NaNO<sub>2</sub>, gelöst in 1 ml Wasser, versetzt. Die Lösung wurde 10 min. bei 0 °C weitergerührt und anschließend auf RT aufgewärmt. Nach 5 h wurde der Ansatz mit 40 ml Wasser verdünnt und drei Mal mit 20 ml Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit 20 ml 1 M HCl-Lösung und Brine gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde das Rohprodukt aus *n*-Hexan/Ethylacetat umkristallisiert. Nach absaugen des Lösungsmittels wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**3-(*sec*-Butyl)-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pyrimidin-5-carbonsäure 30a (VWK451)**

Hergestellt nach **AAV8** aus 761 mg (2,38 mmol) **26n**.

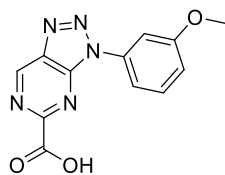
**Ausbeute:** 49%; 257 mg (1,16 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 150 °C

**HPLC:** 6,633 min.; 96,0%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.52 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 5.33 – 5.24 (m, 1H), 2.28 (ddt, *J* = 7.4, 14.7, 15.9 Hz, 1H), 2.19 – 2.09 (m, 1H), 1.78 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.86 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 162.22, 152.21, 151.39, 150.23, 136.14, 57.76, 29.50, 20.39, 10.69.

**3-(3-Methoxyphenyl)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-5-carbonsäure  
(VWK509)****30b**

$C_{12}H_9N_5O_3$   
271,24 g/mol

Hergestellt nach **AAV8** aus 350 mg (0,5 mmol) **26o**.

**Ausbeute:** 69%; 177 mg (0,653 mmol), hellgrauer Feststoff

**Schmelzpunkt:** 199 °C

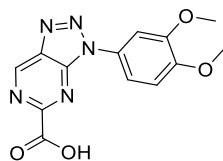
**HPLC:** 8,627 min.; 95,8%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.00 (s, 1H), 9.99 (s, 1H), 7.80 – 7.73 (m, 2H), 7.67 – 7.62 (m, 1H), 7.22 – 7.17 (m, 1H), 3.89 (s, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.47, 160.37, 158.63, 155.45, 150.50, 142.94, 142.23, 136.00, 133.65, 122.67, 73.73, 73.24, 56.04, 42.61, 34.65, 28.36, 27.45, 19.17, 18.86, 9.54.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pyrimidin-5-carbonsäure 30c (VWK397)



C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>  
301,26 g/mol

Hergestellt nach **AAV8** aus 400 mg (1,00 mmol) **26p**.

**Ausbeute:** 54%; 163 mg (0,541 mmol), brauner Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 209 °C (Zersetzung)

**HPLC:** 7,650 min.; 98,0%.

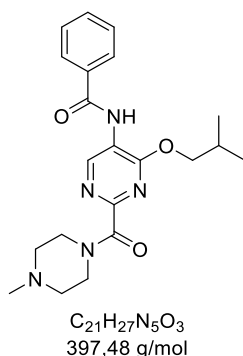
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.94 (s, 1H), 9.97 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 7.65 (dd, *J* = 2.4, 8.5 Hz, 1H), 7.28 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.87 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 164.30, 155.06, 152.64, 149.56, 149.25, 148.73, 135.83, 127.71, 115.16, 111.99, 106.94, 55.88.

**AAV9: Synthese der Pyrimidine 27e-h, 31a-r, 33, 34a-d, 36 und 42a-b<sup>298</sup>**

1,1 mmol Amin, 1 mmol Carbonsäure oder Lithiumcarboxylat und 1,1 mmol HATU wurden in 3 ml trockenem DMF gelöst. Die Lösung wurde mit 2 mmol DIPEA versetzt und bei RT gerührt. Nach 24 h wurde der Ansatz mit 20 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit jeweils 10 ml gesättigter Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und Brine gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde, wenn nicht anderes beschrieben, mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) und im Fall der Pyrimidine **31q** und **31v** mittel Umkehrphasenchromatographie (Acetonitril/Wasser, 0,1% TFA) aufgereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

***N*-(4-*iso*-Butoxy-2-(4-methylpiperazin-1-carbonyl)pyrimidin-5-yl)benzamid  
27e (VWK306)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 420 mg (1,33 mmol) **26a**.

**Ausbeute:** 71%; 377 mg (0,948 mmol), hellgelbes Öl.

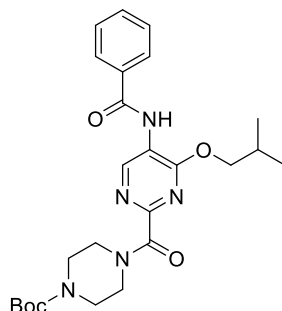
**HPLC:** 8,767 min.; 99,7%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.02 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 8.00 – 7.92 (m, 2H), 7.67 – 7.61 (m, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 4.18 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.54 (s, 4H), 3.17 (s, 2H), 3.06 (s, 2H), 2.73 (s, 3H), 2.69 (s, 1H), 2.06 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 0.97 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.88, 163.98, 162.42, 156.15, 150.98, 133.59, 132.20, 128.64, 127.78, 120.92, 73.01, 52.88, 52.38, 43.70, 42.82, 38.75, 38.26, 27.33, 18.90.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### **tert-Butyl 4-(5-benzamido-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carbonyl)piperazin-1-carboxylat 27f (VWK307)**



C<sub>25</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>  
483,57 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 410 mg (1,30 mmol) **26a**.

**Ausbeute:** 60%; 380 mg (0,786 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 162 °C.

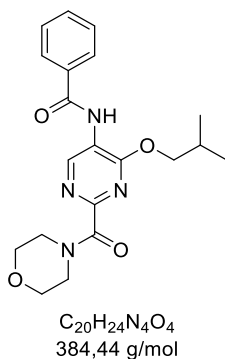
**HPLC:** 14,617 min.; 98,0%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 9.14 (s, 1H), 7.98 (dd, *J* = 1.3, 8.3 Hz, 2H), 7.67 – 7.64 (m, 1H), 7.58 (dd, *J* = 7.1, 8.3 Hz, 2H), 4.32 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.81 – 3.77 (m, 2H), 3.60 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.54 – 3.49 (m, 2H), 3.46 (dd, *J* = 3.4, 6.7 Hz, 2H), 2.19 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.07 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 168.70, 166.82, 163.36, 157.46, 156.19, 150.34, 134.87, 133.60, 129.87, 128.72, 122.68, 81.75, 75.13, 47.74, 42.94, 28.98, 28.59, 19.38.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***N*-(4-*iso*-Butoxy-2-(morpholin-4-carbonyl)pyrimidin-5-yl)benzamid 27g (VWK294)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 378 mg (1,20 mmol) **26a**.

**Ausbeute:** 52%; 241 mg (0,627 mmol), farbloser Feststoff.

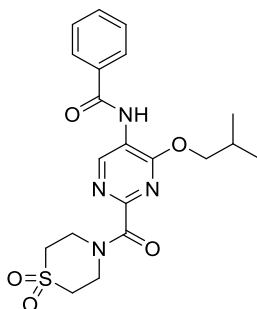
**Schmelzpunkt:** 174 °C.

**HPLC:** 11,400 min.; 99,6%.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  9.64 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.95 – 7.79 (m, 2H), 7.61 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 4.33 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 3.81 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 4H), 3.70 (s, 2H), 3.47 (s, 2H), 2.18 (hept,  $J$  = 6.8 Hz, 1H), 1.06 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 6H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.47, 164.68, 159.20, 154.33, 144.44, 133.56, 132.82, 129.24, 127.26, 121.96, 74.34, 66.99, 66.75, 47.60, 42.48, 27.97, 19.33.

***N*-(2-(1,1-Dioxidothiomorpholin-4-carbonyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)benzamid  
27h (VWK293)**



C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S  
432,49 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 210 mg (0,666 mmol) **26a**.

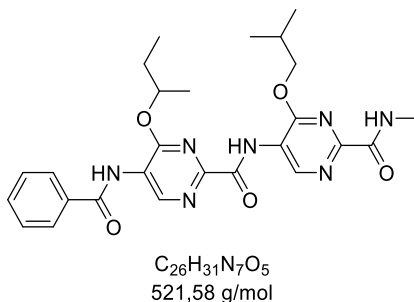
**Ausbeute:** 63%; 180 mg (0,416 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 212 °C.

**HPLC:** 11,233 min.; 99,8%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.60 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.92 – 7.73 (m, 2H), 7.57 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.25 (d, *J* = 37.0 Hz, 4H), 3.89 (s, 2H), 3.29 – 3.05 (m, 4H), 2.15 (s, 1H), 1.02 (d, *J* = 5.0 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.43, 164.65, 159.15, 153.05, 144.17, 133.31, 132.87, 129.21, 127.21, 122.51, 74.49, 52.12, 40.78, 27.89, 19.27.

**5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(4-iso-butoxy-2-(methylcarbamoyl)pyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 31a (VWK498)**

Hergestellt nach **AAV9** aus 1,35 g (6,03 mmol) **28a**. Das Produkt wurde mittels Umkristallisation aus *n*-Hexan/Ethylacetat aufgereinigt.

**Ausbeute:** 72%; 2,27 g (4,35 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 262 °C.

**HPLC:** 15,200 min.; 98,4%.

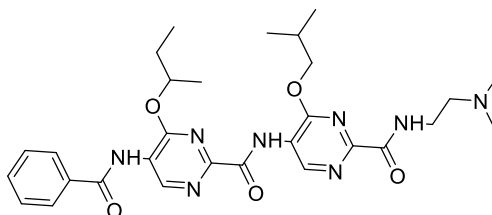
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.34 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.92 – 7.82 (m, 2H), 7.69 – 7.49 (m, 3H), 5.63 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.05 (d, *J* = 5.0 Hz, 3H), 2.24 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.86 (dq, *J* = 7.4, 14.7 Hz, 2H), 1.47 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.13 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 1.04 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.58, 162.95, 160.32, 159.41, 159.05, 151.50, 150.10, 144.33, 144.10, 133.62, 132.96, 129.33, 127.28, 123.89, 122.80, 76.87, 74.17, 29.07, 28.19, 26.61, 19.51, 19.33, 9.69.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 522,2459; gef.: 522,2465

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-4-iso-butoxypyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 31b (VWK141)



$C_{29}H_{38}N_8O_5$   
578,67 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 563 mg (2,00 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 55%; 640 mg (1,11 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 178 °C

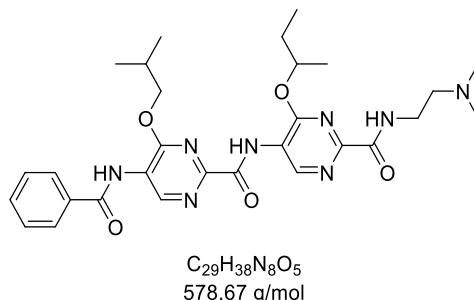
**HPLC:** 11,859 min.; 96,8%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.31 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 8.38 (d,  $J$  = 5.4 Hz, 2H), 7.90 – 7.84 (m, 2H), 7.66 – 7.59 (m, 1H), 7.58 – 7.51 (m, 2H), 5.62 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.44 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.63 (q,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.69 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.40 (s, 6H), 2.22 (dt,  $J$  = 6.8, 13.5 Hz, 1H), 1.91 – 1.74 (m, 2H), 1.46 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.11 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6H), 1.02 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.57, 162.63, 160.24, 159.11, 158.89, 151.24, 149.91, 144.29 (d,  $J$  = 6.2 Hz), 133.44, 132.95, 129.28, 127.22, 123.80, 122.74, 74.12, 58.04, 45.99, 45.17, 37.07, 28.99, 28.07, 19.48, 19.28, 9.72, 8.80.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{29}H_{38}N_8O_5+H^+]$  m/z: 579,3038; gef.: 579,3037

**5-Benzamido-*N*-(4-(*sec*-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxamid 31c (VWK291)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 958 mg (3,20 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 64%; 1,18 g (2,04 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 174 °C.

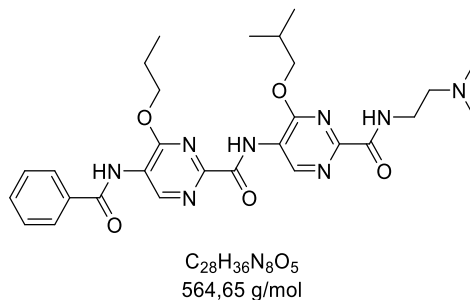
**HPLC:** 12,133 min.; 97,1%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.26 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 8.41 (s, 2H), 7.88 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.55 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 5.56 (h, *J* = 5.9 Hz, 1H), 4.50 – 4.42 (m, 2H), 3.67 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.78 (s, 2H), 2.47 (s, 6H), 2.25 (hept, *J* = 6.7, 13.5 Hz, 1H), 1.84 (dtd, *J* = 7.0, 14.0, 44.1 Hz, 2H), 1.46 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.11 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 1.04 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.49, 162.79, 160.17, 159.11, 158.68, 151.14, 149.93, 144.49, 144.36, 133.38, 133.01, 129.32, 127.20, 123.68, 122.90, 76.45, 74.31, 57.99, 45.06, 36.86, 29.03, 28.06, 19.37, 9.62.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 579,3038; gef.: 579,3043

**5-Benzamido-*N*-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbonyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)-4-propoxypyrimidin-2-carboxamid 31d (VWK260)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 64%; 96 mg (0,17 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 270 °C.

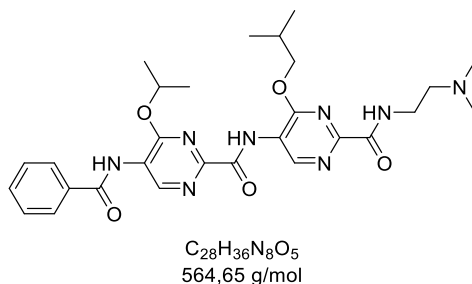
**HPLC:** 11,583 min.; 96,3%.

**$^1\text{H}$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.33 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 8.77 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.91 – 7.85 (m, 2H), 7.66 – 7.48 (m, 3H), 4.64 (t,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 4.50 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.11 (s, 2H), 2.72 (s, 6H), 2.23 (hept,  $J$  = 6.9, 7.5 Hz, 1H), 1.95 (h,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 1.16 – 1.06 (m, 9H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.57, 163.14, 160.17, 159.16, 159.02, 150.73, 149.89, 144.48, 144.23, 133.36, 132.99, 129.28, 127.24, 123.68, 122.96, 74.47, 70.05, 58.07, 44.49, 35.99, 28.13, 22.20, 19.32, 10.56.

**HR-MS (ESI $^{+}$ ):** ber. für  $[C_{28}H_{36}N_8O_5+H^{+}]$  m/z: 565.2881; gef.: 565,2881

**5-Benzamido-*N*-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)-4-*iso*-propoxypyrimidin-2-carboxamid 31e (VWK370)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 24%; 32 mg (0,056 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 193 °C

**HPLC:** 11,700 min.; 97,3%.

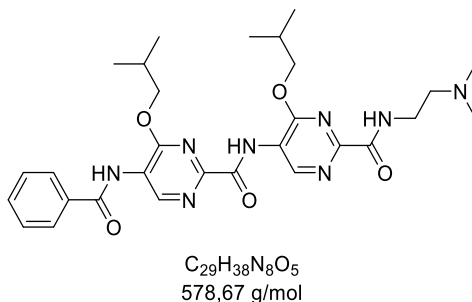
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.24 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.57 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 5.77 – 5.64 (m, 1H), 4.37 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.51 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.50 (s, 2H), 2.25 (s, 6H), 2.16 (dp, *J* = 6.6, 13.2 Hz, 1H), 1.45 (d, *J* = 6.2 Hz, 6H), 1.05 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ 168.06, 164.45, 161.69, 161.26, 160.44, 152.28, 151.22, 147.69, 145.08, 134.56, 133.69, 129.86, 128.74, 125.13, 123.81, 75.51, 73.60, 59.03, 45.40, 38.13, 29.21, 22.10, 19.59.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 565,2881; gef.: 565,2884

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-Benzamido-*N*-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbonyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxamid 31f (VWK255)



Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 18%; 28 mg (0,0484 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 209 °C.

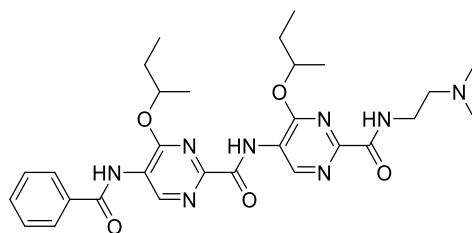
**HPLC:** 12,300 min.; 95,5%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.33 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.42 (s, 2H), 7.92 – 7.86 (m, 2H), 7.69 – 7.50 (m, 3H), 4.46 (dd,  $J$  = 5.1, 6.6 Hz, 4H), 3.68 (q,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.77 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2H), 2.47 (s, 6H), 2.24 (dpd,  $J$  = 4.5, 6.7, 13.3 Hz, 2H), 1.11 (dd,  $J$  = 4.6, 6.7 Hz, 12H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.39, 162.62, 160.09, 159.14, 159.01, 151.07, 149.83, 144.24, 144.00, 133.25, 132.90, 129.22, 127.07, 123.60, 122.65, 74.23, 74.08, 57.95, 44.96, 36.76, 27.99, 27.93, 19.23, 19.19.

**HR-MS (ESI $^{+}$ ):** ber. für  $[C_{29}H_{38}N_8O_5+H^{+}]$   $m/z$ : 579,3038; gef.: 579,3040

**5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(4-(sec-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbonyl)pyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid (VWK278)** **31g**



$C_{29}H_{38}N_8O_5$   
578,67 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 563 mg (2,00 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 30%, 350 mg (0,605 mmol), brauner Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 160 °C

**HPLC:** 11,833 min.; 95,4%.

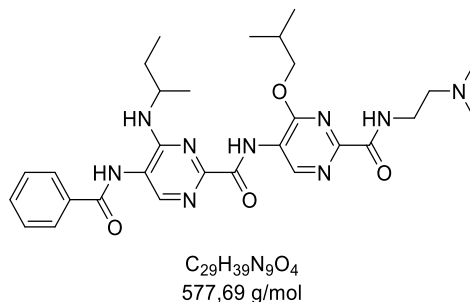
**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.20 (d,  $J$  = 3.6 Hz, 1H), 10.00 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.91 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 1H), 8.01 – 7.91 (m, 2H), 7.69 – 7.62 (m, 1H), 7.61 – 7.55 (m, 2H), 5.49 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 5.40 (hept,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 3.53 (q,  $J$  = 6.1 Hz, 2H), 2.93 (s, 2H), 2.58 (s, 6H), 1.85 – 1.72 (m, 4H), 1.46 – 1.34 (m, 6H), 0.98 (dtd,  $J$  = 2.7, 7.4, 10.1 Hz, 6H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.98, 162.06, 161.14, 159.76, 158.69, 151.47, 151.05, 149.86, 143.97, 133.47, 132.31, 128.63, 127.91, 123.18, 122.28, 75.53, 56.80, 43.70, 35.70, 28.30, 28.29, 19.07, 19.06, 18.94, 18.92, 9.52, 9.51, 9.36.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{29}H_{38}N_8O_5+H^+]$  m/z: 579,3038; gef.: 579,3046

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-Benzamido-4-(sec-butylamino)-N-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-4-isobutoxypyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 31h (VWK372)



Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 29%; 45 mg (0,0779 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 135 °C.

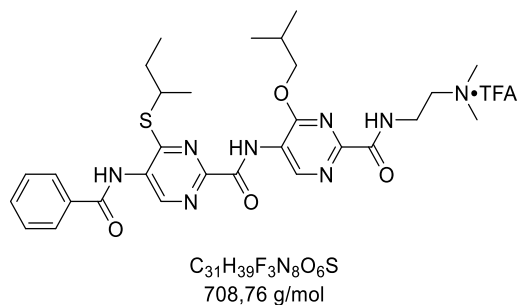
**HPLC:** 7,867 min.; 95,9%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.20 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 7.91 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.41 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H), 7.29 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 6.80 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 4.37 – 4.30 (m, 2H), 4.25 (dq,  $J$  = 6.9, 13.1 Hz, 1H), 3.54 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.60 – 2.54 (m, 2H), 2.32 (s, 6H), 2.15 (dh,  $J$  = 6.6, 13.4 Hz, 1H), 1.53 (qt,  $J$  = 6.7, 13.8 Hz, 2H), 1.17 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 3H), 1.02 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H), 0.88 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  167.85, 162.66, 161.86, 158.93, 156.27, 152.28, 150.96, 149.86, 144.53, 133.88, 132.03, 128.36, 128.06, 122.77, 119.96, 74.29, 57.84, 48.38, 45.34, 37.36, 29.57, 27.99, 20.29, 19.27, 10.66.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{29}H_{39}N_9O_4+H^+]$  m/z: 578.3198; gef.: 578,3196

**2-(5-(5-Benzamido-4-(*sec*-butylthio)pyrimidin-2-carboxamido)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxamido)-*N,N*-dimethylethan-1-aminiumtrifluoracetat** 31i  
(VWK517)



Hergestellt nach **AAV9** aus 141 mg (0,50 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 27%, 96 mg (0,135 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 103 °C

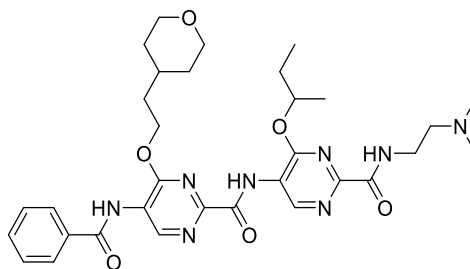
**HPLC:** 12,158 min.; 95,2%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.45 (s, 1H), 10.29 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 9.52 (s, 1H), 9.12 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.06 – 7.98 (m, 2H), 7.66 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.58 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 4.39 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 4.11 (h, *J* = 6.6 Hz, 1H), 3.66 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 3.32 (q, *J* = 5.3 Hz, 2H), 2.87 (d, *J* = 3.4 Hz, 6H), 2.15 (dp, *J* = 6.7, 13.3 Hz, 1H), 1.79 – 1.71 (m, 2H), 1.43 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 1.04 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 1.00 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 167.57, 165.73, 162.40, 159.93, 159.35, 158.17, 152.87, 152.55, 151.50, 144.67, 132.94, 132.42, 131.77, 128.63, 127.94, 122.16, 73.32, 55.97, 42.59, 41.33, 34.67, 28.76, 27.46, 20.29, 18.86, 11.23.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S+H<sup>+</sup>] *m/z*: 595.2809; gef.: 595,2809

**5-Benzamido-*N*-(4-(*sec*-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)-4-(2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxamid 31j (VWK258)**



$C_{32}H_{42}N_8O_6$   
634,74 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 56%; 95 mg (0,15 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 272 °C (Zersetzung)

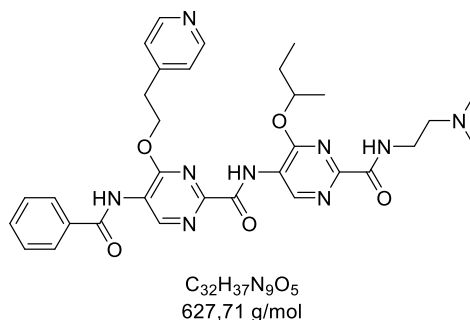
**HPLC:** 10,883 min.; 98,8 %

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.29 (s, 1H), 9.76 (d,  $J$  = 1.5 Hz, 2H), 8.81 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 1H), 8.35 (s, 1H), 7.92 – 7.82 (m, 2H), 7.58 (dt,  $J$  = 7.5, 49.2 Hz, 3H), 5.70 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.77 – 4.69 (m, 2H), 3.97 (dd,  $J$  = 3.7, 11.3 Hz, 2H), 3.89 (tq,  $J$  = 7.1, 14.8 Hz, 2H), 3.38 (td,  $J$  = 2.0, 11.8 Hz, 2H), 3.18 (t,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.77 (s, 6H), 2.77 (s, 6H), 1.92 – 1.67 (m, 7H), 1.46 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.42 (td,  $J$  = 3.9, 12.0 Hz, 2H), 1.05 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.55, 163.26, 160.08, 159.04, 158.62, 150.64, 149.97, 144.60, 144.38, 133.35, 133.05, 129.28, 127.22, 123.58, 123.11, 76.59, 67.94, 66.35, 58.02, 44.37, 35.82, 35.75, 33.18, 32.55, 29.02, 19.46, 9.57.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{32}H_{42}N_8O_6+H^+]$   $m/z$ : 635,3300; gef.: 635,3299

**5-Benzamido-*N*-(4-(*sec*-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbonyl)pyrimidin-5-yl)-4-(2-(pyridin-4-yl)ethoxy)pyrimidin-2-carboxamid 31k (VWK252)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 30%; 50 mg (0,0797 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 263 °C

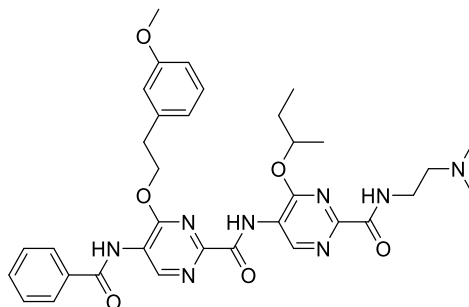
**HPLC:** 7,733 min.; 98,0%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.29 (s, 1H), 9.76 (s, 2H), 8.59 – 8.53 (m, 2H), 8.40 – 8.32 (m, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.76 – 7.68 (m, 2H), 7.67 – 7.59 (m, 1H), 7.58 – 7.49 (m, 2H), 7.30 – 7.22 (m, 2H), 5.54 (h, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.97 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.62 (q, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.22 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 2.67 (t, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.39 (s, 6H), 1.95 – 1.68 (m, 2H), 1.45 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.03 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.51, 162.58, 159.97, 158.71, 158.66, 151.38, 150.35, 149.97, 146.53, 144.56, 144.48, 133.16, 129.30, 127.16, 124.29, 123.62, 122.77, 76.36, 67.05, 58.03, 45.20, 37.06, 34.57, 28.98, 19.34, 9.59.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>32</sub>H<sub>37</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 628,2990; gef.: 628,2996

**5-Benzamido-*N*-(4-(*sec*-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)-4-(3-methoxyphenethoxy)pyrimidin-2-carboxamid 31I (VWK262)**



$C_{34}H_{40}N_8O_6$   
656,74 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 29%; 50 mg (0,0761 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 277 °C

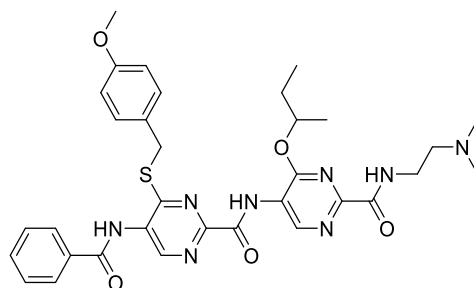
**HPLC:** 12,517 min.; 98,7%.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.28 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 7.75 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 2H), 7.61 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.52 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.23 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 6.88 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 6.80 (dd,  $J$  = 2.5, 8.3 Hz, 1H), 5.68 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.90 (td,  $J$  = 3.6, 6.4 Hz, 2H), 3.89 (qd,  $J$  = 7.2, 14.7 Hz, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.17 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 4H), 2.78 (s, 6H), 1.80 (dhept,  $J$  = 7.2, 28.9 Hz, 2H), 1.43 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3H), 1.03 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.46, 163.31, 160.10, 160.06, 158.74, 158.63, 150.61, 149.80, 144.55, 144.32, 139.06, 133.15, 132.93, 129.90, 129.19, 127.29, 123.71, 123.13, 121.20, 114.98, 112.01, 76.61, 68.36, 57.98, 55.28, 44.35, 35.81, 35.23, 28.99, 19.43, 9.57.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für  $[C_{34}H_{40}N_8O_6+H^+]$  m/z: 657.3144; gef.: 657,3129

**5-Benzamido-*N*-(4-(*sec*-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)-4-((4-methoxybenzyl)thio)pyrimidin-2-carboxamid 31m (VWK284)**



$C_{33}H_{38}N_8O_5S$   
658,79 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 75 mg (0,267 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 36%; 63 mg (0,0956 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 180 °C.

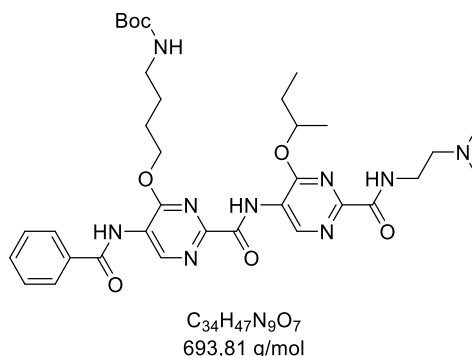
**HPLC:** 11,467 min.; 98,8%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.30 (s, 1H), 9.81 (s, 1H), 9.56 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.92 – 7.86 (m, 2H), 7.61 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.52 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 7.41 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 6.86 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 2H), 5.56 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.68 (d,  $J$  = 4.3 Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.65 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.71 (s, 2H), 2.42 (s, 6H), 1.86 – 1.67 (m, 2H), 1.40 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 0.97 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.50, 162.69, 160.21, 159.94, 159.59, 158.71, 151.35, 151.11, 146.16, 144.61, 133.14, 133.00, 131.82, 130.82, 129.26, 127.45, 127.05, 122.81, 114.45, 76.47, 58.01, 55.42, 45.16, 37.01, 35.00, 29.01, 19.43, 9.67.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{33}H_{38}N_8O_5S+H^+]$   $m/z$ : 659.2759; gef.: 659,2751

**tert-Butyl-(4-((5-benzamido-2-((4-(sec-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)carbamoyl)pyrimidin-4-yl)oxy)butyl)carbamate 31n (VWK503)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 150 mg (0,533 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 82%; 304 mg (0,438 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 109 °C

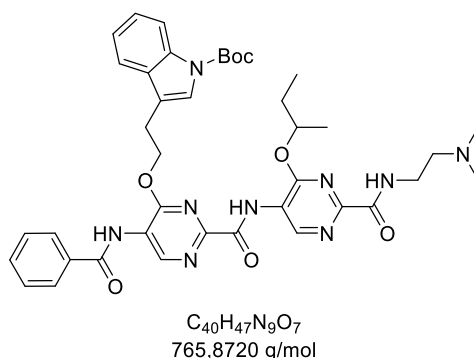
**HPLC:** 12,354 min.; 96,7%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.27 (s, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.42 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.94 – 7.86 (m, 2H), 7.61 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 5.53 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.80 (s, 1H), 4.69 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H), 3.70 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.25 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.87 (s, 2H), 2.55 (s, 6H), 1.95 (p, *J* = 6.9 Hz, 2H), 1.88 – 1.75 (m, 2H), 1.70 (p, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.43 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.39 (s, 9H), 1.02 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.84, 162.95, 160.18, 159.13, 158.65, 156.20, 150.97, 149.87, 144.76, 144.42, 133.38, 132.94, 129.25, 127.42, 123.74, 122.92, 79.39, 77.36, 68.22, 57.99, 44.94, 40.23, 36.69, 28.97, 28.49, 26.92, 25.88, 19.32, 9.54.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>N<sub>9</sub>O<sub>7</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 694.3671; gef.: 694,3675

**tert-Butyl-3-(2-((5-benzamido-2-((4-(sec-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)carbamoyl)pyrimidin-4-yl)oxy)ethyl)-1H-indol-1-carboxylat 31o (VWK603)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 211 mg (0,75 mmol) **28c**

**Ausbeute:** 29%; 165 mg (0,215 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 129 °C.

**HPLC:** 14,750 min.; 97,4%.

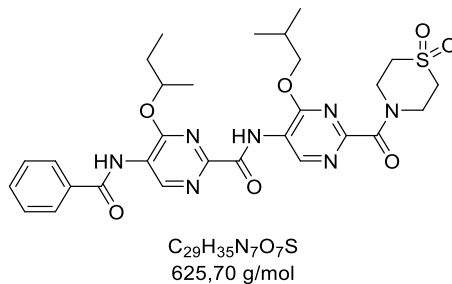
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 11.57 (s, 1H), 10.31 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 8.87 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.60 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.55 (s, 1H), 7.50 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.31 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.18 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.54 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.99 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H), 3.98 – 3.89 (m, 2H), 3.46 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.32 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.98 (s, 6H), 1.79 – 1.69 (m, 2H), 1.63 (s, 9H), 1.37 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.62, 163.94, 161.37, 160.87, 160.19, 158.83, 158.76, 149.85, 149.74, 149.56, 144.55, 143.79, 135.53, 133.09, 132.95, 130.47, 129.29, 127.26, 124.93, 123.90, 123.68, 123.40, 122.93, 118.73, 116.34, 115.61, 84.09, 77.36, 67.69, 57.58, 44.08, 35.57, 28.81, 28.28, 24.71, 19.08, 9.32.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{40}H_{47}N_9O_7+H^+]$  *m/z*: 766,3671; gef.: 766,3679

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(2-(1,1-dioxidothiomorpholin-4-carbonyl)-4-iso-butoxypyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 31p (VWK305)



Hergestellt nach **AAV9** aus 65 mg (0,198 mmol) **28g**.

**Ausbeute:** 96%; 119 mg (0,190 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 171 °C

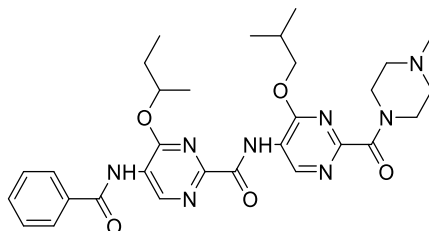
**HPLC:** 14,683 min.; 96,1%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.32 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 9.73 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.97 – 7.84 (m, 2H), 7.70 – 7.62 (m, 1H), 7.57 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2H), 5.63 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.34 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 4.29 (s, 2H), 3.97 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 2H), 3.28 – 3.15 (m, 4H), 2.22 (hept,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 1.94 – 1.79 (m, 2H), 1.48 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.12 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H), 1.04 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.62, 164.67, 160.32, 159.52, 159.02, 153.15, 149.69, 144.07, 143.55, 133.43, 133.05, 129.34, 127.28, 123.98, 122.35, 74.55, 52.61, 52.15, 45.59, 40.87, 29.02, 28.06, 19.51, 19.28, 9.77.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für  $[C_{29}H_{35}N_7O_7S+H^+]$  m/z: 626.2391; gef.: 626,2385

**5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(4-iso-butoxy-2-(4-methylpiperazin-1-carbonyl)pyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 31q (VWK319)**



$C_{30}H_{38}N_8O_5$   
590,69 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 101 mg (0,344 mmol) **28d**.

**Ausbeute:** 82%; 167 mg (0,283 mmol), hellbrauner Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 176 °C.

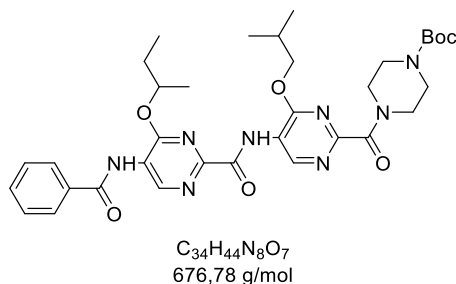
**HPLC:** 11,917 min.; 96,0%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  9.57 (s, 1H), 9.40 (s, 1H), 8.00 – 7.88 (m, 2H), 7.65 – 7.60 (m, 1H), 7.58 – 7.52 (m, 2H), 5.57 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 4.36 (dd,  $J$  = 1.1, 6.6 Hz, 2H), 3.83 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 2H), 3.52 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 2H), 2.64 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 2H), 2.56 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.22 (hept,  $J$  = 6.7, 13.4 Hz, 1H), 1.98 – 1.80 (m, 2H), 1.49 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.12 (dd,  $J$  = 1.1, 6.8 Hz, 6H), 1.06 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (151 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  168.38, 166.47, 162.02, 161.97, 160.84, 156.11, 151.70, 148.52, 145.75, 134.79, 133.70, 129.89, 128.77, 125.12, 122.78, 78.01, 75.44, 55.86, 55.23, 47.41, 45.82, 42.51, 29.83, 29.12, 19.85 – 18.98 (m), 10.02.

**HR-MS (ESI $^{+}$ ):** ber. für  $[C_{30}H_{38}N_8O_5+H^{+}]$  m/z: 591,3038; gef.: 591,3037

**tert-Butyl-4-(5-(5-benzamido-4-(sec-butoxy)pyrimidin-2-carboxamido)-4-iso-butoxypyrimidin-2-carbonyl)piperazin-1-carboxylat 31r (VWK318)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 81 mg (0,213 mmol) **28e**.

**Ausbeute:** 49%; 70 mg (0,103 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 124 °C.

**HPLC:** 17,800 min.; 97,0 %

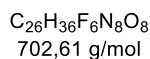
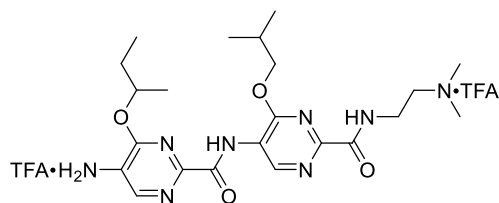
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.25 (s, 1H), 9.79 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 7.93 – 7.86 (m, 2H), 7.66 – 7.61 (m, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 5.62 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.32 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.79 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.56 (t, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.47 (s, 4H), 2.20 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.93 – 1.79 (m, 2H), 1.50 – 1.44 (m, 12H), 1.10 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 1.03 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.60, 165.09, 160.42, 159.07, 158.86, 154.66, 154.54, 149.83, 144.56, 144.39, 133.44, 132.95, 129.28, 127.25, 123.88, 121.69, 80.45, 76.88, 74.15, 46.90, 42.15, 28.98, 28.47, 28.01, 19.44, 19.27, 9.71.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>34</sub>H<sub>44</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 677,3406; gef.: 677,3403

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 4-(*sec*-Butoxy)-2-((2-((2-(dimethylammonio)ethyl)carbamoyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)carbamoyl)pyrimidin-5-aminiumbistrifluoracetat 33 (VWK506)



Hergestellt nach **AAV9** aus 141 mg (0,5 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 18%; 62 mg (0,088 mmol).

**Schmelzpunkt:** 147 °C.

**HPLC:** 9,389 min.; 98,7%.

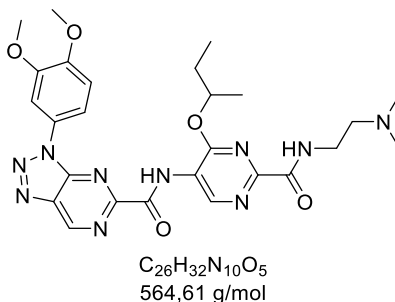
**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.07 (s, 1H), 9.54 (s, 1H), 9.45 (s, 1H), 9.07 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 7.97 (s, 1H), 5.69 (s, 3H), 5.29 (h, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.35 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 3.64 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H), 3.31 (q, *J* = 5.1 Hz, 2H), 2.86 (d, *J* = 4.4 Hz, 6H), 2.14 (hept, *J* = 6.8 Hz, 1H), 1.84 – 1.66 (m, 2H), 1.35 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.05 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.47, 160.37, 158.63, 155.45, 150.50, 142.94, 142.23, 136.00, 133.65, 122.67, 73.73, 73.24, 56.04, 42.61, 34.65, 28.36, 27.45, 19.17, 18.86, 9.54.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 475.2776; gef.: 475.2777

## EXPERIMENTELLER TEIL

***N*-(4-(*sec*-Butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbonyl)pyrimidin-5-yl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pyrimidin-5-carboxamid 34a (VWK400))**



Hergestellt nach **AAV9** aus 108 mg (0,383 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 33%; 71 mg (0,126 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 200 °C

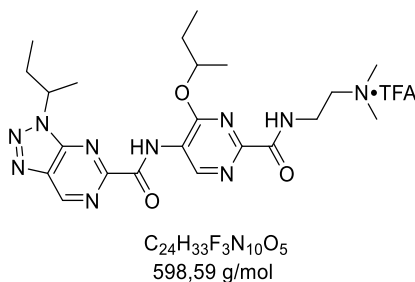
**HPLC:** 9,617 min.; 98,9%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.45 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 9.46 (s, 1H), 8.64 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H), 7.70 – 7.64 (m, 2H), 7.31 – 7.27 (m, 1H), 5.44 (h, *J* = 6.1 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.39 – 3.35 (m, 2H), 2.43 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.20 (s, 6H), 1.80 – 1.68 (m, 2H), 1.37 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 0.94 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.46, 159.53, 158.98, 154.07, 152.79, 152.22, 149.75, 149.36, 148.98, 144.80, 136.12, 127.48, 121.93, 115.40, 111.92, 107.23, 75.62, 57.74, 55.91, 45.09, 37.02, 28.23, 18.93, 9.27.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>10</sub>O<sub>5</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 565,2630; gef.: 565,2632

**2-(4-(sec-Butoxy)-5-(3-(sec-butyl)-3H-[1,2,3]triazolo[4,5-d]pyrimidin-5-carboxamido)pyrimidin-2-carboxamido)-N,N-dimethylethan-1-aminiumtrifluoracetat 34b (VWK474)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 141 mg (0,50 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 44%; 133 mg (0,222 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 98 °C

**HPLC:** 9,642 min.; 95,3%.

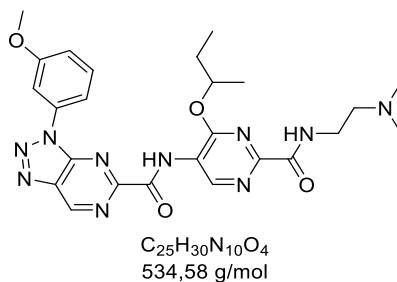
**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 12.35 (s, 1H), 10.62 – 10.34 (m, 1H), 9.76 (s, 1H), 9.62 (s, 1H), 8.89 (s, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.20 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.89 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.89 (s, 6H), 2.23 (dp, *J* = 15.1, 7.5 Hz, 1H), 2.09 (dp, *J* = 14.0, 7.1 Hz, 1H), 1.87 – 1.76 (m, 2H), 1.74 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.45 – 1.34 (m, 3H), 0.99 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 0.81 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 163.43, 159.73, 158.90, 153.67, 151.72, 151.14, 149.92, 145.04, 136.22, 122.92, 58.13, 57.86, 46.27, 44.48, 36.11, 29.47, 29.00, 20.31, 19.36, 10.76, 9.41.

**HR-MS (ESI<sup>+</sup>):** ber. für [C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>N<sub>10</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 485,2732; gef.: 485,2736

## EXPERIMENTELLER TEIL

### ***N*-(4-(*sec*-Butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbonyl)pyrimidin-5-yl)-3-(3-methoxyphenyl)-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pyrimidin-5-carboxamid 34c (VWK513)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 141 mg (0,5 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 47%; 126 mg (0,236 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 176 °C

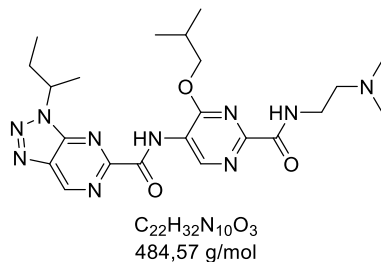
**HPLC:** 10,536 min.; 99,0%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.44 (s, 1H), 10.11 (s, 1H), 9.47 (s, 1H), 8.65 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 7.78 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H), 7.75 (t,  $J$  = 2.3 Hz, 1H), 7.66 (t,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.23 (dd,  $J$  = 2.5, 8.4 Hz, 1H), 5.45 (h,  $J$  = 6.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.38 (q,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 2.44 (t,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 2.21 (s, 6H), 1.82 – 1.70 (m, 2H), 1.39 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 0.95 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  161.44, 160.05, 159.48, 158.97, 154.18, 152.86, 152.22, 148.97, 144.81, 136.40, 135.77, 130.91, 121.89, 114.78, 114.21, 108.29, 75.64, 57.72, 55.66, 45.06, 36.99, 28.22, 18.91, 9.32.

**HR-MS (ESI $^{+}$ ):** ber. für  $[C_{25}H_{30}N_{10}O_4 + H^{+}]$   $m/z$ : 535.2524; gef.: 535,2526

**3-(*sec*-Butyl)-*N*-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)-3*H*-[1,2,3]triazolo[4,5-*d*]pyrimidin-5-carboxamid 34d (VWK505)**



Hergestellt nach **AAV9** aus 150 mg (0,533 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 30%; 78 mg (0,161 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 205 °C

**HPLC:** 9,847 min.; 96,0%.

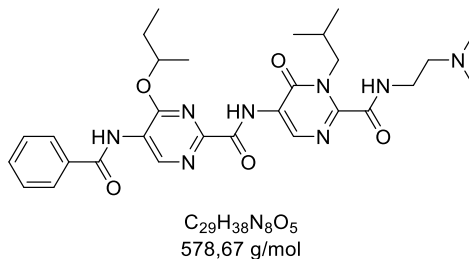
**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.58 (s, 1H), 9.83 (s, 1H), 9.66 (s, 1H), 8.42 (s, 1H), 5.30 – 5.23 (m, 1H), 4.50 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 2H), 3.65 (q,  $J$  = 5.8 Hz, 2H), 2.71 (s, 2H), 2.42 (s, 6H), 2.35 – 2.22 (m, 3H), 2.18 – 2.11 (m, 1H), 1.15 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H), 0.87 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  162.53, 159.63, 159.30, 153.68, 151.82, 151.54, 149.99, 144.80, 136.04, 122.41, 74.23, 58.12, 57.50, 45.19, 37.06, 29.51, 28.12, 20.49, 19.29, 10.78.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{22}H_{32}N_{10}O_3+H^+]$   $m/z$ : 485.2732; gef.: 485,2739

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-Benzamido-4-(sec-butoxy)-N-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-1-iso-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 36 (VWK331)



Hergestellt nach **AAV9** aus 85 mg (0,302 mmol) **9b**.

**Ausbeute:** 67%; 117 mg (0,202 mmol), hellgelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 196 °C.

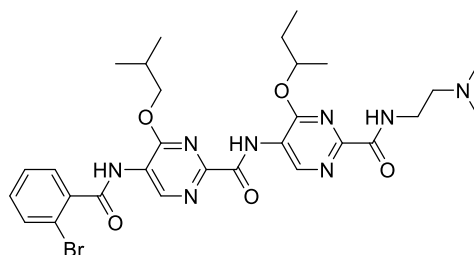
**HPLC:** 12,100 min.; 95,6%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  10.49 (s, 1H), 9.74 (s, 1H), 9.05 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.91 – 7.80 (m, 2H), 7.61 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 7.54 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2H), 5.53 (h,  $J$  = 6.3 Hz, 1H), 4.53 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 2H), 3.61 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 2H), 2.87 (s, 2H), 2.56 (s, 6H), 2.06 (hept,  $J$  = 6.9 Hz, 1H), 1.86 (ddq,  $J$  = 7.0, 14.0, 42.8 Hz, 2H), 1.52 – 1.46 (m, 3H), 1.04 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H), 0.87 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.53, 161.15, 160.79, 158.53, 157.96, 149.70, 144.76, 144.62, 134.37, 133.45, 132.93, 129.28, 127.27, 127.06, 123.90, 77.31, 57.76, 51.02, 44.92, 36.84, 28.95, 28.81, 19.91, 19.44, 9.74.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{29}H_{38}N_8O_5+H^+]$  m/z: 579,3038; gef.: 579,3042

**5-(2-Brombenzamido)-N-(4-(sec-butoxy)-2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)pyrimidin-5-yl)-4-iso-butoxypyrimidin-2-carboxamid 42a (VWK624)**



$C_{29}H_{37}BrN_8O_5$   
657,57 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 141 mg (0,5 mmol) **28c**.

**Ausbeute:** 57%; 188 mg (0,286 mmol), gelber Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 128 °C.

**HPLC:** 11,844 min.; 95,4%.

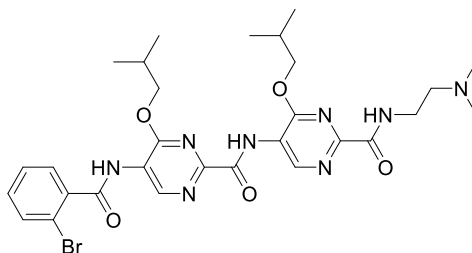
**$^1H$  NMR** (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.50 (s, 1H), 10.22 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.81 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 1H), 7.76 (dd,  $J$  = 1.0, 7.9 Hz, 1H), 7.61 (dd,  $J$  = 1.9, 7.5 Hz, 1H), 7.54 (td,  $J$  = 1.2, 7.4 Hz, 1H), 7.47 (td,  $J$  = 2.0, 7.6 Hz, 1H), 5.47 (h,  $J$  = 6.1 Hz, 1H), 4.32 (dd,  $J$  = 2.3, 6.6 Hz, 2H), 3.48 (q,  $J$  = 6.1 Hz, 2H), 2.74 (t,  $J$  = 6.1 Hz, 2H), 2.44 (s, 6H), 2.18 (dp,  $J$  = 6.7, 13.3 Hz, 1H), 1.86 – 1.75 (m, 2H), 1.41 (d,  $J$  = 6.2 Hz, 3H), 1.04 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H), 0.99 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 3H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  166.72, 161.82, 160.91, 159.63, 158.65, 151.61, 150.93, 148.95, 143.95, 137.91, 132.84, 131.70, 129.23, 127.74, 122.54, 122.19, 118.95, 75.54, 73.36, 57.18, 44.27, 36.23, 28.31, 27.34, 19.06, 19.03, 9.38.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{29}H_{37}BrN_8O_5+H^+]$  m/z: 657.2143; gef.: 657,2146

## EXPERIMENTELLER TEIL

### 5-(2-Brombenzamido)-N-(2-((2-(dimethylamino)ethyl)carbamoyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-5-yl)-4-*iso*-butoxypyrimidine-2-carboxamid 42b (VWK627)



$C_{29}H_{37}BrN_8O_5$   
657,57 g/mol

Hergestellt nach **AAV9** aus 101 mg (0,36 mmol) **28b**.

**Ausbeute:** 51%; 119 mg (0,181 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 121 °C.

**HPLC:** 12,178 min.; 96,3%.

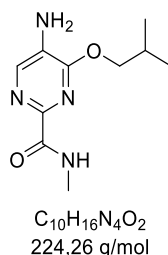
**$^1H$  NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.49 (s, 1H), 10.26 (s, 1H), 9.48 (s, 1H), 9.27 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 1.6, 7.5 Hz, 1H), 7.54 (td, *J* = 1.0, 7.5 Hz, 1H), 7.46 (td, *J* = 1.7, 7.9 Hz, 1H), 4.37 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H), 4.31 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.46 (q, *J* = 6.0 Hz, 2H), 2.70 (s, 2H), 2.40 (s, 6H), 2.16 (dtd, *J* = 4.9, 6.7, 13.3 Hz, 2H), 1.07 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 1.03 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (126 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  166.55, 161.68, 161.04, 159.60, 159.13, 151.73, 150.99, 148.61, 144.22, 137.77, 132.74, 131.56, 129.13, 127.59, 122.46, 121.92, 118.83, 73.28, 73.18, 57.21, 44.27, 36.26, 27.34, 27.20, 18.88, 18.80.

**HR-MS (ESI+):** ber. für  $[C_{29}H_{37}BrN_8O_5+H^+]$  *m/z*: 657.2143; gef.: 657,2146

**AAV10: Synthese der Pyrimidine 28a-g und 32<sup>269</sup>**

1 mmol Pyrimidin wurde in 9 ml Dichlormethan gelöst. Zur Lösung wurde eine frisch angesetzte Lösung von 1,3 mmol NaOH in 1 ml Methanol hinzugegeben. Die gelbe Reaktionslösung wurde 24 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in 20 ml Ethylacetat und 20 ml Wasser aufgenommen und solange gerührt bis eine klare Phasentrennung beobachtet wurde. Die wässrige Phase wurde abgeschieden und die organische Phase drei Mal mit 10 ml gesättigter Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und 10 ml Brine gewaschen und das Lösungsmittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde anschließend mittels Flash-Chromatographie (DCM/MeOH) oder durch Umkristallisation aufgereinigt. Das Produkt wurde unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**5-Amino-4-*iso*-butoxy-*N*-methylpyrimidin-2-carboxamid 28a (VWK494)**

Hergestellt nach **AAV10** aus 3,38 g (10,3 mmol) **27a**. Das Produkt wurde mittels Umkristallisation aus *n*-Hexan/Ethylacetat aufgereinigt.

**Ausbeute:** 70%; 1,61 g (7,18 mmol), hellrosa Feststoff.

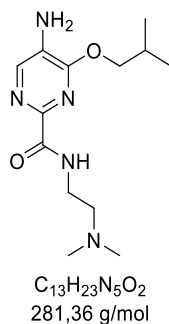
**Schmelzpunkt:** 169 °C

**HPLC:** 6,467 min.; 98,8%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.98 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 4.23 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 2.99 (d, *J* = 5.1 Hz, 3H), 2.15 – 2.03 (m, 1H), 1.00 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO) δ 162.93, 155.99, 145.01, 136.24, 131.85, 71.86, 39.52, 27.36, 25.88, 18.94.

**5-Amino-*N*-(2-(dimethylamino)ethyl)-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-carboxamid  
28b (VWK361)**



Hergestellt nach **AAV10** aus 1,27 g (3,29 mmol) **27b**. Das Produkt wurde mittels Umkristallisation aus *n*-Hexan/2-Propanol aufgereinigt.

**Ausbeute:** 73%; 677 mg (2,41 mmol), farbloser Feststoff.

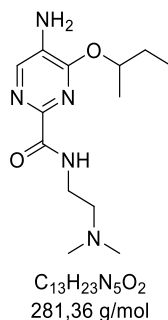
**Schmelzpunkt:** 132 °C

**HPLC:** 5,367 min.; 96,5%.

**$^1H$  NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  8.20 – 8.10 (m, 1H), 7.99 (s, 1H), 4.27 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 3.56 (q,  $J$  = 5.9 Hz, 2H), 2.61 (t,  $J$  = 6.1 Hz, 2H), 2.34 (s, 6H), 2.12 (hept,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 1.01 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  163.19, 157.12, 146.44, 137.80, 131.01, 73.03, 58.09, 45.26, 37.05, 27.89, 19.24.

**5-Amino-4-(sec-butoxy)-N-(2-(dimethylamino)ethyl)pyrimidin-2-carboxamid**  
**28c (VWK378)**



Hergestellt nach **AAV10** aus 1,94 g (5,03 mmol) **27c**. Das Produkt wurde mittels Umkristallisation aus *n*-Hexan/2-Propanol aufgereinigt.

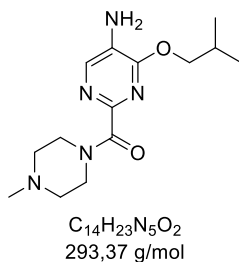
**Ausbeute:** 81%; 1,15 g (4,09 mmol), farbloser Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 170 °C

**HPLC:** 4,917 min.; 99,9%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.12 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 5.34 (p, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.18 (s, 2H), 3.54 (q, *J* = 5.9 Hz, 2H), 2.55 (t, *J* = 6.1 Hz, 2H), 2.30 (s, 6H), 1.89 – 1.59 (m, 2H), 1.36 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, Chloroform-*d*) δ 163.15, 156.72, 146.61, 137.95, 131.09, 74.72, 58.02, 45.30, 37.11, 28.93, 19.37, 9.71.

**(5-Amino-4-iso-butoxypyrimidin-2-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanon  
(VWK314)****28d**

Hergestellt nach **AAV10** aus 345 mg (0,868 mmol) **27e**.

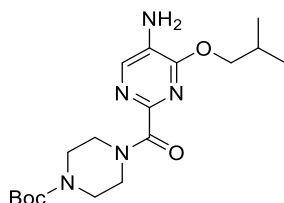
**Ausbeute:** 43%; 109 mg (0,372 mmol), gelbes Öl. Das Produkt wurde mittels Flash-Chromatographie ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ ) aufgereinigt.

**HPLC:** 5,400 min.; 98,5%.

**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  7.90 (s, 1H), 4.19 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.82 (t,  $J$  = 5.3 Hz, 2H), 3.49 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 2H), 2.52 (t,  $J$  = 5.2 Hz, 2H), 2.42 (t,  $J$  = 5.0 Hz, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.09 (hept,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 1.00 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6H).

**$^{13}\text{C}$  NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta$  165.63, 157.69, 150.11, 137.85, 129.42, 73.14, 55.19, 54.55, 46.75, 46.02, 41.84, 27.94, 19.30.

**tert-Butyl-4-(5-amino-4-iso-butoxypyrimidin-2-carbonyl)piperazin-1-carboxylat  
28e (VWK315)**



C<sub>18</sub>H<sub>29</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>  
379,46 g/mol

Hergestellt nach **AAV10** aus 349 mg (0,722 mmol) **27f**.

**Ausbeute:** 34%; 92 mg (0,242 mmol), gelber Feststoff. Das Produkt wurde mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) aufgereinigt.

**Schmelzpunkt:** 81 °C.

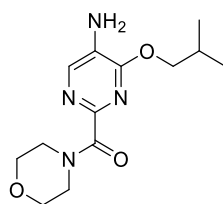
**HPLC:** 10,891 min.; 97,4%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.98 (s, 1H), 4.20 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.74 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.52 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.46 (q, *J* = 6.8, 7.9 Hz, 4H), 2.16 – 2.07 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.01 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 171.28, 165.23, 157.69, 154.71, 149.07, 137.02, 80.43, 73.41, 46.97, 42.22, 28.50, 27.95, 19.30.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### (5-Amino-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-yl)(morpholin)methanon 28f (VWK302)



C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>  
280,33 g/mol

Hergestellt nach **AAV10** aus 242 mg (0,629 mmol) **27g**.

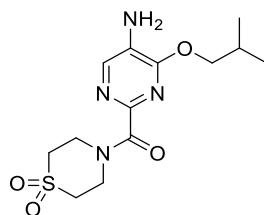
**Ausbeute:** 42%; 74 mg (0,246 mmol), gelbes Öl. Das Produkt wurde mittels Flash-Chromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH) aufgereinigt.

**HPLC:** 7,450 min.; 97,4%.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.98 (s, 1H), 4.20 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.74 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.52 (t, *J* = 5.4 Hz, 2H), 3.46 (q, *J* = 6.8, 7.9 Hz, 4H), 2.16 – 2.07 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.01 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H).

**<sup>13</sup>C NMR** (151 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.49 (d, *J* = 4.4 Hz), 157.53 (d, *J* = 4.1 Hz), 149.18, 137.41, 129.78 (d, *J* = 3.2 Hz), 73.13, 73.11, 66.93, 66.74, 47.51, 42.53, 27.87, 19.23.

**(5-Amino-4-*iso*-butoxypyrimidin-2-yl)(1,1-dioxidthiomorpholin)methanon** **28g**  
**(VWK296)**



$C_{13}H_{20}N_4O_4S$   
 328,39 g/mol

Hergestellt nach **AAV10** aus 342 mg (0,791 mmol) **27h**. Das Produkt wurde mittels Flash-Chromatographie ( $CH_2Cl_2/MeOH$ ) aufgereinigt.

**Ausbeute:** 33%; 85 mg (0,259 mmol), farbloser Feststoff.

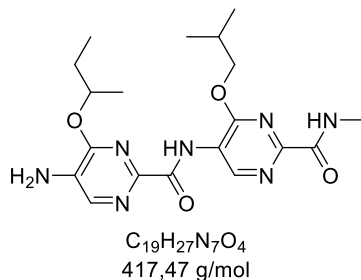
**Schmelzpunkt:** 176 °C.

**HPLC:** 7,417 min.; 98,6%.

**$^1H$  NMR** (600 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  7.94 (s, 1H), 4.24 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 4H), 4.00 (t,  $J$  = 5.3 Hz, 2H), 3.28 (q,  $J$  = 5.4, 5.9 Hz, 4H), 2.17 (hept,  $J$  = 6.7 Hz, 1H), 1.07 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 6H).

**$^{13}C$  NMR** (126 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  167.53, 158.44, 148.04, 137.64, 133.21, 74.30, 53.31, 52.64, 46.71, 42.05, 29.05, 19.41.

**5-Amino-4-(sec-butoxy)-N-(4-iso-butoxy-2-(methylcarbamoyl)pyrimidin-5-yl)pyrimidin-2-carboxamid 32 (VWK504)**



Hergestellt nach **AAV10** aus 245 mg (1,09 mmol) **28a**. Das Produkt wurde mittels Umkehrphasenchromatographie (Acetonitril/Wasser) aufgereinigt.

**Ausbeute:** 26%; 120 mg (0,287 mmol), beiger Feststoff.

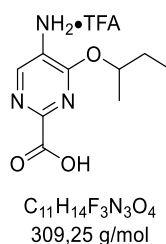
**Schmelzpunkt:** 242 °C

**HPLC:** 11,600 min.; 100,00%.

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, Chloroform-*d*) δ 10.09 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 5.45 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.40 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.04 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H), 2.19 (hept, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.88 – 1.68 (m, 2H), 1.40 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 1.08 (d, *J* = 6.7 Hz, 6H), 0.98 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.23, 160.18, 158.65, 158.08, 155.52, 151.27, 143.16, 142.11, 135.68, 133.66, 73.87, 73.28, 28.37, 27.49, 26.23, 19.17, 18.90, 9.53.

**HR-MS (ESI+):** ber. für [C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>7</sub>O<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>] *m/z*: 418,2197; gef.: 418,2202

**4-(sec-Butoxy)-2-carboxypyrimidin-5-aminiumtrifluoracetat 29 (VWK461)<sup>270</sup>**

4,00 g **26b** (12,7 mmol, 1,00 äq.) wurden in 40 ml einer frisch hergestellten 1 M NaOH-Lösung zum Rückfluss erhitzt. Nach 6 h (vollständiger Umsatz *via* HPLC bestätigt) wurde die Reaktionslösung auf RT abgekühlt und pH 1 mit konzentrierter HCl eingestellt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in 100 ml Methanol suspendiert und 10 min bei 60 °C gerührt. Der unlösliche Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat mit 50 ml Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in einer Lösung aus Dichlormethan und Methanol (100:1) versetzt und 10 min bei RT gerührt. Der unlösliche Feststoff wurde abfiltriert und das Filtrat mit 50 ml Dichlormethan gewaschen. Nach entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt in Wasser gelöst und mittels Umkehrphasenchromatographie (Acetonitril/Wasser, 0,1% TFA) aufgereinigt. Nach entfernen des Lösungsmittels wurde das Produkt unter Ölpumpenvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 35%; 1,46 g (4,49 mmol), beiger Feststoff.

**Schmelzpunkt:** 187 °C.

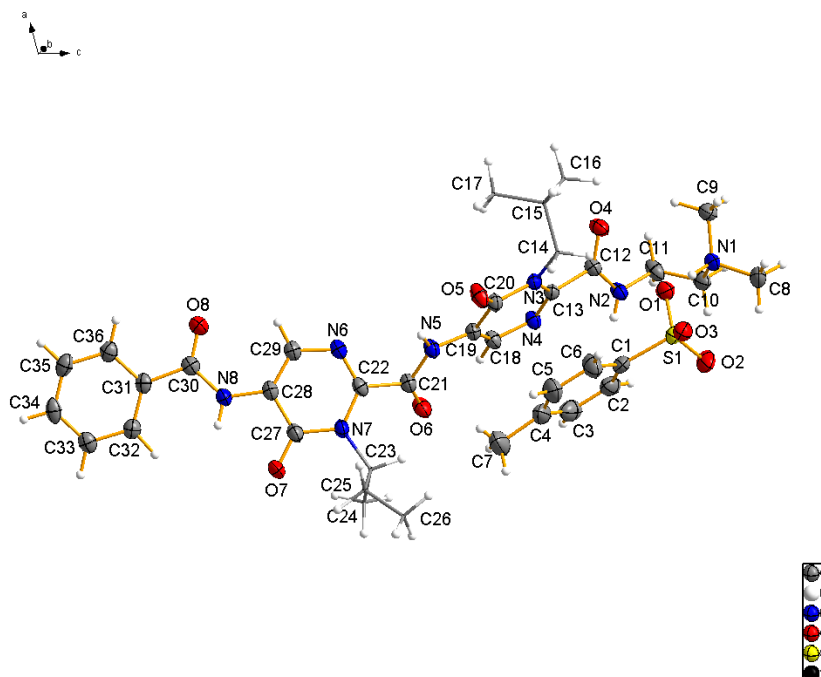
**HPLC:** 4,587 min.; 99,5 %.

**<sup>1</sup>H NMR** (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.88 (s, 1H), 5.27 (h, *J* = 6.2 Hz, 1H), 1.78 – 1.62 (m, 2H), 1.30 (d, *J* = 6.2 Hz, 3H), 0.90 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

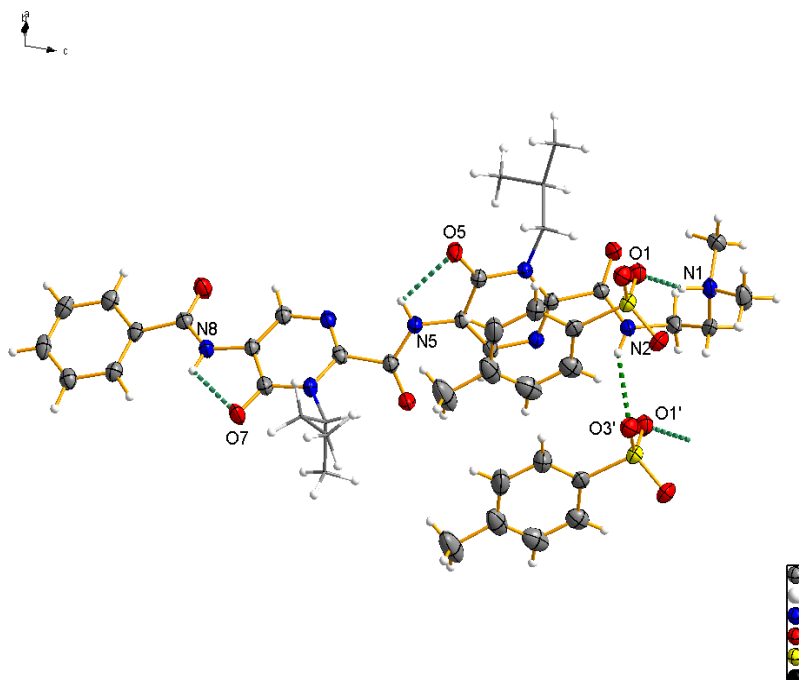
**<sup>13</sup>C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 163.39, 155.91, 141.67, 134.45, 133.21, 73.90, 28.21, 19.04, 9.34.

## Anhang

### Kristallographische Informationen zu 10b-Tosylat

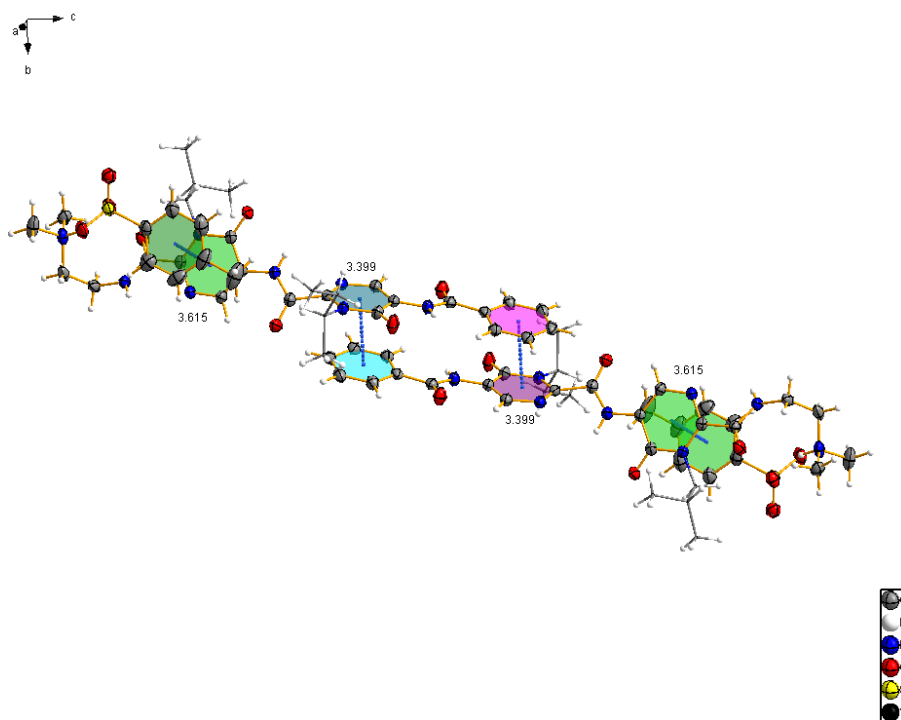


**Abbildung 55:** Nummerierung der Atome von **10b**-Tosylat. Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSEBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK.

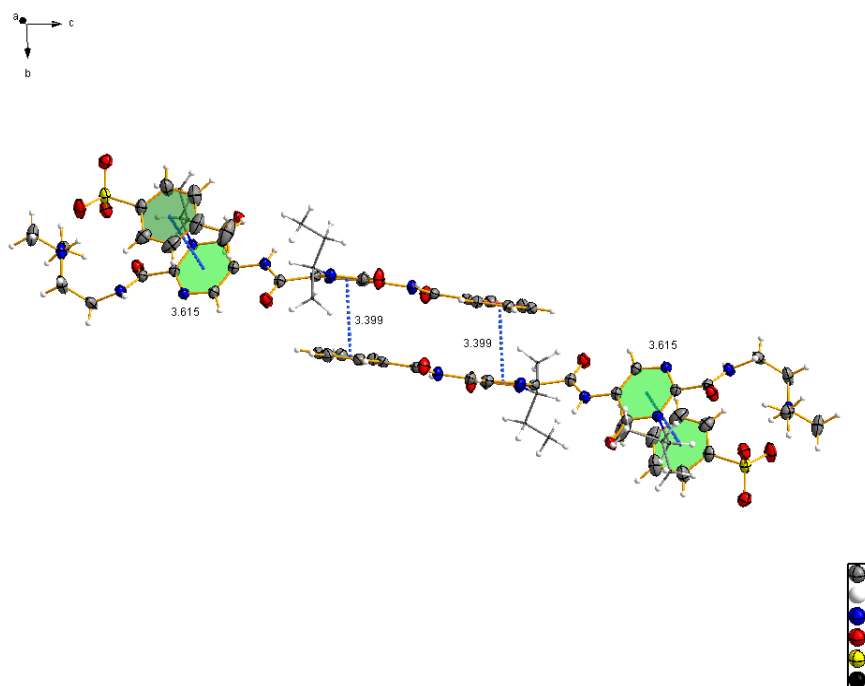


**Abbildung 56:** Wasserstoffbrückenbindungen von **10b**-Tosylat. Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSEBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK.

## KRISTALLOGRAPHISCHE INFORMATIONEN



**Abbildung 57:**  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen von **10b**-Tosylat (Ansicht 1). Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSEBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK.



**Abbildung 58:**  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen von **10b**-Tosylat (Ansicht 2). Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSEBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK.

# KRISTALLOGRAPHISCHE INFORMATIONEN

**Tabelle 26:** Atomkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter ( $\text{\AA}^2$ ) von **10b**-Tosylat.

|      | x            | y           | z            | $U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$ |
|------|--------------|-------------|--------------|----------------------------------|
| C1   | 0.45847 (15) | 0.7995 (4)  | 0.86694 (8)  | 0.0327 (6)                       |
| C2   | 0.43690 (17) | 0.6043 (5)  | 0.86281 (10) | 0.0417 (7)                       |
| C3   | 0.4002 (2)   | 0.5345 (6)  | 0.82277 (12) | 0.0524 (9)                       |
| C4   | 0.38533 (18) | 0.6536 (6)  | 0.78693 (10) | 0.0528 (9)                       |
| C5   | 0.4103 (2)   | 0.8450 (7)  | 0.79123 (10) | 0.0577 (10)                      |
| C6   | 0.4469 (2)   | 0.9178 (6)  | 0.83115 (9)  | 0.0496 (8)                       |
| C7   | 0.3410 (3)   | 0.5775 (11) | 0.74385 (15) | 0.0797 (15)                      |
| C8   | 0.6170 (2)   | 0.7057 (7)  | 1.02604 (9)  | 0.0503 (9)                       |
| C9   | 0.73762 (16) | 0.6662 (5)  | 0.99734 (9)  | 0.0348 (6)                       |
| C10  | 0.63895 (18) | 0.3966 (5)  | 0.99065 (8)  | 0.0391 (7)                       |
| C11  | 0.66755 (18) | 0.2897 (4)  | 0.95516 (8)  | 0.0353 (6)                       |
| C12  | 0.66102 (14) | 0.4513 (4)  | 0.88641 (7)  | 0.0258 (5)                       |
| C13  | 0.61725 (13) | 0.4607 (4)  | 0.83976 (7)  | 0.0236 (5)                       |
| C14  | 0.65852 (15) | 0.8117 (4)  | 0.83371 (8)  | 0.0279 (6)                       |
| C15  | 0.74482 (16) | 0.8362 (4)  | 0.83196 (9)  | 0.0352 (6)                       |
| C16  | 0.7698 (2)   | 1.0392 (6)  | 0.8441 (2)   | 0.111 (2)                        |
| H16A | 0.7382       | 1.1313      | 0.8241       | 0.167*                           |
| H16B | 0.8252       | 1.0550      | 0.8427       | 0.167*                           |
| H16C | 0.7626       | 1.0658      | 0.8735       | 0.167*                           |
| C17  | 0.7674 (3)   | 0.7871      | 0.79008 (15) | 0.108 (2)                        |
| H17A | 0.8240       | 0.8512      | 0.7923       | 0.076 (12)*                      |
| H17B | 0.7394       | 0.6327      | 0.7662       | 0.091 (16)*                      |
| H17C | 0.7533       | 0.2912 (4)  | 0.7847       | 1.2 (5)*                         |
| C18  | 0.54879 (15) | 0.4456 (4)  | 0.78186 (8)  | 0.0284 (6)                       |
| C19  | 0.55085 (14) | 0.6282 (4)  | 0.75530 (7)  | 0.0246 (5)                       |
| C20  | 0.58661 (15) | 0.3196 (4)  | 0.77197 (7)  | 0.0274 (6)                       |
| C21  | 0.47213 (15) | 0.3428 (4)  | 0.68782 (7)  | 0.0288 (6)                       |
| C22  | 0.46518 (15) | 0.3338 (5)  | 0.63946 (7)  | 0.0269 (5)                       |
| C23  | 0.31923 (17) | 0.1242 (8)  | 0.62892 (9)  | 0.0425 (8)                       |
| C24  | 0.2791 (2)   | 0.0410      | 0.62727 (12) | 0.0865 (16)                      |
| H24A | 0.2987       | 0.1385      | 0.6064       | 0.130*                           |
| H24B | 0.2222       | 0.0634      | 0.6184       | 0.130*                           |
| H24C | 0.2916       | 0.4995 (7)  | 0.6559       | 0.130*                           |
| C25  | 0.2691 (2)   | 0.6091      | 0.60744 (11) | 0.0711 (13)                      |
| H33  | 0.3031       | 0.4542      | 0.6019       | 0.099 (16)*                      |
| H35  | 0.2388       | 0.5685 (11) | 0.5793       | 0.14 (2)*                        |
| C26  | 0.2159 (3)   | 0.7871      | 0.63361 (17) | 0.116 (2)                        |
| H26A | 0.1898       | 0.4563      | 0.6440       | 0.173*                           |
| H26B | 0.1767       | 0.6545      | 0.6164       | 0.173*                           |
| H26C | 0.2452       | 0.6420      | 0.6583       | 0.173*                           |
| C27  | 0.39033 (16) | 0.2865 (4)  | 0.56878 (7)  | 0.0317 (6)                       |
| C28  | 0.46507 (15) | 0.2956 (4)  | 0.55523 (7)  | 0.0262 (5)                       |
| C29  | 0.53139 (16) | 0.3392 (4)  | 0.58410 (8)  | 0.0280 (5)                       |
| C30  | 0.51624 (15) | 0.2389 (4)  | 0.48870 (8)  | 0.0273 (5)                       |
| C31  | 0.49050 (15) | 0.1891 (4)  | 0.44203 (7)  | 0.0268 (5)                       |
| C32  | 0.41434 (16) | 0.1376 (4)  | 0.42275 (8)  | 0.0291 (6)                       |
| C33  | 0.39524 (17) | 0.0970 (4)  | 0.37910 (8)  | 0.0323 (6)                       |
| C34  | 0.45166 (18) | 0.1070 (4)  | 0.35423 (8)  | 0.0360 (7)                       |
| C35  | 0.52786 (18) | 0.1558 (4)  | 0.37296 (9)  | 0.0370 (6)                       |
| C36  | 0.54745 (17) | 0.1955 (4)  | 0.41667 (8)  | 0.0326 (6)                       |
| H1   | 0.4396 (18)  | 0.079 (5)   | 0.3251 (11)  | 0.046 (8)*                       |
| H2   | 0.5678 (19)  | 0.161 (5)   | 0.3560 (10)  | 0.043 (8)*                       |
| H3   | 0.5808 (16)  | 0.356 (4)   | 0.5761 (8)   | 0.023 (6)*                       |
| H4   | 0.5372 (17)  | 0.547 (5)   | 0.6985 (9)   | 0.033 (8)*                       |
| H5   | 0.5254 (18)  | 0.166 (5)   | 0.7726 (9)   | 0.039 (8)*                       |
| H6   | 0.6504 (15)  | 0.819 (4)   | 0.8627 (9)   | 0.029 (7)*                       |
| H7   | 0.6209 (18)  | 0.913 (5)   | 0.8172 (10)  | 0.043 (8)*                       |
| H8   | 0.3418 (18)  | 0.051 (4)   | 0.3669 (9)   | 0.038 (8)*                       |
| H9   | 0.7259 (18)  | 0.317 (4)   | 0.9559 (9)   | 0.033 (7)*                       |
| H10  | 0.5835 (19)  | 0.397 (4)   | 0.9884 (9)   | 0.040 (8)*                       |
| H11  | 0.6267 (17)  | 0.665 (4)   | 0.9661 (10)  | 0.036 (8)*                       |

# KRISTALLOGRAPHISCHE INFORMATIONEN

|     |              |              |             |              |
|-----|--------------|--------------|-------------|--------------|
| H12 | 0.3689 (17)  | 0.132 (4)    | 0.4386 (9)  | 0.036 (8)*   |
| H13 | 0.600 (2)    | 0.232 (5)    | 0.4293 (10) | 0.053 (9)*   |
| H14 | 0.397 (3)    | 0.934 (7)    | 0.7665 (15) | 0.087 (13)*  |
| H15 | 0.585 (2)    | 0.295 (5)    | 0.9034 (10) | 0.043 (9)*   |
| H16 | 0.6657 (18)  | 0.352 (5)    | 1.0183 (10) | 0.043 (8)*   |
| H17 | 0.6577 (18)  | 0.160 (5)    | 0.9587 (10) | 0.044 (9)*   |
| H18 | 0.773 (2)    | 0.740 (5)    | 0.8533 (12) | 0.062 (10)*  |
| H19 | 0.3336 (17)  | 0.377 (4)    | 0.6587 (10) | 0.040 (8)*   |
| H20 | 0.7595 (15)  | 0.624 (4)    | 0.9707 (9)  | 0.027 (7)*   |
| H21 | 0.7426 (19)  | 0.813 (6)    | 0.9996 (10) | 0.053 (10)*  |
| H22 | 0.766 (2)    | 0.590 (5)    | 1.0214 (12) | 0.063 (10)*  |
| H23 | 0.563 (2)    | 0.673 (5)    | 1.0211 (11) | 0.053 (10)*  |
| H24 | 0.644 (2)    | 0.649 (6)    | 1.0561 (13) | 0.072 (11)*  |
| H25 | 0.629 (2)    | 0.851 (6)    | 1.0268 (12) | 0.066 (12)*  |
| H26 | 0.4091 (19)  | 0.249 (5)    | 0.4992 (10) | 0.040 (8)*   |
| H27 | 0.455 (2)    | 1.050 (7)    | 0.8316 (13) | 0.075 (13)*  |
| H28 | 0.449 (2)    | 0.523 (5)    | 0.8879 (12) | 0.053 (10)*  |
| H29 | 0.388 (2)    | 0.415 (6)    | 0.8197 (13) | 0.066 (12)*  |
| H30 | 0.286 (4)    | 0.647 (9)    | 0.7384 (18) | 0.13 (2)*    |
| H31 | 0.361 (3)    | 0.660 (7)    | 0.7239 (17) | 0.093 (17)*  |
| H32 | 0.345 (3)    | 0.431 (9)    | 0.7421 (18) | 0.12 (2)*    |
| N1  | 0.65319 (12) | 0.6134 (4)   | 0.99188 (6) | 0.0318 (5)   |
| N2  | 0.62674 (14) | 0.3419 (3)   | 0.91205 (6) | 0.0290 (5)   |
| N3  | 0.62237 (12) | 0.6246 (3)   | 0.81564 (6) | 0.0241 (4)   |
| N4  | 0.58176 (12) | 0.3003 (3)   | 0.82489 (6) | 0.0267 (5)   |
| N5  | 0.52153 (13) | 0.4510 (4)   | 0.71095 (6) | 0.0293 (5)   |
| N6  | 0.53092 (12) | 0.3601 (3)   | 0.62707 (6) | 0.0277 (5)   |
| N7  | 0.39363 (12) | 0.3167 (3)   | 0.61257 (6) | 0.0296 (5)   |
| N8  | 0.45798 (13) | 0.2576 (3)   | 0.51145 (6) | 0.0291 (5)   |
| O1  | 0.58451 (11) | 0.8424 (3)   | 0.92515 (6) | 0.0370 (5)   |
| O2  | 0.46137 (13) | 0.8004 (3)   | 0.94856 (6) | 0.0490 (6)   |
| O3  | 0.49000 (11) | 1.1055 (3)   | 0.91521 (6) | 0.0377 (5)   |
| O4  | 0.72486 (11) | 0.5313 (3)   | 0.89770 (5) | 0.0364 (5)   |
| O5  | 0.58701 (12) | 0.7750 (3)   | 0.74975 (5) | 0.0399 (5)   |
| O6  | 0.43994 (12) | 0.1871 (3)   | 0.70313 (6) | 0.0385 (5)   |
| O7  | 0.32829 (11) | 0.2586 (3)   | 0.54332 (6) | 0.0450 (5)   |
| O8  | 0.58495 (11) | 0.2629 (3)   | 0.50526 (6) | 0.0396 (5)   |
| S1  | 0.50114 (4)  | 0.89514 (11) | 0.91834 (2) | 0.03185 (19) |

**Tabelle 27:** Anisotrope Auslenkungsparameter ( $\text{\AA}^2$ ) von **10b**-Tosylat.

|     | $U_{11}$    | $U_{22}$    | $U_{33}$    | $U_{12}$     | $U_{13}$     | $U_{23}$     |
|-----|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| C1  | 0.0267 (13) | 0.0451 (17) | 0.0286 (12) | -0.0039 (12) | 0.0106 (10)  | -0.0018 (12) |
| C2  | 0.0328 (15) | 0.0463 (19) | 0.0472 (17) | 0.0019 (13)  | 0.0107 (12)  | -0.0085 (15) |
| C3  | 0.0412 (18) | 0.052 (2)   | 0.066 (2)   | -0.0026 (16) | 0.0164 (15)  | -0.0243 (19) |
| C4  | 0.0373 (16) | 0.079 (3)   | 0.0427 (17) | 0.0008 (17)  | 0.0092 (13)  | -0.0229 (17) |
| C5  | 0.055 (2)   | 0.085 (3)   | 0.0315 (15) | -0.0039 (12) | 0.0044 (14)  | -0.0037 (19) |
| C6  | 0.060 (2)   | 0.057 (2)   | 0.0304 (14) | -0.0128 (17) | 0.0048 (13)  | 0.0032 (14)  |
| C7  | 0.057 (3)   | 0.125 (5)   | 0.053 (2)   | -0.003 (3)   | 0.0024 (19)  | -0.039 (3)   |
| C8  | 0.0405 (18) | 0.085 (3)   | 0.0258 (14) | 0.0019 (18)  | 0.0084 (12)  | -0.0104 (16) |
| C9  | 0.0305 (14) | 0.0407 (18) | 0.0315 (14) | -0.0059 (12) | 0.0023 (11)  | -0.0023 (12) |
| C10 | 0.0398 (16) | 0.054 (2)   | 0.0216 (12) | -0.0155 (14) | 0.0026 (11)  | 0.0079 (12)  |
| C11 | 0.0461 (17) | 0.0287 (16) | 0.0264 (12) | -0.0088 (13) | -0.0040 (11) | 0.0069 (11)  |
| C12 | 0.0283 (13) | 0.0244 (13) | 0.0237 (11) | -0.0006 (10) | 0.0025 (9)   | 0.0000 (10)  |
| C13 | 0.0239 (11) | 0.0267 (13) | 0.0205 (11) | 0.0013 (10)  | 0.0052 (9)   | -0.0007 (9)  |
| C14 | 0.0353 (14) | 0.0227 (13) | 0.0245 (12) | -0.0017 (11) | 0.0027 (10)  | -0.0025 (10) |
| C15 | 0.0357 (14) | 0.0332 (16) | 0.0361 (14) | -0.0069 (12) | 0.0057 (11)  | -0.0007 (12) |
| C16 | 0.037 (2)   | 0.056 (3)   | 0.234 (7)   | -0.0116 (19) | 0.010 (3)    | -0.062 (3)   |
| C17 | 0.064 (3)   | 0.207 (7)   | 0.061 (3)   | -0.060 (4)   | 0.031 (2)    | -0.029 (3)   |
| C18 | 0.0317 (13) | 0.0278 (15) | 0.0235 (11) | -0.0033 (11) | 0.0003 (10)  | -0.0025 (10) |
| C19 | 0.0260 (12) | 0.0275 (13) | 0.0201 (10) | -0.0007 (10) | 0.0044 (9)   | -0.0020 (10) |
| C20 | 0.0315 (13) | 0.0299 (15) | 0.0208 (11) | -0.0018 (11) | 0.0052 (9)   | 0.0006 (10)  |

# KRISTALLOGRAPHISCHE INFORMATIONEN

|     |             |             |             |              |             |              |
|-----|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| C21 | 0.0330 (13) | 0.0298 (14) | 0.0228 (11) | -0.0009 (11) | 0.0034 (10) | -0.0016 (10) |
| C22 | 0.0340 (14) | 0.0212 (13) | 0.0234 (11) | -0.0003 (10) | 0.0002 (10) | -0.0019 (9)  |
| C23 | 0.0329 (14) | 0.071 (2)   | 0.0234 (12) | -0.0103 (14) | 0.0057 (11) | -0.0022 (13) |
| C24 | 0.055 (2)   | 0.161 (5)   | 0.051 (2)   | -0.041 (3)   | 0.0275 (17) | -0.022 (2)   |
| C25 | 0.0433 (19) | 0.126 (4)   | 0.0468 (19) | 0.029 (2)    | 0.0169 (16) | 0.019 (2)    |
| C26 | 0.088 (4)   | 0.176 (6)   | 0.081 (3)   | 0.034 (4)    | 0.013 (3)   | 0.001 (4)    |
| C27 | 0.0376 (14) | 0.0339 (15) | 0.0222 (11) | -0.0063 (12) | 0.0026 (10) | -0.0015 (10) |
| C28 | 0.0332 (13) | 0.0235 (13) | 0.0211 (11) | -0.0009 (10) | 0.0037 (9)  | -0.0010 (9)  |
| C29 | 0.0334 (14) | 0.0257 (14) | 0.0243 (11) | 0.0004 (11)  | 0.0040 (10) | -0.0004 (10) |
| C30 | 0.0320 (13) | 0.0215 (13) | 0.0274 (12) | 0.0003 (10)  | 0.0037 (10) | 0.0021 (10)  |
| C31 | 0.0358 (13) | 0.0214 (13) | 0.0233 (11) | 0.0029 (10)  | 0.0066 (10) | 0.0041 (10)  |
| C32 | 0.0337 (14) | 0.0265 (14) | 0.0277 (12) | 0.0036 (11)  | 0.0071 (10) | 0.0016 (10)  |
| C33 | 0.0394 (15) | 0.0271 (14) | 0.0285 (12) | 0.0046 (12)  | 0.0021 (11) | 0.0021 (11)  |
| C34 | 0.0576 (18) | 0.0270 (15) | 0.0224 (12) | 0.0088 (13)  | 0.0058 (12) | 0.0024 (11)  |
| C35 | 0.0476 (17) | 0.0363 (16) | 0.0306 (13) | 0.0059 (13)  | 0.0163 (12) | 0.0063 (12)  |
| C36 | 0.0361 (15) | 0.0318 (15) | 0.0307 (13) | 0.0035 (12)  | 0.0082 (11) | 0.0040 (11)  |
| N1  | 0.0272 (11) | 0.0468 (15) | 0.0204 (10) | 0.0010 (10)  | 0.0019 (8)  | 0.0013 (9)   |
| N2  | 0.0332 (12) | 0.0298 (12) | 0.0216 (10) | -0.0068 (10) | -0.0006 (9) | 0.0023 (9)   |
| N3  | 0.0272 (10) | 0.0243 (11) | 0.0207 (9)  | -0.0024 (9)  | 0.0050 (8)  | -0.0015 (8)  |
| N4  | 0.0327 (11) | 0.0253 (12) | 0.0212 (9)  | -0.0020 (9)  | 0.0028 (8)  | 0.0013 (8)   |
| N5  | 0.0365 (12) | 0.0298 (13) | 0.0206 (10) | -0.0048 (10) | 0.0031 (8)  | 0.0013 (9)   |
| N6  | 0.0336 (12) | 0.0246 (12) | 0.0231 (10) | -0.0011 (9)  | 0.0014 (8)  | -0.0009 (8)  |
| N7  | 0.0341 (11) | 0.0358 (13) | 0.0185 (9)  | -0.0044 (10) | 0.0040 (8)  | -0.0016 (9)  |
| N8  | 0.0290 (11) | 0.0359 (13) | 0.0215 (9)  | -0.0035 (10) | 0.0028 (8)  | -0.0030 (9)  |
| O1  | 0.0331 (10) | 0.0472 (12) | 0.0298 (9)  | 0.0002 (9)   | 0.0037 (7)  | 0.0057 (8)   |
| O2  | 0.0549 (13) | 0.0646 (15) | 0.0314 (10) | -0.0209 (11) | 0.0176 (9)  | 0.0038 (10)  |
| O3  | 0.0371 (11) | 0.0409 (12) | 0.0364 (10) | -0.0024 (9)  | 0.0104 (8)  | -0.0030 (8)  |
| O4  | 0.0339 (10) | 0.0434 (12) | 0.0285 (9)  | -0.0095 (9)  | -0.0022 (7) | 0.0054 (8)   |
| O5  | 0.0621 (13) | 0.0312 (11) | 0.0228 (8)  | -0.0118 (9)  | -0.0002 (8) | 0.0057 (8)   |
| O6  | 0.0487 (12) | 0.0373 (12) | 0.0265 (9)  | -0.0135 (9)  | 0.0005 (8)  | 0.0015 (8)   |
| O7  | 0.0339 (10) | 0.0748 (16) | 0.0243 (9)  | -0.0137 (10) | 0.0004 (8)  | -0.0082 (9)  |
| O8  | 0.0322 (10) | 0.0541 (13) | 0.0309 (9)  | -0.0009 (9)  | 0.0020 (7)  | -0.0038 (9)  |
| S1  | 0.0331 (4)  | 0.0404 (4)  | 0.0233 (3)  | -0.0058 (3)  | 0.0086 (2)  | 0.0025 (3)   |

## Abkürzungsverzeichnis

(-)-EGCG: (-)-Epigallocatechingallat

17-AAG: 17-*N*-Allylamino-17-demethoxygeldanamycin

17-DMAG: 17-Dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin

2HP $\beta$ CD: 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin

### A

AAV: Allgemeine Arbeitsvorschrift

ABL1: *Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*

Ac<sub>2</sub>O: Essigsäureanhydrid

AcOH: Essigsäure

ADD: 1,1'-(Azodicarbonyl)-dipiperidin

ADP: Adenosindiphosphat

ALL: Akute lymphatische Leukämie

AML: Akuten myeloische Leukämie

AMP: Adenosinmonophosphat

AP: Akzelerierte Phase

äq.: Äquivalente

Arg: Arginin

AS: Aminosäure

Asp: Asparaginsäure

ATP: Adenosintriphosphat

AUC: *Area under the curve*

AX: Aminoxyron

### B

Bak: *BCL2 Antagonist/Killer 1*

Bcl-x<sub>L</sub>: *B-cell lymphoma extra-large*

BCR: *Break point cluster region*

Bim: *Bcl2-interacting mediator of cell death*

BK: Blastenkrise

Bn: Benzyl

Boc: *tert*-Butoxycarbonyl

BRET: Biolumineszenz-Resonanzenergietransfer

Bu: Butyl

Bz: Benzoyl

### C

Cam: Calmodulin

CDC37: *Cell division cycle 37*

Cdc42: *Cell division cycle 42*

CeTsA: *cellular thermal shift assay*

CHIP: *C-terminus of Hsc70-interacting protein*

CK2: *Casein kinase 2*

CLL: Chronische lymphatische Leukämie

cLogP: Kalkulierter Oktanol-Wasser-Koeffizient

CML: Chronische myeloische Leukämie

COMU<sup>®</sup>: (1-Cyano-2-ethoxy-2-

oxoethylidenaminoxy)dimethylamino-

morpholino-carbenium-hexafluorophosphat

CP: chronische Phase

cpKs: Kalkulierte logarithmierte Säurekonstante

CTD: C-terminale Domäne

Cy: Cyclohexyl

### D

$\delta$ : Chemische Verschiebung

d: Dublett

DABCO: 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan

DBAD: Di-*tert*-butyl azodicarboxylat

DBnAD: Dibenzylazodicarboxylat

Dbs: *Dbl's big sister*

DBU: 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en

DC: Dünnschichtchromatographie

dd: Dublett eines Dubletts

DEAD: Diethylazodicarboxylat

DEPP: Diethylphenylphosphin

DIAD: Diisopropylazodicarboxylat

DIBAL: Di-*iso*-butylaluminiumhydrid

DIPEA: Di-*iso*-propylethylamin

DMA: Dimethylacetamid

DMAE: Dimethylaminoethyl

DMAP: 4-(Dimethylamino)-pyridin

DME: 1,2-Dimethoxyethan

DMF: Dimethylformamid

DMSO: Dimethylsulfoxid

DNA: *Deoxyribonucleic acid*

DPEP: Ethyldiphenylphosphine

dpf: *days post fertilization*

dt: Dublett eines Triplets

### E

e.e.: *Enantiomeric excess*

EDC:

1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid

ELN: *European Leukemia Net*

ESI-MS:

*Elektrospray-Ionisation-Massenspektrometrie*

*et al.: et alii*

Et<sub>2</sub>O: Diethylether

Et<sub>3</sub>N: Triethylamin

EtOH: Ethanol

## F

FACS: *fluorescence-activated cell sorting*

FDA: *Food and Drug Administration*

Fe(Pc): Eisen(II)-phthalcyanin

FGA: *Functional group addition*

FGI: *Functional group interconversion*

## G

GHL: *Gyrase, Hsp90, histidine kinase, MutL*

GIST: *Gastrointestinal stromal tumor*

Glu: Glutaminsäure

Gly: Glycin

GRP94: *Glucose-regulated protein 94*

## H

HATU: *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*- tetramethyluronium-hexafluorophosphat

HCl: Hydrogenchlorid

HER: *Human epidermal growth factor receptor*

HIF-1 $\alpha$ : *Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$*

His: Histidin

HOP: *Hsp70-Hsp90 organizing protein*

HPLC: *High performance liquid chromatography*

HRMS: *High resolution mass spectrometry*

HSF1: *Heat shock factor 1*

Hsp90: Hitzeschockprotein 90

Hsp90i: Hitzeschockprotein 90-Inhibitor

HSQC: *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

HSR: *Heat shock response*

h $\nu$ : Licht einer bestimmten Wellenlänge

## I

IC<sub>50</sub>: Konzentration, bei der 50 % Inhibition/Zellviabilität vorliegt

ICR: *Institute of Cancer Research*

Ile: Isoleucin

## J

JAK-STAT: *Janus kinase-signal transducer and activator of transcription*

## K

kat.: Katalytische Menge

## L

Leu: Leucin

Lys: Lysin

## M

MAPK: *Mitogen-activated protein*

mCit: *mCitrine*

Mcl-1: *Myeloid cell leukemia 1*

MD: *Middle domain*

MDM2: *Murine double minute 2 homolog*

Me: Methyl

MeOH: Methanol

Met: Methionin

MgCl<sub>2</sub>: Magnesium(II)chlorid

MLS: *Multiangle light scattering*

mRNA: *Messenger ribonucleic acid*

MW: Mikrowellenreaktor

## N

N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O: Hydrazin Monohydrat

NL: NanoLuc™

NMR: *Nuclear magnetic resonance*

NOESY:

*Nuclear Overhauser and Exchange Spectroscopy*

NSCLC: *Non-small-cell lung carcinoma*

NTD: N-terminale Domäne

## O

Oxyma: Hydroxyiminocyanessigsäureethylester

## P

PA: *Protein tag A*

Pd(C): Palladium auf Aktivkohle

PDE: 3',5'-Cyclonukleotid-Phosphodiesterase

PEG400: Polyethylenglykol 400

pERK: *Protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase*

Phe: Phenylalanin

pKs: Logarithmierte Säurekonstante

PP5: *Ser/Thr protein phosphatase 5*

PPh<sub>3</sub> und TPP: Triphenylphosphin

PPi: *Inorganic pyrophosphate*

PPI: Protein-Protein-Interaktionen

ppm: *Parts per million*

PyBOP: Benzotriazol-1-yl-

oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat

## R

Raf-1: *Rapidly accelerated fibrosarcoma 1*

RET: *Rearranged during transfection*

ROESY: *Rotating Frame Overhauser Enhancement Spectroscopy*

RT: Raumtemperatur

## S

s: Singulett

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

San A: Sansalvamid A

SAR: *Structure-activity relationship*

Ser: Serin

smFRET:

*Single molecule fluorescence resonance energy transfer*

smMLCK: *Smooth muscle myosin light-chain kinase*

### **T**

t: Triplett

TBP: Tri-*n*-butylphosphin

TCP: Tricyclohexylphosphine

TEOF: Triethylorthoformiat

Tf<sub>2</sub>O: Trifluormethansulfonsäureanhydrid

TFA: Trifluoressigsäure

THF: Tetrahydrofuran

Thr: Threonin

TKI: Tyrosinkinase-Inhibitoren

TMSI: Trimethylsilyliodid

TOP: Tri-*n*-octylphosphin

TPPO: Triphenylphosphinoxid

TRAP-1: *Tumor necrosis factor associated protein 1*

TPR: *Tetrapeptide-containing repeat*

Trp: Tryptophan

TSA: *thermal shift assay*

Tyr: Tyrosin

### **U**

UBX: *Ubiquitin regulatory X*

### **V**

Val: Valin

VCP: *Valosin-containing protein*

### **W**

WHO: *World Health Organization*

### **Z**

ZnCl<sub>2</sub>: Zink(II)chlorid

## Abbildungsverzeichnis

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Abbildung 1:</b> Progression der CML (abgewandelt von CLARKE et al. <sup>4</sup> ; WHO und ELN geben keine Blastenzahl für die CP an. <sup>18</sup> ). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 2  |
| <b>Abbildung 2:</b> SAR-basierte Optimierung der Lead Verbindung führte zum ersten zugelassenen TKI-Inhibitor zur Behandlung der CML (A). Interaktionen von Imatinib in der ATP-Bindestelle von ABL (B; angepasst nach REDDY et al. <sup>21</sup> ; PDB ID 2HYY). .....                                                                                                                                                                                                              | 3  |
| <b>Abbildung 3:</b> Anti-CML TKI der zweiten und dritten Generation Nilotinib, Dasatinib und Ponatinib. Cokristallstruktur von Ponatinib und der ABL-Kinase (A; adaptiert von REDDY et al. <sup>21</sup> ; PDB ID 3OXZ). .....                                                                                                                                                                                                                                                       | 5  |
| <b>Abbildung 4:</b> Aufbau von Hsp90 und konformative Veränderung induziert durch die Bindung von ATP (modifiziert nach RATAJCZAK et al. <sup>50</sup> ). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 7  |
| <b>Abbildung 5:</b> Schematische Darstellung der Aktivierung einer Kinase durch einen Hsp90-Cochaperon-Komplex (modifiziert nach SCHOPF et al. <sup>58</sup> ). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 8  |
| <b>Abbildung 6:</b> Die sechs hallmarks of cancer und die damit assoziierten Klienten von Hsp90 (modifiziert nach HANAHAHN et al. <sup>59</sup> und GARG et al. <sup>64</sup> ). .....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 9  |
| <b>Abbildung 7:</b> Beispiele für Ansamycin-basierte Hsp90i der NTD. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 10 |
| <b>Abbildung 8:</b> Resorcin-basierte Hsp90i der NTD. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 12 |
| <b>Abbildung 9:</b> Ausgewählte Purin- und purinartige Hsp90i. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 14 |
| <b>Abbildung 10:</b> Schematische Darstellung des HSR (modifiziert nach SCHOPF et al. <sup>58</sup> ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 15 |
| <b>Abbildung 11:</b> Coumermycin A1, Novobiocin und drei Novologues mit ihren jeweiligen Aktivitäten gegenüber der Brustkrebszelllinie SkBr3. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 16 |
| <b>Abbildung 12:</b> Struktur von (-)-EGCG (A), (-)-EGCG -Analoga mit den Entsprechenden IC <sub>50</sub> -Werten gegen die Brustkrebszelllinie MCF-7-nach KHANDELWAL et al. (B) und (-)-EGCG-Analoga mit entsprechenden IC <sub>50</sub> -Werten im Luciferase-Renaturierungs-Assay (LR)-nach BHAT et al. (C). ....                                                                                                                                                                 | 18 |
| <b>Abbildung 13:</b> Übersicht der Sansalvamid A-Amide. San A <sup>128</sup> , San A-Amid <sup>129</sup> und SM253 <sup>131</sup> mit entsprechenden IC <sub>50</sub> Aktivitäten gegen die HCT-116-Zelllinie, 5.1 CYC <sup>132</sup> und LB76 <sup>133,134</sup> mit dem IC <sub>50</sub> für die Inhibition der Hsp90-Cyp40 Interaktion und Kawakamis TPR-Peptid <sup>135</sup> nach HORIBE et al. Dabei sind die AS blau dargestellt, die für die Aktivität essenziell sind. .... | 19 |
| <b>Abbildung 14:</b> Entwicklung von Aminoxylon (AX). Identifizierung der hot spot AS-Seitenketten in der CTD von Hsp90 <sup>138</sup> (A). First in class Peptid-Inhibitoren der C-terminalen Dimerisierung <sup>139</sup> (B). Struktur von AX: der first in class peptidomimetische Inhibitor der C-terminalen Dimerisierung von Hsp90 <sup>115</sup> (C). ....                                                                                                                   | 21 |
| <b>Abbildung 15:</b> Bändermodell der E3 Ligase MDM2 (A; nach VERMA et al. <sup>149</sup> ). Oberflächendarstellung von MDM2: Die Hydrophobe Furche wird durch Helix 2, Helix 4 und eine Loop-Region gebildet (B; nach VERMA et al. <sup>149</sup> ). Die hot spot Triade von p53 (rot):                                                                                                                                                                                             |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Leu26, Trp23 und Phe19 binden in der hydrophoben Furche von MDM2 (C; grau; nach HUART et al. <sup>150</sup> ).....                                                                                                                                                                                                                                                                          | 22 |
| <b>Abbildung 16:</b> Ausgewählte mechanistische Peptidomimetika als Inhibitoren der p53/MDM2-Interaktion: Siremadlin, Miladematan und AMG232. <sup>165</sup> .....                                                                                                                                                                                                                          | 24 |
| <b>Abbildung 17:</b> Seitenkettenanordnung einer $\alpha$ -Helix: Seitenansicht mit den Seitenketten i, i+3, i+4, i+7 und i+11 auf einer Seite der Helix (A); Ansicht von oben (B); Helixrad-Plot (C). <sup>178</sup> .....                                                                                                                                                                 | 26 |
| <b>Abbildung 18:</b> Ausgewählte Vertreter sterisch gesteuerter Helixmimetika: <b>1</b> Terphenyl-Gerüst; <b>2</b> 5-6-5-Imidazol-Phenyl-Thiazol; <b>3</b> Oxazol-Pyridazin-Piperazin; <b>4</b> Pyrrolopyrimidin; $\alpha$ -Helix mit den Seitenkettenpositionen i-1 bis i+8 (A; nach JAYATUNGA et al. <sup>178</sup> ).....                                                                | 27 |
| <b>Abbildung 19:</b> Ausgewählte Vertreter kovalent eingeschränkter Helixmimetika: <b>5</b> 1,6-disubstituiertes Indan; <b>6</b> (S)-konfiguriertes trisubstituiertes Indan; <b>7</b> substituiertes Acridin; <b>8</b> funktionalisiertes Spiroligomer. ....                                                                                                                                | 28 |
| <b>Abbildung 20:</b> Ausgewählte Vertreter Wasserstoffbrücken-gesteuerter Helixmimetika: <b>9</b> Diphenylacetylen; <b>10</b> Oligobenzamid; <b>11</b> Tripyridylamid; <b>12a</b> Tripyrimidonamid (LSK82). ....                                                                                                                                                                            | 31 |
| <b>Abbildung 21:</b> Strategien zur Verbesserung der Löslichkeit von <b>12a</b> (LSK82). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 33 |
| <b>Abbildung 22:</b> Scaffold Hopping ausgehend vom Tripyrimidonamid <b>12a</b> zum Bipyrimidonamid- und Bipyrimidinamid-Strukturtyp. ....                                                                                                                                                                                                                                                  | 34 |
| <b>Abbildung 23:</b> Darstellung des Workflows der kooperierenden Arbeitsgruppen zur biologischen Untersuchung neuer $\alpha$ -Helixmimetika.....                                                                                                                                                                                                                                           | 34 |
| <b>Abbildung 24:</b> Superposition der <sup>1</sup> H-NMR-Spektren von <b>13</b> (A) und <b>14</b> (B) in DMSO-d <sub>6</sub> . ....                                                                                                                                                                                                                                                        | 40 |
| <b>Abbildung 25:</b> Ausschnitte des HSQC-Spektrums von <b>14</b> in DMSO-d <sub>6</sub> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 41 |
| <b>Abbildung 26:</b> Ausschnitte der ROESY-Spektren von <b>10b</b> in DMSO-d <sub>6</sub> (A) und CDCl <sub>3</sub> (B). ....                                                                                                                                                                                                                                                               | 42 |
| <b>Abbildung 27:</b> Kristallstruktur von <b>10b</b> -Tosylat mit inter- und intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen. Das Bipyrimidonamid-Tosylat kristallisiert in der monoklinen Raumgruppe P2(1)/n.....                                                                                                                                                                             | 43 |
| <b>Abbildung 28:</b> Varianten der MITSUNOBU-Reaktion.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 47 |
| <b>Abbildung 29:</b> Auswahl von Wirkstoffen mit dem Alkoxyipyrimidin-Motiv (blau).....                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 49 |
| <b>Abbildung 30:</b> Synthese von <b>18a-OP</b> und <b>18a-NP</b> : a) 1,30 äq. Phosphin, 1,30 äq. Azo-Reagenz, 1,30 äq. iso-Butanol, Lösungsmittel, 0,25 M, 0 °C-RT, 24 h, 0,5 mmol Maßstab. Chemische Verschiebung der Protonen von 18a-OP und 18a-NP in CDCl <sub>3</sub> sowie verwendetet Phosphine und Azo-Reagenzien. cpKs von <b>17</b> kalkuliert mit MarvinSketch (ChemAxon)..... | 50 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Abbildung 31:</b> Kalibriergerade von <b>18a-OP</b> und <b>18a-NP</b> ; Auftragung der AUC gegen fünf Konzentrationen. ....                                                                                                                                                           | 50 |
| <b>Abbildung 32:</b> Umsatz von <b>17</b> in Abhängigkeit vom verwendeten Lösungsmittel. Berechnet nach: $[\text{Produktfläche}]/([\text{Produktfläche}]+[\text{Eduktfläche}])$ . Triphenylphosphin und DIAD wurden als Reagenzien eingesetzt. ....                                      | 51 |
| <b>Abbildung 33:</b> Anteile von <b>18a-OP</b> und <b>18a-NP</b> in Prozent in Abhängigkeit des verwendeten Lösungsmittels. Triphenylphosphin und DIAD wurden als Reagenzien eingesetzt. ....                                                                                            | 52 |
| <b>Abbildung 34:</b> Reaktionsumsatz in Abhängigkeit vom eingesetzten Phosphin (A) und Anteile von N- und O-alkylierter Produkte (B). DIAD als Azo-Reagenz und THF als Lösungsmittel wurden bei dieser Untersuchung verwendet. ....                                                      | 53 |
| <b>Abbildung 35:</b> Reaktionsumsatz in Abhängigkeit vom eingesetzten Azo-Reagenz (A) und Anteile von N- und O-alkylierter Produkte (B). PPh <sub>3</sub> als Phosphin und THF als Lösungsmittel wurden bei dieser Untersuchung verwendet. ....                                          | 53 |
| <b>Abbildung 36:</b> Auswahl von Wirkstoffen mit einem Aminopyrimidin-Motiv (blau). ....                                                                                                                                                                                                 | 63 |
| <b>Abbildung 37:</b> Bearbeitetes <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) der Verbindung <b>31b</b> . ....                                                                                                                                                             | 74 |
| <b>Abbildung 38:</b> Untersuchung des Einflusses von D <sub>2</sub> O auf die Signalhöhe der Amidprotonen des Bipyrimidinamids <b>31b</b> ( <sup>1</sup> H-NMR, 300 MHz, <b>31b</b> in DMSO-d <sub>6</sub> und <b>31b</b> in DMSO-d <sub>6</sub> nach Zugabe von D <sub>2</sub> O). .... | 75 |
| <b>Abbildung 39:</b> Kristallstruktur des Inhibitors IDD594 im Komplex mit der humanen Aldoreduktase (PDB ID 1US0). Der Brom-Substituent bildet eine Halogenbindung zum Sauerstoff von Thr113 aus. (abgewandelt nach PARISINI et al. <sup>272</sup> ). ....                              | 79 |
| <b>Abbildung 40:</b> Ausschnitte der NOESY-Spektren von <b>31b</b> in DMSO-d <sub>6</sub> (A, C) und CDCl <sub>3</sub> (B, D); gestaffelte Konformation (A, B) und ekliptische Konformation (C, D). ....                                                                                 | 81 |
| <b>Abbildung 41:</b> <sup>1</sup> H-NMR-Titration zur qualitativen Differenzierung der intramolekularen Wasserstoffbrücken von <b>31b</b> . ....                                                                                                                                         | 83 |
| <b>Abbildung 42:</b> Superposition der <sup>1</sup> H-NMR-Spektren von <b>31b</b> bei DMSO-d <sub>6</sub> -Konzentrationen zwischen 0,5% und 20%. Die Protonensignale sind farblich gekennzeichnet und korrespondieren mit der Kennzeichnung der Wasserstoffatome von <b>31b</b> . ....  | 83 |
| <b>Abbildung 43:</b> Auftragung der chemischen Verschiebung einzelner Protonensignale von <b>31b</b> gegen die DMSO-d <sub>6</sub> -Konzentration. Die chemische Verschiebung der Pyrimidinprotonen wird gemeinsam dargestellt. ....                                                     | 84 |
| <b>Abbildung 44:</b> Auftragung der chemischen Verschiebung der Pyrimidinprotonen von Ring A und Ring B gegen die DMSO-d <sub>6</sub> -Konzentration. ....                                                                                                                               | 85 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Abbildung 45:</b> <i>Heatmap</i> der Zellviabilität von 37 Leukämiezelllinien nach Inkubation mit <b>12a</b> und <b>13</b> bei drei Konzentrationen (A). Western Blot der K562r-Zelllinie nach Inkubation mit Novobiocin, <b>12a</b> , <b>13</b> und AUY922 (B). Auftragung der Caspase-3/7 Aktivität gegen die eingesetzten Inhibitorkonzentrationen (C).....                                                                                                                                                                              | 87  |
| <b>Abbildung 46:</b> Mögliche Bindungsmodi von <b>13</b> (A) und <b>31b</b> (B) an der C-terminalen Dimerisierungsdomäne von Hsp90 $\alpha$ . Die abgebildeten Helices H3-H5 bilden das Hauptdimerisierungs-Interface von Hsp90. <sup>138</sup> (Die Abbildungen wurden von DAVID BICKEL aus der Arbeitsgruppe GOHLKE erstellt).....                                                                                                                                                                                                           | 93  |
| <b>Abbildung 49:</b> Darstellung des BRET-Mechanismus bei Protein-Protein-Interaktionen zwischen zwei Fusionsproteinen in vitro (A, abgewandelt von TAIPALE et al. <sup>281</sup> ). Strukturformeln von <b>10b</b> und <b>13</b> (B). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 97  |
| <b>Abbildung 50:</b> cBRET zur Untersuchung der Hsp90-Dimerisierung: cBRET-Signale für verschiedene Kombinationen von Hsp90-NL und Hsp90-PA-mCit Hybridproteinen in vitro (A). Konzentrationsabhängige Abnahme des cBRET Verhältnisses in transfizierten HEK293-Zellen nach Inkubation mit <b>13</b> (B) und <b>10b</b> (C).....                                                                                                                                                                                                               | 97  |
| <b>Abbildung 51:</b> Die Renaturierung von Luciferase wird durch die synthetisierten $\alpha$ -Helixmimetika <b>12a</b> , <b>13</b> , <b>10b</b> und <b>31b</b> (A) und N-terminale Hsp90i inhibiert. Die wiederhergestellte Luciferase Aktivität kann photometrisch bestimmt werden (B). ....                                                                                                                                                                                                                                                 | 98  |
| <b>Abbildung 52:</b> TSA für die CTD von Hsp90 nach Inkubation mit den $\alpha$ -Helixmimetika <b>10b</b> , <b>12a</b> und <b>13</b> (A). CeTsA für Hsp90 im Zelllysate von K562-Zellen nach Inkubation mit <b>12a</b> und <b>13</b> (B) sowie <b>10b</b> und CA1 (C). $T_m$ wird als Schmelzpunkt der Proteine bezeichnet und stellt die Wendestelle einer Kurve dar. ....                                                                                                                                                                    | 100 |
| <b>Abbildung 53:</b> In vivo Untersuchung des Einflusses von <b>13</b> und AUY922 auf transplantierte Molt4-Zellen in Zebrafisch-Embryos. Strukturformeln von AUY922 und <b>13</b> (A). Verhältnis transplanterter Molt4-Zellen in mit <b>13</b> und AUY922 behandelten Zebrafisch-Embryos zum Mittelwert der DMSO-Kontrolle (B; 3 dpf; ein biologisches Replikat ist als schwarzer Punkt dargestellt und entspricht drei Embryos. Die Abbildung wurde von NARGESSADAT AGHAALLAEI aus der Arbeitsgruppe BAJOGHLI zur Verfügung gestellt.)..... | 101 |
| <b>Abbildung 54:</b> Die Tripyrimidonamide <b>12c</b> und <b>13</b> weisen eine verbesserte Löslichkeit und antileukämische in vitro Aktivität gegenüber der K562-Zelllinie auf, als die Leitstruktur <b>12a</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 103 |
| <b>Abbildung 55:</b> Struktur-Aktivitäts-Beziehung der untersuchten $\alpha$ -Helixmimetika-Strukturtypen. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 105 |
| <b>Abbildung 56:</b> Erhöhung der antileukämischen Aktivität gegenüber der Zelllinie K562 durch Scaffold Hopping und Variation der Seitenketten ausgehend von der Leitstruktur <b>12a</b> .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 106 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Abbildung 57:</b> Nummerierung der Atome von <b>10b</b> -Tosylat. Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK. ....                      | 229 |
| <b>Abbildung 58:</b> Wasserstoffbrückenbindungen von <b>10b</b> -Tosylat. Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK. ....                 | 229 |
| <b>Abbildung 59:</b> $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen von <b>10b</b> -Tosylat (Ansicht 1). Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK. .... | 230 |
| <b>Abbildung 60:</b> $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen von <b>10b</b> -Tosylat (Ansicht 2). Die Kristallstrukturmessung, Auswertung der Daten und Bereitstellung der Abbildungen erfolgte durch FLORIAN MORSBACH und GUIDO J. REISS aus der Arbeitsgruppe FRANK. .... | 230 |

## Tabellenverzeichnis

|                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabelle 1:</b> Klassifizierung von Peptidokimetika nach GROSSMANN et al. <sup>169</sup> .....                                                                                                                                     | 24 |
| <b>Tabelle 2:</b> Reaktionsansätze für die katalytische Hydrierung der Benzylgruppe zur Darstellung von <b>14</b> ausgehend von <b>12b</b> . ....                                                                                    | 39 |
| <b>Tabelle 3:</b> Übersicht der Derivate <b>18a-o</b> mit den entsprechenden Resten und Ausbeuten. ....                                                                                                                              | 54 |
| <b>Tabelle 4:</b> Methoden zur Abtrennung von TPPO. ....                                                                                                                                                                             | 56 |
| <b>Tabelle 5:</b> Bedingungen für die Umsetzung von <b>17</b> zur Einführung einer Abgangsgruppe in 4-Position. ....                                                                                                                 | 59 |
| <b>Tabelle 6:</b> Übersicht der Seitenketten von <b>24a-e</b> mit den entsprechenden Ausbeuten. ....                                                                                                                                 | 60 |
| <b>Tabelle 7:</b> Reaktionsbedingungen für die Umsetzung von <b>23a</b> zu Diarylethern .....                                                                                                                                        | 61 |
| <b>Tabelle 8:</b> Reaktionsbedingungen für die Umsetzung von <b>23a</b> zu <b>18e</b> . ....                                                                                                                                         | 62 |
| <b>Tabelle 9:</b> Optimierung der Synthese von <b>25a</b> ausgehend von <b>23a</b> . Folgende Reaktionsbedingungen wurden dabei eingesetzt: 1.10 äq. 2-Aminobutan, 2.00 äq. Base, Lösungsmittel, MW: 150 W, Temperatur, 20 min. .... | 64 |
| <b>Tabelle 10:</b> Übersicht der Substituenten der Verbindungen <b>25a-f</b> mit den entsprechenden Ausbeuten. ....                                                                                                                  | 65 |
| <b>Tabelle 11:</b> Auflistung der Substituenten der Pyrimidine <b>26a-p</b> mit den Ausbeuten. ....                                                                                                                                  | 66 |
| <b>Tabelle 12:</b> Übersicht der Verbindungen <b>27a-h</b> mit den entsprechenden Substituenten und Ausbeuten. ....                                                                                                                  | 68 |
| <b>Tabelle 13:</b> Reaktionsbedingungen zur Darstellung von <b>28a</b> . ....                                                                                                                                                        | 69 |
| <b>Tabelle 14:</b> Übersicht der Verbindungen <b>28a-g</b> mit den entsprechenden Substituenten und Ausbeuten. ....                                                                                                                  | 70 |

|                                                                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabelle 15:</b> Übersicht der Verbindungen <b>30a-c</b> mit den entsprechenden Substituenten und Ausbeuten.....                                                                                                 | 71  |
| <b>Tabelle 16:</b> Optimierung der Synthese von <b>31a</b> ausgehend von <b>26b</b> und <b>28a</b> .....                                                                                                           | 72  |
| <b>Tabelle 17:</b> Übersicht der Substituenten der Verbindungen <b>31a-r</b> mit den entsprechenden Ausbeuten. Die Reaktionsbedingungen sind unter Schema 25 aufgeführt. ....                                      | 73  |
| <b>Tabelle 18:</b> Übersicht der Substituenten der Verbindungen <b>34a-d</b> mit den entsprechenden Ausbeuten.....                                                                                                 | 77  |
| <b>Tabelle 19:</b> IC <sub>50</sub> -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den Tripyrimidonamiden <b>12a</b> und <b>13</b> sowie den N-terminalen Hsp90i 17-AAG und PU-H71.86                   |     |
| <b>Tabelle 20:</b> IC <sub>50</sub> -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Bipyrimidonamiden.....                                                                              | 89  |
| <b>Tabelle 21:</b> IC <sub>50</sub> -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Bipyrimidinamiden.....                                                                              | 89  |
| <b>Tabelle 22:</b> IC <sub>50</sub> -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Triazolopyrimidin-Pyrimidinamiden.....                                                              | 91  |
| <b>Tabelle 23:</b> IC <sub>50</sub> -Werte für die Leukämiezelllinie K562 nach Inkubation mit den aufgeführten Pyrimidin-Pyrimidonamiden. Die zentrale Amidbindung zwischen Ring A und B ist blau dargestellt..... | 92  |
| <b>Tabelle 24:</b> Löslichkeitsuntersuchung von <b>13</b> und <b>31b</b> in verschiedenen Vehikeln. L: gelöst; NL: nicht gelöst; S: suspendiert. ....                                                              | 94  |
| <b>Tabelle 27:</b> Gradient-Verlaufstabelle für die Analyse mittels HPLC. ....                                                                                                                                     | 108 |
| <b>Tabelle 28:</b> Atomkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter (Å <sup>2</sup> ) von <b>10b</b> -Tosylat. ....                                                                                               | 231 |
| <b>Tabelle 29:</b> Anisotrope Auslenkungsparameter (Å <sup>2</sup> ) von <b>10b</b> -Tosylat. ....                                                                                                                 | 232 |

## Schemenverzeichnis

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Schema 1:</b> Synthese der Pyrimidone <b>7a-e</b> (A): a) 1,00 äq. iso-Propanol, HCl <sub>(g)</sub> , Et <sub>2</sub> O, 0 °C, 1 h, 5 d bei 4 °C altern; b) K <sub>2</sub> CO <sub>3(aq.)</sub> , Et <sub>2</sub> O, RT; c) 0,6 äq. Aminhydrochlorid, MeOH, RT 18 h; d) 1,10 äq TEOF, 2,20 äq. Ac <sub>2</sub> O, 0,5mol% DMAP, Rückfluss, 4 h; e) 1,00 äq. <b>4a-d</b> , 1,30 äq. Et <sub>3</sub> N, Acetonitril, 80 °C, 3 h. Postulierter Mechanismus der Umlagerungsreaktion für das Azlacton <b>6</b> nach HANSEN <sup>215</sup> (B). .... | 36 |
| <b>Schema 2:</b> Syntheseroute für die Tripyrimidonamide <b>13</b> und <b>14</b> : a) 15,0 äq. 40% MeNH <sub>2</sub> w/w, EtOH, RT oder 8,00 äq. Amin, EtOH, RT, 18 h; b) 3,00 äq. 1 M NaOH, MeOH, 80 °C, 3 h; c) 1,00 äq. LiOH•H <sub>2</sub> O, MeOH, RT, 24 h; d) 1,30 äq. <b>15a</b> , <b>15b</b> oder <b>15c</b> , 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 18-24 h; e) H <sub>2</sub> , Pd(C), MeOH/Dioxan/AcOH 8:2:1 v/v, Rückfluss, 3 h. ....                                                                                                             | 37 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Schema 3:</b> Retrosynthesebaum für Tripyrimidonamid $\alpha$ -Helixmimetika (Synthons nicht dargestellt).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 44 |
| <b>Schema 4:</b> Synthese von <b>17</b> : a) 1,00 äq. $\text{NH}_4\text{Cl}$ , MeOH, RT 18 h; b) 1,00 äq. <b>16</b> , 1,00 äq. <b>6</b> , 1,30 äq. $\text{Et}_3\text{N}$ , Acetonitril, 80 °C, 3 h, dann konz. HCl; c) MITSUNOBU-Reaktion.                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 45 |
| <b>Schema 5:</b> Einsatz der MITSUNOBU-Reaktion in der Entwicklung von Wirkstoffen.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 48 |
| <b>Schema 6:</b> Untersuchungen zur Alkylierung von Pyridonen unter MITSUNOBU-Bedingungen.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 49 |
| <b>Schema 7:</b> Umsetzung von <b>17</b> mit verschiedenen Alkoholen zu den 4-Alkoxypyrimidinen <b>18a-o</b> : a) 1,30 äq. $\text{PPh}_3$ , 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. ROH, THF, 0 °C-RT, 24 h.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 54 |
| <b>Schema 8:</b> Synthese der Alkohole <b>20</b> , <b>21</b> und <b>22</b> für die MITSUNOBU-Reaktion mit <b>17</b> : a) 1,10 äq. $\text{Boc}_2\text{O}$ , $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C-RT, 4 h; b) 1,25 äq. NaH, 1,25 äq. $(\text{EtO})_2\text{POCH}_2\text{CO}_2\text{Et}$ , THF, 0 °C-RT, 14 h, dann 10% w/t Pd(C), $\text{H}_2$ , EtOH, RT, 8 h, dann 1,10 äq. $\text{LiAlH}_4$ , THF, 0 °C-RT, 6 h; c) 0,20 äq. DMAP, 3,00 äq. $\text{Boc}_2\text{O}$ , Acetonitril, 0 °C-RT, dann 1,30 äq. $\text{LiAlH}_4$ , THF, 0 °C-RT. | 55 |
| <b>Schema 9:</b> Darstellung des Pyrimidons <b>18o-NP</b> : a) 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. $\text{PPh}_3$ , 1,30 äq. 2-(1H-Indol-3-yl)ethan-1-ol, THF, 0 °C-RT, 24 h.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 55 |
| <b>Schema 10:</b> Synthese und Isolation von <b>18a</b> ohne Chromatographie: a) 1,30 äq. $\text{PPh}_3$ , 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. ROH, THF, 0 °C-RT, 3 h; dann b) 1,8 äq. LiOH, THF/ $\text{H}_2\text{O}$ , RT, 24; dann 1 M HCl und Zwei-Phasen-Extraktion $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Na}_2\text{CO}_{3(\text{aq})}$ .                                                                                                                                                                                                          | 57 |
| <b>Schema 11:</b> Umsetzungsversuche von <b>17</b> zur Einführung einer Abgangsgruppe in 4-Position nach den Bedingungen in Tabelle 5.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 59 |
| <b>Schema 12:</b> Umsetzung von <b>23a</b> mit verschiedenen Thiolen zu den 4-Thioalkylpyrimidinen <b>24a-e</b> : a) 2,00 äq. $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 1,10 äq. Thiol, DMF, 60 °C, 1 h.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 59 |
| <b>Schema 13:</b> Ansätze zur Darstellung von Diarylethern ausgehend von <b>23a</b> (A). Möglicher Mechanismus der Bildung des Oxazolo[5,4-d]pyrimidins <b>25</b> (B). Die Bedingungen sind in Tabelle 7 aufgeführt.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 60 |
| <b>Schema 14:</b> Ansätze zur Darstellung von 4-Alkoxypyrimidinen ausgehend von <b>23a</b> : a) 1,00 äq. NaH, 1,00 äq. 4-Methoxybenzylalkohol, DMF, 0 °C-RT, 1 h; b) 1,00 äq. LiOH, THF/ $\text{H}_2\text{O}$ , RT, 16 h, dann 1,10 äq. NaH, 1,20 äq. 4-Methoxybenzylalkohol, DMF, 0 °C-RT, 1 h, dann 60 °C, 3 h; c) 3,00 äq. NaOMe, MeOH, 0 °C-RT, 18 h.                                                                                                                                                                            | 61 |
| <b>Schema 15:</b> Initialer Ansatz zur Darstellung des 4-Aminoalkylpyrimidins <b>25a</b> ausgehend von <b>23a</b> : a) 1,10 äq. 2-Aminobutan, 2,00 eq. $\text{NEt}_3$ , Acetonitril, MW: 150 W, 100 °C, 30 min.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 63 |
| <b>Schema 16:</b> Umsetzung von <b>23a</b> mit verschiedenen Aminen zu den 4-Aminoalkylpyrimidinen <b>25a-f</b> . a) 1.10 äq. 2-Amin, 2.00 äq. DIPEA, DMF, 115 °C, 16 h.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 64 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Schema 17:</b> Ansätze zur Darstellung der Pyrimidincarbonsäure <b>26a</b> ausgehend von <b>18b</b> :<br>a) 1,00 äq. LiOH·H <sub>2</sub> O, MeOH, 24 h, RT, dann H <sub>2</sub> O, 1 M HCl <sub>(aq.)</sub> , RT; b) 1,00 äq. LiOH,<br>THF/H <sub>2</sub> O, 24 h, RT.....                                                                                                       | 65 |
| <b>Schema 18:</b> Umsetzung von 4-Alkoxy- und 4-Thioalkylpyrimidinen und 4-Aminoalkylpyrimidinen zu den Carbonsäuren und Lithiumcarboxylaten <b>26a-p</b> . b) 1,00 äq. LiOH, THF/H <sub>2</sub> O, 24 h, RT, dann für Carbonsäuren: 1 M HCl <sub>(aq.)</sub> , RT; für Lithiumcarboxylate: Entfernen des Lösungsmittels und versetzen mit Diethylether. ....                       | 66 |
| <b>Schema 19:</b> Umsetzung von <b>18a-b</b> mit primären und sekundären Aminen zu den Amid- <b>27a-h</b> . a) 8,00 äq. Amin, EtOH, RT, 18-24 h; b) 8,00 äq. sek. Amin, EtOH, RT-60 °C; c) 1,00 äq. LiOH, THF/H <sub>2</sub> O, RT, 24 h, dann 1 M HCl <sub>(aq.)</sub> , RT; d) 1,10 äq. sek. Amin, 1,10 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT. ....                                   | 67 |
| <b>Schema 20:</b> Hydrolyse der Benzamidgruppe von <b>27a</b> . Die Reaktionsbedingungen sind in Tabelle 13 aufgeführt. ....                                                                                                                                                                                                                                                        | 69 |
| <b>Schema 21:</b> Abspaltung der Benzoylschutzgruppe zur Darstellung der 5-Aminopyrimidine <b>28a-g</b> . a) 1,30 äq. NaOH, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH, RT, 24 h. ....                                                                                                                                                                                                   | 69 |
| <b>Schema 22:</b> Synthese der 5-Aminopyrimidin-2-carbonsäure <b>29</b> durch Hydrolyse von <b>27a</b> . a) 1 M NaOH, H <sub>2</sub> O, Rückfluss, 5 h, dann Umkehrphasenchromatographie Acetonitril/H <sub>2</sub> O (0,5% TFA). ....                                                                                                                                              | 70 |
| <b>Schema 23:</b> Synthese der 3H-[1,2,3]Triazolo[4,5-d]pyrimidine <b>30a-c</b> (A): a) 1 M NaOH, H <sub>2</sub> O, Rückfluss, 5-9 h, dann 1,5 äq. NaNO <sub>2</sub> in H <sub>2</sub> O, 0 °C-RT, 5 h. Mechanismus der Ringbildung der 3H-[1,2,3]Triazolo[4,5-d]pyrimidine <b>30a-c</b> (B). ....                                                                                  | 71 |
| <b>Schema 24:</b> Darstellung von <b>31a</b> unter Variation der Bedingungen, die in Tabelle 16 aufgeführt sind. Folgende allgemeine Reaktionsbedingungen wurden dabei eingesetzt: 1,00 äq. <b>28a</b> , 1,00 äq. <b>26b</b> , 1,00 äq. Kupplungsreagenz, 2,00 äq. DIPEA (außer Einträge 3 und 4), Lösungsmittel, RT, 24 h. ....                                                    | 72 |
| <b>Schema 25:</b> Synthese der Pyrimidinamid-Dimere <b>31a-r</b> durch Amidkupplung unterschiedlicher 5-Aminopyrimidine <b>28</b> und Pyrimidincarbonsäuren oder Lithiumcarboxylaten <b>26</b> . 1.10 äq. <b>28</b> , 1,00 äq. <b>26</b> , 1,10 äq. HATU, 2.00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h. ....                                                                                       | 73 |
| <b>Schema 26:</b> Synthese der Pyrimidinamid-Dimere <b>32</b> und <b>33</b> . a) 1,30 äq. NaOH, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH, RT, 24 h., dann Umkehrphasenchromatographie mit Acetonitril; b) 1.10 äq. <b>28b</b> , 1,00 äq. <b>29</b> , 1,10 äq. HATU, 2.00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h., dann Umkehrphasenchromatographie mit Acetonitril/H <sub>2</sub> O (0,5% TFA). .... | 76 |
| <b>Schema 27:</b> Synthese der Triazolopyrimidin-Pyrimidinamide <b>34a-d</b> . a) 1,10 äq. <b>28b-c</b> , 1,00 äq. <b>30a-c</b> , 1,00 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h. ....                                                                                                                                                                                                | 77 |
| <b>Schema 28:</b> Synthese der Pyrimidin-Pyrimidonamide <b>35a-b</b> . a) 1,00 äq. <b>28b-c</b> , 1,30 äq. <b>15a-b</b> , 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h. ....                                                                                                                                                                                                                       | 77 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Schema 29:</b> Synthese des Pyrimidin-Pyrimidonamids <b>36</b> . a) 1,10 äq. <b>9b</b> , 1,00 äq <b>26b</b> , 1,10 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 78  |
| <b>Schema 30:</b> Synthese des Bipyrimidon-Pyrimidinamids <b>37</b> und des Tripyrimidinamids <b>38</b> . a) 1,00 äq. <b>11a</b> , 1,30 äq. <b>26m</b> , 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h.; b) 1,00 äq. <b>32</b> , 1,30 äq. <b>26f</b> , 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 78  |
| <b>Schema 31:</b> Synthese der 2-Brombenzoyl-substituierten Bipyrimidinamide <b>42a-b</b> . a) 1,00 äq 2-Brombenzoylchlorid, 1,30 äq Glycin, 2,2 äq NaOH (0,5 M), H <sub>2</sub> O, pH8, 0 °C-RT, dann konz. HCl; b) 1,00 äq 2-Bromhippursäure, 2,00 äq Ac <sub>2</sub> O, 1,00 äq TEOF, 0,5mol% DMAP, 130 °C; c) 1,00 äq. <b>16</b> , 1,00 äq. Azlacton, 1,30 äq. Et <sub>3</sub> N, Acetonitril, 80 °C, 3 h, dann konz. HCl; d) 1,30 äq iso-Butanol, 1,30 äq. DIAD, 1,30äq PPh <sub>3</sub> , THF, 0 °C-RT, 24 h; e) 1,20 äq. LiOH, THF/H <sub>2</sub> O, RT, dann 1 M HCl, RT.; f) 1,00 äq. <b>28b-c</b> , 1,00 äq. <b>41</b> , 1,00 äq. HATU, 2,00 äq. DIPEA, DMF, RT, 18 h. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 80  |
| <b>Schema 32:</b> Luciferase-katalysierte Oxidation vom D-Luciferin zu Oxyluciferin unter Lichtemission. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 86  |
| <b>Schema 33:</b> Mechanismus der Umsetzung von Furimazin zu Furimamid durch NanoLuc™ nach JANIN et al. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 96  |
| <b>Schema 34:</b> Oxidation von D-Luciferin katalysiert durch Luciferase. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 98  |
| <b>Schema 35</b> Synthese von vier α-Helixmimetika-Strukturtypen aus dieser Arbeit ausgehend von <b>17</b> : a) 1,30 äq. PPh <sub>3</sub> , 1,30 äq. DIAD, 1,30 äq. ROH, THF, 0 °C-RT, 24 h; b) 8,00 äq. Amin, EtOH, RT, 18-24 h; c) 1,30 äq. NaOH, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /MeOH, RT, 24 h; d) 1.10 äq. 5-Aminopyrimidin 1,00 äq. Pyrimidin-2-carbonsäure, 1,10 äq. HATU, 2.00 äq. DIPEA, DMF, RT, 24 h; e) 5,00 äq. POCl <sub>3</sub> , 2,00 äq. NEt <sub>3</sub> HCl, 0,50 äq. NEt <sub>3</sub> , Acetonitril 80 °C, 1 h; <b>24a-e</b> mittels f) 2,00 äq. K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1,10 äq. Thiol, DMF, 60 °C, 1 h; <b>25a-f</b> mittels g) 1.10 äq. Amin, 2.00 äq. DIPEA, DMF, 115 °C, 16 h; h) 1,00 äq. LiOH, THF/H <sub>2</sub> O, 24 h, RT, dann für Carbonsäuren: 1 M HCl <sub>(aq.)</sub> , RT; für Lithiumcarboxylate: Entfernen des Lösungsmittels und versetzten mit Diethylether; i) 1 M NaOH, H <sub>2</sub> O, Rückfluss, 5-9 h, dann 1,5 äq. NaNO <sub>2</sub> in H <sub>2</sub> O, 0 °C-RT, 5 h; j) 1,00 äq. 5-Aminopyrimidin, 1,30 äq. Lithiumpyrimidon-2-carboxylat, 1,70 äq. COMU®, DMF, RT, 24 h. .... | 104 |

**Literaturverzeichnis**

- (1) *Leukemia and Related Disorders*; Estey, E. H., Appelbaum, F. R., Eds.; Springer New York: New York, NY, 2012. <https://doi.org/10.1007/978-1-60761-565-1>.
- (2) Definition und Häufigkeit von Leukämie  
<https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/leukaemie/definition-und-haeufigkeit.html> (accessed May 11, 2020).
- (3) Zentrum für Krebsregisterdaten  
[https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Leukaemien/leukaemien\\_node.html](https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Leukaemien/leukaemien_node.html) (accessed May 11, 2020).
- (4) Clarke, C. J.; Holyoake, T. L. Preclinical Approaches in Chronic Myeloid Leukemia: From Cells to Systems. *Exp. Hematol.* **2017**, *47*, 13–23. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2016.11.005>.
- (5) Arber, D. A.; Orazi, A.; Hasserjian, R.; Thiele, J.; Borowitz, M. J.; Le Beau, M. M.; Bloomfield, C. D.; Cazzola, M.; Vardiman, J. W. The 2016 Revision to the World Health Organization Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemia. *Blood* **2016**, *127* (20), 2391–2405. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-03-643544>.
- (6) Baccarani, M.; Deininger, M. W.; Rosti, G.; Hochhaus, A.; Soverini, S.; Apperley, J. F.; Cervantes, F.; Clark, R. E.; Cortes, J. E.; Guilhot, F.; et al. European LeukemiaNet Recommendations for the Management of Chronic Myeloid Leukemia: 2013. *Blood* **2013**, *122* (6), 872–884. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-05-501569>.
- (7) Cowan-Jacob, S.; Guez, V.; Fendrich, G.; Griffin, J.; Fabbro, D.; Furet, P.; Liebetanz, J.; Mestan, J.; Manley, P. Imatinib (STI571) Resistance in Chronic Myelogenous Leukemia: Molecular Basis of the Underlying Mechanisms and Potential Strategies for Treatment. *Mini-Reviews Med. Chem.* **2004**, *4* (3), 285–299. <https://doi.org/10.2174/1389557043487321>.
- (8) Burmeister, T.; Schwartz, S.; Bartram, C. R.; Gökbuget, N.; Hoelzer, D.; Thiel, E. Patients' Age and BCR-ABL Frequency in Adult B-Precursor ALL: A Retrospective Analysis from the GMALL Study Group. *Blood* **2008**, *112* (3), 918–919. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-149286>.
- (9) Pluk, H.; Dorey, K.; Superti-Furga, G. Autoinhibition of C-Abl. *Cell* **2002**, *108* (2), 247–259. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00623-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00623-2).

- (10) Hantschel, O.; Nagar, B.; Guettler, S.; Kretschmar, J.; Dorey, K.; Kuriyan, J.; Superti-Furga, G. A Myristoyl/Phosphotyrosine Switch Regulates c-Abl. *Cell* **2003**, *112* (6), 845–857. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00191-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00191-0).
- (11) Colicelli, J. ABL Tyrosine Kinases: Evolution of Function, Regulation, and Specificity. *Sci. Signal.* **2010**, *3* (139), re6–re6. <https://doi.org/10.1126/scisignal.3139re6>.
- (12) Melo, J. V; Deininger, M. W. . Biology of Chronic Myelogenous Leukemia—Signaling Pathways of Initiation and Transformation. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* **2004**, *18* (3), 545–568. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2004.03.008>.
- (13) Bedi, A.; Zehnbauser, B. A.; Barber, J. P.; Sharkis, S. J.; Jones, R. J. Inhibition of Apoptosis by BCR-ABL in Chronic Myeloid Leukemia. *Blood* **1994**, *83* (8), 2038–2044.
- (14) Hehlmann, R.; Sauße, S.; Voskanyan, A.; Silver, R. T. Management of CML-Blast Crisis. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* **2016**, *29* (3), 295–307. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2016.10.005>.
- (15) Silver, R. T.; Woolf, S. H.; Hehlmann, R.; Appelbaum, F. R.; Anderson, J.; Bennett, C.; Goldman, J. M.; Guilhot, F.; Kantarjian, H. M.; Lichtin, A. E.; et al. An Evidence-Based Analysis of the Effect of Busulfan, Hydroxyurea, Interferon, and Allogeneic Bone Marrow Transplantation in Treating the Chronic Phase of Chronic Myeloid Leukemia: Developed for the American Society of Hematology. *Blood* **1999**, *94* (5), 1517–1536. <https://doi.org/10477676>.
- (16) Jabbour, E.; Kantarjian, H. Chronic Myeloid Leukemia: 2018 Update on Diagnosis, Therapy and Monitoring. *Am. J. Hematol.* **2018**, *93* (3), 442–459. <https://doi.org/10.1002/ajh.25011>.
- (17) Huang, X.; Cortes, J.; Kantarjian, H. Estimations of the Increasing Prevalence and Plateau Prevalence of Chronic Myeloid Leukemia in the Era of Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy. *Cancer* **2012**, *118* (12), 3123–3127. <https://doi.org/10.1002/cncr.26679>.
- (18) Phases of Chronic Myeloid Leukemia <https://www.cancer.org/cancer/chronic-myeloid-leukemia/detection-diagnosis-staging/staging.html> (accessed May 11, 2020).
- (19) Andresh, J.; Marie, R.; Heider, M. Nebenwirkungen der Krebstherapie <https://www.nds-krebsgesellschaft.de/downloads/broschueren/nebenwirkung->

krebstherapie\_web.pdf (accessed May 13, 2020).

- (20) Capdeville, R.; Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Matter, A. Glivec (STI571, Imatinib), a Rationally Developed, Targeted Anticancer Drug. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2002**, *1* (7), 493–502. <https://doi.org/10.1038/nrd839>.
- (21) Reddy, E. P.; Aggarwal, A. K. The Ins and Outs of Bcr-Abl Inhibition. *Genes Cancer* **2012**, *3* (5–6), 447–454. <https://doi.org/10.1177/1947601912462126>.
- (22) Holtz, M. S.; Slovak, M. L.; Zhang, F.; Sawyers, C. L.; Forman, S. J.; Bhatia, R. Imatinib Mesylate (STI571) Inhibits Growth of Primitive Malignant Progenitors in Chronic Myelogenous Leukemia through Reversal of Abnormally Increased Proliferation. *Blood* **2002**, *99* (10), 3792–3800. <https://doi.org/10.1182/blood.V99.10.3792>.
- (23) Branford, S.; Rudzki, Z.; Walsh, S.; Parkinson, I.; Grigg, A.; Szer, J.; Taylor, K.; Herrmann, R.; Seymour, J. F.; Arthur, C.; et al. Detection of BCR-ABL Mutations in Patients with CML Treated with Imatinib Is Virtually Always Accompanied by Clinical Resistance, and Mutations in the ATP Phosphate-Binding Loop (P-Loop) Are Associated with a Poor Prognosis. *Blood* **2003**, *102* (1), 276–283. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-09-2896>.
- (24) Cowan-Jacob, S. W.; Fendrich, G.; Floersheimer, A.; Furet, P.; Liebetanz, J.; Rummel, G.; Rheinberger, P.; Centeleghe, M.; Fabbro, D.; Manley, P. W. Structural Biology Contributions to the Discovery of Drugs to Treat Chronic Myelogenous Leukaemia. *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.* **2007**, *63* (1), 80–93. <https://doi.org/10.1107/S0907444906047287>.
- (25) Weisberg, E.; Manley, P. W.; Breitenstein, W.; Brügger, J.; Cowan-Jacob, S. W.; Ray, A.; Huntly, B.; Fabbro, D.; Fendrich, G.; Hall-Meyers, E.; et al. Characterization of AMN107, a Selective Inhibitor of Native and Mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell* **2005**, *7* (2), 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.01.007>.
- (26) Skora, L.; Mestan, J.; Fabbro, D.; Jahnke, W.; Grzesiek, S. NMR Reveals the Allosteric Opening and Closing of Abelson Tyrosine Kinase by ATP-Site and Myristoyl Pocket Inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2013**, *110* (47), E4437–E4445. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314712110>.
- (27) Gorre, M. E. Clinical Resistance to STI-571 Cancer Therapy Caused by BCR-ABL Gene Mutation or Amplification. *Science* (80-. ). **2001**, *293* (5531), 876–880. <https://doi.org/10.1126/science.1062538>.

- (28) Azam, M.; Seeliger, M. A.; Gray, N. S.; Kuriyan, J.; Daley, G. Q. Activation of Tyrosine Kinases by Mutation of the Gatekeeper Threonine. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2008**, *15* (10), 1109–1118. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1486>.
- (29) Jabbour, E.; Kantarjian, H.; Jones, D.; Breeden, M.; Garcia-Manero, G.; O'Brien, S.; Ravandi, F.; Borthakur, G.; Cortes, J. Characteristics and Outcomes of Patients with Chronic Myeloid Leukemia and T315I Mutation Following Failure of Imatinib Mesylate Therapy. *Blood* **2008**, *112* (1), 53–55. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-11-123950>.
- (30) Cortes, J. E.; Kantarjian, H.; Shah, N. P.; Bixby, D.; Mauro, M. J.; Flinn, I.; O'Hare, T.; Hu, S.; Narasimhan, N. I.; Rivera, V. M.; et al. Ponatinib in Refractory Philadelphia Chromosome–Positive Leukemias. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *367* (22), 2075–2088. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1205127>.
- (31) Ramirez, P.; DiPersio, J. F. Therapy Options in Imatinib Failures. *Oncologist* **2008**, *13* (4), 424–434. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2007-0170>.
- (32) Ponatinib <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31643461> (accessed Apr 10, 2020).
- (33) Paech, F.; Bouitbir, J.; Krähenbühl, S. Hepatocellular Toxicity Associated with Tyrosine Kinase Inhibitors: Mitochondrial Damage and Inhibition of Glycolysis. *Front. Pharmacol.* **2017**, *8*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00367>.
- (34) Lipton, J. H.; Chuah, C.; Guerci-Bresler, A.; Rosti, G.; Simpson, D.; Assouline, S.; Etienne, G.; Nicolini, F. E.; Le Coutre, P.; Clark, R.; et al. Epic: A Phase 3 Trial of Ponatinib Compared with Imatinib in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CP-CML). *Blood* **2014**, *124* (21), 519–519. <https://doi.org/10.1182/blood.V124.21.519.519>.
- (35) Shah, N. P.; Nicoll, J. M.; Nagar, B.; Gorre, M. E.; Paquette, R. L.; Kuriyan, J.; Sawyers, C. L. Multiple BCR-ABL Kinase Domain Mutations Confer Polyclonal Resistance to the Tyrosine Kinase Inhibitor Imatinib (STI571) in Chronic Phase and Blast Crisis Chronic Myeloid Leukemia. *Cancer Cell* **2002**, *2* (2), 117–125. [https://doi.org/10.1016/S1535-6108\(02\)00096-X](https://doi.org/10.1016/S1535-6108(02)00096-X).
- (36) Sherbenou, D. W.; Hantschel, O.; Kaupe, I.; Willis, S.; Bumm, T.; Turaga, L. P.; Lange, T.; Dao, K.-H.; Press, R. D.; Druker, B. J.; et al. BCR-ABL SH3-SH2 Domain Mutations in Chronic Myeloid Leukemia Patients on Imatinib. *Blood* **2010**, *116* (17), 3278–3285. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-10-183665>.
- (37) Hochhaus, A.; Rosée, P. La; Müller, M. C.; Ernst, T.; Cross, N. C. P. Impact of BCR-

- ABL Mutations on Patients with Chronic Myeloid Leukemia. *Cell Cycle* **2011**, *10* (2), 250–260. <https://doi.org/10.4161/cc.10.2.14537>.
- (38) Taipale, M.; Jarosz, D. F.; Lindquist, S. HSP90 at the Hub of Protein Homeostasis: Emerging Mechanistic Insights. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2010**, *11* (7), 515–528. <https://doi.org/10.1038/nrm2918>.
- (39) Caplan, A. J.; Mandal, A. K.; Theodoraki, M. A. Molecular Chaperones and Protein Kinase Quality Control. *Trends Cell Biol.* **2007**, *17* (2), 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2006.12.002>.
- (40) Taipale, M.; Krykbaeva, I.; Koeva, M.; Kayatekin, C.; Westover, K. D.; Karras, G. I.; Lindquist, S. Quantitative Analysis of Hsp90-Client Interactions Reveals Principles of Substrate Recognition. *Cell* **2012**, *150* (5), 987–1001. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.047>.
- (41) Picard, D. Table of Hsp90 interactors  
<https://www.picard.ch/downloads/Hsp90interactors.pdf> (accessed May 7, 2020).
- (42) Han, J.; Goldstein, L. A.; Hou, W.; Chatterjee, S.; Burns, T. F.; Rabinowich, H. HSP90 Inhibition Targets Autophagy and Induces a CASP9-Dependent Resistance Mechanism in NSCLC. *Autophagy* **2018**, *14* (6), 958–971. <https://doi.org/10.1080/15548627.2018.1434471>.
- (43) Zuehlke, A.; Johnson, J. L. Hsp90 and Co-Chaperones Twist the Functions of Diverse Client Proteins. *Biopolymers* **2010**, *93* (3), 211–217. <https://doi.org/10.1002/bip.21292>.
- (44) Donnelly, A.; Blagg, B. Novobiocin and Additional Inhibitors of the Hsp90 C-Terminal Nucleotide- Binding Pocket. *Curr. Med. Chem.* **2008**, *15* (26), 2702–2717. <https://doi.org/10.2174/092986708786242895>.
- (45) Sreedhar, A. S.; Kalmár, É.; Csermely, P.; Shen, Y. F. Hsp90 Isoforms: Functions, Expression and Clinical Importance. *FEBS Lett.* **2004**, *562* (1–3), 11–15. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(04\)00229-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(04)00229-7).
- (46) Khandelwal, A.; Kent, C. N.; Balch, M.; Peng, S.; Mishra, S. J.; Deng, J.; Day, V. W.; Liu, W.; Subramanian, C.; Cohen, M.; et al. Structure-Guided Design of an Hsp90 $\beta$  N-Terminal Isoform-Selective Inhibitor. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02013-1>.
- (47) Csermely, P.; Schnaider, T.; So"ti, C.; Prohászka, Z.; Nardai, G. The 90-KDa

- Molecular Chaperone Family. *Pharmacol. Ther.* **1998**, 79 (2), 129–168. [https://doi.org/10.1016/S0163-7258\(98\)00013-8](https://doi.org/10.1016/S0163-7258(98)00013-8).
- (48) Bergerat, A.; De Massy, B.; Gabelle, D.; Varoutas, P. C.; Nicolas, A.; Forterre, P. An Atypical Topoisomerase II from Archaea with Implications for Meiotic Recombination. *Nature*. 1997, pp 414–417. <https://doi.org/10.1038/386414a0>.
- (49) Dutta, R.; Inouye, M. GHKL, an Emergent ATPase/Kinase Superfamily. *Trends Biochem. Sci.* **2000**, 25 (1), 24–28. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(99\)01503-0](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(99)01503-0).
- (50) Thomas Ratajczak, T.; Ward, B.; Walsh, J.; Cluning, C. Hsp90 as a Therapeutic Target in Endocrinology: Current Evidence. *Res. Reports Endocr. Disord.* **2015**, 141. <https://doi.org/10.2147/RRED.S68546>.
- (51) Cunningham, C. N.; Krukenberg, K. A.; Agard, D. A. Intra- and Intermonomer Interactions Are Required to Synergistically Facilitate ATP Hydrolysis in Hsp90. *J. Biol. Chem.* **2008**, 283 (30), 21170–21178. <https://doi.org/10.1074/jbc.M800046200>.
- (52) Panaretou, B.; Prodromou, C.; Roe, S. M.; O'Brien, R.; Ladbury, J. E.; Piper, P. W.; Pearl, L. H. ATP Binding and Hydrolysis Are Essential to the Function of the Hsp90 Molecular Chaperone in Vivo. *EMBO J.* **1998**, 17 (16), 4829–4836. <https://doi.org/10.1093/emboj/17.16.4829>.
- (53) Haystead, T. A. J. Comparative Analysis of the ATP-Binding Sites of Hsp90 by Nucleotide Affinity Cleavage: A Distinct Nucleotide Specificity of the C-Terminal ATP-Binding Site. **2003**, 2428, 2421–2428. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2003.03610.x>.
- (54) Sahasrabudhe, P.; Rohrberg, J.; Biebl, M. M.; Rutz, D. A.; Buchner, J. Article The Plasticity of the Hsp90 Co-Chaperone System. *Mol. Cell* **2017**, 67 (6), 947-961.e5. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.08.004>.
- (55) Wegele, H.; Muschler, P.; Bunck, M.; Reinstein, J.; Buchner, J. Dissection of the Contribution of Individual Domains to the ATPase Mechanism of Hsp90. *J. Biol. Chem.* **2003**, 278 (41), 39303–39310. <https://doi.org/10.1074/jbc.M305751200>.
- (56) Miyata, Y.; Nishida, E. CK2 Controls Multiple Protein Kinases by Phosphorylating a Kinase-Targeting Molecular Chaperone, Cdc37. *Mol. Cell. Biol.* **2004**, 24 (9), 4065–4074. <https://doi.org/10.1128/mcb.24.9.4065-4074.2004>.

- (57) Quintana-Gallardo, L.; Martín-Benito, J.; Marcilla, M.; Espadas, G.; Sabidó, E.; Valpuesta, J. M. The Cochaperone CHIP Marks Hsp70- and Hsp90-Bound Substrates for Degradation through a Very Flexible Mechanism. *Sci. Rep.* **2019**, *9* (1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41060-0>.
- (58) Schopf, F. H.; Biebl, M. M.; Buchner, J. The HSP90 Chaperone Machinery. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2017**, *18* (6), 345–360. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.20>.
- (59) Hanahan, D.; Weinberg, R. A. The Hallmarks of Cancer. *Cell* **2000**, *100* (1), 57–70. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9).
- (60) Zhang, H.; Burrows, F. Targeting Multiple Signal Transduction Pathways through Inhibition of Hsp90. *J. Mol. Med.* **2004**, *82* (8). <https://doi.org/10.1007/s00109-004-0549-9>.
- (61) Adams, J.; Elliott, P. J. New Agents in Cancer Clinical Trials. *Oncogene* **2000**, *19* (56), 6687–6692. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1204088>.
- (62) Xu, W.; Neckers, L. Targeting the Molecular Chaperone Heat Shock Protein 90 Provides a Multifaceted Effect on Diverse Cell Signaling Pathways of Cancer Cells. *Clin. Cancer Res.* **2007**, *13* (6), 1625–1629. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2966>.
- (63) Trepel, J.; Mollapour, M.; Giaccone, G.; Neckers, L. Targeting the Dynamic HSP90 Complex in Cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2010**, *10* (8), 537–549. <https://doi.org/10.1038/nrc2887>.
- (64) Garg, G.; Khandelwal, A.; Blagg, B. S. J. Anticancer Inhibitors of Hsp90 Function. In *Advances in Cancer Research*; Elsevier Inc., 2016; Vol. 129, pp 51–88. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2015.12.001>.
- (65) Kamal, A.; Thao, L.; Sensintaffar, J.; Zhang, L.; Boehm, M. F.; Fritz, L. C.; Burrows, F. J. A High-Affinity Conformation of Hsp90 Confers Tumour Selectivity on Hsp90 Inhibitors. *Nature* **2003**, *425* (6956), 407–410. <https://doi.org/10.1038/nature01913>.
- (66) Chiosis, G.; Huezo, H.; Rosen, N.; Mimnaugh, E.; Whitesell, L.; Neckers, L. 17AAG: Low Target Binding Affinity and Potent Cell Activity - Finding an Explanation. *Mol. Cancer Ther.* **2003**, *2* (2), 123–129.
- (67) Bickel, D.; Gohlke, H. C-Terminal Modulators of Heat Shock Protein of 90 kDa (HSP90): State of Development and Modes of Action. *Bioorganic Med. Chem.* **2019**, *27* (21), 115080. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115080>.

- (68) Schulte, T. W.; Akinaga, S.; Soga, S.; Sullivan, W.; Stensgard, B.; Toft, D.; Neckers, L. M. Antibiotic Radicicol Binds to the N-Terminal Domain of Hsp90 and Shares Important Biologic Activities with Geldanamycin. *Cell Stress and Chaperones*. 1998, pp 100–108. [https://doi.org/10.1379/1466-1268\(1998\)003<0100:ARBTTN>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1379/1466-1268(1998)003<0100:ARBTTN>2.3.CO;2).
- (69) Stebbins, C. E.; Russo, A. A.; Schneider, C.; Rosen, N.; Hartl, F. U.; Pavletich, N. P. Crystal Structure of an Hsp90-Geldanamycin Complex: Targeting of a Protein Chaperone by an Antitumor Agent. *Cell* **1997**, *89* (2), 239–250. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80203-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80203-2).
- (70) Kyle Hadden, M.; Lubbers, D.; J. Blagg, B. Geldanamycin, Radicicol, and Chimeric Inhibitors of the Hsp90 Nterminal ATP Binding Site. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6* (11), 1173–1182. <https://doi.org/10.2174/156802606777812031>.
- (71) Whitesell, L.; Mimnaugh, E. G.; De Costa, B.; Myers, C. E.; Neckers, L. M. Inhibition of Heat Shock Protein HSP90-Pp60v-Src Heteroprotein Complex Formation by Benzoquinone Ansamycins: Essential Role for Stress Proteins in Oncogenic Transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91* (18), 8324–8328. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.18.8324>.
- (72) Schneider, C.; Sepp-Lorenzino, L.; Nimmesgern, E.; Ouerfelli, O.; Danishefsky, S.; Rosen, N.; Hartl, F. U. Pharmacologic Shifting of a Balance between Protein Refolding and Degradation Mediated by Hsp90. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, *93* (25), 14536–14541. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.25.14536>.
- (73) Nimmanapalli, R.; O'Bryan, E.; Bhalla, K. Geldanamycin and Its Analogue 17-Allylamino-17-Demethoxygeldanamycin Lowers Bcr-Abl Levels and Induces Apoptosis and Differentiation of Bcr-Abl-Positive Human Leukemic Blasts. *Cancer Res.* **2001**, *61* (5), 1799–1804.
- (74) Gorre, M. E.; Ellwood-Yen, K.; Chiosis, G.; Rosen, N.; Sawyers, C. L. BCR-ABL Point Mutants Isolated from Patients with Imatinib Mesylate–Resistant Chronic Myeloid Leukemia Remain Sensitive to Inhibitors of the BCR-ABL Chaperone Heat Shock Protein 90. *Blood* **2002**, *100* (8), 3041–3044. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-05-1361>.
- (75) Supko, J. G.; Hickman, R. L.; Grever, M. R.; Malspeis, L. Preclinical Pharmacologic Evaluation of Geldanamycin as an Antitumor Agent. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1995**, *36* (4), 305–315. <https://doi.org/10.1007/BF00689048>.

- (76) Tian, Z.-Q.; Liu, Y.; Zhang, D.; Wang, Z.; Dong, S. D.; Carreras, C. W.; Zhou, Y.; Rastelli, G.; Santi, D. V.; Myles, D. C. Synthesis and Biological Activities of Novel 17-Aminogeldanamycin Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12* (20), 5317–5329. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.07.053>.
- (77) Jhaveri, K.; Taldone, T.; Modi, S.; Chiosis, G. Advances in the Clinical Development of Heat Shock Protein 90 (Hsp90) Inhibitors in Cancers. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2012**, *1823* (3), 742–755. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.10.008>.
- (78) Efficacy and Safety of IPI-504 With Trastuzumab Pretreated, Locally Advanced or Metastatic HER2 Positive Breast Cancer  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00817362>.
- (79) A Phase 2 Study to Investigate the Clinical Activity of IPI-504 in Patients With Hormone-resistant Prostate Cancer (IPI-504-04)  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00564928?term=ipi-504&draw=4&rank=2>  
(accessed May 18, 2020).
- (80) 17-Dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-DMAG) in Treating Patients With an Advanced Solid Tumor or Lymphoma  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00088868?term=17-DMAG&draw=2&rank=5>  
(accessed May 18, 2020).
- (81) Alvespimycin Hydrochloride in Treating Patients With Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia, Small Lymphocytic Lymphoma, or B-Cell Prolymphocytic Leukemia  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01126502?term=17-DMAG&draw=2&rank=3> (accessed May 18, 2020).
- (82) Asea, E.; Alexzander, A. A.; Eds, P. *Heat Shock Protein 90 in Human Diseases and Disorders Recommended for You*; 2019.
- (83) Lei, X.; Danishefsky, S. J. Efficient Synthesis of a Novel Resorcyclide as Anticancer Agent Based on Hsp90 Inhibition. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350* (11–12), 1677–1681. <https://doi.org/10.1002/adsc.200800187>.
- (84) 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. <https://doi.org/10.1021/jm980403y>.
- (85) Eccles, S. A.; Massey, A.; Raynaud, F. I.; Sharp, S. Y.; Box, G.; Valenti, M.;

- Patterson, L.; de Haven Brandon, A.; Gowan, S.; Boxall, F.; et al. NVP-AUY922: A Novel Heat Shock Protein 90 Inhibitor Active against Xenograft Tumor Growth, Angiogenesis, and Metastasis. *Cancer Res.* **2008**, *68* (8), 2850–2860. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-5256>.
- (86) Woodhead, A. J.; Angove, H.; Carr, M. G.; Chessari, G.; Congreve, M.; Coyle, J. E.; Cosme, J.; Graham, B.; Day, P. J.; Downham, R.; et al. Discovery of (2,4-Dihydroxy-5-Isopropylphenyl)-[5-(4-Methylpiperazin-1-Ylmethyl)-1,3-Dihydroisindol-2-Yl]Methanone (AT13387), a Novel Inhibitor of the Molecular Chaperone Hsp90 by Fragment Based Drug Design. *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (16), 5956–5969. <https://doi.org/10.1021/jm100060b>.
- (87) NCT01712217. A Study of AT13387 in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Alone and in Combination With Crizotinib <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01712217?term=at13387&draw=4&rank=1>.
- (88) NCT01294202. A Study to Investigate the Safety and Efficacy of AT13387, Alone or in Combination With Imatinib, in Patients With GIST <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01294202?term=at13387&draw=2&rank=2> (accessed May 18, 2020).
- (89) NCT01685268. A Study of HSP90 Inhibitor AT13387 Alone or in Combination With Abiraterone Acetate <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01685268?term=at13387&draw=2&rank=4> (accessed May 18, 2020).
- (90) Brough, P. A.; Aherne, W.; Barril, X.; Borgognoni, J.; Boxall, K.; Cansfield, J. E.; Cheung, K.-M. J.; Collins, I.; Davies, N. G. M.; Drysdale, M. J.; et al. 4,5-Diarylisoxazole Hsp90 Chaperone Inhibitors: Potential Therapeutic Agents for the Treatment of Cancer. *J. Med. Chem.* **2008**, *51* (2), 196–218. <https://doi.org/10.1021/jm701018h>.
- (91) Clinical Trials-AUY922 <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=auy922&cntry=&state=&city=&dist=> (accessed May 18, 2020).
- (92) NCT00858572. STA-9090 for Treatment of AML, CML, MDS and Myeloproliferative Disorders <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00858572?term=STA-9090&draw=3&rank=15> (accessed May 19, 2020).
- (93) NCT01236144. A Trial to Establish the Feasibility of Combining Either the Tyrosine

- Kinase Inhibitor AC220, CXCR4 Inhibitor Plerixafor or HSP90 Inhibitor Ganetespib With Chemotherapy in Older Patients With Acute Myeloid Leukaemia and High Risk Myelodysplastic Syndrome.  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01236144?term=STA-9090&draw=3&rank=35> (accessed May 19, 2020).
- (94) NCT00964873. A Phase 1 Study of the HSP90 Inhibitor, STA-9090 in Subjects With Acute Myeloid Leukemia, Acute Lymphoblastic Leukemia and Blast-phase Chronic Myelogenous Leukemia  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00964873?term=STA-9090&draw=3&rank=18>.
- (95) Wright, L.; Barril, X.; Dymock, B.; Sheridan, L.; Surgenor, A.; Beswick, M.; Drysdale, M.; Collier, A.; Massey, A.; Davies, N.; et al. Structure-Activity Relationships in Purine-Based Inhibitor Binding to HSP90 Isoforms. *Chem. Biol.* **2004**, *11* (6), 775–785. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.03.033>.
- (96) He, H.; Zatorska, D.; Kim, J.; Aguirre, J.; Llauger, L.; She, Y.; Wu, N.; Immormino, R. M.; Gewirth, D. T.; Chiosis, G. Identification of Potent Water Soluble Purine-Scaffold Inhibitors of the Heat Shock Protein 90. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (1), 381–390. <https://doi.org/10.1021/jm0508078>.
- (97) Kim, S.-H.; Bajji, A.; Tangallapally, R.; Markovitz, B.; Trovato, R.; Shenderovich, M.; Baichwal, V.; Bartel, P.; Cimborra, D.; McKinnon, R.; et al. Discovery of (2*S*)-1-[4-(2-{6-Amino-8-[(6-Bromo-1,3-Benzodioxol-5-yl)Sulfanyl]-9*H*-Purin-9-yl)ethyl]Piperidin-1-yl]-2-Hydroxypropan-1-One (MPC-3100), a Purine-Based Hsp90 Inhibitor. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (17), 7480–7501. <https://doi.org/10.1021/jm3004619>.
- (98) Cai, X.; Zhai, H.-X.; Wang, J.; Samson, M.; Atoyan, R.; Forrester, J.; Qu, H.; Yin, L.; Wang, D.; Zifcak, B.; et al. Abstract 3249: Design and Synthesis of Imidazopyridine Derivatives as Novel HSP90 Inhibitors for the Treatment of Cancer. In *Cancer Chemistry*; American Association for Cancer Research, 2011; pp 3249–3249. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2011-3249>.
- (99) Coulombe, B. *The Molecular Chaperones Interaction Networks*; 2014.
- (100) NCT03166085. PU-H71 With Nab-paclitaxel (Abraxane) in Metastatic Breast Cancer  
<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03166085?term=pu-h71&draw=2&rank=3> (accessed May 18, 2020).

- (101) NCT01714037. A Clinical Study on the Safety and Efficacy of Debio 0932 in Combination With Standard of Care in Patients With Non-small Cell Lung Cancer [NSCLC] (HALO) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01714037?term=cudc-305&draw=2&rank=2> (accessed May 18, 2020).
- (102) Prodromou, C. Mechanisms of Hsp90 Regulation. *Biochem. J.* **2016**, *473* (16), 2439–2452. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160005>.
- (103) Kijima, T.; Prince, T. L.; Tigue, M. L.; Yim, K. H.; Schwartz, H.; Beebe, K.; Lee, S.; Budzynski, M. A.; Williams, H.; Trepel, J. B.; et al. HSP90 Inhibitors Disrupt a Transient HSP90-HSF1 Interaction and Identify a Noncanonical Model of HSP90-Mediated HSF1 Regulation. *Sci. Rep.* **2018**, *8* (1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25404-w>.
- (104) Toma-Jonik, A.; Vydra, N.; Janus, P.; Widlak, W. Interplay between HSF1 and P53 Signaling Pathways in Cancer Initiation and Progression: Non-Oncogene and Oncogene Addiction. *Cell. Oncol.* **2019**, *42* (5), 579–589. <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00452-0>.
- (105) Whitesell, L.; Bagatell, R.; Falsey, R. The Stress Response: Implications for the Clinical Development of Hsp90 Inhibitors. *Curr. Cancer Drug Targets* **2003**, *3* (5), 349–358. <https://doi.org/10.2174/1568009033481787>.
- (106) Cornford, P. A.; Dodson, A. R.; Parsons, K. F.; Desmond, A. D.; Woolfenden, A.; Fordham, M.; Neoptolemos, J. P.; Ke, Y.; Foster, C. S. Heat Shock Protein Expression Independently Predicts Clinical Outcome in Prostate Cancer. *Cancer Res.* **2000**, *60* (24), 7099–7105.
- (107) Vujanac, M.; Fenaroli, A. Constitutive Nuclear Import and Stress-Regulated Nucleocytoplasmic Shuttling of Mammalian Heat-Shock Factor 1 Rat12 Tet-Off Phase. **2005**, No. 3, 214–229. <https://doi.org/10.1111/j.1600.0854.2005.00266.x>.
- (108) Anckar, J.; Sistonen, L. Regulation of HSF1 Function in the Heat Stress Response : Implications in Aging and Disease. **2011**. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060809-095203>.
- (109) P.D. Hatfield, M.; Lovas, S. Role of Hsp70 in Cancer Growth and Survival. *Protein Pept. Lett.* **2012**, *19* (6), 616–624. <https://doi.org/10.2174/092986612800493968>.
- (110) ClinicalTrials.gov <https://clinicaltrials.gov/>.
- (111) Mcalpine, S. R. *Heat Shock Protein Inhibitors*; 2016; Vol. 19.

- <https://doi.org/10.1007/978-3-319-32607-8>.
- (112) Chai, R. C.; Kouspou, M. M.; Lang, B. J.; Nguyen, C. H.; van der Kraan, A. G. J.; Vieusseux, J. L.; Lim, R. C.; Gillespie, M. T.; Benjamin, I. J.; Quinn, J. M. W.; et al. Molecular Stress-Inducing Compounds Increase Osteoclast Formation in a Heat Shock Factor 1 Protein-Dependent Manner. *J. Biol. Chem.* **2014**, *289* (19), 13602–13614. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.530626>.
- (113) Zhao, J.; Zhao, H.; Hall, J. A.; Brown, D.; Brandes, E.; Bazzill, J.; Grogan, P. T.; Subramanian, C.; Vielhauer, G.; Cohen, M. S.; et al. Triazole Containing Novobiocin and Biphenyl Amides as Hsp90 C-Terminal Inhibitors. *Med. Chem. Commun.* **2014**, *5* (9), 1317–1323. <https://doi.org/10.1039/C4MD00102H>.
- (114) Byrd, K. M.; Subramanian, C.; Sanchez, J.; Motiwala, H. F.; Liu, W.; Cohen, M. S.; Holzbeierlein, J.; Blagg, B. S. J. Synthesis and Biological Evaluation of Novobiocin Core Analogues as Hsp90 Inhibitors. *Chem. - A Eur. J.* **2016**, *22* (20), 6921–6931. <https://doi.org/10.1002/chem.201504955>.
- (115) Bhatia, S.; Diedrich, D.; Frieg, B.; Ahlert, H.; Stein, S.; Bopp, B.; Lang, F.; Zang, T.; Kröger, T.; Ernst, T.; et al. Targeting HSP90 Dimerization via the C Terminus Is Effective in Imatinib-Resistant CML and Lacks the Heat Shock Response. *Blood* **2018**, *132* (3), 307–320. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-10-810986>.
- (116) Marcu, M. G.; Schulte, T. W.; Neckers, L. Novobiocin and Related Coumarins and Depletion of Heat Shock Protein 90-Dependent Signaling Proteins. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **2000**, *92* (3), 242–248. <https://doi.org/10.1093/jnci/92.3.242>.
- (117) 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. <https://doi.org/10.1074/jbc.M003701200>.
- (118) Zaveri, N. T. Green Tea and Its Polyphenolic Catechins: Medicinal Uses in Cancer and Noncancer Applications. *Life Sci.* **2006**, *78* (18), 2073–2080. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.12.006>.
- (119) Li, Y.; Zhang, T.; Jiang, Y.; Lee, H.-F.; Schwartz, S. J.; Sun, D. (–)-Epigallocatechin-3-Gallate Inhibits Hsp90 Function by Impairing Hsp90 Association with Cochaperones in Pancreatic Cancer Cell Line Mia Paca-2. *Mol. Pharm.* **2009**, *6* (4), 1152–1159. <https://doi.org/10.1021/mp900037p>.
- (120) Yin, Z.; Henry, E. C.; Gasiewicz, T. A. (–)-Epigallocatechin-3-Gallate Is a Novel

- Hsp90 Inhibitor †. *Biochemistry* **2009**, *48* (2), 336–345. <https://doi.org/10.1021/bi801637q>.
- (121) Huo, C.; Wan, S. B.; Lam, W. H.; Li, L.; Wang, Z.; Landis-Piwowar, K. R.; Chen, D.; Dou, Q. P.; Chan, T. H. The Challenge of Developing Green Tea Polyphenols as Therapeutic Agents. *Inflammopharmacology* **2008**, *16* (5), 248–252. <https://doi.org/10.1007/s10787-008-8031-x>.
- (122) Khandelwal, A.; Hall, J. A.; Blagg, B. S. J. Synthesis and Structure–Activity Relationships of EGCG Analogues, a Recently Identified Hsp90 Inhibitor. *J. Org. Chem.* **2013**, *78* (16), 7859–7884. <https://doi.org/10.1021/jo401027r>.
- (123) Wan, S. B.; Landis-Piwowar, K. R.; Kuhn, D. J.; Chen, D.; Dou, Q. P.; Chan, T. H. Structure–Activity Study of Epi-Gallocatechin Gallate (EGCG) Analogs as Proteasome Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13* (6), 2177–2185. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.12.056>.
- (124) Bhat, R.; Adam, A. T.; Lee, J. J.; Gasiewicz, T. A.; Henry, E. C.; Rotella, D. P. Towards the Discovery of Drug-like Epigallocatechin Gallate Analogs as Hsp90 Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24* (10), 2263–2266. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.03.088>.
- (125) Blundell, K. L. I. M.; Pal, M.; Roe, S. M.; Pearl, L. H.; Prodromou, C. The Structure of FKBP38 in Complex with the MEEVD Tetrapeptide Binding-Motif of Hsp90. *PLoS One* **2017**, *12* (3), e0173543. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173543>.
- (126) Scheufler, C.; Brinker, A.; Bourenkov, G.; Pegoraro, S.; Moroder, L.; Bartunik, H.; Hartl, F. U.; Moarefi, I. Structure of TPR Domain–Peptide Complexes. *Cell* **2000**, *101* (2), 199–210. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80830-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80830-2).
- (127) Brinker, A.; Scheufler, C.; von der Mülbe, F.; Fleckenstein, B.; Herrmann, C.; Jung, G.; Moarefi, I.; Hartl, F. U. Ligand Discrimination by TPR Domains. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277* (22), 19265–19275. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109002200>.
- (128) Belofsky, G. N.; Jensen, P. R.; Fenical, W. Sansalvamide: A New Cytotoxic Cyclic Depsipeptide Produced by a Marine Fungus of the Genus *Fusarium*. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40* (15), 2913–2916. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(99\)00393-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(99)00393-7).
- (129) Gu, W.; Liu, S.; Silverman, R. B. Solid-Phase, Pd-Catalyzed Silicon-Aryl Carbon Bond Formation. Synthesis of Sansalvamide A Peptide. *Org. Lett.* **2002**, *4* (23), 4171–4174. <https://doi.org/10.1021/ol0269392>.

- (130) Vasko, R. C.; Rodriguez, R. A.; Cunningham, C. N.; Ardi, V. C.; Agard, D. A.; McAlpine, S. R. Mechanistic Studies of Sansalvamide A-Amide: An Allosteric Modulator of Hsp90. *ACS Med. Chem. Lett.* **2010**, *1* (1), 4–8. <https://doi.org/10.1021/ml900003t>.
- (131) Koay, Y. C.; McConnell, J. R.; Wang, Y.; Kim, S. J.; Buckton, L. K.; Mansour, F.; McAlpine, S. R. Chemically Accessible Hsp90 Inhibitor That Does Not Induce a Heat Shock Response. *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, *5* (7), 771–776. <https://doi.org/10.1021/ml500114p>.
- (132) Buckton, L. K.; Wahyudi, H.; McAlpine, S. R. The First Report of Direct Inhibitors That Target the C-Terminal MEEVD Region on Heat Shock Protein 90. *Chem. Commun.* **2016**, *52* (3), 501–504. <https://doi.org/10.1039/C5CC03245H>.
- (133) Rahimi, M. N.; Buckton, L. K.; Zaiter, S. S.; Kho, J.; Chan, V.; Guo, A.; Konesan, J.; Kwon, S.; Lam, L. K. O.; Lawler, M. F.; et al. Synthesis and Structure–Activity Relationships of Inhibitors That Target the C-Terminal MEEVD on Heat Shock Protein 90. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9* (2), 73–77. <https://doi.org/10.1021/acsmmedchemlett.7b00310>.
- (134) Rahimi, M. N.; McAlpine, S. R. Protein–Protein Inhibitor Designed de Novo to Target the MEEVD Region on the C-Terminus of Hsp90 and Block Co-Chaperone Activity. *Chem. Commun.* **2019**, *55* (6), 846–849. <https://doi.org/10.1039/C8CC07576J>.
- (135) Horibe, T.; Kohno, M.; Haramoto, M.; Ohara, K.; Kawakami, K. Designed Hybrid TPR Peptide Targeting Hsp90 as a Novel Anticancer Agent. *J. Transl. Med.* **2011**, *9* (1), 8. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-8>.
- (136) Pearl, L. H.; Prodromou, C. Structure and Mechanism of the Hsp90 Molecular Chaperone Machinery. *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75* (1), 271–294. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.75.103004.142738>.
- (137) Ratzke, C.; Mickler, M.; Hellenkamp, B.; Buchner, J.; Hugel, T. Dynamics of Heat Shock Protein 90 C-Terminal Dimerization Is an Important Part of Its Conformational Cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107* (37), 16101–16106. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000916107>.
- (138) Ciglia, E.; Vergin, J.; Reimann, S.; Smits, S. H. J.; Schmitt, L.; Groth, G.; Gohlke, H. Resolving Hot Spots in the C-Terminal Dimerization Domain That Determine the Stability of the Molecular Chaperone Hsp90. *PLoS One* **2014**, *9* (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096031>.

- (139) Bopp, B.; Ciglia, E.; Ouald-Chaib, A.; Groth, G.; Gohlke, H.; Jose, J. Design and Biological Testing of Peptidic Dimerization Inhibitors of Human Hsp90 That Target the C-Terminal Domain. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **2016**, 1860 (6), 1043–1055. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.01.005>.
- (140) Di, L. Strategic Approaches to Optimizing Peptide ADME Properties. *AAPS J.* **2015**, 17 (1), 134–143. <https://doi.org/10.1208/s12248-014-9687-3>.
- (141) Diedrich, D.; Moita, A. J. R.; R  ther, A.; Frieg, B.; Reiss, G. J.; Hoepfner, A.; Kurz, T.; Gohlke, H.; L  deke, S.; Kassack, M. U.; et al.  $\alpha$ -Aminoxy Oligopeptides: Synthesis, Secondary Structure, and Cytotoxicity of a New Class of Anticancer Foldamers. *Chem. - A Eur. J.* **2016**, 22 (49), 17600–17611. <https://doi.org/10.1002/chem.201602521>.
- (142) Bhatia, S.; Ahlert, H.; Frieg, B.; Borkhardt, A.; Gohlke, H.; Kurz, T.; Hauer, J. Therapeutic Targeting of HSP90 in AML and ALL. *Blood* **2018**, 132 (Supplement 1), 4680–4680. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-120362>.
- (143) Kerns, E. H.; Di, L. *Drug-Like Properties*; Elsevier, 2016. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-18378-X>.
- (144) Nibbe, R. K.; Chowdhury, S. A.; Koyut  rk, M.; Ewing, R.; Chance, M. R. Protein-Protein Interaction Networks and Subnetworks in the Biology of Disease. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* **2011**, 3 (3), 357–367. <https://doi.org/10.1002/wsbm.121>.
- (145) Veselovsky, A. V.; Ivanov, Y. D.; Ivanov, A. S.; Archakov, A. I.; Lewi, P.; Janssen, P. Protein-Protein Interactions: Mechanisms and Modification by Drugs. *J. Mol. Recognit.* **2002**, 15 (6), 405–422. <https://doi.org/10.1002/jmr.597>.
- (146) Stumpf, M. P. H.; Thorne, T.; de Silva, E.; Stewart, R.; An, H. J.; Lappe, M.; Wiuf, C. Estimating the Size of the Human Interactome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, 105 (19), 6959–6964. <https://doi.org/10.1073/pnas.0708078105>.
- (147) J. Wilson, A. Inhibition of Protein–Protein Interactions Using Designed Molecules. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38 (12), 3289. <https://doi.org/10.1039/b807197g>.
- (148) Arkin, M. R.; Wells, J. A. Small-Molecule Inhibitors of Protein–Protein Interactions: Progressing towards the Dream. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2004**, 3 (4), 301–317. <https://doi.org/10.1038/nrd1343>.
- (149) Verma, S.; Grover, S.; Tyagi, C.; Goyal, S.; Jamal, S.; Singh, A.; Grover, A.

- Hydrophobic Interactions Are a Key to MDM2 Inhibition by Polyphenols as Revealed by Molecular Dynamics Simulations and MM/PBSA Free Energy Calculations. *PLoS One* **2016**, 11 (2), e0149014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149014>.
- (150) Huart, A.-S.; Hupp, T. Evolution of Conformational Disorder & Diversity of the P53 Interactome. *Biodiscovery* **2013**, No. 8, 5. <https://doi.org/10.7750/BioDiscovery.2013.8.5>.
- (151) Bogan, A. A.; Thorn, K. S. Anatomy of Hot Spots in Protein Interfaces. *J. Mol. Biol.* **1998**, 280 (1), 1–9. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.1843>.
- (152) 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. <https://doi.org/10.1021/ja206074j>.
- (153) Mabonga, L.; Kappo, A. P. Peptidomimetics: A Synthetic Tool for Inhibiting Protein–Protein Interactions in Cancer. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2020**, 26 (1), 225–241. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09831-5>.
- (154) Vousden, K. H.; Lu, X. Live or Let Die: The Cell's Response to P53. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2 (8), 594–604. <https://doi.org/10.1038/nrc864>.
- (155) Harms, K.; Nozell, S.; Chen, X. The Common and Distinct Target Genes of the P53 Family Transcription Factors. *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, 61 (7–8), 822–842. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3304-4>.
- (156) Momand, J.; Zambetti, G. P.; Olson, D. C.; George, D.; Levine, A. J. The Mdm-2 Oncogene Product Forms a Complex with the P53 Protein and Inhibits P53-Mediated Transactivation. *Cell* **1992**, 69 (7), 1237–1245. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(92\)90644-R](https://doi.org/10.1016/0092-8674(92)90644-R).
- (157) Kulikov, R.; Letienne, J.; Kaur, M.; Grossman, S. R.; Arts, J.; Blattner, C. Mdm2 Facilitates the Association of P53 with the Proteasome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, 107 (22), 10038–10043. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911716107>.
- (158) Kussie, P. H.; Gorina, S.; Marechal, V.; Elenbaas, B.; Moreau, J.; Levine, A. J.; Pavletich, N. P. Structure of the MDM2 Oncoprotein Bound to the P53 Tumor Suppressor Transactivation Domain. *Science* (80-. ). **1996**, 274 (5289), 948–953. <https://doi.org/10.1126/science.274.5289.948>.
- (159) Khoury, K.; Popowicz, G. M.; Holak, T. A.; Dömling, A. The P53-MDM2/MDMX Axis – A Chemotype Perspective. *Medchemcomm* **2011**, 2 (4), 246.

- <https://doi.org/10.1039/c0md00248h>.
- (160) Hou, H.; Sun, D.; Zhang, X. The Role of MDM2 Amplification and Overexpression in Therapeutic Resistance of Malignant Tumors. *Cancer Cell Int.* **2019**, *19* (1), 216. <https://doi.org/10.1186/s12935-019-0937-4>.
- (161) Hayashi, S.; Ozaki, T.; Yoshida, K.; Hosoda, M.; Todo, S.; Akiyama, S.; Nakagawara, A. P73 and MDM2 Confer the Resistance of Epidermoid Carcinoma to Cisplatin by Blocking P53. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, *347* (1), 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.095>.
- (162) Kim, Y.; Lee, B.; Shim, J. H.; Lee, S.-H.; Park, W.-Y.; Choi, Y.-L.; Sun, J.-M.; Ahn, J. S.; Ahn, M.-J.; Park, K. Concurrent Genetic Alterations Predict the Progression to Target Therapy in EGFR-Mutated Advanced NSCLC. *J. Thorac. Oncol.* **2019**, *14* (2), 193–202. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2018.10.150>.
- (163) Kojima, K.; Konopleva, M.; McQueen, T.; O'Brien, S.; Plunkett, W.; Andreeff, M. Mdm2 Inhibitor Nutlin-3a Induces P53-Mediated Apoptosis by Transcription-Dependent and Transcription-Independent Mechanisms and May Overcome Atm-Mediated Resistance to Fludarabine in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* **2006**, *108* (3), 993–1000. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-12-5148>.
- (164) Furet, P.; Masuya, K.; Kallen, J.; Stachyra-Valat, T.; Ruetz, S.; Guagnano, V.; Holzer, P.; Mah, R.; Stutz, S.; Vaupel, A.; et al. Discovery of a Novel Class of Highly Potent Inhibitors of the P53–MDM2 Interaction by Structure-Based Design Starting from a Conformational Argument. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (19), 4837–4841. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.08.010>.
- (165) Tisato, V.; Voltan, R.; Gonelli, A.; Secchiero, P.; Zauli, G. MDM2/X Inhibitors under Clinical Evaluation: Perspectives for the Management of Hematological Malignancies and Pediatric Cancer. *J. Hematol. Oncol.* **2017**, *10* (1), 133. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0500-5>.
- (166) Babine, R. E.; Bender, S. L. Molecular Recognition of Protein–Ligand Complexes: Applications to Drug Design. *Chem. Rev.* **1997**, *97* (5), 1359–1472. <https://doi.org/10.1021/cr960370z>.
- (167) Azzarito, V.; Long, K.; Murphy, N. S.; Wilson, A. J. Inhibition of  $\alpha$ -Helix-Mediated Protein-Protein Interactions Using Designed Molecules. *Nat. Chem.* **2013**, *5* (3), 161–173. <https://doi.org/10.1038/nchem.1568>.
- (168) Rehman, I.; Botelho, S. *Biochemistry, Tertiary Structure, Protein*; 2020.

- (169) Pelay-Gimeno, M.; Glas, A.; Koch, O.; Grossmann, T. N. Strukturbasierte Entwicklung von Protein-Protein-Interaktionsinhibitoren: Stabilisierung Und Nachahmung von Peptidliganden. *Angew. Chemie* **2015**, *127* (31), 9022–9054. <https://doi.org/10.1002/ange.201412070>.
- (170) Houk, K. N.; Leach, A. G.; Kim, S. P.; Zhang, X. Bindungsaffinitäten von Wirt-Gast-, Protein-Ligand- Und Protein-Übergangszustands-Komplexen. *Angew. Chemie* **2003**, *115* (40), 5020–5046. <https://doi.org/10.1002/ange.200200565>.
- (171) *Cyclic Peptides: From Bioorganic Synthesis to Applications*; Koehnke, J., Naismith, J., van der Donk, W. A., Eds.; Chemical Biology; Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2017. <https://doi.org/10.1039/9781788010153>.
- (172) Giannis, A.; Kolter, T. Peptidomimetics for Receptor Ligands? Discovery, Development, and Medical Perspectives. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1993**, *32* (9), 1244–1267. <https://doi.org/10.1002/anie.199312441>.
- (173) Polypeptide Chain Configurations in Crystalline Proteins. *Proc. R. Soc. London. Ser. A. Math. Phys. Sci.* **1950**, *203* (1074), 321–357. <https://doi.org/10.1098/rspa.1950.0142>.
- (174) Jackson, D. Y.; King, D. S.; Chmielewski, J.; Singh, S.; Schultz, P. G. General Approach to the Synthesis of Short  $\alpha$ -Helical Peptides. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113* (24), 9391–9392. <https://doi.org/10.1021/ja00024a067>.
- (175) Kawamoto, S. A.; Coleska, A.; Ran, X.; Yi, H.; Yang, C.-Y.; Wang, S. Design of Triazole-Stapled BCL9  $\alpha$ -Helical Peptides to Target the  $\beta$ -Catenin/B-Cell CLL/Lymphoma 9 (BCL9) Protein–Protein Interaction. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (3), 1137–1146. <https://doi.org/10.1021/jm201125d>.
- (176) Schafmeister, C. E.; Po, J.; Verdine, G. L. An All-Hydrocarbon Cross-Linking System for Enhancing the Helicity and Metabolic Stability of Peptides. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122* (24), 5891–5892. <https://doi.org/10.1021/ja000563a>.
- (177) 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. <https://doi.org/10.1021/ja0025548>.
- (178) Jayatunga, M. K. P.; Thompson, S.; Hamilton, A. D.  $\alpha$ -Helix Mimetics: Outwards and Upwards. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2014**, *24* (3), 717–724. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.12.003>.

- (179) Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23* (1–3), 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).
- (180) Biro, S. M.; Moisan, L.; Mann, E.; Carella, A.; Zhai, D.; Reed, J. C.; Rebek, J. Heterocyclic  $\alpha$ -Helix Mimetics for Targeting Protein–Protein Interactions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17* (16), 4641–4645. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.05.075>.
- (181) Marques, C. A.; Hähnel, P. S.; Wölfel, 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. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-05-089458>.
- (182) Sinha, S.; Yang, W. Cellular Signaling for Activation of Rho GTPase Cdc42. *Cell. Signal.* **2008**, *20* (11), 1927–1934. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2008.05.002>.
- (183) 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. <https://doi.org/10.1021/ol8022962>.
- (184) Lee, E. F.; Harris, T. J.; Tran, S.; Evangelista, M.; Arulananda, S.; John, T.; Ramnath, C.; Hobbs, C.; Zhu, H.; Gunasingh, G.; et al. BCL-XL and MCL-1 Are the Key BCL-2 Family Proteins in Melanoma Cell Survival. *Cell Death Dis.* **2019**, *10* (5), 342. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1568-3>.
- (185) Montero, J.; Letai, A. Why Do BCL-2 Inhibitors Work and Where Should We Use Them in the Clinic? *Cell Death Differ.* **2018**, *25* (1), 56–64. <https://doi.org/10.1038/cdd.2017.183>.
- (186) Sattler, M.; Liang, H.; Nettlesheim, D.; Meadows, R. P.; Harlan, J. E.; Eberstadt, M.; Yoon, H. S.; Shuker, S. B.; Chang, B. S.; Minn, A. J.; et al. Structure of Bcl-x L -Bak Peptide Complex: Recognition Between Regulators of Apoptosis. *Science* (80-. ). **1997**, *275* (5302), 983–986. <https://doi.org/10.1126/science.275.5302.983>.
- (187) Lee, J. H.; Zhang, Q.; Jo, S.; Chai, S. C.; Oh, M.; Im, W.; Lu, H.; Lim, H.-S. Novel Pyrrolopyrimidine-Based  $\alpha$ -Helix Mimetics: Cell-Permeable Inhibitors of Protein–Protein Interactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133* (4), 676–679. <https://doi.org/10.1021/ja108230s>.
- (188) Schafmeister, C. E.; Brown, Z. Z.; Gupta, S. Shape-Programmable

- Macromolecules. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41* (10), 1387–1398.  
<https://doi.org/10.1021/ar700283y>.
- (189) Lee, Y.; Im, H.; Das, S.; Oh, M.; Lee, J. H.; Ham, S.; Lim, H.-S. Bridged  $\alpha$ -Helix Mimetic Small Molecules. *Chem. Commun.* **2019**, *55* (88), 13311–13314.  
<https://doi.org/10.1039/C9CC03627J>.
- (190) Guarracino, D. A.; Riordan, J. A.; Barreto, G. M.; Oldfield, A. L.; Kouba, C. M.; Agrinoni, D. Macrocyclic Control in Helix Mimetics. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (17), 9915–9949. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00623>.
- (191) 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.  
[https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61800-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61800-2).
- (192) Horwell, D. C.; Howson, W.; Ratcliffe, G. S.; Willems, H. M. G. The Design of Dipeptide Helical Mimetics: The Synthesis, Tachykinin Receptor Affinity and Conformational Analysis of 1,1,6-Trisubstituted Indanes. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4* (1), 33–42. [https://doi.org/10.1016/0968-0896\(95\)00169-7](https://doi.org/10.1016/0968-0896(95)00169-7).
- (193) *Drug Discovery Research: New Frontiers in the Post-Genomic Era*; Huang, Z., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2007.  
<https://doi.org/10.1002/9780470131862>.
- (194) Hird, A. W.; Tron, A. E. Recent Advances in the Development of Mcl-1 Inhibitors for Cancer Therapy. *Pharmacol. Ther.* **2019**, *198*, 59–67.  
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.02.007>.
- (195) Xiang, W.; Yang, C.-Y.; Bai, L. MCL-1 Inhibition in Cancer Treatment. *Onco. Targets. Ther.* **2018**, *Volume 11*, 7301–7314.  
<https://doi.org/10.2147/OTT.S146228>.
- (196) Fire, E.; Gullá, S. V.; Grant, R. A.; Keating, A. E. Mcl-1- Bim Complexes Accommodate Surprising Point Mutations via Minor Structural Changes. *Protein Sci.* **2010**, NA-NA. <https://doi.org/10.1002/pro.329>.
- (197) Li, X.; Wang, Z.; Feng, Y.; Song, T.; Su, P.; Chen, C.; Chai, G.; Yang, Y.; Zhang, Z. Two-Face, Two-Turn  $\alpha$ -Helix Mimetics Based on a Cross-Acridine Scaffold: Analogues of the Bim BH3 Domain. *ChemBioChem* **2014**, *15* (9), 1280–1285.  
<https://doi.org/10.1002/cbic.201402040>.

- (198) Brown, Z. Z.; Akula, K.; Arzumanyan, A.; Alleva, J.; Jackson, M.; Bichenkov, E.; Sheffield, J. B.; Feitelson, M. A.; Schafmeister, C. E. A Spiroligomer  $\alpha$ -Helix Mimic That Binds HDM2, Penetrates Human Cells and Stabilizes HDM2 in Cell Culture. *PLoS One* **2012**, 7 (10), e45948. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045948>.
- (199) 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. Chemie Int. Ed.* **2003**, 42 (5), 535–539. <https://doi.org/10.1002/anie.200390154>.
- (200) Jung, K.-Y.; Vanommeslaeghe, K.; Lanning, M. E.; Yap, J. L.; Gordon, C.; Wilder, P. T.; MacKerell, A. D.; Fletcher, S. Amphipathic  $\alpha$ -Helix Mimetics Based on a 1,2-Diphenylacetylene Scaffold. *Org. Lett.* **2013**, 15 (13), 3234–3237. <https://doi.org/10.1021/ol401197n>.
- (201) Freedman, S. J.; Sun, Z.-Y. J.; Poy, F.; Kung, A. L.; Livingston, D. M.; Wagner, G.; Eck, M. J. Structural Basis for Recruitment of CBP/P300 by Hypoxia-Inducible Factor-1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, 99 (8), 5367–5372. <https://doi.org/10.1073/pnas.082117899>.
- (202) Nordgren, I. K.; Tavassoli, A. Targeting Tumour Angiogenesis with Small Molecule Inhibitors of Hypoxia Inducible Factor. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40 (8), 4307. <https://doi.org/10.1039/c1cs15032d>.
- (203) Buckley, D. L.; Gustafson, J. L.; Van Molle, I.; Roth, A. G.; Tae, H. S.; Gareiss, P. C.; Jorgensen, W. L.; Ciulli, A.; Crews, C. M. Small-Molecule Inhibitors of the Interaction between the E3 Ligase VHL and HIF1 $\alpha$ . *Angew. Chemie Int. Ed.* **2012**, 51 (46), 11463–11467. <https://doi.org/10.1002/anie.201206231>.
- (204) Nickols, N. G.; Jacobs, C. S.; Farkas, M. E.; Dervan, P. B. Modulating Hypoxia-Inducible Transcription by Disrupting the HIF-1–DNA Interface. *ACS Chem. Biol.* **2007**, 2 (8), 561–571. <https://doi.org/10.1021/cb700110z>.
- (205) Miranda, E.; Nordgren, I. K.; Male, A. L.; Lawrence, C. E.; Hoakwie, F.; Cuda, F.; Court, W.; Fox, K. R.; Townsend, P. A.; Packham, G. K.; et al. A Cyclic Peptide Inhibitor of HIF-1 Heterodimerization That Inhibits Hypoxia Signaling in Cancer Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135 (28), 10418–10425. <https://doi.org/10.1021/ja402993u>.
- (206) Kung, A. L.; Zabudoff, S. D.; France, D. S.; Freedman, S. J.; Tanner, E. A.; Vieira, A.; Cornell-Kennon, S.; Lee, J.; Wang, B.; Wang, J.; et al. Small Molecule Blockade

- of Transcriptional Coactivation of the Hypoxia-Inducible Factor Pathway. *Cancer Cell* **2004**, 6 (1), 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2004.06.009>.
- (207) Dames, S. A.; Martinez-Yamout, M.; De Guzman, R. N.; Dyson, H. J.; Wright, P. E. Structural Basis for Hif-1 /CBP Recognition in the Cellular Hypoxic Response. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, 99 (8), 5271–5276. <https://doi.org/10.1073/pnas.082121399>.
- (208) Burslem, G. M.; Kyle, H. F.; Breeze, A. L.; Edwards, T. A.; Nelson, A.; Warriner, S. L.; Wilson, A. J. Small-Molecule Proteomimetic Inhibitors of the HIF-1 $\alpha$ -P300 Protein-Protein Interaction. *ChemBioChem* **2014**, 15 (8), 1083–1087. <https://doi.org/10.1002/cbic.201400009>.
- (209) Saraogi, I.; Incarvito, C. D.; Hamilton, A. D. Controlling Curvature in a Family of Oligoamide  $\alpha$ -Helix Mimetics. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2008**, 47 (50), 9691–9694. <https://doi.org/10.1002/anie.200803778>.
- (210) Spanier, L.; Ciglia, E.; Hansen, F. K.; Kuna, K.; Frank, W.; Gohlke, H.; Kurz, T. Design, Synthesis, and Conformational Analysis of Trispyrimidonamides as Alpha-Helix Mimetics. *J Org Chem* **2014**, 79 (4), 1582–1593. <https://doi.org/10.1021/jo402353z>.
- (211) Spanier, L. Trispyrimidonamides as Novel  $\alpha$ -Helixmimetics: Design, Synthesis and Biological Evaluation, HHU, 2014.
- (212) Lipinski, C. A. Drug-like Properties and the Causes of Poor Solubility and Poor Permeability. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **2000**, 44 (1), 235–249. [https://doi.org/10.1016/S1056-8719\(00\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S1056-8719(00)00107-6).
- (213) Hansch, C.; Quinlan, J. E.; Lawrence, G. L. Linear Free-Energy Relationship between Partition Coefficients and the Aqueous Solubility of Organic Liquids. *J. Org. Chem.* **1968**, 33 (1), 347–350. <https://doi.org/10.1021/jo01265a071>.
- (214) Ishikawa, M.; Hashimoto, Y. Improvement in Aqueous Solubility in Small Molecule Drug Discovery Programs by Disruption of Molecular Planarity and Symmetry. *J. Med. Chem.* **2011**, 54 (6), 1539–1554. <https://doi.org/10.1021/jm101356p>.
- (215) Hansen, F. K. Pyrimidin-Analoga Des Analgetikums Flupirtin - Synthese, Analytik Und Biologische Eigenschaften von 2,4,5-Substituierten Pyrimidin-Derivaten, Universität Hamburg, 2009.
- (216) Ji, H.; Jing, Q.; Huang, J.; Silverman, R. B. Acid-Facilitated Debenzylation of N-Boc, N-Benzyl Double Protected 2-Aminopyridinomethyl Pyrrolidine Derivatives.

- Tetrahedron* **2012**, 68 (5), 1359–1366. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2011.12.013>.
- (217) S. Nishimura. *Handbook of Heterogeneous Catalytic Hydrogenation for Organic Synthesis*; 2001. <https://doi.org/10.1021/op0100798>.
- (218) Martinu, T.; Dailey, W. P. Synthesis of Carboalkoxychloro- and Bromodiazirines. *J. Org. Chem.* **2004**, 69 (21), 7359–7362. <https://doi.org/10.1021/jo040194r>.
- (219) Kornblum, N.; Smiley, R. A.; Blackwood, R. K.; Iffland, D. C. The Mechanism of the Reaction of Silver Nitrite with Alkyl Halides. The Contrasting Reactions of Silver and Alkali Metal Salts with Alkyl Halides. The Alkylation of Ambident Anions 1,2. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77 (23), 6269–6280. <https://doi.org/10.1021/ja01628a064>.
- (220) Mayr, H.; Breugst, M.; Ofial, A. R. Farewell to the HSAB Treatment of Ambident Reactivity. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2011**, 50 (29), 6470–6505. <https://doi.org/10.1002/anie.201007100>.
- (221) Mitsunobu, O.; Yamada, M. Preparation of Esters of Carboxylic and Phosphoric Acid via Quaternary Phosphonium Salts. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, 40 (10), 2380–2382. <https://doi.org/10.1246/bcsj.40.2380>.
- (222) Mitsunobu, O. The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products. *Synthesis (Stuttg.)* **1981**, 1981 (01), 1–28. <https://doi.org/10.1055/s-1981-29317>.
- (223) Fletcher, S. The Mitsunobu Reaction in the 21 St Century. *Org. Chem. Front.* **2015**, 2 (6), 739–752. <https://doi.org/10.1039/C5QO00016E>.
- (224) But, T. Y. S.; Toy, P. H. Organocatalytic Mitsunobu Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128 (30), 9636–9637. <https://doi.org/10.1021/ja063141v>.
- (225) Hirose, D.; Taniguchi, T.; Ishibashi, H. Recyclable Mitsunobu Reagents: Catalytic Mitsunobu Reactions with an Iron Catalyst and Atmospheric Oxygen. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2013**, 52 (17), 4613–4617. <https://doi.org/10.1002/anie.201300153>.
- (226) Buonomo, J. A.; Aldrich, C. C. Mitsunobu Reactions Catalytic in Phosphine and a Fully Catalytic System. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2015**, 54 (44), 13041–13044. <https://doi.org/10.1002/anie.201506263>.
- (227) Beddoe, R. H.; Andrews, K. G.; Magné, V.; Cuthbertson, J. D.; Saska, J.; Shannon-Little, A. L.; Shanahan, S. E.; Sneddon, H. F.; Denton, R. M. Redox-Neutral Organocatalytic Mitsunobu Reactions. *Science (80-. )*. **2019**, 365 (6456), 910–914. <https://doi.org/10.1126/science.aax3353>.

- (228) Zou, Y.; Wong, J. J.; Houk, K. N. Computational Exploration of a Redox-Neutral Organocatalytic Mitsunobu Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, jacs.0c07487. <https://doi.org/10.1021/jacs.0c07487>.
- (229) Hopes, P.; Langer, T.; Millard, K.; Steven, A. Decoration of an  $\alpha$ -Resorcyate Nucleus as Part of the Manufacture of a Glucokinase Activator. *Org. Process Res. Dev.* **2018**, 22 (8), 996–1006. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.8b00175>.
- (230) de Koning, P. D.; McAndrew, D.; Moore, R.; Moses, I. B.; Boyles, D. C.; Kissick, K.; Stanchina, C. L.; Cuthbertson, T.; Kamatani, A.; Rahman, L.; et al. Fit-for-Purpose Development of the Enabling Route to Crizotinib (PF-02341066). *Org. Process Res. Dev.* **2011**, 15 (5), 1018–1026. <https://doi.org/10.1021/op200131n>.
- (231) Arnold, L. D.; Assil, H. I.; Vederas, J. C. Polymer-Supported Alkyl Azodicarboxylates for Mitsunobu Reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111 (11), 3973–3976. <https://doi.org/10.1021/ja00193a032>.
- (232) Tunoori, A. R.; Dutta, D.; Georg, G. I. Polymer-Bound Triphenylphosphine as Traceless Reagent for Mitsunobu Reactions in Combinatorial Chemistry: Synthesis of Aryl Ethers from Phenols and Alcohols. *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39 (48), 8751–8754. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(98\)01988-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)01988-1).
- (233) Comins, D. L.; Jianhua, G. N- vs. O-Alkylation in the Mitsunobu Reaction of 2-Pyridone. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35 (18), 2819–2822. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)76633-0](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)76633-0).
- (234) Torhan, M. C.; Peet, N. P.; Williams, J. D. A Comparison of N- versus O-Alkylation of Substituted 2-Pyridones under Mitsunobu Conditions. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54 (30), 3926–3928. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.05.054>.
- (235) Okabe, S.; Ishihara, Y.; Inoo, H.; Tanaka, H. Mepirizole-Induced Duodenal Ulcers in Rats and Their Pathogenesis. *Dig. Dis. Sci.* **1982**, 27 (3), 242–249. <https://doi.org/10.1007/BF01296923>.
- (236) E. Hartung, R.; C. Wall, M.; Lebreton, S.; Smrcina, M.; Patek, M. Selectivity of N- Versus O-Alkylation in Mitsunobu Reactions with Various Quinolinols and Isoquinolinols. *Heterocycles* **2017**, 94 (7), 1305. <https://doi.org/10.3987/COM-17-13710>.
- (237) Dohno, C.; Uno, S. nosuke; Sakai, S.; Oku, M.; Nakatani, K. The Effect of Linker Length on Binding Affinity of a Photoswitchable Molecular Glue for DNA. *Bioorganic Med. Chem.* **2009**, 17 (6), 2536–2543. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.01.053>.

- (238) Kitbunnadaj, R.; Hoffmann, M.; Fratantoni, S. A.; Bongers, G.; Bakker, R. A.; Wieland, K.; El Jilali, A.; De Esch, I. J. P.; Menge, W. M. P. B.; Timmerman, H.; et al. New High Affinity H3 Receptor Agonists without a Basic Side Chain. *Bioorganic Med. Chem.* **2005**, *13* (23), 6309–6323. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.09.002>.
- (239) Bando, T.; Shishido, K. A Highly Convergent Enantioselective Total Synthesis of Marine Natural Product, Furanoterpene. *Chem. Commun.* **1996**, *2* (11), 1357. <https://doi.org/10.1039/cc9960001357>.
- (240) Batesky, D. C.; Goldfogel, M. J.; Weix, D. J. Removal of Triphenylphosphine Oxide by Precipitation with Zinc Chloride in Polar Solvents. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (19), 9931–9936. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00459>.
- (241) Lukin, K.; Kishore, V.; Gordon, T. Development of a Scalable Synthesis of Oxadiazole Based S1P 1 Receptor Agonists. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *17* (4), 666–671. <https://doi.org/10.1021/op300345v>.
- (242) Daily, O. P. Notes On Terrible Reactions  
<https://orgprepdaily.wordpress.com/2007/03/16/notes-on-lousy-reactions/>  
(accessed Sep 8, 2020).
- (243) A GENERAL PROCEDURE FOR MITSUNOBU INVERSION OF STERICALLY HINDERED ALCOHOLS: INVERSION OF MENTHOL. (1S,2S,5R)-5-METHYL-2-(1-METHYLETHYL)CYCLOHEXYL 4-NITROBENZOATE. *Org. Synth.* **1996**, *73*, 110. <https://doi.org/10.15227/orgsyn.073.0110>.
- (244) Malik, M. A.; Wani, M. Y.; Al-Thabaiti, S. A.; Shiekh, R. A. Tetrazoles as Carboxylic Acid Isosteres: Chemistry and Biology. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2014**, *78* (1–4), 15–37. <https://doi.org/10.1007/s10847-013-0334-x>.
- (245) *Bioisosteres in Medicinal Chemistry*; Brown, N., Ed.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2012. <https://doi.org/10.1002/9783527654307>.
- (246) Barrows, R. D.; Blacklock, K. M.; Rablen, P. R.; Khare, S. D.; Knapp, S. Computational Assessment of Thioether Isosteres. *J. Mol. Graph. Model.* **2018**, *80*, 282–292. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2018.01.018>.
- (247) Xu, G.; Wang, Y.-G. Microwave-Assisted Amination from Aryl Triflates without Base and Catalyst. *Org. Lett.* **2004**, *6* (6), 985–987. <https://doi.org/10.1021/ol049963j>.
- (248) Littke, A. F.; Dai, C.; Fu, G. C. Versatile Catalysts for the Suzuki Cross-Coupling of Arylboronic Acids with Aryl and Vinyl Halides and Triflates under Mild Conditions. *J.*

- Am. Chem. Soc.* **2000**, 122 (17), 4020–4028. <https://doi.org/10.1021/ja0002058>.
- (249) Li, L.; Jiang, X.; Huang, S.; Ying, Z.; Zhang, Z.; Pan, C.; Li, S.; Wang, X.; Zhang, Z. Discovery of Highly Potent 2-Sulfonyl-Pyrimidinyl Derivatives for Apoptosis Inhibition and Ischemia Treatment. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**, 8 (4), 407–412. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00489>.
- (250) Oka, Sachiko; Takahashi, Daisuki; Izawa, K. Process for Preparation of 4,5-Diaminopyrimidines from 5-Amino-4-Oxopyrimidines. EP 2009003, 2008.
- (251) Robins, M. J.; Uznański, B. Nucleic Acid Related Compounds. 33. Conversions of Adenosine and Guanosine to 2,6-Dichloro, 2-Amino-6-Chloro, and Derived Purine Nucleosides. *Can. J. Chem.* **1981**, 59 (17), 2601–2607. <https://doi.org/10.1139/v81-374>.
- (252) Savall, B. M.; Chavez, F.; Tays, K.; Dunford, P. J.; Cowden, J. M.; Hack, M. D.; Wolin, R. L.; Thurmond, R. L.; Edwards, J. P. Discovery and SAR of 6-Alkyl-2,4-Diaminopyrimidines as Histamine H<sub>4</sub> Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* **2014**, 57 (6), 2429–2439. <https://doi.org/10.1021/jm401727m>.
- (253) Seto, S.; Okada, K.; Kiyota, K.; Isogai, S.; Iwago, M.; Shinozaki, T.; Kitamura, Y.; Kohno, Y.; Murakami, K. Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationship Studies of Novel 2,4,6-Trisubstituted-5-Pyrimidinecarboxylic Acids as Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) Partial Agonists with Comparable Antidiabetic Efficacy to Rosiglitazone. *J. Med. Chem.* **2010**, 53 (13), 5012–5024. <https://doi.org/10.1021/jm100443s>.
- (254) Nunes, Joseph J.; Zhu, Xiaotian; Amouzegh, Patricia; Ghiron, Chiara; Johnston, David N.; Power, E. C. 2-AMINO-4-HYDROXY-5-PYRIMIDINECARBOXAMIDE DERIVATIVES AND RELATED COMPOUNDS AS INHIBITORS OF T CELL ACTIVATION FOR THE TREATMENT OF INFLAMMATORY DISEASES. WO2005009443 (A1), 2005.
- (255) Harris, William; Hill, Christopher Huw; Smith, I. E. D. Preparation of Pyrimidopyrimidinones as T-Cell Tyrosine Kinase Inhibitors. WO 2000024744 A1, 2000.
- (256) LEE, H.; KIM, B.; AHN, J.; KANG, S.; LEE, J.; SHIN, J.; AHN, S.; LEE, S.; YOON, S. Molecular Design, Synthesis, and Hypoglycemic and Hypolipidemic Activities of Novel Pyrimidine Derivatives Having Thiazolidinedione. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, 40 (9), 862–874. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.03.019>.

- (257) Liu, X.; Hu, X.; Shen, T.; Li, Q.; Mooers, B. H. M.; Wu, J. RET Kinase Alterations in Targeted Cancer Therapy. *Cancer Drug Resist.* **2020**. <https://doi.org/10.20517/cdr.2020.15>.
- (258) Friboulet, L.; Li, N.; Katayama, R.; Lee, C. C.; Gainor, J. F.; Crystal, A. S.; Michellys, P.-Y.; Awad, M. M.; Yanagitani, N.; Kim, S.; et al. The ALK Inhibitor Ceritinib Overcomes Crizotinib Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Discov.* **2014**, 4 (6), 662–673. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-0846>.
- (259) Zhang, S.; Anjum, R.; Squillace, R.; Nadworny, S.; Zhou, T.; Keats, J.; Ning, Y.; Wardwell, S. D.; Miller, D.; Song, Y.; et al. The Potent ALK Inhibitor Brigatinib (AP26113) Overcomes Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in Preclinical Models. *Clin. Cancer Res.* **2016**, 22 (22), 5527–5538. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0569>.
- (260) Powell, N. A.; Hoffman, J. K.; Ciske, F. L.; Kohrt, J. T.; Baxi, S. M.; Peng, Y.-W.; Zhong, M.; Catana, C.; Ohren, J.; Perrin, L. A.; et al. Optimization of Highly Selective 2,4-Diaminopyrimidine-5-Carboxamide Inhibitors of Sky Kinase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, 23 (4), 1051–1055. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.12.028>.
- (261) Hyde, A. M.; Zultanski, S. L.; Waldman, J. H.; Zhong, Y.; Shevlin, M. General Principles and Strategies for Salting-Out Informed by the Hofmeister Series. **2017**, No. 6. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.7b00197>.
- (262) Lee, D.; Taylor, M. Catalyst-Controlled Regioselective Reactions of Carbohydrate Derivatives. *Synthesis (Stuttg.)*. **2012**, 44 (22), 3421–3431. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1317483>.
- (263) Francis, A. J.; Resendiz, M. J. E. Protocol for the Solid-Phase Synthesis of Oligomers of RNA Containing a 2'-O-Thiophenylmethyl Modification and Characterization via Circular Dichroism. *J. Vis. Exp.* **2017**, No. 125. <https://doi.org/10.3791/56189>.
- (264) *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*; Wuts, P. G. M., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118905074>.
- (265) Ben-Ishai, D.; Altman, J.; Peled, N. The Synthesis of P-Substituted d,l-Phenylglycines by the Amidoalkylation of Benzylchloride and N-Benzylbenzamide. *Tetrahedron* **1977**, 33 (20), 2715–2717. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(77\)80295-0](https://doi.org/10.1016/0040-4020(77)80295-0).
- (266) Boger, D. L.; Machiya, K. Total Synthesis of (+)-Duocarmycin SA. *J. Am. Chem.*

- Soc. **1992**, 114 (25), 10056–10058. <https://doi.org/10.1021/ja00051a045>.
- (267) Gutzwiller, J.; Uskokovic, M. Total Synthesis of Quinine and Quinidine. II. *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92 (1), 204–205. <https://doi.org/10.1021/ja00704a037>.
- (268) Tanaka, H.; Ogasawara, K. Utilization of Lithium Triethylborohydride as a Selective N-Acyl Deprotecting Agent. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43 (25), 4417–4420. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(02\)00844-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(02)00844-4).
- (269) Theodorou, V.; Paraskevopoulos, G.; Skobridis, K. A Mild Alkaline Hydrolysis of N- and N,N-Substituted Amides and Nitriles. *ARKIVOC* **2015**, 2015 (vii), 101–112. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.p009.205>.
- (270) Terauchi, Taro; Takemura, Ayumi; Doko, Takashi; Yoshida, Yu; Tanaka, Toshiaki; Sorimachi, Keiichi; Naoe, Yoshimitsu; Beuckmann, Carsten; Kazuta, Y. Preparation of Cyclopropane Compounds as Orexin Receptor Antagonists. US 2012/0095031 A1, 2012.
- (271) Finn K. Hansen; Detlef Geffken. Synthesis of Novel N,3-Substituted 3H-[1,2,3]Triazolo[4,5-d]Pyrimidin-5-Amines. **2009**, 4, 689–693. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1218597>.
- (272) Parisini, E.; Metrangolo, P.; Pilati, T.; Resnati, G.; Terraneo, G. Halogen Bonding in Halocarbon–Protein Complexes: A Structural Survey. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40 (5), 2267. <https://doi.org/10.1039/c0cs00177e>.
- (273) Ford, M. C.; Saxton, M.; Ho, P. S. Sulfur as an Acceptor to Bromine in Biomolecular Halogen Bonds. *J. Phys. Chem. Lett.* **2017**, 8 (17), 4246–4252. <https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.7b01725>.
- (274) Wilcken, R.; Zimmermann, M. O.; Lange, A.; Zahn, S.; Kirchner, B.; Boeckler, F. M. Addressing Methionine in Molecular Design through Directed Sulfur–Halogen Bonds. *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, 7 (7), 2307–2315. <https://doi.org/10.1021/ct200245e>.
- (275) Jansma, A.; Zhang, Q.; Li, B.; Ding, Q.; Uno, T.; Bursulaya, B.; Liu, Y.; Furet, P.; Gray, N. S.; Geierstanger, B. H. Verification of a Designed Intramolecular Hydrogen Bond in a Drug Scaffold by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J. Med. Chem.* **2007**, 50 (24), 5875–5877. <https://doi.org/10.1021/jm700983a>.
- (276) Poole, C.; Zheng, W.; Lee, H.; Young, D.; Lodh, A.; Chadli, A.; van Riggelen, J. Targeting the MYC Oncogene in Burkitt Lymphoma through HSP90 Inhibition.

- Cancers (Basel)*. **2018**, 10 (11), 448. <https://doi.org/10.3390/cancers10110448>.
- (277) Case, D. A., Ben-Shalom, I. Y., Brozell, S. R., Cerutti, D. S., Cheatham III, T. E., Cruzeiro, V. W. D., Darden, T. A., Duke, R. E., Ghoreishi, D., Gilson, M. K., Gohlke, H., Goetz, A. W., Greene, D., Harris, R., Homeyer, N., Huang, Y., Izadi, S., Kovalen, P. A. AMBER 2018. University of California: San Francisco 2018.
- (278) Valley, C. C.; Cembran, A.; Perlmutter, J. D.; Lewis, A. K.; Labello, N. P.; Gao, J.; Sachs, J. N. The Methionine-Aromatic Motif Plays a Unique Role in Stabilizing Protein Structure. *J. Biol. Chem.* **2012**, 287 (42), 34979–34991. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.374504>.
- (279) Coutant, E. P.; Gagnot, G.; Hervin, V.; Baatallah, R.; Goyard, S.; Jacob, Y.; Rose, T.; Janin, Y. L. Bioluminescence Profiling of NanoKAZ/NanoLuc Luciferase Using a Chemical Library of Coelenterazine Analogues. *Chem. – A Eur. J.* **2020**, 26 (4), 948–958. <https://doi.org/10.1002/chem.201904844>.
- (280) Trepte, P.; Kruse, S.; Kostova, S.; Hoffmann, S.; Buntru, A.; Tempelmeier, A.; Secker, C.; Diez, L.; Schulz, A.; Klockmeier, K.; et al. LuTHy: A Double-readout Bioluminescence-based Two-hybrid Technology for Quantitative Mapping of Protein–Protein Interactions in Mammalian Cells. *Mol. Syst. Biol.* **2018**, 14 (7). <https://doi.org/10.15252/msb.20178071>.
- (281) Taipale, M. Two Protein/Protein Interaction Assays in One Go. *Mol. Syst. Biol.* **2018**, 14 (7). <https://doi.org/10.15252/msb.20188485>.
- (282) Niesen, F. H.; Berglund, H.; Vedadi, M. The Use of Differential Scanning Fluorimetry to Detect Ligand Interactions That Promote Protein Stability. *Nat. Protoc.* **2007**, 2 (9), 2212–2221. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.321>.
- (283) Goldsmith, P. Zebrafish as a Pharmacological Tool: The How, Why and When. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2004**, 4 (5), 504–512. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2004.04.005>.
- (284) Taylor, A. M.; Zon, L. I. Zebrafish Tumor Assays: The State of Transplantation. *Zebrafish* **2009**, 6 (4), 339–346. <https://doi.org/10.1089/zeb.2009.0607>.
- (285) Arrata, I.; Grison, C. M.; Coubrough, H. M.; Prabhakaran, P.; Little, M. A.; Tomlinson, D. C.; Webb, M. E.; Wilson, A. J. Control of Conformation in  $\alpha$ -Helix Mimicking Aromatic Oligoamide Foldamers through Interactions between Adjacent Side-Chains. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, 17 (15), 3861–3867. <https://doi.org/10.1039/C9OB00123A>.

- (286) Lee, Y.; Yoon, H.; Hwang, S.-M.; Shin, M.-K.; Lee, J. H.; Oh, M.; Im, S.-H.; Song, J.; Lim, H.-S. Targeted Inhibition of the NCOA1/STAT6 Protein–Protein Interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (45), 16056–16059. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b08972>.
- (287) Fulmer, G. R.; Miller, A. J. M.; Sherden, N. H.; Gottlieb, H. E.; Nudelman, A.; Stoltz, B. M.; Bercaw, J. E.; Goldberg, K. I. NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Common Laboratory Solvents, Organics, and Gases in Deuterated Solvents Relevant to the Organometallic Chemist. *Organometallics* **2010**, *29* (9), 2176–2179. <https://doi.org/10.1021/om100106e>.
- (288) Takahashi, D. PROCESS FOR PRODUCING PYRIMIDINE COMPOUND. EP 1 553 090 A1, 2003.
- (289) Takahashi, Daisuke; Honda, Yutaka; Izawa, K. Preparation of Pyrimidine Compounds. WO 2003106434 A1, 2003.
- (290) Norton Matos, M. R. P.; Gois, P. M. P.; Mata, M. L. E. N.; Cabrita, E. J.; Afonso, C. A. M. Studies on the Preparation of 4-Ethoxyalkyliden and 4-Aminoalkyliden-5(4H)-Oxazolones. *Synth. Commun.* **2003**, *33* (8), 1285–1299. <https://doi.org/10.1081/SCC-120018688>.
- (291) Ghosh, N.; Nayak, S.; Sahoo, A. K. Gold-Catalyzed Regioselective Hydration of Propargyl Acetates Assisted by a Neighboring Carbonyl Group: Access to  $\alpha$ -Acyloxy Methyl Ketones and Synthesis of ( $\pm$ )-Actinopolymorphol B. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (2), 500–511. <https://doi.org/10.1021/jo101995g>.
- (292) Takahashi, D.; Honda, Y.; Izawa, K. Syntheses of 5-Amino-2-Phenyl-4(3H)-Pyrimidinone Derivatives Starting with Glycine. *Heterocycles* **2012**, *85* (5), 1089–1103. <https://doi.org/10.3987/COM-12-12432>.
- (293) Baerfacker, Lars; Albrecht-Kuepper, Barbara; Kolkhof, Peter; Cancho Grande, Yolanda; Nitsche, Adam; Lustig, K. Preparation of 4-Aminopyrimidine-5-Carboxylic Acids as Cardiovascular Agents. WO 2009/080248 A1.
- (294) Publication, A. A General Procedure for Mitsunobu Inversion of Sterically Hindered Alcohols: Inversion of Menthol. (1S,2S,5R)-5-Methyl-2-(1-Methylethyl)Cyclohexyl 4-Nitrobenzoate. *Org. Synth.* **1996**, *73* (September), 110. <https://doi.org/10.15227/orgsyn.073.0110>.
- (295) MCCOMAS, Casey, C., KUDUK, Scott, D., REGER, Thomas, S. PYRIMIDINE PDEIO INHIBITORS. WO 2014/081619 A1.

- (296) Morris J. Robins and, B. U. Nucleic Acid Related Compounds. 33. Conversions of Adenosine and Guanosine to 2,6-Dichloro, 2-Amino-6-Chloro, and Derived Purine Nucleosides. *Can. J. Chem.* **1981**, 59 (17), 2601–2607.
- (297) JIA, Zhaozhong J.; KANE, Brian; XU, Qing; BAUER, Shawn M.; SONG, Yonghong; PANDEY, Anjali; DICK, R. SELECTIVE KINASE INHIBITORS CROSS-REFERENCES. WO 2013/078468 A1, 2013.
- (298) Showell, Graham Andrew; Miller, David John; Glen, Angela; Cubillo de Dios, Maria Angeles; Merchant, Kevin; Mandal, A. K. Heterocyclic Non-Peptide GnRH Antagonists and Their Preparation, Pharmaceutical Compositions and Use as Disease Preventive Agents. WO 2007000582, 2007.
- (299) Dikalov, S.; Landmesser, U.; Harrison, D. G. Geldanamycin Leads to Superoxide Formation by Enzymatic and Non-Enzymatic Redox Cycling. *J. Biol. Chem.* **2002**, 277 (28), 25480–25485. <https://doi.org/10.1074/jbc.M203271200>.
- (300) Sydor, J. R.; Normant, E.; Pien, C. S.; Porter, J. R.; Ge, J.; Grenier, L.; Pak, R. H.; Ali, J. A.; Dembski, M. S.; Hudak, J.; et al. Development of 17-Allylamino-17-Demethoxygeldanamycin Hydroquinone Hydrochloride (IPI-504), an Anti-Cancer Agent Directed against Hsp90. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2006**, 103 (46), 17408–17413. <https://doi.org/10.1073/pnas.0608372103>.
- (301) Weigel, B. J.; Blaney, S. M.; Reid, J. M.; Safgren, S. L.; Bagatell, R.; Kersey, J.; Neglia, J. P.; Ivy, S. P.; Ingle, A. M.; Whitesell, L.; et al. A Phase I Study of 17-Allylaminogeldanamycin in Relapsed/Refractory Pediatric Patients with Solid Tumors: A Children's Oncology Group Study. *Clin. Cancer Res.* **2007**, 13 (6), 1789–1793. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2270>.
- (302) Lanning, M. E.; Fletcher, S. Multi-Facial, Non-Peptidic  $\alpha$ -Helix Mimetics. *Biology (Basel)*. **2015**, 4 (3), 540–555. <https://doi.org/10.3390/biology4030540>.
- (303) Sun, H.; Tawa, G.; Wallqvist, A. Classification of Scaffold-Hopping Approaches. *Drug Discov. Today* **2012**, 17 (7–8), 310–324. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.10.024>.
- (304) Fischer, E. Synthese von Polypeptiden. XIV. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1906**, 39 (1), 453–474. <https://doi.org/10.1002/cber.19060390176>.
- (305) Jung, M. F.; Lyster, M. A. Quantitative Dealkylation of Alkyl Esters via Treatment with Trimethylsilyl Iodide. A New Method for Ester Hydrolysis. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99 (3), 968–969. <https://doi.org/10.1021/ja00445a062>.

- (306) Wu, X.-A.; Ying, P.; Liu, J.-Y.; Shen, H.-S.; Chen, Y.; He, L. Lithium Chloride–Assisted Selective Hydrolysis of Methyl Esters Under Microwave Irradiation. *Synth. Commun.* **2009**, 39 (19), 3459–3470. <https://doi.org/10.1080/00397910902778001>.
- (307) Cole, M. D.; McMahon, S. B. The Myc Oncoprotein: A Critical Evaluation of Transactivation and Target Gene Regulation. *Oncogene* **1999**, 18 (19), 2916–2924. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202748>.
- (308) Schumacher, R. J.; Hurst, R.; Sullivan, W. P.; McMahon, N. J.; Toft, D. O.; Matts, R. L. ATP-Dependent Chaperoning Activity of Reticulocyte Lysate. *J. Biol. Chem.* **1994**, 269 (13), 9493–9499.
- (309) Cimperman, P.; Baranauskienė, L.; Jachimovičiūtė, S.; Jachno, J.; Torresan, J.; Michailovienė, V.; Matulienė, J.; Sereikaitė, J.; Bumelis, V.; Matulis, D. A Quantitative Model of Thermal Stabilization and Destabilization of Proteins by Ligands. *Biophys. J.* **2008**, 95 (7), 3222–3231. <https://doi.org/10.1529/biophysj.108.134973>.
- (310) 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. <https://doi.org/10.1021/ja810025g>.
- (311) 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. Commun.* **2009**, No. 34, 5091. <https://doi.org/10.1039/b908207g>.
- (312) Chen, L. P53 -Helix Mimetics Antagonize P53/MDM2 Interaction and Activate P53. *Mol. Cancer Ther.* **2005**, 4 (6), 1019–1025. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-04-0342>.