

**Synthese und *in vitro*-pharmakologische Charakterisierung von
dualen PPAR α / γ -Agonisten**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von
Yvonne Syha
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main (2005)

(DF 1)

Vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der Johann Wolfgang Goethe-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. H. Schwalbe

Gutachter: Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec
Prof. Dr. D. Steinhilber

Datum der Disputation:

Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität unter Anleitung von Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec im Rahmen einer Kooperation mit der Firma Phenion GmbH & Co. KG.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec für die interessante und herausfordernde Themenstellung, die hervorragenden Arbeitsbedingungen, die stete fachliche Betreuung, die zahlreichen Fortbildungsmöglichkeiten und nicht zuletzt für seine freundliche Art von Unterstützung.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Dr. M. Kock für seine Betreuung, seine stete Diskussionsbereitschaft, für hilfreiche Anregungen, die kritische Durchsicht dieses Manuskriptes und seinen freundlichen Umgang.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. K.-F. Beck, Dr. A. Bock, PD Dr. W. Eberhardt, Prof. Dr. J. Pfeilschifter, Herrn O. Rau, Prof. Dr. D. Steinhilber, Frau A. Winter und Herrn S. George für die *in vitro*-pharmakologische Charakterisierung synthetisierter Substanzen.

Ausserdem bedanke ich mich bei meinen Kollegen Frau Dr. A. Altmann, Herrn S. Bihler, Herrn Dr. J. Keller, Frau T. Paukert, Herrn A. Paulke, Frau L. Popescu, Frau L. Rangel-Ordonez, Herrn O. Rau, Frau Dr. S. Schulte-Löbber, Frau Dr. M. Tawab, Frau A. Winter, Herrn Dr. M. Wurglics und Frau J. Zitzkowsky für die stete Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima innerhalb der Gruppe.

Mein Dankeschön gilt ebenso meinen Kollegen M. Amon, M. Hampel, Dr. B. Firla, P. Griffin, C. Hunger, T. Jaskolla, T. Kottke, H. Kubas, L. Popescu, O. Saur und M. Weidlich, die mich in meiner Zeit als semesterleitende Assistentin des Praktikums Pharmazeutische Chemie I auf hervorragende Weise unterstützt haben.

Ganz besonders bedanke ich mich ebenso bei meinen Kollegen Dr. M. Wurglics und A. Paulke für das Lösen EDV-technischer Problemstellungen.

Ein herzliches Dankeschön spreche ich Herrn S. Bihler, Frau I. Brill, Frau M. Christof, Frau I. Prieß und Frau E. Roos für die CHN-, NMR- und MS-Analytik aus.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	1
1. Einleitung	4
1.1 Nukleäre Rezeptoren	4
1.1.1 Struktur nukleärer Rezeptoren.....	7
1.1.1.1 Konformationsänderung der LBD durch Agonisten	10
1.1.1.2 Konformationsänderung der LBD durch Antagonisten.....	11
1.1.1.3 Konformationsänderung der LBD durch partielle Agonisten/Antagonisten ...	12
1.1.2 DNA-Bindungs-elemente nukleärer Rezeptoren.....	12
1.1.3 Das Prinzip der Signalübertragung durch nukleäre Rezeptoren	14
1.2 Peroxisomen Proliferator-Aktivier-te Rezeptoren (PPARs).....	16
1.2.1 Funktionelle Domänen der PPARs	16
1.2.2 Natürliche Liganden der PPARs	18
1.2.3 Synthetische Liganden der PPARs.....	19
1.2.3.1 Selektive PPAR α -Agonisten	19
1.2.3.2 Selektive PPAR γ -Agonisten.....	23
1.2.3.3 Duale PPAR α/γ -Agonisten.....	26
1.2.4 Das Pharmakophormodell der PPAR-LBDs	29
1.2.5 Klinische Einsatzgebiete von PPAR-Agonisten	34
1.2.5.1 Entzündung – PPAR α	34
1.2.5.2 Atherosklerose – PPAR α	35
1.2.5.3 Adipositas – PPAR α	36
1.2.5.4 Diabetes Typ 2 – PPAR γ	36
1.2.5.5 Dyslipidämie – PPAR γ	36
2. Zielsetzung.....	37

3. Ergebnisse & Diskussion	39
3.1 Chemische Synthesen.....	39
3.1.1 Allgemeine Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten mit W-, Y- und R-Strukturmodifikationen	39
3.1.1.1 Synthese von Liganden mit Strukturmodifikationen im Arylamino- Bereich (W-Substitution).....	40
3.1.1.2 Synthese eines in 4-Pyrimidin-Position modifizierten Derivates von WY 14643 (Y-Substitution).....	42
3.1.1.3 Synthese von Liganden mit Strukturmodifikationen in α -Position zur Carbonsäure (R-Substitution).....	43
3.1.2 Synthese von Liganden mit Ureido-Partialstruktur bzw. dem Strukturelement eines tertiären Amins.....	47
3.1.3 Substitution des 2,3-Dimethylphenylrestes durch aliphatische Reste.....	49
3.1.4 Synthese von Precursorverbindungen der Pirinixinsäure.....	51
3.1.5 Versuchte Synthese des α,β -ungesättigten Pirinixinsäurederivates 4-[4-Chlor- 6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-but-2-ensäure 78	53
3.2 Medizinische Chemie.....	57
3.2.1 <i>In vitro</i> -pharmakologische Testsysteme zur Identifizierung von Ligand- Rezeptor-Interaktionen.....	57
3.2.1.1 Muriner PPAR α -Assay	57
3.2.1.2 Humaner PPAR-Assay der Subtypen α , β und γ	58
3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich (W-Substitution).....	59
3.2.3 Struktur-Wirkungs-Beziehungen eines in 4-Pyrimidin-Position modifizierten Derivates von WY 14643 (Y-Substitution).....	62
3.2.4 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Strukturmodifikationen in α -Position zur Carbonsäure (R-Substitution).....	63
3.2.4.1 PPAR-Agonisten als Hemmstoffe der 5-Lipoxygenase	67
3.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Ureido-Partialstruktur und dem Strukturelement eines tertiären Amins	69
3.2.6 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von in 6-Pyrimidin-Position alkylamino- substituierten Liganden	70
3.2.7 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Precursorverbindungen der Pirinixin- säure	71

4. Zusammenfassung	73
5. Experimenteller Teil	76
5.1 Allgemeine Angaben.....	76
5.2 Synthesevorschriften und Charakterisierungen.....	77
5.2.1 Synthese von Edukten	77
5.2.2 Synthese der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester 8 und 32-38	80
5.2.3 Synthese 4,6-dihalogen substituierter (Pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester 9, 28, 39-45 und 60	88
5.2.4 Synthese der aus nukleophiler aromatischer Substitution am Pyrimidin resultierenden 6-Pyrimidin-substituierten Ethylester 10-17, 29, 46-52, 61, 68, 70 und 72	99
5.2.5 Synthese der Carbonsäuren 18-25, 30, 53-59, 62, 65, 69, 71 und 73	121
5.2.6 Synthese von Precursoren der Pirinixinsäure.....	144
5.2.7 Synthese α,β -ungesättigter Pirinixinsäurederivate 79 und 82 und der Thiazolo[3,2- <i>a</i>]pyrimidin-5-one 80 und 81	147
6. Anhang	151
6.1 Abkürzungsverzeichnis	151
6.2 Literaturverzeichnis.....	156
6.3 Substanzverzeichnis	166
Publikationen	167
Lebenslauf	168
Eidesstattliche Versicherung	170

1. Einleitung

1.1 Nukleäre Rezeptoren

Nukleäre Rezeptoren (NRs) bilden eine Familie von Ligand-abhängigen Transkriptionsfaktoren, welche direkt mit der DNA genregulierend interagieren. Aufgrund der Tatsache, dass NRs intrazellulär sowohl im Cytosol als auch im Cytoplasma lokalisiert sind, zeichnen sich deren aktivierende Liganden durch ihren lipophilen Charakter aus, da somit die Passage der Zellmembran durch passiven Transport erleichtert wird. NRs sind in viele fundamentale physiologische Prozesse wie zum Beispiel die Zelldifferenzierung, die Aufrechterhaltung der Homöostase und die pre- und postnatalen Entwicklung des Organismus involviert.¹ Eine Dysfunktion der durch NRs vermittelten Signaltransduktion führt zu proliferativen, reproduktiven und metabolischen Krankheitsbildern wie Krebs, Infertilität, Adipositas und Diabetes.² Als Liganden für NRs sind im Allgemeinen neben den klassischen Hormonen wie den Steroiden und den Schilddrüsenhormonen die A-Vitamine (Retinoide), Vitamin D₃, Fettsäuren und Prostaglandine bekannt. Einige Vertreter (siehe Tab. 1) der NRs tragen die Bezeichnung *orphan receptors* („Waisen“-Rezeptoren), was die fehlende Kenntnis endogener Liganden zum Ausdruck bringt. Die wichtigsten NRs und deren natürliche Liganden sind in Abb. 1 dargestellt.

Nach heutigem Wissensstand existieren 48 nukleäre Rezeptoren, die ausgehend von phylogenetischen Untersuchungen in sechs Subfamilien (römische Ziffern I bis VI) klassifiziert sind. Die Rezeptoren der jeweiligen Subfamilien werden weiter in die von verschiedenen Genen codierten Subtypen unterteilt und mit griechischen Buchstaben (α , β , γ) benannt. Tabelle 1 zeigt eine Auswahl der wichtigsten Vertreter der NRs,^{3,4} wohingegen Abb. 1 die Strukturen endogener Liganden ausgewählter nukleärer Rezeptoren illustriert.

Subfamilie	Name	Abkürzung	Nomenklatur	Liganden
I	Thyroid-Rezeptor	TR α	NR1A1	Thyroidhormone
		TR β	NR1A2	Thyroidhormone
	Retinsäure-Rezeptor	RAR α	NR1B1	All- <i>trans</i> -Retinsäure
		RAR β	NR1B2	All- <i>trans</i> -Retinsäure
		RAR γ	NR1B3	All- <i>trans</i> -Retinsäure
	Peroxisomen Proliferator Aktivierter Rezeptor	PPAR α	NR1C1	Fettsäuren, Eicosanoide
		PPAR β/δ	NR1C2	Fettsäuren
		PPAR γ	NR1C3	Fettsäuren, Eicosanoide
	RAR-related orphan receptor	ROR α	NR1F1	Cholesterol
		ROR β	NR1F2	All- <i>trans</i> -Retinsäure
		ROR γ	NR1F3	All- <i>trans</i> -Retinsäure
	Vitamin D Rezeptor	VDR	NR1I1	1,25-(OH) ₂ -Vitamin D ₃
		Pregnan X Rezeptor	PXR	NR1I2
II	Retinoid X Rezeptor	RXR α	NR2B1	9- <i>cis</i> -Retinsäure
		RXR β	NR2B2	9- <i>cis</i> -Retinsäure
		RXR γ	NR2B3	9- <i>cis</i> -Retinsäure
	Testis Rezeptor	TR2	NR2C1	<i>Orphan</i>
		TR4	NR2C2	<i>Orphan</i>
III	Estrogen Rezeptor	ER α	NR3A1	Estrogene
		ER β	NR3A2	Estrogene
	Glucocorticoid Rezeptor	GR	NR3C1	Glucocorticoide
	Mineralcorticoid Rezeptor	MR	NR3C2	Mineralcorticoide
	Progesteron Rezeptor	PR	NR3C3	Progesterone
	Androgen Rezeptor	AR	NR3C4	Androgene
IV	NGF-induzierter Faktor B	NGFIB	NR4A1	<i>Orphan</i>
V	Steroidogener Faktor 1	SF1	NR5A1	<i>Orphan</i>
VI	Germ Cell Nuclear Factor	GCNF	NR6A1	<i>Orphan</i>

Tabelle 1: Klassifizierung nukleärer Rezeptoren.^{3,4} NGF: *Nerve Growth Factor*.

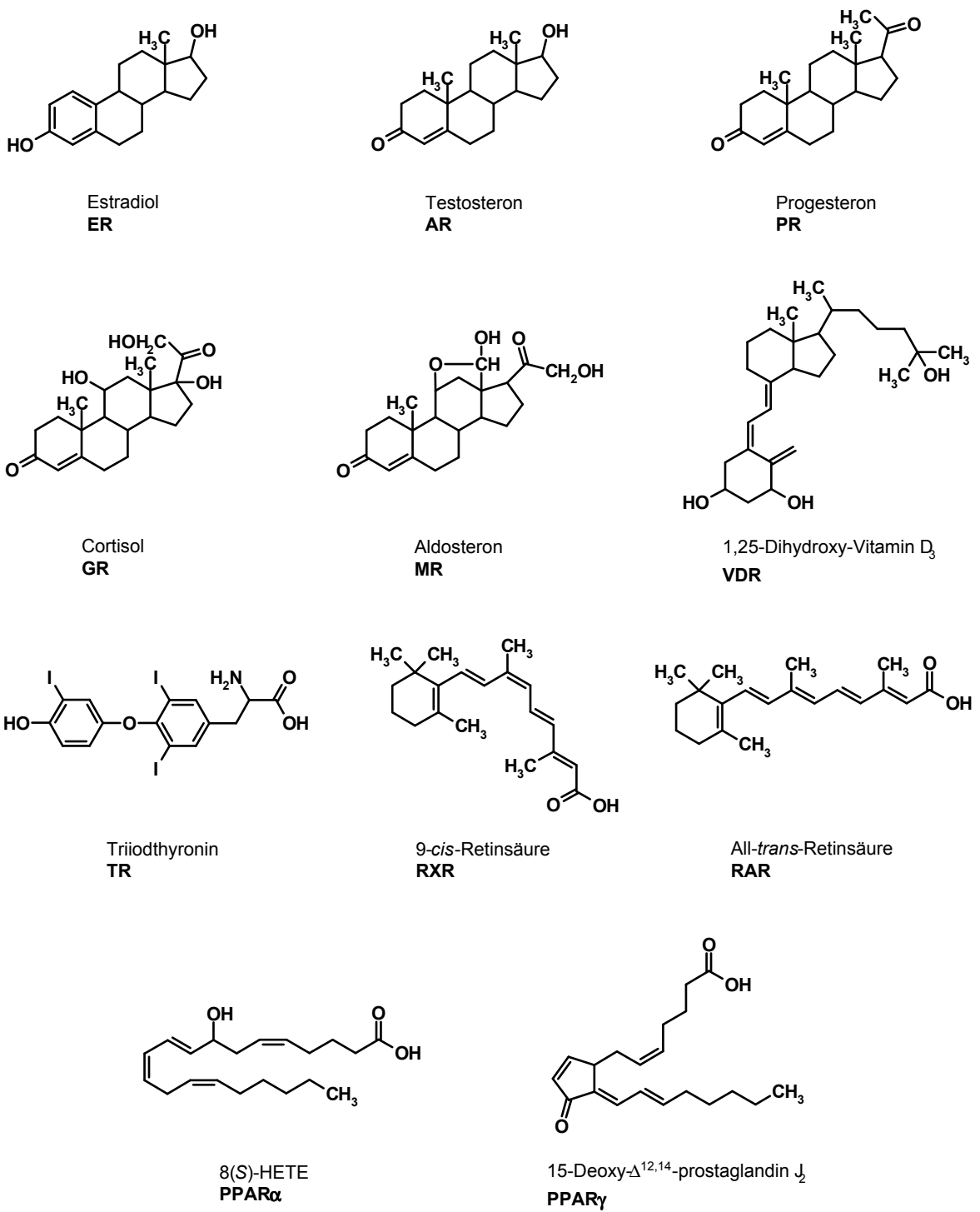


Abb. 1: Natürliche Liganden nukleärer Rezeptoren. Der zugehörige Rezeptor ist fett gedruckt.

1.1.1 Struktur nukleärer Rezeptoren

Der Aufbau nukleärer Rezeptoren besteht im Allgemeinen aus fünf funktionellen Domänen, die alphabetisch vom Amino- zum Carboxy-Terminus des Proteins angeordnet sind. Abbildung 2 illustriert den prinzipiellen Aufbau nukleärer Rezeptoren.

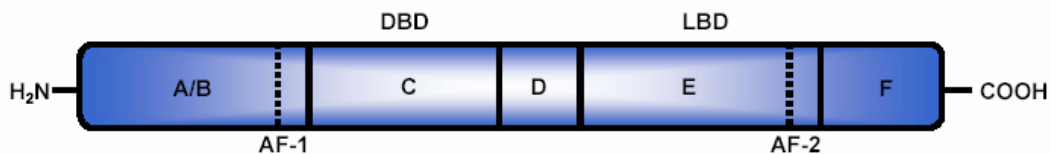


Abb. 2: Prinzipieller Aufbau nukleärer Rezeptoren.

Die A/B-Domäne ist am N-terminalen Ende des Rezeptors lokalisiert und beinhaltet eine autonome transkriptionelle Aktivierungsfunktion, die als AF-1 bezeichnet wird. Die Beteiligung der AF-1-Region an der ligandunabhängigen Aktivierung des Rezeptors durch Phosphorylierung gilt als gesichert.⁵ Die A/B-Domäne nukleärer Rezeptoren variiert stark in Länge und Sequenz und erstreckt sich zum Beispiel im VDR über 23 Aminosäuren, wohingegen der Proteinbereich der A/B-Region des MR 602 Aminosäuren umfasst.⁶ Die zentral lokalisierte Domäne C stellt die DNA-Bindungsdomäne (DBD) dar, welche das sogenannte Responselement (RE) in der Promotor-Region des Targetgens über zwei Zinkfinger erkennt und an die DNA bindet. Die DBD gilt als die am stärksten konservierte Domäne nukleärer Rezeptoren und umfasst ungefähr 66-70 Aminosäuren.⁶ Domäne D fungiert als Verknüpfungselement (auch *hinge*-Region oder Linker genannt) zwischen den Domänen C und E und weist eine flexible Struktur auf. Verschiedene NRs zeigen beachtliche Unterschiede bezüglich der Sequenz und Länge von Domäne D. Domäne E wird als Ligandenbindungsdomäne (LBD) bezeichnet und beherbergt eine transkriptionelle Aktivierungsfunktion 2 (AF-2), welche im Gegensatz zur transkriptionellen Aktivierungsfunktion 1 (AF-1) für die ligandabhängige Aktivierung der Transkription verantwortlich ist. Die LBD beschreibt somit jene Proteinsequenz des Rezeptors, an welche der Ligand letztendlich bindet, bietet aber auch Bindungsstellen zur Interaktion mit Homo- bzw. Heterodimerisierungspartnern, Korepressoren und Koaktivatoren. Domäne F befindet sich am C-terminalen Ende des nukleären Rezeptors und ist bisweilen von unbekannter Funktion.⁷

Die hoch konservierte DBD nukleärer Rezeptoren erstreckt sich über einen Bereich von 66-70 Aminosäuren. Die DNA-Bindung erfolgt durch zwei charakteristische Zinkfinger, in

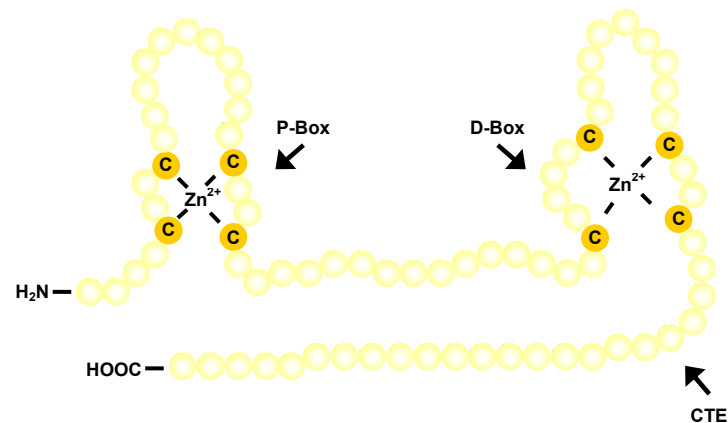


Abb. 4: DBD nukleärer Rezeptoren. Innerhalb der beiden Zink-Finger koordinieren jeweils vier Cysteine (C) ein Zink-Ion. Die beiden Zink-Bindungsmotive werden durch die P-Box (Erkennungshelix) und die D-Box (Dimerisierungshelix) beschrieben und sind durch ihre U-förmige Faltung charakterisiert.

Die im vorangegangenen Abschnitt erläuterte Beschreibung der Struktur der DBD nukleärer Rezeptoren trifft im Allgemeinen ebenso auf die PPARs zu.

Die Struktur der LBD nukleärer Rezeptoren wird im Folgenden am Beispiel der Struktur der LBD des Retinoid X Rezeptors (RXR) (Abb. 5 a) und des Retinsäure-Rezeptors (RAR)

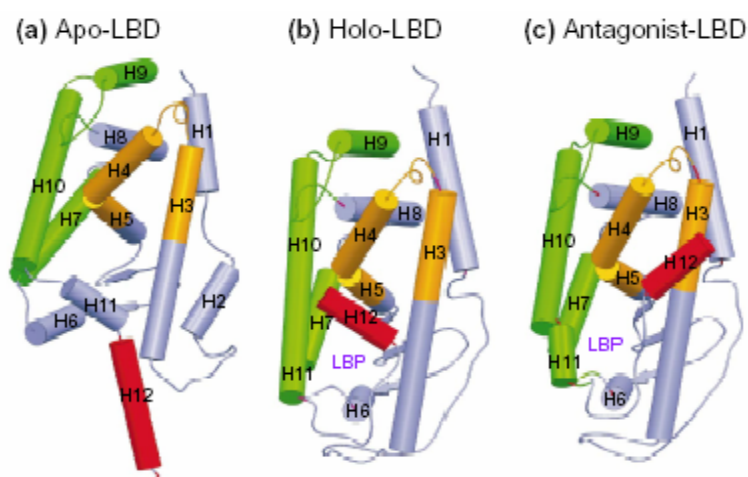


Abb. 5: Schematische Darstellung verschiedener Konformationszustände von NR-LBDs. (a) apo-RXR-LBD (apo = ohne Ligand), (b) holo-RAR-LBD (holo = Agonist-gebunden). α -Helices sind als Zylinder, β -turns als Pfeile dargestellt. Die verschiedenen Regionen der LBD sind funktionsabhängig farblich markiert. Dimerisierungsfläche (grün), Koaktivator- und Korepressor-Bindungsstellen (orange), Aktivierungshelix H12 (rot), andere (violett).¹⁵

Die LBD des RXR besteht wie die LBDs der meisten NRs aus 12 α -Helices (H1 bis H12) und einem kurzen β -turn (β -Stränge s1 und s2), welcher eine „hairpin-Struktur“ ausbildet. Die 12 α -Helices sind in drei Ebenen organisiert und bilden somit einen antiparallelen „ α -helicalen Sandwich“. Helices H4, H5, H8, H9 und der N-terminale Teil von H11 befinden sich in zentraler Position umgeben von den Helices H1, H2 und H3 (erste Schicht) und den Helices H6, H7 und H10 (zweite Schicht) (siehe Abb. 5 a). Die β -Stränge s1 und s2 sind

zwischen den Helices H5 und H6 in der mittleren Schicht des „ α -helicalen Sandwiches“ lokalisiert und stellen einen wichtigen Teil der hydrophoben Ligandenbindungstasche (LBP, *ligand binding pocket*) dar. Die auf das gesamte Protein übergreifende Faltung wurde als prototypisch für LBDs nukleärer Rezeptoren beschrieben und ist mehrfach belegt.¹⁶ Der Vergleich zwischen der Struktur der apo-RXR-LBD und der der holo-RAR-LBD fokussiert einige Differenzen. Ein bemerkenswerter Unterschied besteht in der Umpositionierung der C-terminalen Helices. In der Kristallstruktur der apo-RXR α -LBD (Abb. 5 a) steht Helix 11 nahezu senkrecht zu Helix 10 und zeigt in Richtung der LBP. Aufgrund dieser Ausrichtung kann die Ligandenbindungstasche von den hydrophoben Resten von H11 teilweise gefüllt und stabilisiert werden. Helix 12, welche die ligandabhängige Aktivierungsfunktion 2 (AF-2) beinhaltet, erstreckt sich in entgegengesetzter Richtung der LBD und ist somit der LBP abgewandt. Im Gegensatz zur Struktur der apo-NR-LBD bildet H11 im Agonist-gebundenen Fall (holo-NR-LBD) sozusagen eine direkte lineare Verlängerung zu H10 aus (Abb. 5 b), sodass H12 die LBP flankiert. Die Ligandbindung bewirkt also eine Konformationsänderung des Proteins, indem Helix 12 in Richtung der LBP („nach innen“) flippt.

1.1.1.1 Konformationsänderung der LBD durch Agonisten

Agonisten induzieren durch ihre Bindung an den Rezeptor und die daraus resultierende Konformationsänderung der LBD eine Bindungsstelle, an die Koaktivatoren nach Rekrutierung binden können. Die Rekrutierung von Koaktivatoren ist die direkte Konsequenz der Agonist-induzierten Konformationsänderung, welche die Bindungsstelle für Koaktivatoren generiert. Die Interaktion nukleärer Rezeptoren mit Koaktivatoren führt letztendlich zu einer Aktivierung der allgemeinen Transkriptionsmaschinerie. Agonisten induzieren somit eine Konformation der LBD nukleärer Rezeptoren, in der die holo-Position von Helix 12 fest stabilisiert ist. Aufgrund dieser Konformation von H12 bildet sich eine Furche, umgeben von H3, H4 und Loop L3-4, in der die NID (*nuclear receptor interacting domain*) des Koaktivators über sein LxxLL-Motif (L: Leucin, x: beliebige Aminosäure) binden kann. Die Bindung des Koaktivators an

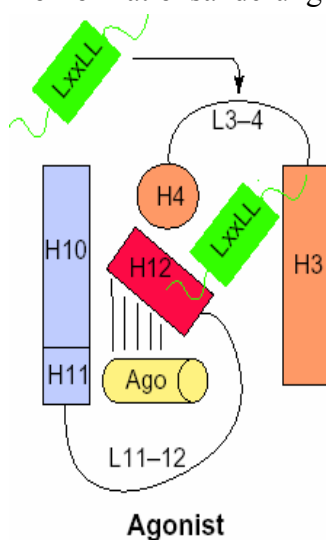


Abb. 6: Schematische Darstellung der Konformation der LBD nukleärer Rezeptoren bei Bindung eines Agonisten.¹⁵

die LBD wird sowohl durch hydrophobe Wechselwirkungen als auch durch

Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert. Diese durch einen agonistischen Liganden vermittelte aktive Konformation der LBD (vgl. Abb. 5 (b) bzw. Abb. 6) ermöglicht die Bindung eines Koaktivators über dessen LxxLL-Motif an Helix 12.¹⁵

1.1.1.2 Konformationsänderung der LBD durch Antagonisten

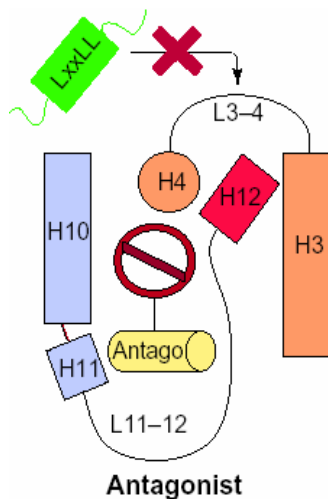


Abb. 7: Schematische Darstellung der Konformation der LBD nukleärer Rezeptoren bei Bindung eines Antagonisten.¹⁵

Antagonisten unterdrücken aufgrund ihrer sperrigen Substituenten die eigentliche Positionierung von Helix 12 in ihre aktive holo-Position. Helix 12 verlagert sich somit aufgrund der Umpositionierung von Helix 11 durch eine Drehung um 120 °C im Uhrzeigersinn in Richtung des N-Terminus der LBD und blockiert die sogenannte hydrophobe Furche (ausgebildet von H3, H4 und L3-4), welche im Falle der Bindung eines Agonisten als Bindungsstelle des Koaktivators fungiert. Zusammenge-nommen weist die Antagonist-induzierte Konformations-änderung von Helix 12 einen möglichen Mechanismus für das Wirkprinzip eines Antagonisten auf, da die Bindungsstelle des Koaktivators nicht generiert werden kann. Antagonisten verhindern somit die Bindung von Koaktivatoren an H12 und unterdrücken die Aktivierung der allgemeinen Transkriptions-maschinerie nukleärer Rezeptoren.¹⁵

1.1.1.3 Konformationsänderung der LBD durch partielle Agonisten/Antagonisten

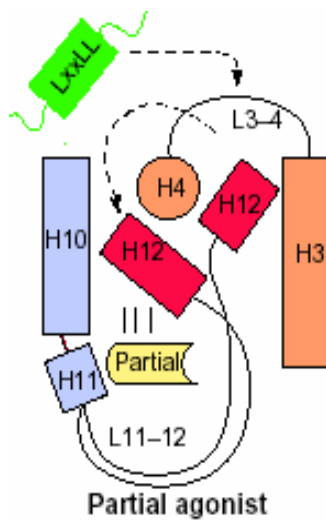


Abb. 8: Schematische Darstellung der Konformation der LBD nukleärer Rezeptoren bei Bindung eines partiellen Agonisten/Antagonisten.¹⁵

Bezogen auf die Struktur der LBD zeigen partielle Agonisten bzw. partielle Antagonisten einige, aber nicht alle Eigenschaften voller Agonisten bzw. Antagonisten. Der hauptsächliche Unterschied zwischen partiellen und vollen Antagonisten liegt in deren sterischen Eigenschaften, wobei partielle Antagonisten keine derart sperrigen Substituenten tragen. Partielle Antagonisten bewirken keine sterische Hinderung der aktiven agonistischen H12 Position und verhalten sich somit diesbezüglich ähnlich den vollen Agonisten. Trotzdem induzieren partielle Agonisten/Antagonisten eine Konformationsänderung von H11, so dass H12 die Antagonisten-Position einnehmen kann. Diesbezüglich verhalten sich partielle Agonisten/Antagonisten ähnlich den vollen Antagonisten. In Gegenwart derartiger gemischter Liganden ist die aktive holo-Konformation von H12 nur schwach stabilisiert. Die Position von H12 hängt von der intrazellulären Konzentration der Koaktivatoren bzw. Korepressoren ab. Obwohl H12 die Antagonist-Konformation annehmen kann, wurde eine schwache aber eindeutige Transkriptionsaktivierung durch partielle Agonisten/Antagonisten nachgewiesen.¹⁵

1.1.2 DNA-Bindungselemente nukleärer Rezeptoren

Nukleäre Rezeptoren regulieren die Transkription, indem sie im Bereich der DBD an spezifische DNA-Sequenzen ihrer Zielgene binden. Diese spezifischen DNA-Sequenzen werden als Hormon-Responselemente (HRE) bezeichnet. HREs nukleärer Rezeptoren bestehen im Allgemeinen aus sechs Basenpaaren, also einem Nukleotid-Hexamer der Konstitution AG(G/T)TCA. Eine Ausnahme bilden die Steroid-Rezeptoren (NRs der Subfamilie III, vgl. Tab. 1), welche das Erkennungsmotiv AGAACA aufweisen. An dieser Stelle soll bemerkt sein, dass die genannten Erkennungsmotive idealisierte Sequenzen repräsentieren, natürlich auftretende HREs können signifikante Variationen des Erkennungsmotivs zeigen. Nukleäre Rezeptoren binden in Form von Monomeren, Homodimeren oder Heterodimeren in den regulierenden Bereichen ihrer Zielgene an die entsprechenden Responselemente (s. Abb. 9).

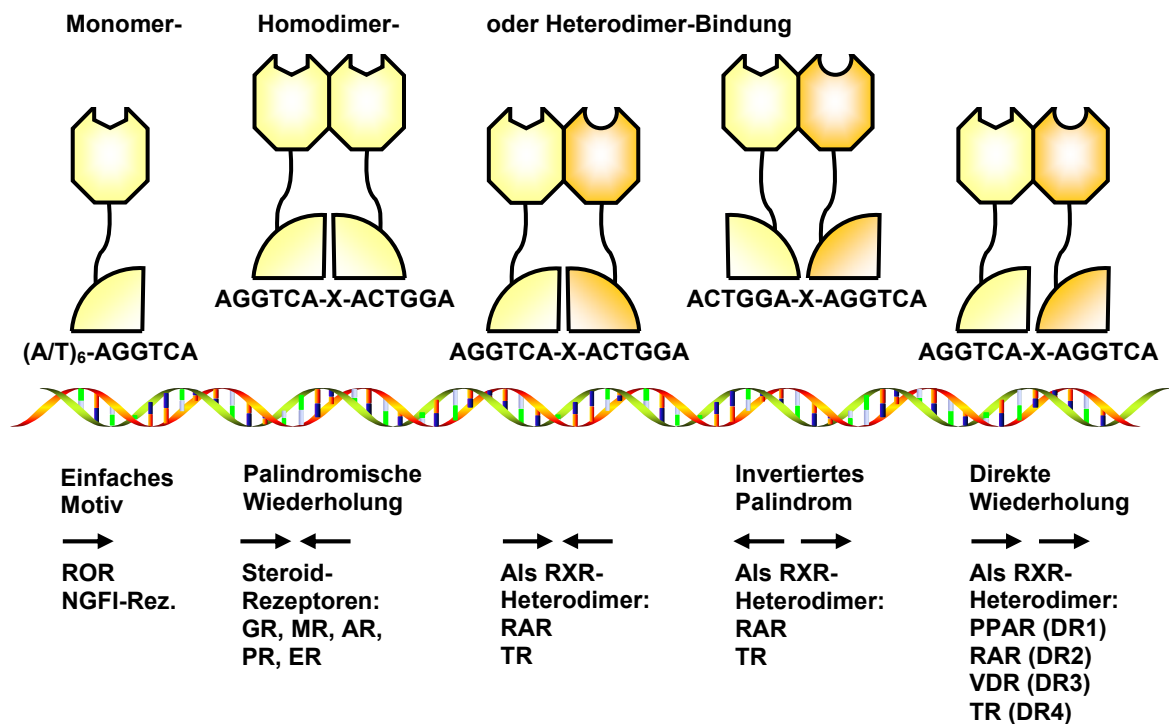


Abb. 9: Responselemente nukleärer Rezeptoren. Kreisviertel: DNA-Sequenz des HRE, modifizierte Achtecken: Ligand-gebundener nukleärer Rezeptor, X: Nukleotid-Spacer.

Als korrespondierender Bindungspartner zum Aufbau einer heterodimeren Bindung agiert in der Regel der Retinoid X Rezeptor (RXR). HREs bestehen typischerweise aus zwei hexameren Motiven und unterscheiden sich zum einen in der Symmetrie ihrer Anordnung und zum anderen in der Sequenz des Spacers X, der aufeinanderfolgende Nukleotid-Hexamere unterbricht. Die Erkennungsmotive sind entweder symmetrisch, d. h. als direkte oder invertierte palindromische Wiederholung des Nukleotid-Hexamers AG(G/A)TCA bzw. AGAACA konfiguriert, oder asymmetrisch als einfaches Motiv mit A/T-reichem Vorlauf bzw. als direkte Wiederholung (s. Abb. 9). Unter direkten Wiederholungen versteht man jene Motive, die aus zwei nacheinander fortlaufenden Hexameren bestehen (AGGTCA X AGGTCA), die von einem bis zu sechs Basenpaaren getrennt werden (DR0-DR6, *direct repeat*) und in die gleiche Richtung zeigen. Die Ausrichtung palindromischer Wiederholungen unterscheidet sich durch „nach innen“ (AGGTCA X ACTGGA) und „nach außen“ (ACTGGA X AGGTCA, invertierte palindromische Wiederholung) gerichteten Wiederholungen der Nukleotid-Hexamere.

Verschiedene „Waisen“-NRs binden mit hoher Affinität als Monomere an die DNA, wohingegen die Steroidrezeptoren fast ausschließlich als Homodimere binden. Obwohl einige nicht-steroidale NRs ebenso als Homodimere binden können, binden diese

bevorzugt als Heterodimere an die DNA, da die Heterodimerisierung die Effizienz der DNA-Bindung und der transkriptionalen Aktivität stark erhöht. Typische Vertreter der bevorzugten Heterodimerisierung sind die Rezeptoren PPAR, TR, RAR und VDR.¹⁷⁻²⁰

1.1.3 Das Prinzip der Signalübertragung durch nukleäre Rezeptoren

Die Signalübertragung durch nukleäre Rezeptoren ist in Abb. 10 schematisch dargestellt. Nukleäre Rezeptoren entfalten ihre Wirkung im Zellkern und haben die Funktion von Transkriptionsregulatoren, deren Aktivität durch das zugeordnete Hormon (endogener Ligand) gesteuert wird. Sie sind im Cytosol oder im Zellkern lokalisiert.

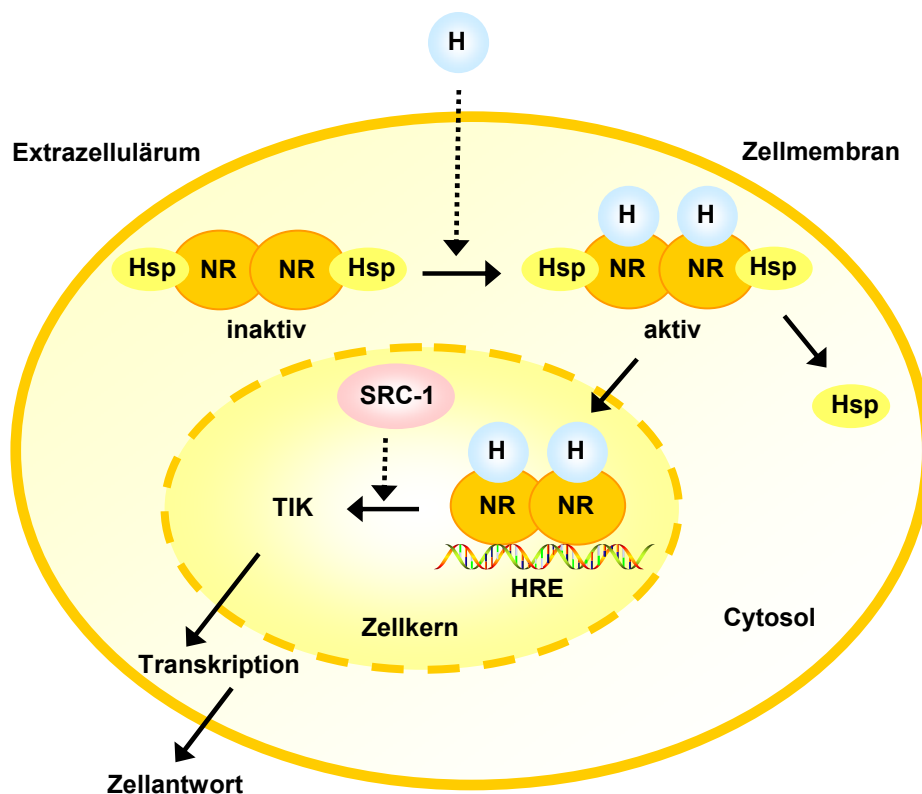


Abb. 10: Das Prinzip der Signalübertragung durch nukleäre Rezeptoren. H: Hormon, NR: Nukleärer Rezeptor, Hsp: Hitzeschockprotein, HRE: Hormonresponseelement, TIK: Transkriptions-Initiations-Komplex, SRC-1: *Steroid Receptor Co-activating Factor-1*.

Aufgrund ihrer lipophilen Natur können natürliche Liganden nukleärer Rezeptoren die Zellmembran in passiver Weise passieren und im Cytosol an den zunächst inaktiven als Dimer vorliegenden und mit Hitzeschockproteinen (Hsp) assoziierten Rezeptorkomplex binden. Die Bezeichnung Hsp geht auf die Beobachtung zurück, dass diese Proteine bei Hitzebehandlung vermehrt gebildet werden. Die Bindung des Hormons an den inaktiven

Aporezeptorkomplex führt zur Aktivierung des Rezeptors und löst nach Abdissoziation der Hitzeschockproteine die Translokation des Rezeptors in den Zellkern aus. Der Ligand-Rezeptorkomplex bindet über spezifische Responseelemente (HREs) an die DNA und initiiert nach Bindung eines spezifischen Koaktivators (z. Bsp. SRC-1, *Steroid Receptor Co-activating Factor-1*) und der daraus resultierenden Bildung des Transkriptions-initiationskomplexes, die Transkription.²¹

1.2 Peroxisomen Proliferator-Aktivierte Rezeptoren (PPARs)

Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) gehören zur Familie der nukleären Rezeptoren (s. Kap. 1.1) und wurden aufgrund phylogenetischer Untersuchungen der Subfamilie I der NRs zugeordnet (s. Kap. 1.1, Tab. 1).²² PPARs funktionieren wie alle NRs als ligandabhängige Transkriptionsfaktoren. Sie regulieren die Genexpression, indem sie nach Ausbildung eines heterodimeren Komplexes (s. Abb. 11) mit dem Retinoid X Rezeptor (RXR), PPAR-Responseelemente (PPREs) erkennen, welche in der Promotorregion des Zielgens lokalisiert sind.²³

Bislang konnten drei Subtypen der PPARs zum einen in Menschen (hPPARs, *human PPARs*) und zum anderen in Mäusen (mPPARs, *mouse PPARs*) identifiziert werden,²⁴ welche mit PPAR α , PPAR β und PPAR γ benannt sind. In diesem Zusammenhang soll bemerkt sein, dass der Subtyp PPAR β oftmals den Alternativnamen PPAR δ trägt, wobei beide Subtypen als identisch erwiesen wurden.²⁵ PPAR α ist in Leber, Herz, Muskulatur, Niere und Arterienwand exprimiert, PPAR β kommt ubiquitär vor und PPAR γ wurde im Intestinum und im Fettgewebe nachgewiesen.²⁶

1.2.1 Funktionelle Domänen der PPARs

PPARs sind wie alle nukleäre Rezeptoren (s. Kap. 1.1.1) in fünf funktionellen Domänen organisiert (s. Abb. 12). Die N-terminale A/B-Region beinhaltet eine autonome transkriptionelle Aktivierungsfunktion (AF-1) und zeigt eine geringe Sequenzidentität zwischen den Isoformen PPAR α , PPAR β und PPAR γ . Die DBD aller PPAR-Isoformen ist hoch konserviert und erkennt über zwei Zink-finger, welche durch die Koordination von vier Cysteinen mit je einem Zn²⁺-Ion zustande kommt, das PPAR-Responseelement (PPRE). Das PPRE besteht bei allen drei PPAR-Subtypen aus einer direkten Wiederholung des Hexanukleotids AGGTCA, welche durch das Nukleotid Adenin (A) unterbrochen ist (s. Abb. 11). Die entsprechende Konsensussequenz des PPREs kann somit durch die Abfolge 5'-AGGTCA A AGGTCA-3' dargestellt werden und wird auch als DR-1 (*Direct Repeat*) Element bezeichnet. Die DBD des PPAR β zeigt relativ zur DBD des PPAR α eine 86%ige Sequenzidentität, die Sequenz der DBD des PPAR γ ist zu 83% mit der des PPAR α identisch. Der Proteinbereich der DBD aller drei PPAR-Isoformen erstreckt sich über eine Länge von 65 Aminosäuren. Die an die DBD anschließende *hinge* Region fungiert als Verknüpfungselement zwischen der DBD und der LBD. Die Ligandenbindungsdomäne

(LBD) beherbergt eine ligandabhängige transkriptionelle Aktivierungsfunktion (AF-2) und bindet zum einen das entsprechende Hormon bzw. den entsprechenden Liganden, zum anderen verfügt die LBD der PPARs über Bindungsstellen zur Bindung eines zweiten

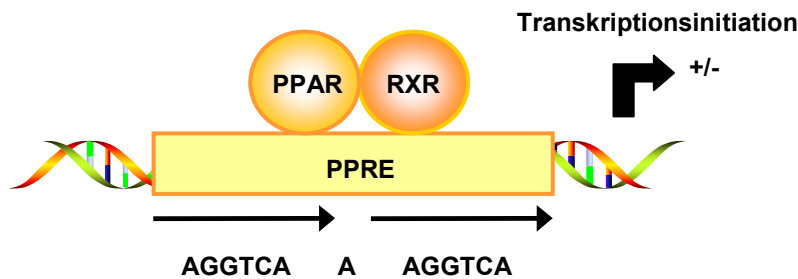


Abb. 11: Regulation der Transkription von Targetgenen durch PPARs. Das PPAR/RXR-Heterodimer bindet in den regulatorischen Regionen der Targetgene an ein DR-1 Responseelement (PPRE). Die Bindung eines agonistischen Liganden an das Heterodimer führt zur Rekrutierung von Koaktivatoren (hier nicht gezeigt) und es kommt zur Transkription.

nukleären Rezeptors, dem Retinoid X Rezeptor (RXR). Eine charakteristische Eigenschaft der PPARs ist die Bildung eines Heterodimers mit dem Retinoid X Rezeptor (PPAR-RXR), worauf die DNA-Bindung an das PPRE als Heterodimer folgt. Im Gegensatz zur

DBD befindet sich die LBD der PPARs am C-terminalen Ende des Rezeptors. Die Aminosäuresequenz der LBD des PPAR β zeigt in Relation zu der des PPAR α eine Übereinstimmung von 70%, wohingegen die LBD des PPAR γ zu 68% mit der des PPAR α identisch ist. Auch die Länge der Proteinabschnitte der LBDs unterscheidet sich in den einzelnen PPAR-Subtypen. Die LBD des PPAR α besteht aus 224 Aminosäuren, wohingegen die LBDs des PPAR β und des PPAR γ 226 Aminosäuren umfasst.

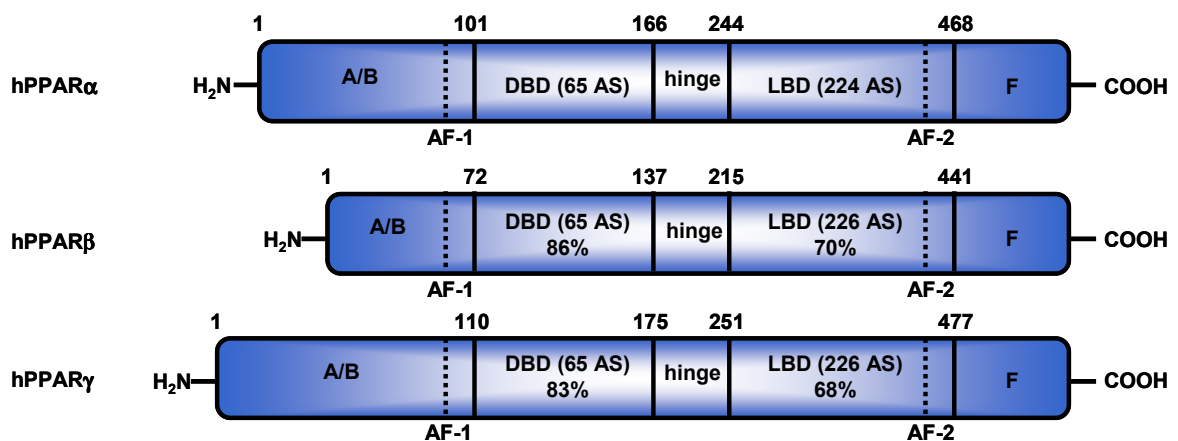


Abb. 12: Fünf-Domänen-Struktur der PPARs. Der Prozentsatz innerhalb der DBD und LBD der Subtypen steht für die prozentuale Sequenzidentität relativ zu PPAR α . AS: Aminosäure.

Im Gegensatz zu der relativ hohen Sequenzidentität der subtypischen DBDs besteht eine signifikante Sequenzvarianz der einzelnen LBDs bezüglich der Aminosäurereste, die die

sogenannte Ligandenbindungstasche (LBP, *ligand binding pocket*) umgeben. Diese Tatsache reflektiert den pharmakologischen Unterschied zwischen den PPAR-Subtypen. Domäne F ist bisweilen von unbekannter Funktion.^{25,27,28}

1.2.2 Natürliche Liganden der PPARs

Als natürliche Liganden der PPARs gelten sowohl gesättigte als auch ungesättigte Fettsäuren, Eicosanoide und Prostaglandine (s. Abb. 13). Gesättigte Fettsäuren wie Stearin- und Palmitinsäure (hier nicht gezeigt) binden zum einen selektiv an den Subtyp PPAR α und sind PPAR γ -inaktiv, zum anderen weisen sie aber eine weitaus schwächere PPAR α -Aktivität verglichen mit den ungesättigten Fettsäuren auf. Die ungesättigten Fettsäuren Linolsäure, Arachidonsäure und Eicosapentaensäure binden an alle drei PPAR-Subtypen mit EC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich. Exemplarische Vertreter der Klasse der Eicosanoide, die als PPAR α -Agonisten fungieren, sind 8(S)-HETE und LTB₄. PPAR γ bindet bevorzugt die Eicosanoide 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂, 9-HODE, 13-HODE und 8(S)-HETE. Eicosanoide sind Metabolisierungsprodukte der Arachidonsäure, welche entweder durch Einwirkung von Lipoxygenasen zu Leukotrienen (LTs) und Hydroxyeicosatetraensäuren (HETEs) oder durch Cyclooxygenasen (COX) zu Prostaglandinen (PGs) metabolisiert werden kann.^{25,27,28}

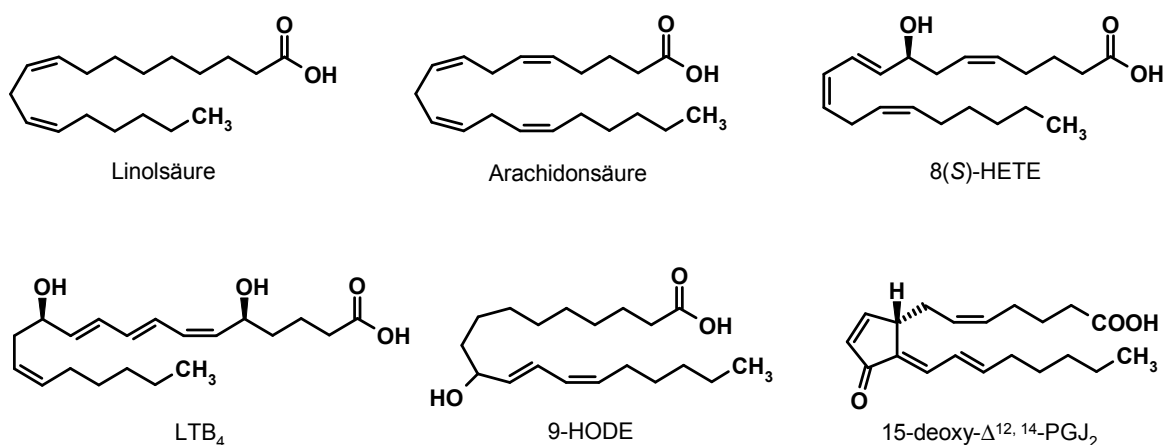


Abb. 13: Natürliche Liganden der PPARs.

1.2.3 Synthetische Liganden der PPARs

1.2.3.1 Selektive PPAR α -Agonisten

Da die meisten PPAR α -Agonisten eine duale PPAR α / γ - oder sogar PPARpan-Aktivität (PPAR α / β / γ -Aktivatoren) zeigen, gestaltet sich die eindeutige Abgrenzung von PPAR α -, β - und γ -Agonisten schwierig. Im Folgenden bezieht sich die Bezeichnung selektive PPAR α -Agonisten auf solche PPAR-Liganden, die eine eindeutige PPAR α -Präferenz aufweisen.

Fibrate gehören zur Gruppe der Aryloxyalkancarbonsäurederivate und wurden bereits vor der Entdeckung der PPARs als Lipidsenker (Antihyperlipidämika) mit unbekanntem Wirkungsmechanismus eingesetzt. Als repräsentative Vertreter der Fibrate mit PPAR-agonistischer Aktivität seien im Folgenden Clofibrat, Fenofibrat und Bezafibrat (s. Abb. 14) genannt. Die EC₅₀-Werte von Clofibrat, Fenofibrat und Bezafibrat sind in Tab. 3 aufgeführt.

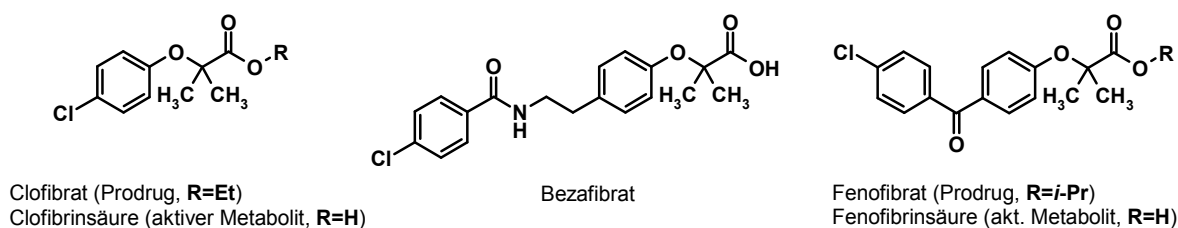


Abb. 14: (Selektive) PPAR α -Agonisten: Fibrate.

Clofibrinsäure und Fenofibrinsäure, welche aktive Metaboliten der Prodrugs Clofibrat bzw. Fenofibrat darstellen, zeigen eine duale PPAR α / γ -Aktivität jedoch mit einer 10-15fachen PPAR α -Selektivität. Bezafibrat aktiviert alle drei PPAR-Subtypen in vergleichbaren Dosen und gehört somit eigentlich zur Klasse der PPARpan-Agonisten.²⁸ Bemerkenswerterweise standen seit Beginn des klinischen Gebrauchs der Fibrate vor mehr als zwanzig Jahren bis zum Ende der neunziger Jahre keine neuen selektiven PPAR α -Agonisten für pharmakologische Untersuchungen zur Verfügung. Neue selektive PPAR α -Agonisten sind Phenoxyessigsäurederivate bzw. Phenylsulfanylessigsäurederivate und Phenylpropansäurederivate.²⁹ Phenoxyessigsäurederivate bzw. Phenylsulfanylessigsäurederivate (s. Tab. 2) wurden von *GlaxoSmithKline*, *Lilly* und *Bayer* entwickelt. GW 9578 (s. Tab. 2), ein Phenylsulfanylessigsäurederivat, erwies sich als der potenteste Vertreter der Substanzserie der Firma *GlaxoSmithKline* und zeichnet sich durch seinen potenten PPAR α -Agonismus mit 300facher Selektivität am murinen Rezeptor und 20facher

Selektivität am humanen Rezeptor aus (vgl. Tab. 3).³⁰ *Lilly* brachte eine Serie von Phenoxyessigsäurederivaten heraus. Die repräsentative Substanz LY 518674 (s. Tab. 2) trägt einen Triazolon-Linker und zeigt selektive PPAR α -Aktivität am humanen Rezeptor (s. Tab. 3).³¹ Erst kürzlich gab *Bayer* eine weitere Serie der Phenoxyessigsäurederivate bekannt. Der repräsentative Vertreter **1** (s. Tab. 2) zeigt ebenso selektive PPAR α -Aktivität mit EC₅₀-Werten im Bereich von 0.04-200 nM.³² Diese innovative Struktur ist durch die Einführung verzweigter hydrophober terminaler Reste, welche einen Heterozyklus beinhalten, charakterisiert. Des Weiteren stehen α -substituierte Phenylpropansäurederivate der Firma *Kyorin* als potente selektive PPAR α -Agonisten im Fokus. Im Gegensatz zum *R*-Stereoisomer zeigt das *S*-Stereoisomer **2** (s. Tab. 2) eine 100fache PPAR α -Selektivität mit EC₅₀-Werten im nanomolaren Bereich (s. Tab. 3).³³ Obwohl Phenoxyessigsäurederivate und α -substituierte Phenylpropansäurederivate als potente selektive PPAR α -Agonisten im Mittelpunkt stehen, wurden zudem Carbonsäurederivate anderer Substanzklassen als potente selektive PPAR α -Agonisten identifiziert.²⁹ *Nippon Shinyaku* bereicherte den Pool selektiver PPAR α -Agonisten durch eine Serie von 1,3-Dioxan-2-carbonsäurederivaten. Die in Tab. 2 gezeigte Substanz NS 220 zeigt eine 3000fache PPAR α -Selektivität gegenüber den Subtypen PPAR β und PPAR γ .³⁴ *Merck* berichtete über *meta*-substituierte Benzoessäurederivate mit selektiver PPAR α -agonistischer Wirkung.³⁵ Als potentester selektiver PPAR α -Aktivator ist Verbindung **3** in Tab. 2 gezeigt. *Eisai* veröffentlichte eine Serie von Biphenylcarbonsäuren, wobei das repräsentative 3-Biphenylcarbonsäurederivat **4** eine selektive PPAR α -Potenz im subnanomolaren Bereich zeigt.³⁶ *Aventis* entwickelte Benzoessäurederivate, welche die Strukturelemente eines 2-Aryloxazolrests gekoppelt mit einem Cycloalkandiol und/oder Cycloalkendiol in der Linker-Region des Moleküls enthalten. Das Derivat **5** verfügt über einen EC₅₀-Wert (PPAR α) von 0.3 nM.³⁷ Des Weiteren bildet die Carbonsäure WY 14643 (Pirinixinsäure) (s. Tab. 2), deren EC₅₀-Werte im mikromolaren Bereich liegen (s. Tab. 3), zum einen durch ihren PPAR-aktivierenden Effekt als auch aufgrund ihrer hypolipidämischen Eigenschaften einen zentralen Bestandteil der Substanzbibliothek selektiver PPAR α -Agonisten.^{22,28,38}

Name	Struktur	<i>In vivo</i> -Effekt
GW 9578		↓ LDLc 40-60 %
LY 518674		↑ HDLc 208 % ↓ TG 96 %
1 Bayer		keine Angabe
2 Kyorin		↓ TG 56 % ↓ FF 69 % ↓ GC 35 %
NS 220		↓ TG 71 % ↓ Glucose 21 % ↓ VLDLc 50 % ↑ HDLc 34 %
3 Merck		keine Angabe

Tabelle 2: Selektive PPAR α -Agonisten und deren *in vivo*-pharmakologische Effekte. LDLc: *Low Density Lipoprotein Cholesterol*, HDLc: *High Density Lipoprotein Cholesterol*, VLDLc: *Very Low Density Lipoprotein Cholesterol*, FF: Freie Fettsäuren, GC: Gesamt-Cholesterol, TG: Triglyceride.

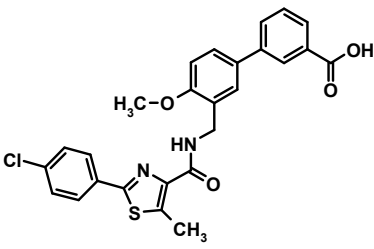
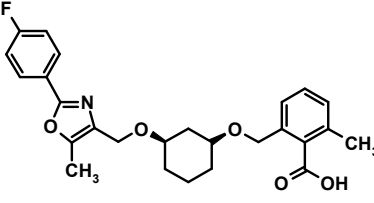
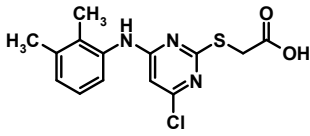
Name	Struktur	In vivo-Effekt
4 Eisai		keine Angabe
5 Aventis		keine Angabe
WY 14643		↓ GC 23.5 % ↓ TG 30.9 %

Tabelle 2 Fortsetzung

	Muriner Rezeptor			Humaner Rezeptor			Lit.
	EC ₅₀ (μM)			EC ₅₀ (μM)			
	PPARα	PPARβ	PPARγ	PPARα	PPARβ	PPARγ	
Clofibrat	50	ia bei 100	~500	55	ia bei 100	~500	28
Fenofibrat	18	ia bei 100	250	30	ia bei 100	300	28
Bezafibrat	90	110	55	50	20	60	28
GW 9578	0.005	2.6	1.5	0.05	1.4	1	30
LY 518674		keine Angabe		0.042	ia bei 10	ia bei 10	31
1 Bayer			keine Angabe				32
2 Kyorin ^a		keine Angabe		0.04	3.6	0.4	33
NS 220			keine Angabe				34
3 Merck			keine Angabe				35
4 Eisai			keine Angabe				36
5 Aventis			keine Angabe				37
WY 14643	0.63	ia bei 100	32	5	35	60	28

Tabelle 3: Aktivitäten selektiver PPARα-Agonisten. ^aRacemat, ia: inaktiv, Lit.: Literaturstelle.

1.2.3.2 Selektive PPAR γ -Agonisten

Bisweilen wurde eine große Anzahl strukturell diverser synthetischer selektiver PPAR γ -Agonisten beschrieben. Die hinter diesem Kapitel stehende Intention besteht nicht in der erschöpfenden Auflistung aller strukturell einzigartiger selektiver PPAR γ -Liganden; im Fokus sollen Struktur-Wirkungs-Beziehungen und die Entwicklung der prominentesten

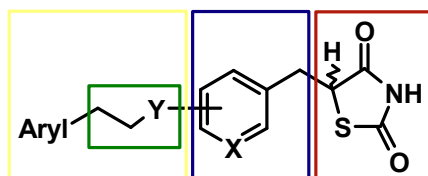


Abb. 15: Prinzipielle Struktur selektiver TZD-PPAR γ -Agonisten. Rot: acide TZD-Kopfgruppe, blau: zentraler Spacer, gelb: lipophiler Rest, grün: Linker.

Vertreter dieser Klasse stehen. Verbindungen der Klasse der Thiazolidindione (TZDs, Glitazone), welche auf dem charakteristischen 2,4-Thiazolidindion-Strukturmotiv basieren, wurden Mitte der neunziger Jahre erstmals als hochaffine selektive PPAR γ -Agonisten identifiziert.³⁹ Die antihyperlipidämische und Typ 2-antidiabetische Wirkung der TZDs, von der die Bezeichnung *Insulinsensitizer* abgeleitet ist, wurde

bereits Anfang der achtziger Jahre erkannt, jedoch ohne das entsprechende molekulare Target. Als wichtigste Vertreter der TZDs sind im Folgenden Rosiglitazon (Avandia®), Pioglitazon (Actos®) und Troglitazon (Rezulin®) repräsentiert, deren Subtyp-selektiver PPAR γ -agonistischer Charakter durch die Etablierung von Bindungs- und Transaktivierungsassays belegt ist (s. Tab. 4).^{40,41} Troglitazon wurde bereits im Jahr 2000 aufgrund starker Hepatotoxizität vom Markt genommen. Aufgrund dessen, dass Fettsäuren natürliche PPAR γ -Liganden darstellen (vgl. Kap. 1.2.2), überrascht es nicht, dass die strukturellen Anforderungen an PPAR γ -Agonisten u. a. in einer aciden Kopfgruppe (s. Abb. 15, rot, Thiazolidindion-Kopfgruppe), einem zentralen Aryl-Spacer (s. Abb. 15, blau) und einem lipophilen Rest (s. Abb. 15, gelb) besteht. Wie in Tab. 4 gezeigt, weisen TZDs eine derartige Grundstruktur auf.

Im Besonderen konnte gezeigt werden, dass ein heterozyklisches N-Atom im Bereich des lipophilen Restes eine drastische Verbesserung der PPAR γ -Affinität bewirkt, was durch die TZDs Rosiglitazon (Pyridylrest) (s. Tab. 4), AD 5061 (Oxazolylrest) (hier nicht gezeigt) und BRL 48482 (Benzoxazolylrest) (hier nicht gezeigt) veranschaulicht wird.^{41,42} Diese Tatsache lässt vermuten, dass das Heteroatom an Wasserstoffbrückenbindungen zu einem spezifischen Aminosäurerest der PPAR γ -LBD beteiligt ist. Diesbezüglich wurde von der Firma *Sankyo* eine Serie von Imidazopyridin-TZDs entwickelt, wobei der lipophile Rest, bestehend aus einem Imidazopyridingerüst, über einen Alkylether-Linker an den zentralen Spacer gekoppelt ist.⁴³ Im Folgenden werden die Strukturvariationen der TZDs

anhand jeweils eines exemplarischen Vertreters näher erläutert. Zunächst wurde an drei Positionen des Grundgerüsts der TZDs eine Strukturvariation vorgenommen (s. Abb. 15): (a) Substitution des Linkers (s. Abb. 15, grün) zwischen zentralem Spacer und dem lipophilen Rest, (b) Substitution der zentralen Spacer-Gruppe (s. Abb. 15, blau) und (c) Substitution der pharmakophoren TZD-Kopfgruppe (s. Abb. 15, rot) durch zyklische bioisostere Vertreter.

(a) Die klassischen TZDs beinhalten einen Alkylether-Linker (s. Tab. 4). In der Literatur werden Substitutionen dieses Alkylether-Linkers durch Alkylketone, Olefine⁴⁴ bzw. Substituenten mit Chroman-Struktur⁴⁵ diskutiert. Als exemplarischer Vertreter ist das TZD Darglitazon in Tab. 4 mit dessen Alkylketon-Linker aufgeführt.

(b) Die zentrale Spacer-Gruppe der klassischen TZDs besteht aus einem Phenylrest, welcher durch heterozyklische Phenylderivate wie zum Beispiel Dihydrobenzopyran bzw. Dihydrobenzopyran ersetzt wurde. Englitazon repräsentiert einen potenten selektiven PPAR γ -Agonisten mit einem Dihydrobenzopyran-Spacer (s. Tab. 4).⁴⁶

(c) *Pfizer* berichtete über die Entwicklung von bioisosteren Oxazolidindionen⁴⁷ bzw. Oxadiazolidindionen⁴⁸ mit potenter antidiabetischer Aktivität. Ein exemplarischer Vertreter mit Oxazolidindion-Kopfgruppe stellt Verbindung **6** in Tab. 4 dar.

1998 wurde eine Serie von α -Amino- β -phenylpropansäurederivaten,⁴⁹ welche sich von der Aminosäure Tyrosin ableiten und somit auch als Tyrosine bezeichnet werden, mit hoher PPAR γ -Selektivität gefunden. Als repräsentative Verbindung mit EC₅₀-Werten im subnanomolaren Bereich⁴² fungiert Farglitazar (s. Tab. 4). Aus diesen Ergebnissen konnten interessante Rückschlüsse bezüglich der Struktur-Wirkungs-Beziehungen der TZDs verglichen mit den Tyrosinen gezogen werden. Zum einen besitzen die *S*-Enantiomere der Tyrosine eine grössere Bindungsaffinität und eine höhere funktionale Aktivität am PPAR γ als die analogen *R*-Enantiomere, was im Einklang mit den Ergebnissen der TZDs steht. Zum anderen zeigen die Tyrosine eine größere Bindungsaffinität und eine höhere funktionale Aktivität am PPAR γ als ihre korrespondierenden TZDs. Somit ist zu vermuten, dass die 2-Benzoylphenylamino-Seitenkette der Tyrosine für weitere Ligand-Rezeptor-Interaktionen verantwortlich ist, welche die TZDs aufgrund ihrer Struktur nicht erfüllen können.

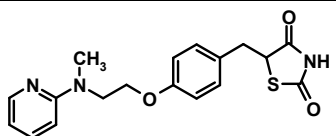
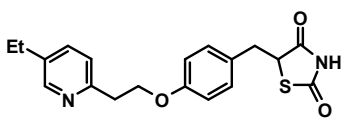
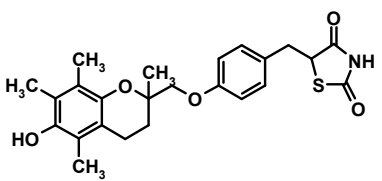
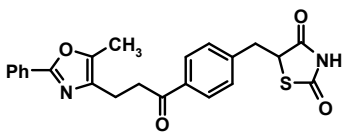
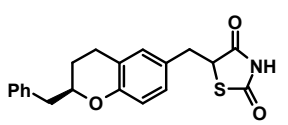
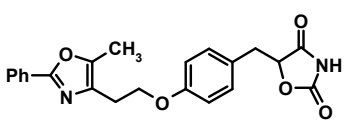
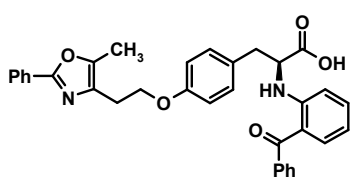
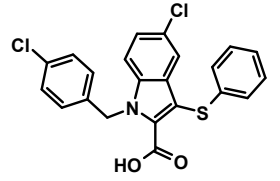
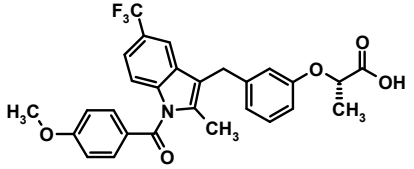
Name	Struktur	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ	Literatur
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	
Rosiglitazon		ia	ia	0.043	42
Pioglitazon		ia	ia	0.58	42
Troglitazon		ia	ia	0.55	42
Darglitazon		nb	nb	nb	44
Englitazon		nb	nb	nb	46
6		nb	nb	nb	47
Farglitazar		0.45	ia	0.00034	42
nTZDpa		kein Agonist	kein Agonist	0.057	51
Compound 24		na	na	0.002	52

Tabelle 4: Aktivitäten selektiver PPAR γ -Agonisten. ia: inaktiv bei 10 μ M, nb: nicht bestimmt, na: nicht angegeben.

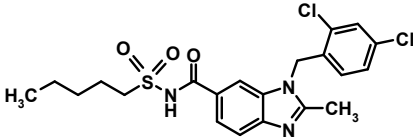
Name	Struktur	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ	Literatur
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	
FK 614		na	na	na	53

Tabelle 4 Fortsetzung

Obwohl die TZDs Rosiglitazon und Pioglitazon, welche selektive PPAR γ -Agonisten sind, eine signifikante klinische antidiabetische Wirkung zeigen, ist deren therapeutischer Gebrauch mit ungünstigen Nebenwirkungen wie Plasma-Volumen-Expansion, Ödemen, erhöhter Adipositas und Gewichtszunahme assoziiert.⁵⁰ Die klinische Applikation der TZDs ist somit durch die genannten unerwünschten Effekte limitiert. Ein wichtiger Meilenstein wurde durch die Charakterisierung des partialen PPAR γ -Agonisten nTZDpa (s. Tab. 4), ein potenter selektiver PPAR γ -Modulator vom nicht-TZD-Typ, gelegt.⁵¹ Die chronische Behandlung von diabetischen Mäusen mit nTZDpa zeigte positive Effekte bezüglich Hyperglykämie und Insulinresistenz. nTZDpa wirkt an PPAR α und β nicht agonistisch und ist in der Lage, die Aktivität des vollen PPAR γ -Agonisten Rosiglitazon zu antagonisieren. Compound 24 (s. Tab. 4), ebenso ein potenter selektiver partialer PPAR γ -Agonist der Klasse der Benzoyl-2-methyl-indole, zeigt mit einem EC₅₀-Wert von 0.002 μ M einen starken aktivierenden Effekt am hPPAR γ .⁵² Zudem wurde der nicht-TZD selektive PPAR γ -Modulator FK 614 (s. Tab. 4), welcher zur Klasse der Benzimidazole gehört, beschrieben. FK 614 befindet sich in klinischen Untersuchungen der Phase II und zeigt eine insulin-sensitivierende Wirkung.⁵³

1.2.3.3 Duale PPAR α / γ -Agonisten

Duale PPAR α / γ -Agonisten definieren sich als solche Moleküle, welche PPAR α und PPAR γ simultan binden und aktivieren. Der erste literaturbekannte duale PPAR α / γ -Agonist war das TZD-Derivat MK 0767 (auch als KRP 297 bekannt) (s. Tab. 5), welches hPPAR α und hPPAR γ annähernd gleichermaßen aktiviert (EC₅₀ (hPPAR α) = 1.0 μ M, EC₅₀ (hPPAR γ) = 0.8 μ M).⁵⁴ Die TZDs MK 0767 und TZD 18 supprimieren Hyperglykämie in T2DM-Nagern und zeigen lipidsenkende Eigenschaften an Nagern, Hamstern und Hunden. TZD 18 zeigt eine Transaktivierung an den humanen Subtypen PPAR α und γ mit EC₅₀-Werten von 0.026 μ M (hPPAR α) und 0.014 μ M (hPPAR γ).^{55,56}

Des Weiteren wurden einige Phenylpropansäurederivate mit dualer PPAR α / γ -Aktivität beschrieben. *Dr. Reddy's Research Foundation* entwickelte das α -Ethoxy- β -phenylpropansäurederivat Ragaglitazar (DRF 2725), welches eine Phenoxazin-Gruppe als lipophilen Rest trägt (s. Tab. 5). Ragaglitazar transaktiviert beide PPAR-Subtypen mit EC₅₀-Werten von 3.2 μ M (hPPAR α) und 0.57 μ M (hPPAR γ).⁵⁷ Es konnte gezeigt werden, dass Ragaglitazar an diabetischen Nagern hypoglykämisch wirkt und in *high-fat diet* Ratten den Triglycerid- und Cholesterolspiegel erniedrigt.⁵⁸ Phase II-Untersuchungen resultierten in der Reduktion erhöhter Plasma-Glucose-Hämoglobin-A_{1c}-Werte (HbA_{1c}), des Triglyceridspiegels, freier Fettsäuren und des Gesamtcholesterol-Spiegels. Zum anderen erhöht Ragaglitazar auf signifikante Weise das HDLc.⁵⁹ Tesaglitazar (AZ 242) (s. Tab. 5), welches zur Klasse der α -Ethoxy- β -phenylpropansäurederivate gehört, fungiert ebenso als dualer PPAR α / γ -Aktivator mit EC₅₀-Werten von 1.7 μ M (hPPAR α) bzw. 0.25 μ M (PPAR γ)⁶⁰ und befindet sich derzeit in klinische Phase III-Untersuchungen.⁶¹ *Eli Lilly* beschrieb eine neue Serie dualer PPAR α / γ -Agonisten, welche als Hybride bekannter selektiver PPAR α - und PPAR γ -Liganden verstanden werden können.⁶² Diese Analoga beinhalten - wie einige Fibrate (s. Abb. 14) - eine Phenoxyisobutansäure-Gruppe, welche über einen Alkylether-Linker an ein für potente selektive PPAR γ -Agonisten typisches 2-Phenyl-5-methyl-oxazol gebunden ist. Ein exemplarischer Vertreter dieser kombinierten Pharmakophore ist das Biphenylderivat **7** (s. Tab. 5), welches eine duale PPAR α / γ -Aktivität (EC₅₀ (hPPAR α) = 0.15 μ M, EC₅₀ (hPPAR γ) = 0.88 μ M) aufweist.⁶² Der potenteste duale PPAR α / γ -Agonist ist das α -Amino- β -phenylpropansäurederivat GW 409544 (s. Tab. 5) mit EC₅₀-Werten von 2 nM (hPPAR α) und 0.2 nM (hPPAR γ),⁶³ welches eine enge Strukturverwandtschaft mit dem selektiven PPAR γ -Agonisten Farglitazar (s. Tab. 4) aufweist.

Der von Cheng et al publizierte duale PPAR α / γ -Agonist Muraglitazar (BMS 298585), ein Oxybenzylglycin-Derivat der Firma *Bristol-Myers Squibb*, zeigt eine potente Aktivität an PPAR α (EC₅₀ (hPPAR α) = 0.32 μ M) und PPAR γ (EC₅₀ (hPPAR γ) = 0.11 μ M). Zudem reduziert Muraglitazar dosisabhängig den Glucosespiegel um 54%, die Triglyceride um 33%, freie Fettsäuren um 62% und den Insulinspiegel um 48%.⁶⁴ Muraglitazar wie auch der in Tab. 5 gezeigte duale PPAR α / γ -Agonist Tesaglitazar befinden sich derzeit in klinische Phase III-Untersuchungen zur Behandlung des Diabetes Typ 2 und der damit assoziierten Dyslipidämie.^{65,66} Für Muraglitazar wurde im Dezember 2004 die Zulassung

zur Behandlung von Blutzucker- sowie Blutfett-Anomalien bei Patienten mit Diabetes Typ II beantragt.⁶⁷

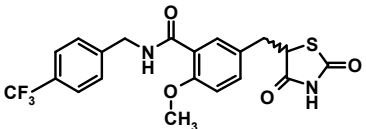
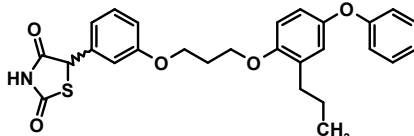
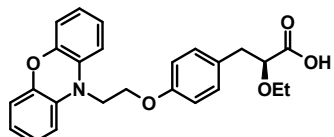
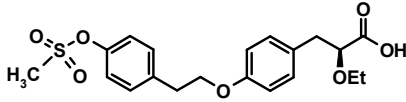
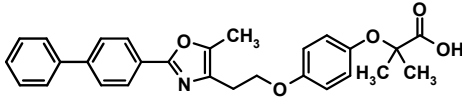
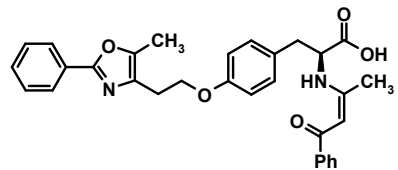
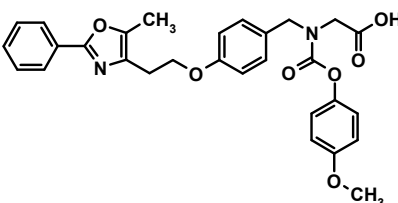
Name	Struktur	Indikation	Entwicklungsphase
MK 0767 (KRP 297)		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	Phase III wegen vaskulären Tumoren in Nagern beendet
TZD 18		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	keine Angabe
Ragaglitazar		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	Phase II wegen Blasentumoren in Nagern beendet
Tesaglitazar		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	Phase III
7		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	keine Angabe
GW 409544		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	keine Angabe
Muraglitazar		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	Zulassung im Dezember 2004 beantragt

Tabelle 5: Duale PPAR α/γ -Agonisten, deren Indikationen und Entwicklungsphasen. T2DM: Typ 2 Diabetes mellitus.

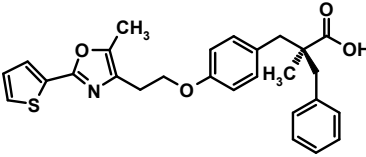
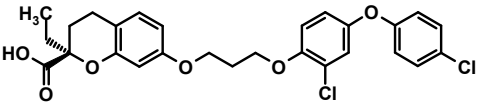
Name	Struktur	Indikation	Entwicklungsphase
LY 510929		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	keine Angabe
Compound 48		T2DM: Hyperglykämie & Dyslipidämie	keine Angabe

Tabelle 5 Fortsetzung

Für das *S*-konfigurierte Stereoisomer der Substanz LY 51029 wurden EC_{50} -Werte von 9 nM (hPPAR α) und 4 nM (hPPAR γ) bestimmt. Zudem konnte gezeigt werden, dass LY 51029 Insulinresistenz und Hyperglykämie in diabetischen Nagern down-reguliert.⁶⁸ Die Carbonsäure Compound 48 wurde ebenso als dualer PPAR α/γ -Aktivator identifiziert. Untersuchungen belegen einen erniedrigenden hyperglykämischen Effekt in Mäusen und zeigen eine Erniedrigung der Triglyceride und des Gesamtcholesterols in Hamstern und Hunden.⁶⁹

1.2.4 Das Pharmakophormodell der PPAR-LBDs

Alle Verbindungsklassen der in Kapitel 1.2.3 vorgestellten synthetischen PPAR-Agonisten weisen gemeinsame Strukturelemente auf, die für die Bindung an die LBD des Rezeptors notwendig bzw. günstig sind. Basierend auf diesen gemeinsamen Strukturelementen ist es möglich, ein Pharmakophormodell bzw. ein Selektivitätsprofil für PPAR-Liganden zu definieren.

Die meisten PPAR-Agonisten, wie schon in Abb. 15 am Beispiel der TZDs gezeigt, sind strukturell in eine hydrophile Kopfgruppe, einen zentralen hydrophoben Spacer und einen flexiblen Linker, welcher an einen hydrophoben Rest gekoppelt ist, gegliedert. Die Ligandenbindungstasche (LBP, *Ligand Binding Pocket*) der PPARs weist eine charakteristische T-Form auf und ist durch die Helices 3, 5, 7, 11 und 12 flankiert. Das Volumen der LBP beträgt $\sim 1300 \text{ \AA}^3$.²⁸ Pirard et al etablierten unter Anwendung der GRID/CPCA-Strategie⁷⁰ unter Zuhilfenahme von 14 PPAR-LBD-Kristallstrukturen^{63,71–76} ein Pharmakophormodell bzw. Selektivitätsprofil, welches subtypspezifische Ligand-

Rezeptor-Interaktionen innerhalb der LBDs der drei PPAR-Subtypen aufdeckt.⁷⁷ Die GRID/CPCA-Strategie beschreibt eine rechnerische Methode, welche Anhaltspunkte zum Design von Wirkstoffen bezüglich hoher Selektivität an einzelnen Rezeptorsubtypen liefert. Das Computerprogramm GRID charakterisiert 3D-Strukturen von Target Proteinen und berechnet für funktionelle Gruppen eines potentiellen Liganden günstige Positionen in Proteinbindetaschen. Im Hinblick auf die Identifizierung möglicher Ligand-Modifikationen und Ligand-Selektivitäten gegenüber den einzelnen Rezeptorsubtypen werden GRID-Deskriptoren mit Hilfe der CPCA (*Consensus Principal Component Analysis*) analysiert.⁷⁰ Formal können die LBPs der PPARs durch fünf Ligand-Bindungsregionen definiert werden:

- Die Bindungsregion der hydrophilen Kopfgruppe, welche den Liganden durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert.
- Die Bindungsregion des Linkers, welche formal zwischen Kopfgruppe und den distalen Bindungsregionen lokalisiert ist.
- Die linke distale Bindungsregion
- Die rechte distale Bindungsregion
- Die linke proximale Bindungsregion, welche für die Wechselwirkung mit in α -Position zur aciden Kopfgruppe positionierten Resten verantwortlich ist.

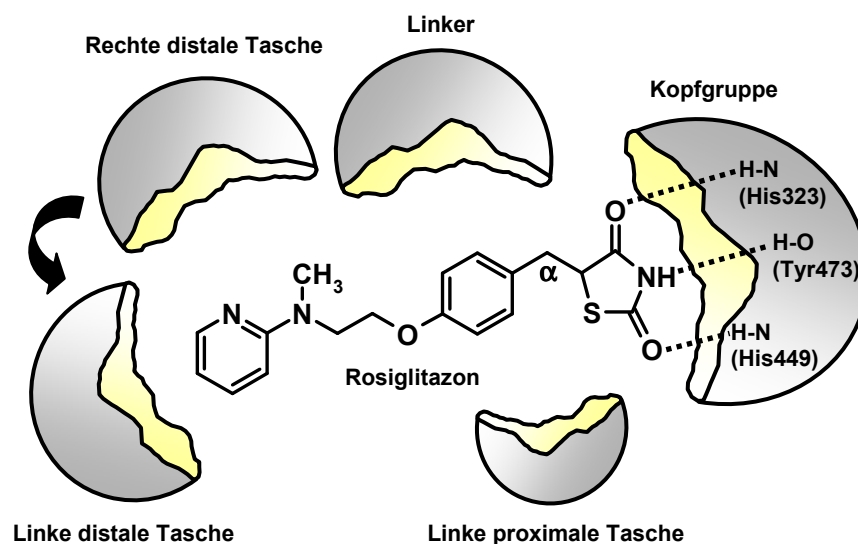


Abb. 16: Pharmakophormodell von PPAR-Agonisten am Beispiel des selektiven PPAR γ -Agonisten Rosiglitazon. Die TZD-Kopfgruppe bildet charakteristische Wasserstoffbrücken mit den Aminosäuren Ser289 (nicht eingezeichnet), His323, His449 und Tyr473 der PPAR γ -LBD aus. NH- bzw. OH-Gruppen der Aminosäuren Tyr und His fungieren als Wasserstoffdonoren.

Die unterschiedliche Anordnung von hydrophoben und sperrigen Aminosäureseitenketten innerhalb der LBDs kann zur Interpretation des Selektivitätsprofils der PPAR-Subtypen herangezogen werden.

Linke distale LBP

Insbesondere limitieren zwei sperrige Aminosäureseitenketten an den Positionen 262 (Glutaminsäure) und 284 (Tyrosin) die Größe der linken distalen Ligandenbindungstasche des PPAR β , wohingegen die Größe der linken distalen LBP des PPAR α und γ durch Mutationen an den Positionen 281 (α : Threonin, γ : Isoleucin) und 339 (α : Isoleucin, γ : Valin) begrenzt ist. Zudem beeinflussen sowohl Mutationen der Aminosäuren in den Positionen 348 und 364 als auch verschiedene Aminosäureseitenkettenkonformationen die Form der linken distalen Bindungstasche im Bereich des Kontaktes mit der Linker-Bindungsregion. Darüber hinaus kann das Potential zur Wasserstoffbrückenbindung innerhalb des PPAR β zur Erhöhung von PPAR β -Selektivität beitragen.

Rechte distale LBP

Die Größe der rechten distalen Bindungsregion des PPAR γ ist durch dessen Mutation an Position 288 (Arginin) reduziert, welche die Wasserstoffbrückenbindungseigenschaften beeinflusst. Die LBDs des PPAR α und β weisen an Position 292 einen Threonin-Rest auf, was durch die Möglichkeit der Wasserstoffbrückenbindung die Selektivität der Bindung von PPAR α/β -Agonisten, die ein entsprechendes Strukturelement aufweisen, erhöht.

LBP des Linkers

Das unterschiedliche Bindungsverhalten von Liganden mit der Linker-Bindungsregion einzelner PPAR-Subtypen kann durch unterschiedliche Protein-Seitenkettenkonformationen im Bereich der Linker-Bindungsregion begründet werden. Innerhalb der Linker-Bindungsregion des PPAR γ trägt Tyrosin 327 über eine Wasserstoffbrückenbindung zur PPAR γ -Selektivität bei.

LBP der Kopfgruppe

Innerhalb der Bindungsregion der aciden Kopfgruppe, welche acide funktionelle Kopfgruppen aller PPAR-Liganden über Wasserstoffbrücken bindet, bewirkt nur eine Mutation im Falle des PPAR α an Position 323 (Serin) eine erhöhte sterische Hinderung.

Linke proximale LBP

Die linke proximale Bindungstasche kann sowohl im PPAR α als auch im PPAR γ besetzt werden, wohingegen im PPAR β die Seitenkette von Aminosäure 453 eine sterische Hinderung am „Eingang“ dieser Bindungstasche verursacht. Tiefer im Inneren der linken proximalen Bindungstasche begünstigen hydrophobe Ligand-Rezeptor-Interaktionen mit Aminosäure 363 PPAR γ -Selektivität.

Aus dem von *Pirard* vorgeschlagenen Pharmakophormodell kann somit ein Selektivitätsprofil erstellt werden. Alle Liganden, die bisher mit den entsprechenden PPAR-LBDs kokristallisiert wurden, besetzen zunächst drei der fünf Bindungsregionen der LBD: Die Bindungstasche der Kopfgruppe, die Bindungstasche des Linkers und die linke distale Bindungstasche. Die linke proximale Bindungstasche ist nur in den Subtypen PPAR α und γ mit spezifischen Seitenketten des Liganden ausgefüllt, wohingegen im PPAR β und γ ausschließlich die rechte distale Bindungstasche okkupiert ist. Die Selektivität von PPAR-Liganden liegt somit in der unterschiedlichen Interaktion mit beiden distalen Bindungstaschen begründet. Diese Beobachtung stimmt mit den von *Liu et al* publizierten Struktur-Wirkungs-Beziehungen überein, welche zeigen, dass die Selektivität zwischen PPAR α und PPAR γ durch Variation des Substitutionsmusters des endständigen hydrophoben Restes abgestimmt werden kann.⁷⁸

PPAR-Selektivität wird zudem im Wesentlichen durch ein sogenanntes „konserviertes Wasserstoffbrücken-Netzwerk“ bestimmt. In Kristallstrukturen konnte gezeigt werden, dass sowohl die Carbonylgruppe der TZD-Kopfgruppe des selektiven PPAR γ -Agonisten Rosiglitazon (s. Abb. 16 bzw. 17) als auch die Carboxylgruppe des selektiven PPAR γ -Agonisten Farglitazar (vgl. Tab. 4) unter anderem Wasserstoffbrücken zu den Resten His323 und His449 der hPPAR γ -LBD ausbilden.^{71,75} Die Wasserstoffbrücke zwischen der Carboxylgruppe des dualen PPAR α/γ -Agonisten Tesaglitazar (vgl. Tab. 5) und des Restes Tyr464 der AF-2 Helix der Subtypen PPAR α und γ ist ein gemeinsames Charakteristikum aller Agonist-PPAR-LBDs-Kokristallisate und ist für die Stabilisierung der aktiven AF-2 Helix-Konformation, welche zur Rekrutierung von Koaktivatoren führt, verantwortlich.^{72,75}

Zum anderen postulierten *Cronet et al* am Beispiel Tesaglitazar eine strukturelle Basis für dessen duale PPAR α / γ -Selektivität (s. Abb. 18).⁷⁶ Der zur Wasserstoffbrückenbindung

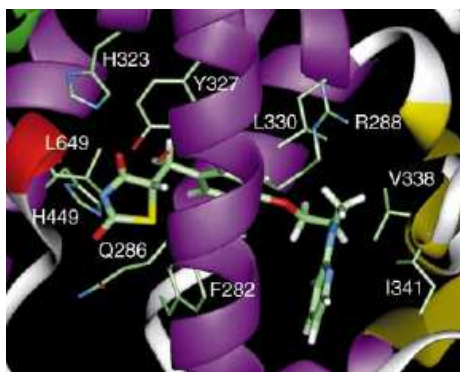


Abb. 17: Bindung von Rosiglitazon an die hPPAR γ -LBD mit SRC-1 (*Steroid receptor co-activating factor*). C (grün), O (rot), N (blau), S (gelb).⁷¹

erforderliche Tyr314-Rest in der hPPAR α -LBD ist sperriger als dessen äquivalenter His321-Rest in der hPPAR γ -LBD, wodurch postuliert werden kann, dass Tesaglitazar aufgrund seiner im Vergleich zur TZD-Kopfgruppe des Rosiglitazons kleineren Carboxyl-Kopfgruppe mit somit niedrigerem Raumbedarf sowohl an Tyr314 (PPAR α) als auch an His321 (PPAR γ) binden kann (s. Abb. 18), wohingegen die TZD-Kopfgruppe des Rosiglitazons aufgrund seines relativ raumerfüllenden Charakters nur zur Bindung an His321 (PPAR γ) befähigt ist. Dieser Sachverhalt

erklärt, warum die meisten TZDs als selektive PPAR γ -Agonisten fungieren, wohingegen duale PPAR α / γ -Agonisten hauptsächlich durch ihre pharmakophore Carboxyl-Kopfgruppe charakterisiert sind.

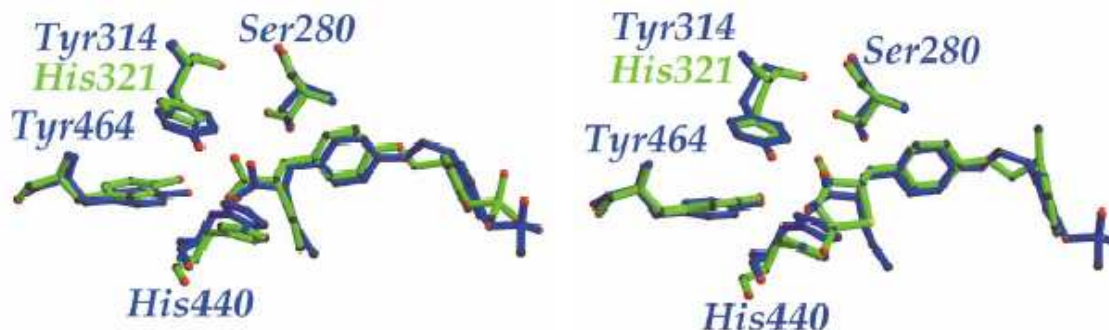


Abb. 18: Rationale der dualen PPAR α / γ -Affinität des PPAR-Agonisten Tesaglitazar (AZ 242).⁷⁶

Links: Überlagerung der Ligandbindungsstellen der aciden Kopfgruppe des hPPAR α (blau) mit hPPAR γ (grün), welche mit dem dualen PPAR α / γ -Agonisten Tesaglitazar (einmal in blau und einmal in grün überlagert gezeichnet) okkupiert sind. Die Carboxyl-Kopfgruppe des Tesaglitazar bildet mit den Aminosäuren His440 (PPAR α / γ , blau/grün), Tyr314 (hPPAR α , blau) bzw. His321 (hPPAR γ , grün) und Ser280 (PPAR α / γ , blau/grün) sowohl am PPAR α als auch am PPAR γ Wasserstoffbrückenbindungen aus.

Rechts: Überlagerung der Ligandbindungsstellen der aciden Kopfgruppe des hPPAR α (blau) (besetzt mit Tesaglitazar (blau)) mit hPPAR γ (grün), welche mit dem selektiven PPAR γ -Agonisten Rosiglitazon (grün) okkupiert ist. Die TZD-Kopfgruppe des Rosiglitazon kann aufgrund ihres raumerfüllenden Charakters zu Tyr314 (hPPAR α , blau) keine Wasserstoffbrücken ausbilden, jedoch zu dessen sterisch anspruchsloseren Äquivalent His321 (grün) im hPPAR γ . In dieser Abbildung sind ausschließlich Aminosäurereste, welche in Wasserstoffbrückenbindungen mit Tesaglitazar involviert sind, gezeigt.

1.2.5 Klinische Einsatzgebiete von PPAR-Agonisten

1.2.5.1 Entzündung – PPAR α

PPARs hemmen die Transkription inflammatorischer Gene zum einen, indem sie die NF- κ B-, AP-1- und STAT- (*Signal Transducer and Activator of Transcription*) Signaltransduktion auf DNA-Bindungs-unabhängige Weise antagonisieren und zum anderen durch Stimulation des Katabolismus proinflammatorischer Eicosanoide.^{79–81} Im Folgenden soll die negative Interaktion des PPAR α mit der NF- κ B-Signaltransduktionskaskade erläutert werden.

Die NF- κ B-Familie besteht aus den fünf Proteinen c-Rel, p65, Rel B, p50 und p52, welche hauptsächlich heterodimere Komplexe aus den Proteinen p50 und p65 bilden. In inaktiven Zellen liegt NF- κ B meist in Assoziation mit dem inhibitorischen Protein I κ B α als cytoplasmisch inaktiver Komplex vor. Das inflammatorische Cytokin IL-1 β induziert die Bildung eines aktiven dimeren I κ B α Kinase (IKK) Komplexes, welcher I κ B α an den Aminosäuren Serin 32 und Serin 36 phosphoryliert. Dieser Prozess führt zur Degradation und Ubiquitinierung von I κ B α und zur Bildung freier NF- κ B Proteine. Die freien NF- κ B Dimere (p50/p65) werden in den Zellkern translokalisiert, wo sie die Transkription ihrer Zielgene regulieren. PPAR α -Aktivatoren wie zum Beispiel die Fibrate induzieren die Expression von I κ B α in humanen glatten Muskelzellen und Hepatozyten, was eine verminderte NF- κ B DNA-Bindungsaktivität zur Folge hat und letztendlich zu einer Reduktion der p65-vermittelten Gentranskription führt. Durch die Antagonisierung der transkriptionalen Aktivität von NF- κ B durch PPAR α -Agonisten kommt es somit zur verminderten Freisetzung der proinflammatorischen Gene IL-6,⁸² VCAM-1⁸² (*Vascular Cell Adhesion Molecule*), Fibrinogen⁸³ und des CRP (**C**-reaktives **P**rotein). Zusammengenommen beschreibt die Antagonisierung des NF- κ B-Signaltransduktionsweges durch PPAR α -Agonisten einen molekularen Mechanismus für die anti-inflammatorische Aktivität von PPAR α -Agonisten und bekräftigt deren potentielle klinische Anwendung zur Behandlung entzündlicher Erkrankungen.

1.2.5.3 Adipositas – PPAR α

Adipositas ist ein bedeutender Risikofaktor, der unter anderem zur Entstehung des Diabetes ausschlaggebend ist. Die Behandlung von Nagetieren mit Fibraten zeigte eine von der Nahrungsaufnahme unabhängige Reduktion der Körpergewichtszunahme.^{86–89} Adipositas bezeichnet eine Komorbidität, die mit Dyslipidämie assoziiert ist. Die als Lipidsenker wirkenden Fibrate vermitteln ihren klinischen Effekt durch PPAR α -Aktivierung, resultierend in erniedrigten Serum Triglycerid-Spiegeln und erhöhtem HDLc (*High Density Lipoprotein cholesterol*) über eine erhöhte Clearance und einer verminderten Synthese des Triglycerid-reichen VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*).⁹⁰ Klinisch sind die Fibrate Clofibrat[®], Bezafibrat[®] und Fenofibrat[®] (vgl. Kap. 1.2.3.1) bei Hyperlipoproteinämie (Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie) indiziert.

1.2.5.4 Diabetes Typ 2 – PPAR γ

Der therapeutische Einsatz von PPAR γ -Agonisten besteht in der Behandlung des Diabetes Typ 2. Diabetes Typ 2 definiert sich als eine multifaktoriale Erkrankung, in der sowohl der Kohlenhydrat- als auch der Lipidmetabolismus aufgrund einer Insulinresistenz gestört ist, was letztendlich zu drastisch erhöhten Blutglucosespiegeln führt. PPAR γ -Agonisten steigern die für die Insulinwirkung erforderliche Sensitivität der entsprechenden Zellen und reduzieren somit Plasmagluco-, Lipid- und Insulinspiegel.⁹¹ Therapeutisch werden die TZDs (Glitazone, Insulinsensitizer, vgl. Kap. 1.2.3.2) Rosiglitazon (Avandia[®]) und Pioglitazon (Actos[®]) eingesetzt. Das erste klinisch erhältliche TZD Troglitazon (Rezulin[®]) wurde aufgrund hepatotoxischer Eigenschaften vom Markt genommen.

1.2.5.5 Dyslipidämie – PPAR γ

Diabetes Typ 2 und Insulinresistenz sind mit Fettstoffwechselstörungen assoziiert, was sich durch erhöhte Plasma LDLc (*Low Density Lipoprotein cholesterol*) und Triglyceridspiegel und erniedrigte Plasma HDLc-Spiegel manifestiert.⁹² In mehreren Tierstudien wurde bewiesen, dass PPAR γ -Agonisten, zusätzlich zu ihrem Plasmagluco-erniedrigendem Effekt, eine Erniedrigung der Plasmaspiegel der Triglyceride, des Cholesterols und der nicht veresterten Fettsäuren bewirken.⁹³ Bislang wurden jedoch keine klinischen Studien mit selektiven PPAR γ -Agonisten an Patientenpopulationen, welche hyperlipidämisch, aber nicht diabetisch erkrankt sind, durchgeführt. Demzufolge ist das exakte pharmakologische Profil solcher selektiver PPAR γ -Agonisten noch unbekannt.

2. Zielsetzung

Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit standen Synthese und Struktur-Aktivitäts-Beziehungen von PPAR-Agonisten basierend auf dem Grundgerüst des literaturbekannten selektiven PPAR α -Agonisten Pirinixinsäure (WY 14643) (vgl. Kap. 1.2.3.1) als Leitstruktur. Bereits vor der Entdeckung der PPARs durch *Issemann* und *Green* im Jahre 1990 konnten der lipidsenkende Charakter, jedoch ohne Kenntnis des molekularen Target, von WY 14643 und Derivaten gezeigt werden.³⁸ Mit der Entdeckung der PPARs wurde Pirinixinsäure als selektiver PPAR α -Agonist mit EC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich identifiziert.^{22,28}

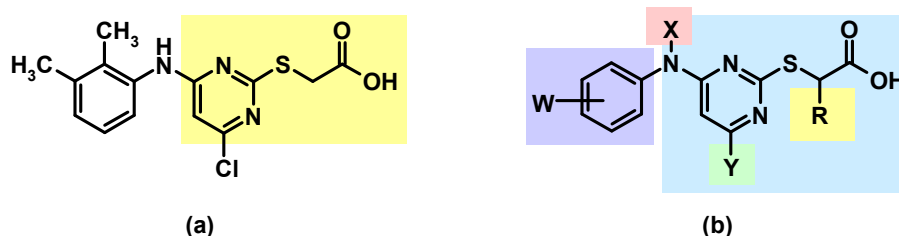


Abb. 20: (a) Leitstruktur WY 14643 mit *Scaffold* (invariantes System) (gelb), (b) Grundgerüst der Pirinixinsäure mit Positionen der vorzunehmenden Strukturmodifikationen W, X, Y und R.

Im Hinblick auf eine Steigerung der PPAR-agonistischen Aktivität und der Reduktion der hepatotoxischen Eigenschaften der Leitstruktur Pirinixinsäure sollte eine Leitstruktur-optimierung durch Einführung unterschiedlicher Reste W, X, Y und R an den farblich markierten *Building Blocks* (Grundbausteine des Moleküls) (s. Abb. 20 (b)) vorgenommen werden. Das *Scaffold* (invariantes System) bildet der in Abb. 20 (a) gelb markierte Pyrimidin-2-ylsulfanylessigsäure-Grundbaustein.

- Mit Strukturmodifikationen durch Variation von W (s. Abb. 20 (b), lila) sollte der Einfluss des 2,3-Dimethylanilin-Substituenten in 6-Position des Pyrimidins auf PPAR-Aktivität untersucht werden. Die Einführung geeigneter Substituenten W erfolgte zunächst in beliebiger Position des Phenylrings additiv und/oder substitutiv zu den Methylgruppen in 2- bzw. 3-Position (s. Abb. 20 (a)) des Anilingerüsts der Pirinixinsäure. Die Substituenten W bestehen sowohl aus alkyischen als auch aus heteroatomaren Resten.

- Strukturmodifikation X (s. Abb. 20 (b), rosa) bestand in der Implementierung eines Harnstoff-Strukturelements in Analogie zum literaturbekannten subtyp-selektiven PPAR α -Agonisten GW 9578 (vgl. Kap. 1.2.3.1).³⁰
- Strukturmodifikation Y (s. Abb. 20 (b), grün) sollte durch Austausch des Chlor-Atoms von WY 14643 durch andere Halogen-Substituenten Struktur-Wirkungs-Beziehungen verschiedener 4-halogensubstituierter Pirinixinsäurederivate aufzeigen.
- Zudem sollten hinsichtlich der Okkupierung einer weiteren Bindungstasche in α -Position zur Carboxylgruppe Reste R (s. Abb. 20 (b), gelb) implementiert werden, die durch Wechselwirkung mit der linken proximalen Bindungstasche (vgl. Pharmakophormodell, Kap. 1.2.4) weitere positive Bindungsbeiträge liefern können und dadurch eine Affinitätssteigerung bezüglich der PPARs erzielt werden kann. Die Reste R schließen Alkyl- bzw. Aryl-Substituenten ein.
- Zum anderen sollen Partialstrukturen des Pirinixinsäuregerüsts, die in Abb. 20 (b) hellblau hinterlegt sind, mit verschiedenen Resten in 4- und 6-Pyrimidin-Position synthetisiert werden. Die Rationale dieses Ansatzes bestand darin, den eventuellen essentiellen Charakter des 2,3-Dimethylanilin-Substituenten der Leitstruktur zu untersuchen.

Um eine Leitstrukturoptimierung zu erzielen, bedarf es der Etablierung geeigneter Synthesestrategien. Alle synthetisierten Zielstrukturen sollten nach Etablierung *in vitro*-pharmakologischer Testsysteme für alle drei Subtypen α , β und γ sowohl am humanen als auch am murinen Rezeptor auf ihre PPAR-agonistische Aktivität untersucht werden. Valide EC₅₀-Werte synthetisierter Liganden erlauben letztendlich das Aufstellen von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und bieten neuartige Aspekte bezüglich der therapeutischen Targets Dyslipidämie und Diabetes Typ 2.

3. Ergebnisse & Diskussion

3.1 Chemische Synthesen

3.1.1 Allgemeine Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten mit W-, Y- und R-Strukturmodifikationen

Zur Darstellung von Liganden, welche Strukturmodifikationen im Phenylamino-Bereich (W), in α -Position zur endständigen Carbonsäurefunktion (R) und in 4-Halogenposition des Pyrimidins (Y) beinhalten, wurde eine allgemein verwendbare Synthesestrategie etabliert, die über vier Reaktionsstufen (s. Abb. 21, Schritte I bis IV) verläuft.³⁸ In Schritt I reagiert Thiobarbitursäure in einer nukleophilen Substitution mit dem entsprechenden 2-Bromethylester. Im zweiten Schritt erfolgt eine Halogenierung der aus Schritt I resultierenden 4,6-dihydroxylierten Reaktionsprodukte I mittels eines Phosphorylhalogenids $\text{PO}(\text{Y})_3$ (mit $\text{Y}=\text{Cl}, \text{Br}$) im Sinne eines Additions-Eliminierungs-Mechanismus. Schritt III ist durch die Kopplung der entsprechenden W-substituierten Anilinderivate an die halogenierten Vorstufen II im Rahmen einer nukleophilen aromatischen Substitution charakterisiert. Schritt IV besteht in einer Verseifung der jeweiligen Carbonsäureester III und führt zur Isolierung der Carbonsäuren IV (s. Abb. 21, Schritt IV).

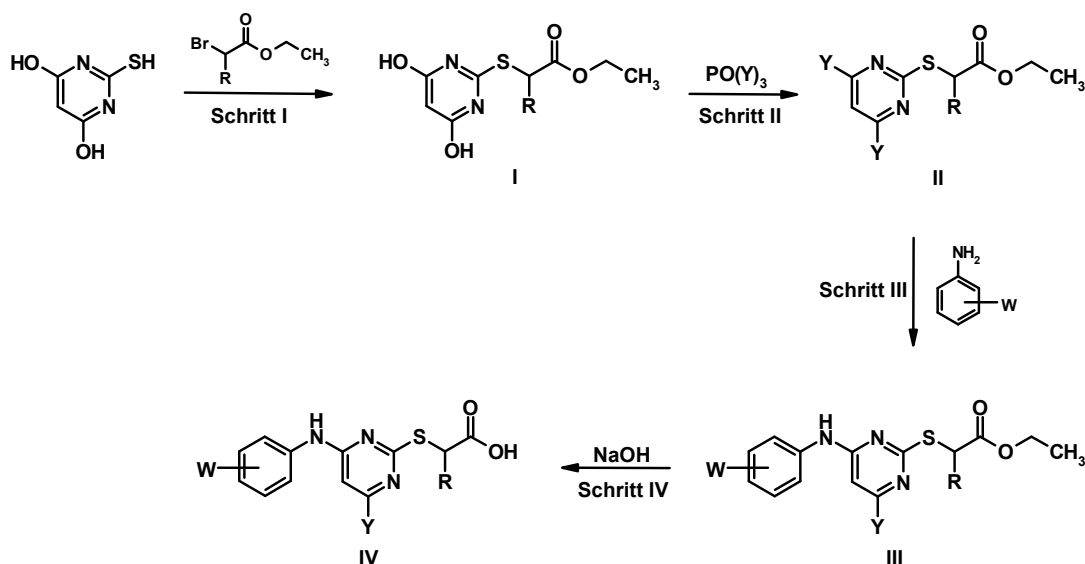


Abb. 21: Allgemeine Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten mit Strukturmodifikationen in den Bereichen W (Arylamino-Bereich), Y (4-Halogen-Position) und R (α -Position zur Carboxylgruppe).³⁸

3.1.1.1 Synthese von Liganden mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich (W-Substitution)

Die Grundidee der Synthese von im Arylamino-Bereich modifizierten Pirinixinsäurederivaten besteht in der Untersuchung des (essentiellen) Einflusses der Methylgruppen in 2- und 3-Phenylposition bzw. in der Auffindung von Phenylresten in beliebiger Phenyl-Position, die positive Bindungsbeiträge liefern, um weitere Aktivitätssteigerungen am Rezeptor zu erzielen. Nach den Untersuchungen von *Pirard et al.*⁷⁷ bildet der Proteinbereich der distalen Bindungstaschen der drei PPAR-Subtypen das Target zur Bindung des Arylamino-Bereichs der Pirinixinsäurederivate, so dass die Einführung verschiedener Substituenten in das Grundgerüst von WY 14643 Ligand-Rezeptor-Interaktionen bezüglich der distalen Bindungstaschen aufdecken soll.

Zunächst wurde der für die Synthese aller Liganden mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich benötigte Precursor (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **9** synthetisiert.³⁸ Hierbei wurde in Schritt I Thiobarbitursäure mittels einer 1M wässrigen NaOH-Lösung regioselektiv an der SH-Gruppe deprotoniert und das entstandene Thiolat-Anion in einer S_N2-Reaktion in Ethanol bei einer Reaktionstemperatur von 60 °C mit Bromethylacetat umgesetzt. Das Produkt (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **8** (s. Abb. 22) entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 79 % d. Th.. Verbindung **8** wurde in Schritt II in Gegenwart von *N,N*-Diethylanilin, welches als Protonenakzeptor fungiert, mittels Phosphorylchlorid in 4- und 6-Pyrimidin-Position chloriert. **9** entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 86 % d. Th..

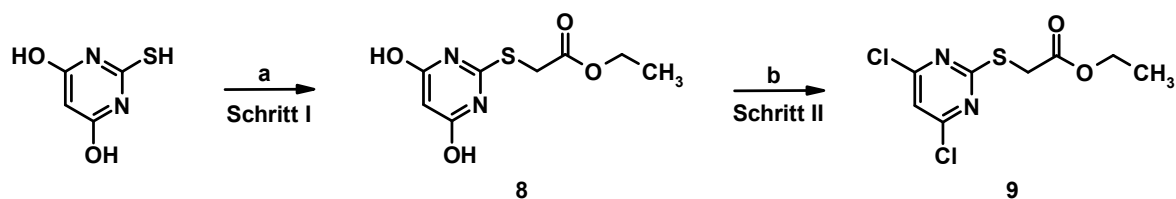


Abb. 22: Zweistufige Synthese des Precursors (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **9**. (a) 1M NaOH, BrCH₂COOEt, EtOH, 60 °C, (b) POCl₃, *N,N*-Diethylanilin, 110 °C.

Anschließend wurde der Precursor **9** in einer nukleophilen aromatischen Substitution mit den entsprechenden Anilinderivaten umgesetzt (s. Abb. 23). Zum Aufbau des sekundären Amins in Schritt III wurde zur Verstärkung des nukleophilen Charakters des entsprechenden Anilinderivates Na₂CO₃ als Base eingesetzt. Die Ausbeuten der erhaltenen Produkte **10-17** (s. Tab. 6) differieren relativ stark. Der Grund hierfür liegt in

unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Phenylsubstituenten begründet. Der elektronenziehende -I-Effekt der Halogensubstituenten in 4-Phenylposition bewirkt eine Erniedrigung der Nukleophilie der Aminogruppe, was die Ausbeuten der halogensubstituierten Ester **10** (17 % d. Th.) und **12** (18 % d. Th.) erklärt. Alle anderen Ausbeuten der Ester **11** und **13-17** lagen zwischen 45 und 83 % d. Th.. Ferner war laut DC-Kontrolle in derartigen Reaktionschritten standardmäßig die Entstehung eines unbekanntenen Nebenproduktes zu beobachten, was die grundsätzlich moderaten Ausbeuten der Produkte **10-17** erklärt. Im abschließenden Schritt IV wurden die entstandenen Ester **10-17** mit Hilfe von zwei Äquivalenten einer 1N NaOH-Lösung in EtOH hydrolysiert. Die Carbonsäuren **18-25** (s. Tab. 6) fielen in Form weißer Kristalle mit Ausbeuten zwischen 60 und 80 % d. Th. an.

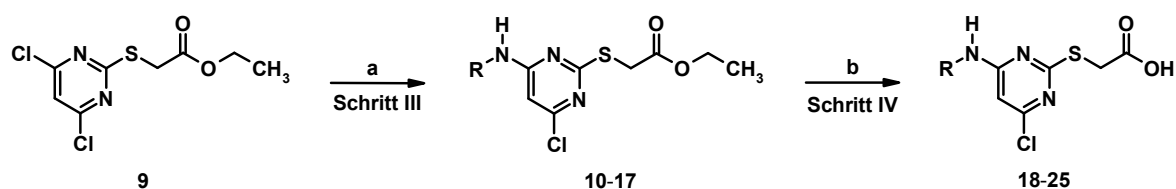


Abb. 23: Synthese der Carbonsäureester **10-17** und der Carbonsäuren **18-25**. (a) Entsprechendes Anilinderivat, Na₂CO₃, EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss. R = s. Tab. 6.

	R							
Carbonsäureester	10	11	12	13	14	15	16	17
Carbonsäure	18	19	20	21	22	23	24	25

Tabelle 6: Arylamino-substituierte Derivate der Serie der W-Strukturmodifikationen.

Die meisten der zur Synthese in Schritt III erforderlichen Anilinderivate waren kommerziell erhältlich, 4-Brom-2,3-dimethylanilin **26** (zur Synthese von Verbindung **10** bzw. **18**) und 4-Chlor-2,3-dimethylanilin **27** (zur Synthese von Verbindung **12** bzw. **20**) wurden synthetisiert. 4-Brom-2,3-dimethylanilin **26** (Ausbeute: 52 % d. Th.) wurde nach einer literaturbekannten Synthesevorschrift durch Bromierung von 2,3-Dimethylanilin mittels *N*-Bromsuccinimid (NBS) in Dimethylformamid (DMF) synthetisiert (s. Abb. 24).⁹⁴ Dieses Verfahren wurde auch für die Synthese von 4-Chlor-2,3-dimethylanilin **27**

(Ausbeute: 39 % d. Th.) verwendet, indem 2,3-Dimethylanilin mittels *N*-Chlorsuccinimid (NCS) in DMF umgesetzt wurde (s. Abb. 24).

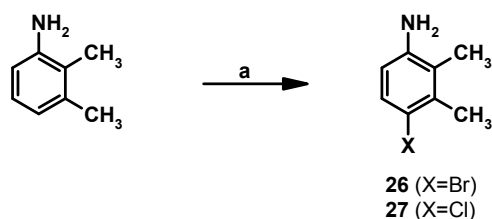


Abb. 24: Synthese der 4-halogensubstituierten 2,3-Dimethylanilinderivate. (a) NBS bzw. NCS, DMF, 25 °C. X=Br (26), Cl (27).

3.1.1.2 Synthese eines in 4-Pyrimidin-Position modifizierten Derivates von WY 14643 (Y-Substitution)

Um den Einfluss des Halogensubstituenten der Pirinixinsäure in 4-Pyrimidin-Position bezüglich unterschiedlicher Atomgrößen und Elektronegativitäten der Halogen-Atome auf PPAR-Aktivität zu untersuchen, wurde das 4-Chlor-Atom der Leitstruktur Pirinixinsäure durch ein Br-Atom substituiert. Der Aufbau der Zielstruktur [4-Brom-6-(2,3-dimethylphenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **28** erfolgte nach dem allgemeinen Syntheseprinzip, welches bereits in Abb. 21 gezeigt wurde. Hierzu wurde die zweifach hydroxylierte Vorstufe **8** (s. Kap. 3.1.1.1) einer Bromierung mittels POBr₃ in Acetonitril unterworfen. Das zweifach bromierte Produkt **28** (s. Abb. 25) entstand in Form weißer Kristalle in einer Ausbeute von 52 % d. Th..

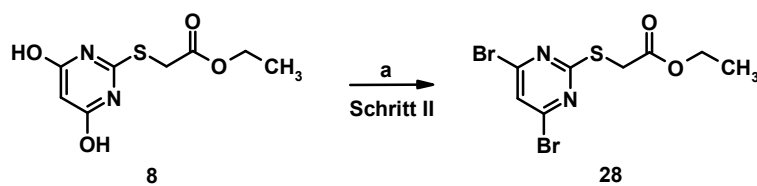


Abb. 25: Synthese von (4,6-Dibrom-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **28**. (a) POBr₃, MeCN, Rückfluss.

Die nachfolgende Kopplung von 2,3-Dimethylanilin an die zweifach bromierte Vorstufe **28** erfolgte mit einer Ausbeute von 73 % d. Th.. Die Verseifung des erhaltenen Carbonsäureesters **29** führte zur Isolierung der Carbonsäure **30**, welche in Form weißer Kristalle in einer Ausbeute von 48 % d. Th. anfiel (s. Abb. 26).

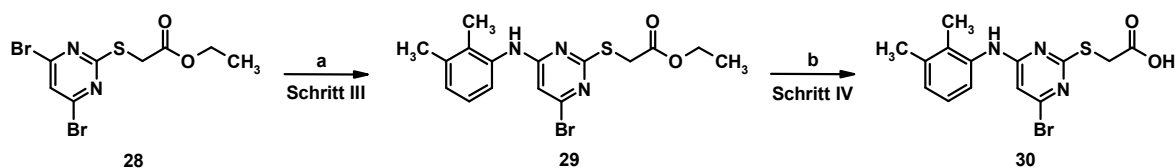


Abb. 26: Synthese von [4-Brom-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **30**. (a) 2,3-Dimethylanilin, Na_2CO_3 , EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

3.1.1.3 Synthese von Liganden mit Strukturmodifikationen in α -Position zur Carbonsäure (R-Substitution)

Basierend auf dem von *Pirard* postulierten Pharmakophormodell⁷⁷ wurde die Leitstruktur WY 14643 in α -Position zur funktionellen Carbonsäure durch Einführung von Alkyl- bzw. Arylsubstituenten modifiziert. Die Rationale dieser Strukturmodifikation besteht darin, dass durch die Einführung von α -Substituenten das Besetzen der linken proximalen Bindungstasche (vgl. Kap. 1.2.4) provoziert werden soll, um somit weitere positive Bindungsbeiträge zu erzielen bzw. die Gesamtaffinität des Liganden zum Rezeptor zu steigern.

Die Einführung der Alkyl- bzw. Arylreste in α -Position zur Carbonsäure erfolgt bereits in Syntheseschritt I (s. Abb. 21) mit Hilfe von in 2-Position alkylierten bzw. arylierten kommerziell erhältlichen 2-Brom-essigsäureethylestern. Lediglich das Edukt 2-Brom-2-(1-naphtyl)-essigsäureethylester wurde in Analogie zu einem literaturbekannten Verfahren synthetisiert.⁹⁵ Hierzu wurde, ausgehend von 2-(1-Naphtyl)-essigsäureethylester, in einer radikalischen Substitutionsreaktion mittels Dibenzoylperoxid als Radikalstarter und NBS als Bromierungsmittel in CCl_4 in α -Position zum Carbonsäureester bromiert (s. Abb. 27). Das Produkt 2-Brom-2-(1-naphtyl)-essigsäureethylester **31** als gelbe Flüssigkeit (Sdp. = 128-130 °C bei $p = 2 \times 10^{-3}$ mbar) in einer Ausbeute von 80 % d. Th. isoliert.

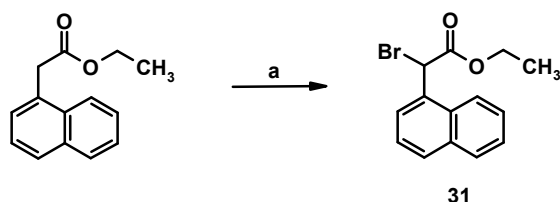


Abb. 27: Synthese von 2-Brom-2-naphtyl-essigsäureethylester **31**. (a) NBS, Dibenzoylperoxid, CCl_4 , 90 °C.

Die Darstellung der zweifach hydroxylierten Precursor **32-38** ausgehend von Thiobarbitursäure und den entsprechenden 2-substituierten 2-Brom-essigsäureethylester zeigte einige signifikante Unterschiede im Vergleich zur Synthese des zweifach

hydroxylierten α -unsubstituierten Precursors **8** (R=H) (s. Kap. 3.1.1.1, Abb. 22). Zum einen entstand im Falle der α -substituierten Produkte **32-38** ein in der Reaktionslösung unlösliches Nebenprodukt, welches zunächst durch heisses Filtrieren abgetrennt werden musste, bevor das eigentliche Hauptprodukt in der Kälte zum Kristallisieren gebracht werden konnte. Die Entstehung dieses Nebenproduktes bietet eine Erklärung für die im Gegensatz zu Verbindung **8** (R=H) nur moderaten Ausbeuten, welche sich im Falle der Substanzserie A (**32-36**) (R=Me, Et, *n*-Pr, *n*-Bu, Hex) (s. Abb. 28 bzw. Tab. 7) im Bereich von 16 bis 43 % d. Th. bewegen. Zum anderen kann aufgrund längerer Reaktionszeiten (22 bis 96 h), welche mit zunehmender Länge des aliphatischen Restes in α -Position korrelieren, auf eine sterische Hinderung des nukleophilen Angriffs der Thiobarbitursäure auf die dreifach substituierte C2-Position des entsprechenden 2-alkylierten 2-Brom-essigsäureethylesters geschlossen werden.

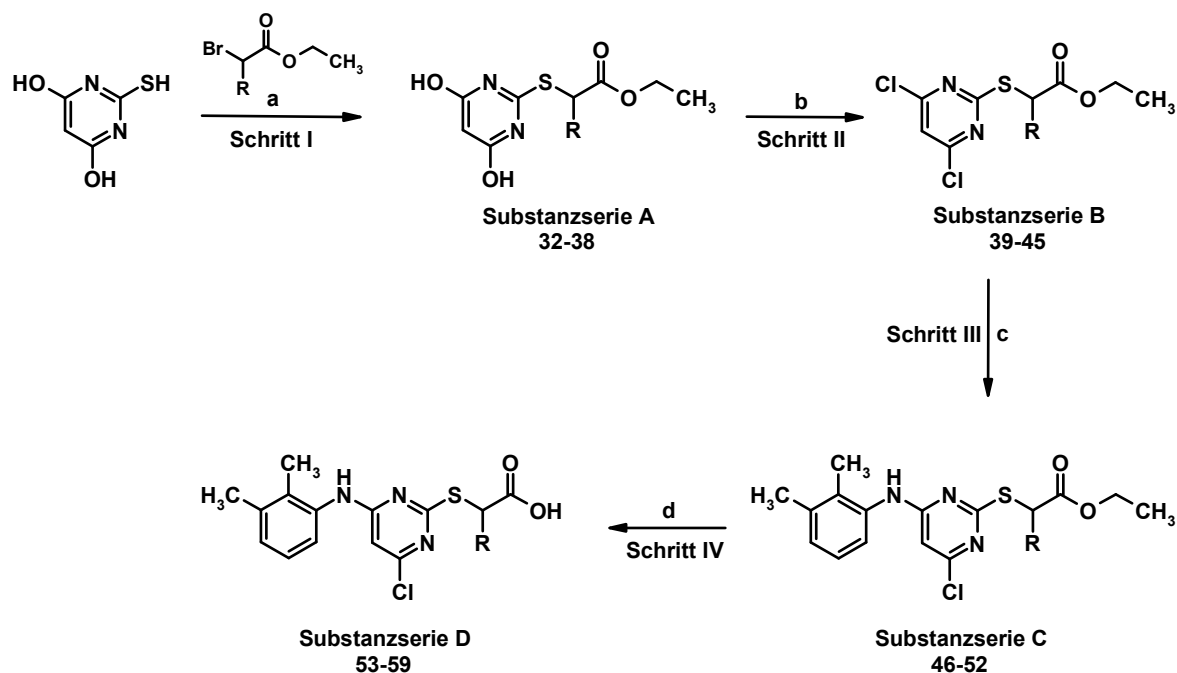


Abb. 28: Vierstufige Synthese von α -substituierten Pirinixinsäurederivaten. (a) 1M NaOH, Br-CH₂(R)COOEt (R = Me, Et, *n*-Pr, *n*-Bu, Hex, Ph, Naphtyl), EtOH, 60 °C, (b) POCl₃, *N,N*-Diethylanilin, 110 °C, (c) 2,3-Dimethylanilin, Na₂CO₃, EtOH, Rückfluss, (d) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

Im Gegensatz zu den α -alkylsubstituierten Derivaten weisen die α -arylsubstituierten Derivate **37** und **38** weitaus kürzere Reaktionszeiten und höhere Ausbeuten auf. Dieser Sachverhalt könnte in engem Zusammenhang mit der freien Drehbarkeit von C-C-Einfachbindungen, der großen Anzahl an Freiheitsgraden und der daraus resultierenden größeren sterischen Hinderung im Gegensatz zu starren C=C-Doppelbindungen der aromatischen Systeme liegen.

	R						
	Me	Et	<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Bu	Hex	Ph	Naph
Substanzserie A	32	33	34	35	36	37	38
Substanzserie B	39	40	41	42	43	44	45
Substanzserie C	46	47	48	49	50	51	52
Substanzserie D	53	54	55	56	57	58	59

Tabelle 7: α -alkyl- bzw. α -aryl-substituierte Verbindungen.

Verbindungen **32-38** der Substanzserie A wurden in Schritt II mittels Phosphorylchlorid chloriert, woraus die dichlorierten Verbindungen **39-45** der Substanzserie B in guten Ausbeuten im Bereich von 61 und 99 % d. Th. resultierten. Im Unterschied zu den dichlorierten Verbindungen **8** (R=H) und **45** (R=Naphtyl), welche als kristalline vorliegen, zeigen die Substanzen **39-44** (R=Me, Et, *n*-Pr, *n*-Bu, Hex, Ph) ein moderates Kristallisationsverhalten, so dass diese als elementaranalysenreine Öle charakterisiert wurden. Schritt III bestand wiederum in der Kopplung von 2,3-Dimethylanilin in Gegenwart von Na₂CO₃ an die jeweilige chlorierte Vorstufe der Substanzserie B (**39-45**), woraus die Verbindungen **46-52** der Substanzserie C mit einer durchschnittlichen Ausbeute von ~50 % d. Th. resultierten. Die Carbonsäureester **46-52** wurden nach der in Kap. 3.1.1.1 beschriebenen Methode (Schritt IV) verseift. Die daraus resultierenden Carbonsäuren **53-59** (Substanzserie D) konnten in kristalliner Form mit durchschnittlichen Ausbeuten von ~80 % d. Th. isoliert werden.

Synthese des α -dimethylierten Pirinixinsäurederivates **62**

Die „klassischen“ α -alkylierten Pirinixinsäurederivate der vorliegenden Substanzbibliothek sind durch dessen Monoalkylierung in α -Position zur Carbonsäurefunktion charakterisiert. Im Folgenden wird die Synthese des α -dimethylierten Pirinixinsäurederivates 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-2-methyl-propansäure **62** vorgestellt, welche eine von der in Kap. 3.1.1 erläuterten allgemeinen Synthesestrategie differente Syntheseplanung erforderte.

Um den α -dimethylierten dichlorierten Precursor 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-2-methyl-propansäureethylester **60** darzustellen, wurde in einem ersten Versuch Schritt I der allgemeinen Synthesestrategie (s. Kap. 3.1.1, Abb. 21) angewandt, indem Thiobarbitursäure mit dem kommerziell erhältlichen 2-Brom-2-methyl-propansäureethylester unter nukleophiler Substitution zur Reaktion gebracht werden sollte (s. Abb. 29

Methode B). Die Bildung eines Produktes konnte laut DC-Kontrolle nach einer Reaktionszeit von mehr als zwei Tagen nicht festgestellt werden. Das Vorliegen eines tertiären α -C-Atoms weist mechanistisch gesehen auf eine S_N1 -Reaktivität hin, welche jedoch durch die elektronenziehende Carbonylgruppe (-M-Effekt) abgeschwächt wird. Ein S_N2 -artiger Reaktionsmechanismus wird höchstwahrscheinlich durch die beiden α -ständigen Methylgruppen sterisch behindert, was die fehlende Reaktivität erklärt. Zum anderen ist vor allem in Gegenwart von Base eine Instabilität von 2-Brom-2-methylpropansäureethylester gegenüber einer Eliminierung von HBr möglich, so dass möglicherweise unter Abbau des genannten Eduktes das Eliminierungsprodukt Crotonsäureethylester entsteht.

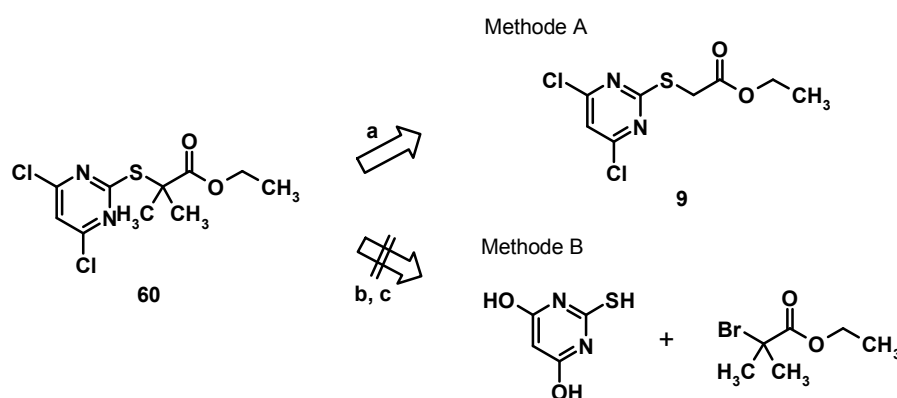


Abb. 29: Retrosynthetische Übersicht der Methoden A und B zur Darstellung des α -dimethylierten Precursors **60**. (a) **1.** LiHMDS, HMPA, THF abs., $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, **2.** MeI, $-78\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, **3.** LiHMDS, HMPA, THF abs., $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, **4.** MeI, $-78\text{ }^{\circ}\text{C} \rightarrow 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, (b) 1M NaOH, EtOH, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, (c) POCl_3 , *N,N*-Diethylanilin, $110\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Aufgrund dessen wurde eine alternative Synthesemethode zur Darstellung des α -dimethylierten dichlorierten Precursors **60** über eine direkte Methylierung von (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **9** (s. Abb. 29 Methode A) etabliert. Hierzu wird der α -CH-acide Charakter von Verbindung **9** ausgenutzt, indem mittels der sperrigen nicht-nukleophilen Base LiHMDS (Lithiumhexamethyldisilazid) in HMPA (Hexamethylphosphorsäuretriamid) und abs. THF bei einer Temperatur von $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Argon-Atmosphäre deprotoniert wurde. HMPA fungiert als aprotisches Lösemittel und steuert durch die Bindung via dessen *N*-Atome an das mit dem Enolat-Sauerstoffanion komplexierte Lithium-Ion einen erheblichen Anteil zur Stabilisierung des Enolat-Ions bei. Zur eigentlichen Methylierung des α -C-Atoms bei Raumtemperatur wurde Methyljodid verwendet. Dieses Prozedere wurde nochmals wiederholt, indem ein zweites Äquivalent LiHMDS, HMPA und MeI dem Reaktionsansatz zudosiert wurde, so dass die α -

dimethylierte Vorstufe **60** in einer Ausbeute von 52 % d. Th. in Form eines gelben Öls isoliert werden konnte.

Die Kopplung von 2,3-Dimethylanilin an den synthetisierten Precursor **60** verlief mit einer moderaten Ausbeute von 12 % d. Th.. Die Esterhydrolyse von **61** mittels NaOH in Ethanol (Ausbeute: 77 % d. Th.) führte zur Isolierung der Carbonsäure **62** (s. Abb. 30) in Form weisser Kristalle.

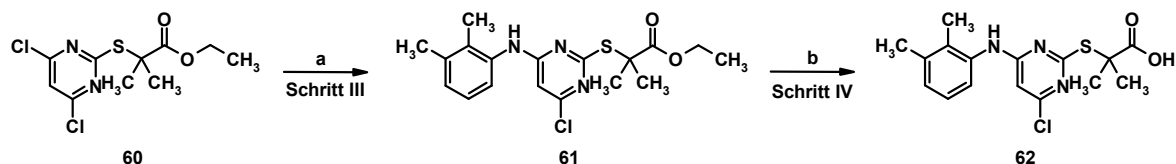


Abb. 30: Synthese von [2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-2-methyl-propan-säure **62**. (a) 2,3-Dimethylanilin, Na₂CO₃, EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

3.1.2 Synthese von Liganden mit Ureido-Partialstruktur bzw. dem Strukturelement eines tertiärenamins

Hinsichtlich des von *Brown et al* entwickelten subtyp-selektiven PPAR α -Agonisten GW 9578 der Klasse der Ureido-TiBAs (*Ureido-thioisobutyric acids*) (s. Kap. 1.2.3.1) mit EC₅₀-Werten im nanomolaren Bereich³⁰, sollte geprüft werden, ob die analoge Einführung einer Ureido-Partialstruktur in das Pirinixinsäure-Grundgerüst zu einer deutlichen Steigerung der durch den Liganden induzierten Rezeptoraffinität führt.

Hierzu wurde zunächst ausgehend von Pirinixinsäureethylester **63**, welcher nach der in Kap. 3.1.1 beschriebenen Synthestrategie synthetisiert wurde, 2,4-Difluorphenylisocyanat in abs. Toluol mit Hilfe katalytischer Mengen des sauren Katalysators Di-*n*-butylphosphat an die biarylierte Amin-Funktion addiert. Nach dem Umkristallisieren aus Ethanol konnten weiße Kristalle von **64** in einer Ausbeute von 82 % d. Th. isoliert werden. Die anschließende Verseifung des entstandenen Ureido-thioessigsäureethylesters **64** führte trotz des Einsatzes verschiedener Verseifungsreagenzien und der Auswahl verschiedener Reaktionsbedingungen zur Entstehung von Pirinixinsäure **66** und/oder Pirinixinsäureethylester **63** und (2,4-Difluor-phenyl)-carbaminsäure **67** (s. Abb. 31).

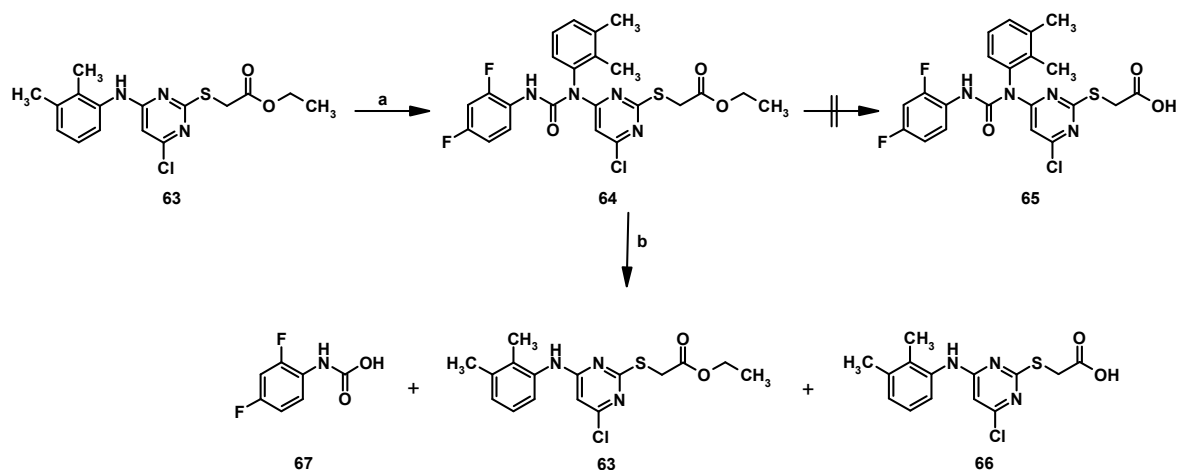


Abb. 31: Versuchte Synthese von [4-Chlor-6-[3-(2,4-difluor-phenyl)-1-(2,3-dimethyl-phenyl)-ureido]-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **65**. (a) 2,4-Difluorphenylisocyanat, Di-*n*-butylphosphat, Toluol abs., 100 °C, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss oder 1N NaOH, EtOH, 25 °C oder LiOH × H₂O, THF/H₂O (1:1), 25 °C oder 6N HCl, MeOH, 25 °C.

Aufgrund dessen wurde die Zielverbindung **65** ausgehend von der freien Pirinixinsäure **66** mittels der beschriebenen Reaktion mit 2,4-Difluorphenylisocyanat und Di-*n*-butylphosphat als Katalysator in abs. Toluol generiert (s. Abb. 32). Der Strukturnachweis der Zielstruktur **65** erfolgte neben ¹H- und ¹³C-NMR-spektroskopischen Untersuchungen massenspektrometrisch. Das ESI-MS von **65** zeigte eine säuretypische Fragmentierung von CO₂, welche eine Konkurrenzreaktion über das im Vergleich zum N-Atom weniger nukleophile O-Nukleophil des Eduktes **66** ausschließt. Die Ureido-thioessigsäure **65** entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 28 % d. Th..

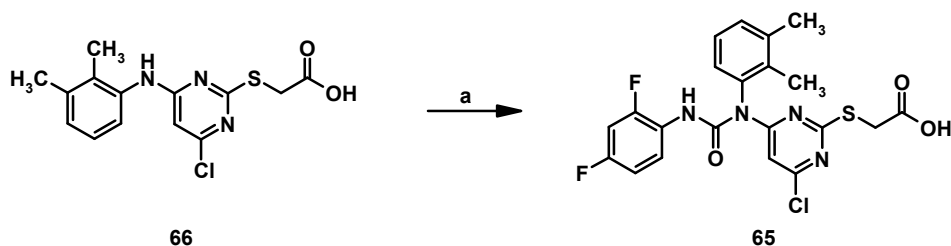


Abb. 32: Synthese der Ureido-thioessigsäure **65**. (a) 2,4-Difluorphenylisocyanat, Di-*n*-butylphosphat, Toluol abs., 100 °C.

Ein weiterer Aspekt der Strukturoptimierung bestand in der Transformation des sekundärenamins der Leitstruktur WY 14643 in ein tertiäres Amin. Der Hintergrund dieser Strukturmodifikation betrifft das zentrale Interesse von eventuell positiven Ligand-Rezeptor-Interaktionen via Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der NH-Funktion der

Leitstruktur und Aminosäureresten mit Wasserstoff-Akzeptor-Eigenschaften der LBD der PPARs. Auf der Basis des zu diesem Zeitpunkt aktuellen Wissensstandes sollte aufgrund optimierter *in vitro*-pharmakologischer Ergebnisse eines α -methylierten Pirinixinsäurederivates (s. Kap. 3.2.4) gleichzeitig eine Methylgruppe in α -Position zur Carbonsäure eingeführt werden.

Hierzu wurde der NH- und α -CH-acide Charakter des Pirinixinsäureethylesters **63** ausgenutzt, indem mit Hilfe von zwei Äquivalenten der sperrigen nicht-nukleophilen Base LiHMDS in HMPA und abs. THF bei einer Temperatur von $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Argon-Atmosphäre deprotoniert wurde (s. Abb. 33). Zur Methylierung des N-Atoms und des α -C-Atoms (C2) bei Raumtemperatur wurden zwei Äquivalente Methyljodid verwendet. Der Einsatz von zwei Äquivalenten aller Reagenzien ermöglichte die konzertierte Einführung von zwei Methylgruppen zum einen am Amin-N-Atom und zum anderen am α -C-Atom zur Carboxylgruppe. Das Produkt **68** entstand nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 84 % d. Th. (weisse Kristalle). Der Carbonsäureester **68** wurde nach der herkömmlichen Methode mittels 1N NaOH in Ethanol verseift, so dass die Carbonsäure **69** in einer Ausbeute von 34 % d. Th. in Form weißer Kristalle isoliert werden konnte.

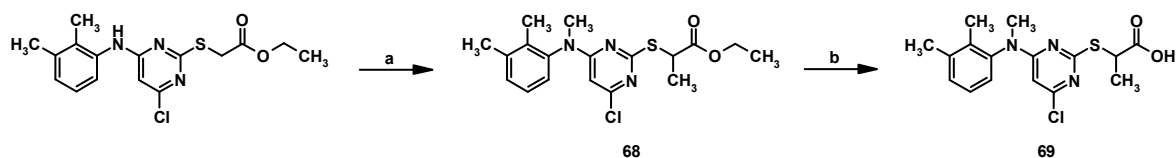


Abb. 33: Synthese des *N*- und α -methylierten Pirinixinsäurederivates **69**. (a) **1.** LiHMDS, HMPA, THF abs., $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, **2.** MeI, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}\rightarrow 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, **3.** LiHMDS, HMPA, THF abs., $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, **4.** MeI, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}\rightarrow 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

3.1.3 Substitution des 2,3-Dimethylphenylrestes durch aliphatische Reste

Um den Einfluss des 2,3-Dimethylphenylrestes bzw. von Arylresten in 6-Pyrimidin-Position der Pirinixinsäure auf die Bindungsaffinität zum Rezeptor zu untersuchen, wurde eine Substitution des 2,3-Dimethylphenylrestes durch aliphatische Reste vorgenommen. Hintergrund dieser Grundidee war es, zwischen etwaigen Ligand-Rezeptor-Interaktionen (distale Bindungstaschen der PPARs) in Form von van-der-Waals- bzw. π - π -Wechselwirkungen zu differenzieren, d. h. den Einfluss von aromatischen und aliphatischen Resten auf ein optimales Ligand-Rezeptor-Bindungsprofil zu kristallisieren.

Zunächst wurde der 2,3-Dimethylphenylrest der Leitstruktur Pirinixinsäure durch einen Octylrest substituiert. Der Grundgedanke dieser Art von Strukturoptimierung bestand in der Einführung von langkettigen lipophilen Alkylresten in Analogie zu den Strukturelementen gesättigter Fettsäuren, welche als natürliche PPAR α -Agonisten identifiziert wurden (vgl. Kap. 1.2.2).

Die Synthese dieses Derivates verlief analog zu der in Kap. 3.1.1 vorgestellten allgemeinen Synthesestrategie (s. Abb. 21), indem der Precursor (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **9** in einer nukleophilen aromatischen Substitution mit 1-Aminooctan mittels Natriumcarbonat als Base in Ethanol gekoppelt wurde. Nach säulenchromatographischer Reinigung des erhaltenen Öls und anschließender Umkristallisation aus Ethanol konnte das Produkt **70** in Form farbloser Kristalle in einer Ausbeute von 45 % d. Th. isoliert werden (s. Abb. 34). Die anschließende alkalische Verseifung von [4-Chlor-6-(octylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester **70** verlief mit einer Ausbeute von 82 % d. Th. und führte zur Bildung weißer Kristalle von **71**.

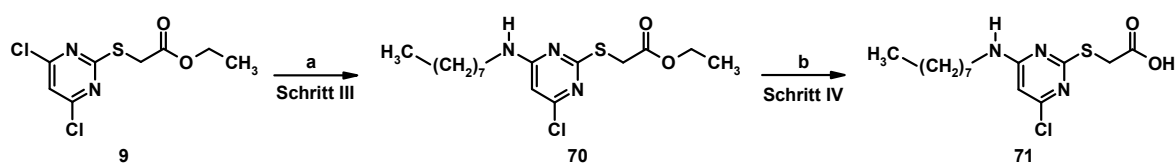


Abb. 34: Synthese von [4-Chlor-6-(octylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **71**. (a) 2,3-Dimethylanilin, Na₂CO₃, EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

In einer weiteren Reaktionsfolge wurde der 2,3-Dimethylphenylrest der Pirinixinsäure durch einen Heptylrest substituiert, kombiniert mit der Einführung eines aufgrund *in vitro*-pharmakologischer Ergebnisse optimalen Butylrestes in α -Position zur Carbonsäure. Da der parallele Optimierungsbeitrag bezüglich der α -Substitution mittlerweile zu dem Ergebnis führte, dass ein Butylrest in α -Position zu einer hohen Aktivität am Rezeptor führt (vgl. Kap. 3.2.4), wurde die Serie dieser Strukturmodifikation mit dem entsprechenden α -Butyl-Precursor **40** durchgeführt.

Hierzu wurde der in Kap. 3.1.1.3 vorgestellte Precursor 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-hexansäureethylester **40** mittels 1-Heptylamin und Natriumcarbonat in Ethanol einer nukleophilen aromatischen Substitution unterworfen (s. Abb. 35). Das in einer relativ hohen Ausbeute von 87 % d. Th. angefallene gelbe Öl **72** wurde nach der herkömmlichen alkalischen Methode verseift. 2-[4-Chlor-6-(heptylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-hexansäure **73** entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 16 % d. Th..

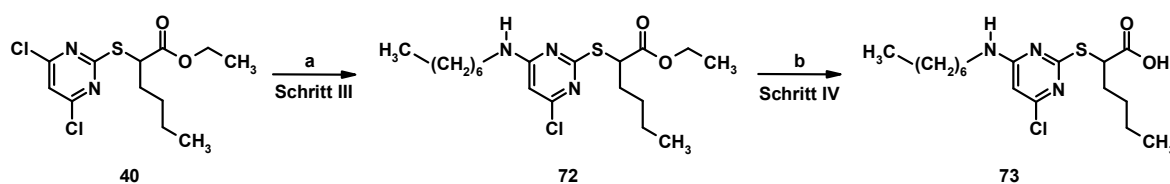


Abb. 35: Synthese von 2-[4-Chlor-6-(heptylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-hexansäure **73**. (a) 2,3-Dimethylanilin, Na_2CO_3 , EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

3.1.4 Synthese von Precursorverbindungen der Pirinixinsäure

Um Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Pirinixinsäurederivaten bezüglich ihrer PPAR-Aktivität aufzustellen, bietet sich die Untersuchung von Vorläufermolekülen von WY 14643 an. Im zentralen Mittelpunkt dieser Untersuchungen steht die Frage des für ein optimales Ligand-Rezeptor-Bindungsprofil essentiellen Charakters des 2,3-Dimethylanilin-Restes der Leitstruktur WY 14643. Hierzu wurden auf der Basis der freien Carbonsäure in den Positionen 4 und 6 des Pyrimidin-Ringes Amino- und Hydroxylgruppen eingeführt.

Die bereits in Kap. 3.1.1.1 synthetisierten Precursor (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **8** und (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **9** wurden jeweils mittels einer 1N NaOH-Lösung in Ethanol unter Rückfluss verseift. Das 4,6-dihydroxylierte Produkt **74** entstand in einer Ausbeute von 61 % d. Th., wohingegen das gewünschte dichlorierte Produkt nicht isoliert werden konnte (s. Abb. 36). Da Chlor-Atome gute Abgangsgruppen darstellen, wurde stattdessen ein Chlor-Substituent von Verbindung **9** durch einen Ethoxy-Rest substituiert. Das in basischer Lösung aus Ethanol gebildete Ethanolat-Ion fungiert an dieser Stelle als Nukleophil. Letztendlich entstand das Produkt **75** in Form weißer Kristalle in einer Ausbeute von 42 % d. Th..

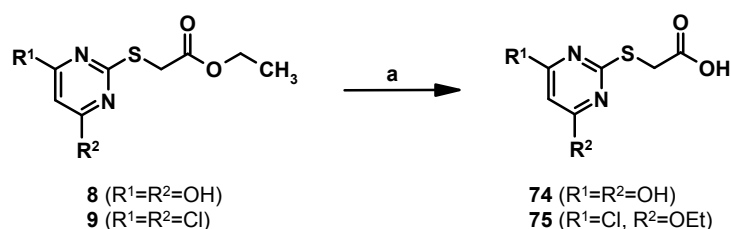


Abb. 36: Synthese der 4,6-disubstituierten Precursor mit $\text{R}^1=\text{OH}$, $\text{R}^2=\text{OH}$ (**74**) und $\text{R}^1=\text{Cl}$, $\text{R}^2=\text{OEt}$ (**75**). (a) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

	74	75	76	77
R ¹	OH	Cl	NH ₂	OH
R ²	OH	OEt	NH ₂	NH ₂

Tabelle 8: Precursorverbindungen 74-77 der Pirinixinsäure.

Der 4,6-diaminierte Precursor **76** und der 4-Amino-6-hydroxylierte Precursor **77** wurden nach einer literaturbekannten Vorschrift synthetisiert.⁹⁶ Das kommerziell erhältliche 4,6-Diamino-2-mercaptopyrimidin-Monohydrat bzw. 4-Amino-6-hydroxy-2-mercaptopyrimidin-Monohydrat wurden mit dem Natriumsalz der Chloressigsäure in Gegenwart von Natriumcarbonat als Base in Wasser umgesetzt (s. Abb. 37). Das Produkt **76** konnte mit einer sehr guten Ausbeute von 98 % d. Th. isoliert werden, wohingegen Produkt **77** in einer Ausbeute von 90 % d. Th. entstand.

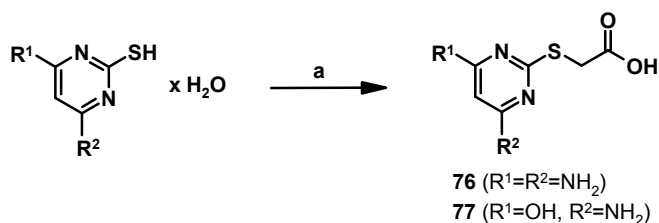


Abb. 37: Synthese 4,6-disubstituierter Precursor mit R¹=NH₂, R²= NH₂ (**76**) und R¹=OH, R²= NH₂ (**77**). (a) ClCH₂COONa, Na₂CO₃, H₂O, 100 °C.

3.1.5 Versuchte Synthese des α,β -ungesättigten Pirinixinsäurederivates 4-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-but-2-ensäure **78**

Mit der Kenntnis der Funktion ungesättigter Fettsäuren als endogene PPAR-Liganden sollte eine derartige ungesättigte Carbonsäurefunktionalität in das Grundgerüst der Pirinixinsäure implementiert werden. Basierend auf diesem Grundgerüst, sollte zum einen der Spacer zwischen dem Sulfanylpyrimidin-Rest und der Carboxylgruppe um zwei Kohlenstoff-Atome verlängert werden und zum anderen eine Doppelbindung in diesen Bereich eingeführt werden. Die Zielstruktur der α,β -ungesättigten Carbonsäure 4-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-but-2-ensäure **78** ist in Abb. 38 dargestellt.

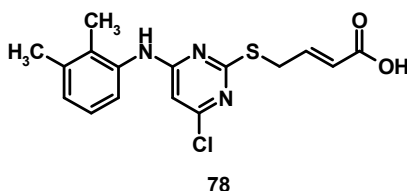


Abb. 38: Zielstruktur 4-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-but-2-ensäure **78**.

In Anlehnung an die in Kap. 3.1.1 vorgestellte Synthesestrategie wurde in Schritt I Thiobarbitursäure mit 4-Brom-crotonsäureethylester in alkalischer NaOH-Lösung über eine nukleophile Substitution umgesetzt. Die Reaktion wurde zum einen bei Raumtemperatur und zum anderen bei 60 °C durchgeführt, wobei zwei unterschiedliche Produkte entstanden. Die Variante milder Reaktionsbedingungen (RT) resultierte in der α,β -ungesättigten Carbonylverbindung **79**, wohingegen höhere Reaktionsbedingungen (60 °C) zum stabilen bicyklischen Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-on **80** führte (s. Abb. 39). Sowohl das offenkettige Produkt **79** als auch der Bicyklus **80** konnten mittels POCl₃ chloriert werden, wobei wiederum die Reaktionstemperaturen von entscheidender Bedeutung zur selektiven Darstellung der Produkte **81** und **82** sind (s. Abb. 39). Nach mehreren Stunden zyklisiert das offenkettige Produkt **79** bereits bei Raumtemperatur. Das gewünschte offenkettige α,β -ungesättigte Pirinixinsäurederivat **78** (s. Abb. 38) konnte somit aufgrund der Instabilität der Precursor **79** und **82**, welche in deren reaktiven Zyklisierungseigenschaften begründet liegt, nicht isoliert werden.

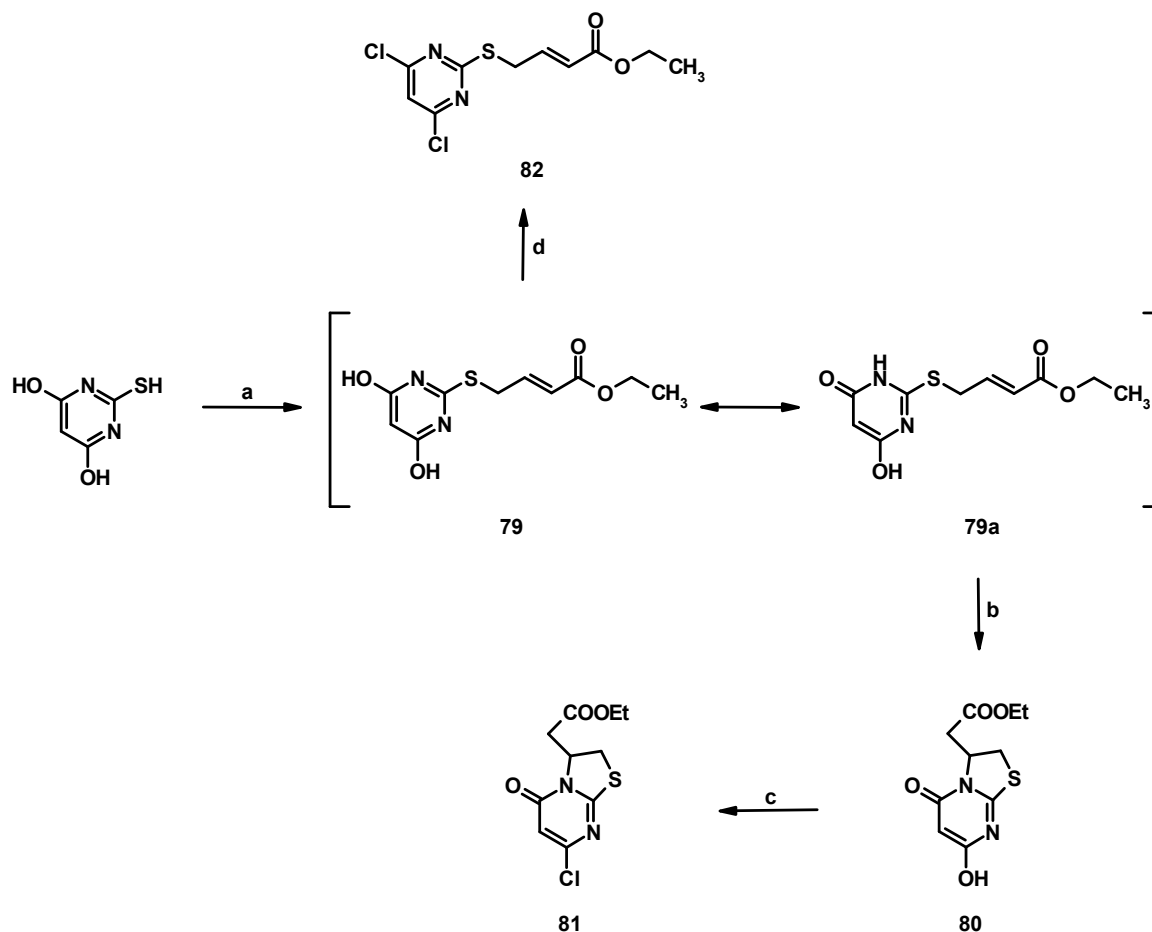


Abb. 39: Syntheseweg zur selektiven Darstellung der Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-one **80** und **81** und der α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen **79** und **82**. (a) 1M NaOH, 4-Brom-crotonsäureethylester, EtOH, 25 °C, (b) 1M NaOH, 4-Brom-crotonsäureethylester, EtOH, 60 °C, (c) POCl₃, *N,N*-Diethylanilin, 110 °C, (d) POCl₃, *N,N*-Diethylanilin, 25 °C.

Abgesehen von der pharmakologischen Relevanz der entstandenen Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-one **80** und **81** wurde ein neuer Syntheseweg zur selektiven Darstellung von Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-onen etabliert. Mechanistisch gesehen besteht die Einstufenreaktion zur selektiven Darstellung von Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-onen aus einer *in situ*-nukleophilen Substitution gefolgt von einer *Michael*-artigen Reaktion, welche auch als *Michael*-artige Tandem-Reaktion bezeichnet werden kann. Unter Betrachtung der tautomeren Grenzstrukturen **79** und **79a** unterliegt Verbindung **79** einer *N*-nukleophilen *Michael*-artigen Zyklisierung. Hinsichtlich der literaturbekannten Synthesestrategien zur Darstellung von Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-onen^{97–100} stellt die etablierte *Michael*-artige Tandem-Reaktion eine chemisch-synthetische Innovation dar.

Die Bildung des Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **81** wurde zum einen durch Kristallstrukturanalyse (s. Abb. 40) und zum anderen durch ^1H - und ^{13}C -NMR spektroskopische Daten belegt.

Die Kristallstruktur von (7-Chlor-5-oxo-2,3-dihydro-5*H*-thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-3-yl)-essigsäureethylester **81** zeigt eine planare Struktur der Pyrimidin-5-on-Gruppe, wohingegen der Thiazol-Ring strukturell durch seine *envelope conformation* („Briefumschlag-Konformation“) charakterisiert ist. Die ideale Ebene der Briefumschlag-Struktur wird durch S, C1, N2 und C5 aufgespannt, wobei C6 um 0.31 Å von dieser Ebene abweicht. Die C5–C7-Bindung zeigt eine pseudo-axiale Orientierung bezüglich des fünfgliedrigen Thiazol-Ringes. Die Dimensionen des Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **81** zeigen eine große Übereinstimmung mit literaturbekannten Kristallstrukturen von Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-onen.^{101–103} Die Kristallpackung von **81** weist zwei intermolekulare C–H \cdots O Kontakte mit H \cdots O-Abständen von 2.44(2) und 2.54(2) Å auf.¹⁰⁴

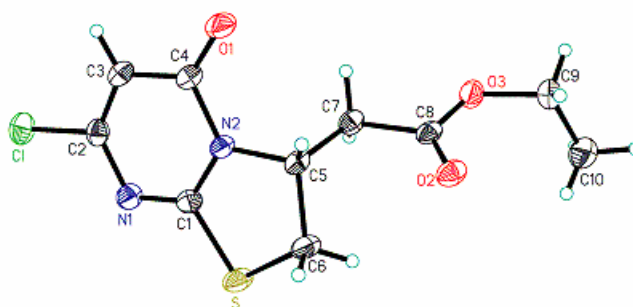


Abb. 40: ORTEP-Plot von (7-Chlor-5-oxo-2,3-dihydro-5*H*-thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-3-yl)-essigsäureethylester **81**.

Des Weiteren wurde die Bildung des Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **80** durch ^1H - und ^{13}C -NMR spektroskopische Daten gestützt. Die Zuordnung der ^{13}C -NMR Signale gelang durch Anwendung von DEPT- und HMBC-Experimenten. Im Folgenden werden die NMR-spektroskopischen Daten des Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons (7-Hydroxy-5-oxo-2,3-dihydro-5*H*-thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-3-yl)-essigsäureethylester **80** im Vergleich zur α,β -ungesättigten Carbonylverbindung 4-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-but-2-ensäureethylester **79** diskutiert. Das DEPT-Spektrum des Thiazolopyrimidin-5-ons **80** zeigt drei negativ polarisierte CH_2 -Signale und zwei positiv polarisierte CH-Signale, wohingegen das DEPT-Spektrum der offenkettigen Verbindung **79** zwei CH_2 -Signale mit negativer Polarisierung und drei positiv polarisierte CH-Signale aufweist. Abgesehen von den pyrimidinischen aromatischen CH-Signalen beider Produkte **79** und **80** tritt im Spektrum des Thiazolopyrimidin-5-ons **80** eine charakteristische N-CH Resonanz bei

56.53 ppm auf, wohingegen im Spektrum der α,β -ungesättigten Verbindung **79** die Resonanz des olefinischen C^α (123.07 ppm) verglichen mit der vergleichsweise zu tieferem Feld verschobenen Resonanz für C^β (143.17 ppm) aufgrund der elektronenziehenden Carbonylgruppe an C^α charakteristisch ist.¹⁰⁵

3.2 Medizinische Chemie

3.2.1 *In vitro*-pharmakologische Testsysteme zur Identifizierung von Ligand-Rezeptor-Interaktionen

Der Großteil aller synthetisierten Liganden wurde sowohl am murinen PPAR α als auch an den humanen Subtypen PPAR α , PPAR β und PPAR γ mit Hilfe von Reporter-Gen-Assays, welche in den folgenden Kapiteln 3.2.1.1 und 3.2.1.2 beschrieben sind, *in vitro*-pharmakologisch charakterisiert.

3.2.1.1 Muriner PPAR α -Assay

Alle in Kap. 3.1 beschriebenen synthetisierten Liganden **18-25**, **30**, **53-59**, **62**, **65**, **69**, **71**, **73** und **74-77** wurden ebenso wie WY 14643, welche als Leitstruktur fungiert und somit als Referenz verwendet wurde, mit Hilfe eines murinen Reporter-Gen-Assays auf ihre PPAR α -aktivierende Wirkung untersucht. Der Assay beruht darauf, dass PPAR α nach der Bindung eines Liganden die Transkription von Genen aktiviert, die unter der Kontrolle eines PPAR-Responselements (PPRE) stehen. Im Assay wurde hierzu ein Plasmid verwendet, das nach dem Promotor des Acyl-CoA Oxidase Gens, welcher drei PPREs in Folge enthält, das Firefly-Luziferase Gen als Reporter beinhaltet. Die Aktivität des Luziferase-Gens steht hierbei in direktem Zusammenhang zur PPAR-Aktivierung und kann deshalb als Maß für diese verwendet werden. Da die verwendeten Cos-7-Zellen kein endogenes PPAR α besitzen, wurden ein Expressionsplasmid für murines PPAR α und ein Kontrollplasmid, das das Renilla-Luziferase-Gen unter der Kontrolle eines unter den Testbedingungen konstitutiven Promotors beinhaltet, im Test eingesetzt. Die Cos-7-Zellen wurden mit den Plasmiden transient transfiziert, mit entsprechenden Konzentrationen der Testsubstanzen inkubiert und anschließend die Aktivität der Firefly- und Renilla-Luziferase bestimmt.

Die Aktivität der Firefly-Luziferase wurde über die Aktivität der Renilla-Luziferase normalisiert und der durchschnittliche Aktivierungsfaktor (Durchschnitt aus mindestens je drei Messungen pro Konzentration Testsubstanz) im Vergleich zur Kontrolle ohne Testsubstanz errechnet. Die relativen Aktivierungsfaktoren wurden berechnet, indem der höchste Faktor auf 100 % gesetzt wurde. Nach halblogarithmischer Auftragung der Mittelwerte der relativen Aktivierungsfaktoren (y-Achse) aus mindestens drei unabhängigen Experimenten gegen die Konzentration der Testsubstanz (x-Achse) wurde

der EC₅₀-Wert mit Hilfe einer logistischen Regression (vier Parameter) bestimmt. Der EC₅₀-Wert ist durch die Konzentration, bei der eine halbmaximale PPAR-Aktivierung zu beobachten ist, definiert. Je niedriger dieser Wert ausfällt, desto stärker ist die durch Testsubstanzen verursachte PPAR α -abhängige Genaktivierung. Die Testung der Referenzsubstanz WY 14643 ergab einen EC₅₀-Wert von 0.98 μ M, welcher in guter Übereinstimmung mit dem literaturbekannten Wert von 0.63 μ M steht.²⁸

3.2.1.2 Humaner PPAR-Assay der Subtypen α , β und γ

Im Gegensatz zum murinen PPAR α -Assay wird beim humanen PPAR-Assay nicht der gesamte Rezeptor verwendet, sondern ein Fusionsprotein, welches aus der Gal4-DNA-Bindedomäne, anstelle der DBD des PPAR (Gal4 ist ein Transkriptionsfaktor aus der Hefe) und den Domänen hinge-Region und Liganden-Bindungsdomäne (LBD) des jeweiligen humanen PPAR besteht. Der Assay beruht darauf, dass das Fusionsprotein nach der Bindung eines Liganden an die LBD die Transkription von Genen aktiviert, die unter der Kontrolle eines Gal4-Responselements stehen. Im Assay wird dadurch eine sehr hohe Subtyp-Spezifität erreicht, da die Aktivierung endogener PPARs aufgrund des Fehlens des entsprechenden PPRES auf dem Reporter-Plasmid nicht miterfasst wird. Vielmehr enthält das Reporter-Gen-Plasmid das Firefly-Luziferase-Gen unter der Kontrolle eines Promotors, der aus der fünffachen Wiederholung des Gal4-Responselements und einer TATA-Box besteht. Die Aktivität des Luziferase-Gens steht in direktem Zusammenhang mit der Aktivierung der PPAR-LBD des jeweiligen PPAR-Subtyps und kann deshalb als Maß für die Aktivierung von PPAR verwendet werden. Des Weiteren wurden ein Expressionsplasmid für das Fusionsprotein und ein Kontrollplasmid, das das Renilla-Luziferase-Gen unter der Kontrolle eines unter den Testbedingungen konstitutiven Promotors beinhaltet, im Test eingesetzt. Die Durchführung und Auswertung erfolgt analog des in Kap. 3.2.1.1 beschriebenen murinen PPAR α -Assays. Für WY 14643 ergab sich für PPAR γ ein EC₅₀-Wert von 53.7 μ M, welcher mit dem literaturbekannten Wert von 60 μ M als konform anzusehen ist,²⁸ wohingegen literaturbekannte EC₅₀-Werte bezüglich der Subtypen α und β von den ermittelten in den folgenden Kapiteln diskutierten Werten aufgrund veränderter experimenteller Konditionen abweichen.

3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich (W-Substitution)

Durch Anwendung des in Kap. 3.2.1.1 beschriebenen murinen PPAR α -Reporterassays wurde zunächst ein Aktivitäts-Screening aller in den folgenden Kapiteln 3.2.2 bis 3.2.7 diskutierten Liganden durchgeführt. Final wurden nur jene Substanzen an den humanen Rezeptorsubtypen α , β und γ getestet, welche im mPPAR α -Assay auf eine signifikante Aktivitätssteigerung versus der Leitstruktur WY 14643 hinwiesen.

Humane *in vitro*-pharmakologische Ergebnisse (s. Tab. 9) bezüglich PPAR α zeigten bei den 4-Halogenphenyl-substituierten Derivaten **18** und **20** eine im Vergleich zu WY 14643 deutliche Aktivitätssteigerung um ~Faktor 4 (**18**) bzw. ~Faktor 3 (**20**). Die verhältnismäßig großen lipophilen Halogenatome scheinen durch Ausbildung hydrophober Ligand-Rezeptor-Wechselwirkungen im Bereich der distalen Bindungstaschen des PPAR α einen wichtigen Beitrag zur Bindungsaffinität zu liefern.

Ein nicht unerheblicher Aspekt ist der Einfluss des aliphatischen Restes in 2-Phenylposition auf PPAR α -Aktivität. Die EC₅₀-Werte von Verbindung **18** verglichen mit **19** bzw. Verbindung **21** mit **22** (s. Tab. 9) demonstrieren den für eine gesteigerte mPPAR α -Aktivität wichtigen Beitrag der aliphatischen 2-Phenylsubstituenten, welcher auf van der-Waals-Wechselwirkungen mit lipophilen Aminosäureresten der LBD zurückzuführen ist. Diese Theorie wird durch die im Vergleich zur Leitstruktur WY 14643 drastisch erhöhten EC₅₀-Werte der Substanzen **23-25**, welche in 2- und 3-Phenyl-Position keine aliphatischen Reste tragen, unterstützt.

Sowohl WY 14643 als auch die Liganden **18**, **20** und **21** zeigen eine schwache hPPAR β -Aktivierung, wohingegen sich die EC₅₀-Werte am hPPAR γ der Liganden **18**, **20** und **21** im Bereich der der Leitsubstanz WY 14643 bewegen. Verbindung **19**, welche in 2-Phenyl-Position unsubstituiert ist, zeigt eine im Vergleich zur Leitstruktur und zu den Liganden **18** und **20** deutliche Aktivitätssteigerung um ~Faktor 2 bezüglich PPAR γ . Im Vergleich zur vorangegangenen Diskussion der Wirkungsprofile der Liganden **18-20** bezüglich PPAR α , zeigt sich am PPAR γ ein genau umgekehrter und somit negativer Einfluss der 2-Methylphenyl-Substituenten der Liganden **18** und **20** auf das Bindungsverhalten am Rezeptor.

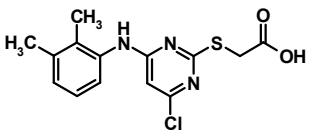
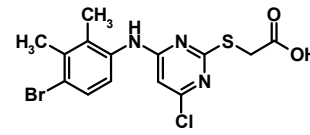
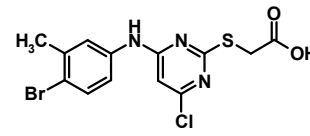
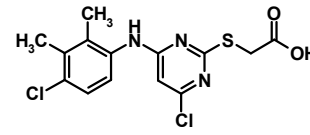
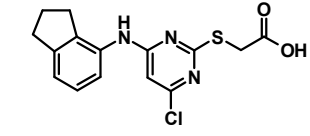
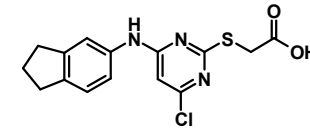
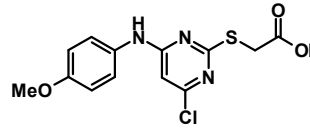
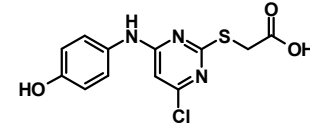
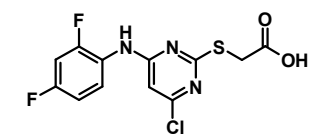
Serien-Nr.	Struktur	mPPAR α	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% ^a	53.7
18		0.27	9.9	rel. Akt. < 75% ^a	51.7
19		4.19	17.2	nb	25.3
20		0.25	14.1	rel. Akt. < 75% ^a	49
21		0.73	19.8	rel. Akt. < 50% ^a	38.1
22		2-5	nb	nb	nb
23		Akt. > 2 ^b	nb	nb	nb
24		98.3	nb	nb	nb
25		Akt. > 2 ^b	nb	nb	nb

Tabelle 9: *In vitro*-pharmakologische Ergebnisse der im Arylamino-Bereich substituierten Derivate von WY 14643. ^a bei 100 μ M, ^b bei 6 μ M, nb: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

Aufgrund der festgestellten Aktivierungsfaktoren bezüglich der PPAR-Subtypen α und γ , der daraus resultierenden fehlenden PPAR α/γ -Selektivität und der vernachlässigbaren PPAR β -Potenz können die im Arylamino-Bereich substituierten Derivate **18-21** als duale PPAR α/γ -Agonisten eingestuft werden. Dieser Befund begründet sich zum einen durch das Vorhandensein einer pharmakophoren Carboxyl-Kopfgruppe, welche nach den Untersuchungen von *Cronet et al*⁷⁶ aufgrund sterischer Anspruchlosigkeit sowohl an raumerfüllende Aminosäurereste der hPPAR α -LBD (Tyr314 am Bsp. des dualen PPAR α/γ -Agonisten Tesaglitazar) als auch an weniger voluminöse analoge Aminosäurereste der hPPAR γ -LBD (His321 am Bsp. des dualen PPAR α/γ -Agonisten Tesaglitazar) über Wasserstoffbrücken binden kann. Zum anderen wird PPAR α - bzw. PPAR γ -Selektivität durch das Besetzen der linken und rechten distalen Bindungstasche bestimmt. Da nach den Untersuchungen von *Pirard et al*⁷⁷ die rechte distale Bindungstasche nur in Ligand-PPAR β -LBDs und Ligand-PPAR γ -LBDs okkupiert ist, könnte im Falle der hier diskutierten arylaminosubstituierten Pirinixinsäurederivate ein sogenanntes „flippen“ zwischen linker und rechter distaler Bindungstasche dem PPAR α/γ -Dualismus zugrunde liegen.

3.2.3 Struktur-Wirkungs-Beziehungen eines in 4-Pyrimidin-Position modifizierten Derivates von WY 14643 (Y-Substitution)

Um den Einfluss des Chlor-Atoms in 4-Pyrimidin-Position zu untersuchen, wurde ein Halogenaustausch vorgenommen, indem in 4-Pyrimidin-Position ein Br-Atom eingeführt wurde. Das Brom-substituierte Derivat **30** zeigte eine im Vergleich zur Leitstruktur schwächere Aktivität am mPPAR α als das entsprechende Chlor-Derivat WY 14643. Da das Br-Atom einen größeren van der Waals-Radius als das Cl-Atom besitzt, liegt die Vermutung nahe, dass der raumerfüllende Charakter des Brom-Atoms eine sterische Hinderung innerhalb der LBP verursacht, so dass keine optimalen Bindungsbeiträge geleistet werden können.

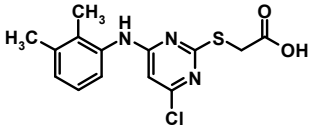
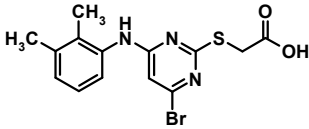
Serien-Nr.	Struktur	mPPAR α	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% ^a	53.7
30		1.29	nb	nb	nb

Tabelle 10: *In vitro*-pharmakologische Ergebnisse eines in 4-Pyrimidin-Position substituierten Derivates von WY 14643. ^a bei 100 μ M, nb: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

3.2.4 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Strukturmodifikationen in α -Position zur Carbonsäure (R-Substitution)

Ein weiterer Ansatz der Leitstrukturoptimierung bestand in der Implementierung von aliphatischen Alkyl- und Aryl-Substituenten in α -Position zur pharmakophoren Carboxylfunktion. Die Einführung von aliphatischen Alkylresten R in α -Position zur Carbonsäure bewirkte sowohl am hPPAR α als auch am hPPAR γ in der Reihe R=Me (**53**) < Et (**54**) < *n*-Pr (**55**) < *n*-Bu (**56**) < Hex (**57**) (s. Tab. 11 und 12) eine ansteigende PPAR-Potenz. Der α -hexylsubstituierte Ligand **57** der diskutierten Substanzserie fungiert mit einem EC₅₀-Wert von 1.2 μ M am hPPAR α und einer Aktivitätssteigerung um \sim Faktor 33 als potentester PPAR α -Aktivator, wohingegen das α -butylsubstituierte Derivat **56** mit einem EC₅₀-Wert von 3 μ M bzw. einer Aktivitätssteigerung um \sim Faktor 18 den potentesten PPAR γ -Aktivator der Substanzbibliothek darstellt. Weitere Faktoren der Aktivitätssteigerung im Vergleich zur Leitstruktur WY 14643 sind in Tabelle 11 dargelegt.

Die Einführung von aliphatischen Resten in α -Position zur Carbonsäure-Funktion demonstriert sowohl am murinen als auch am humanen PPAR α , dass das aktivierende Potential der entsprechenden Liganden **53-57** bezüglich PPAR α und PPAR γ mit steigender Kettenlänge des α -positionierten Restes R zunimmt.

Zudem stellt das α -dimethylsubstituierte Pirinixinsäurederivat **62** mit EC₅₀-Werten von 2.5 μ M (hPPAR α) bzw. 13.3 μ M (hPPAR γ) als schwach PPAR α -selektiver Agonist mit einem Selektivitätsfaktor von \sim 5 einen zentralen Bestandteil der vorhandenen Substanzbibliothek dar. Im Vergleich zum α -Monomethylsubstituierten Derivat **53** erfährt das α -dimethylsubstituierte Derivat **62** durch die Einführung einer weiteren α -Methylgruppe eine Aktivitätssteigerung bezüglich des hPPAR α um \sim Faktor 3.5. Diese Form der Leitstrukturoptimierung ist auf zusätzliche van der Waals-Wechselwirkungen innerhalb der linken proximalen Bindungstasche der LBD des hPPAR α zurückzuführen und demonstriert wie auch im Falle des α -butyl- bzw. α -hexylsubstituierten Liganden **56** und **57** ein optimiertes Ligand-Rezeptor-Interaktionsprofil bzw. eine effiziente Beanspruchung der linken proximalen Bindungstasche.

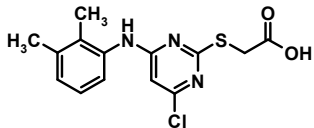
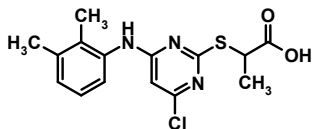
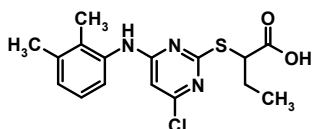
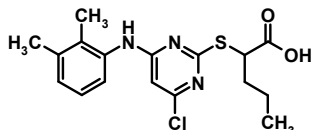
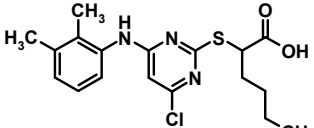
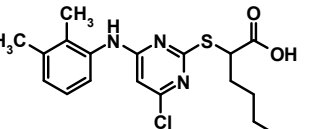
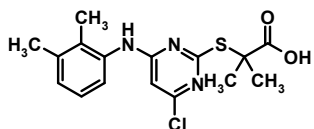
Serien-Nr.	Struktur	Faktor der Aktivitätssteigerung	
		hPPAR α	hPPAR γ
WY 14643 (Leitstruktur als Referenz)		1	1
53		4.5	4.1
54		5.2	4.8
55		5.7	9.8
56		30	18
57		33	15
62		16	4

Tabelle 11: Relative Faktoren der Steigerung der Aktivität α -substituierter Liganden **53-57** und **62** relativ zur Leitstruktur WY 14643. Die Faktoren der Aktivitätssteigerung wurden ermittelt, indem der EC_{50} -Wert der Leitstruktur WY 14643 durch den jeweiligen EC_{50} -Wert des entsprechenden Liganden dividiert wurde.

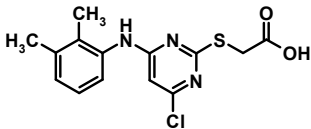
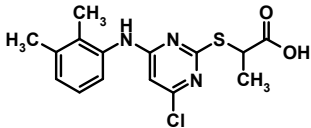
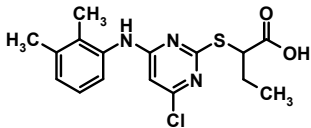
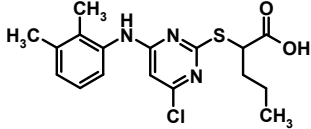
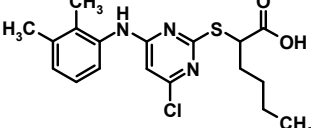
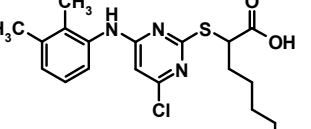
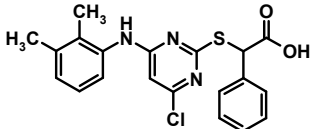
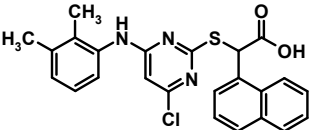
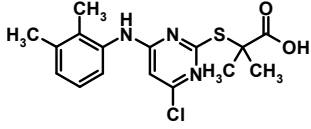
Serien-Nr.	Struktur	mPPAR α	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% ^a	53.7
53		1.12	8.8	rel. Akt. < 20% ^b	13
54		0.83	7.7	ia ^b	11.3
55		0.38	7	ia ^b	5.5
56		0.07	1.3	ia ^b	3
57		nb	1.2	ia ^b	3.6
58		0.12	rel. Akt. < 50% ^b	ia ^b	rel. Akt. < 50% ^b
59		1.29	ia ^c	ia ^c	rel. Akt. < 50% ^d
62		0.024	2.5	rel. Akt. < 80% ^a	13.3

Tabelle 12: *In vitro*-pharmakologische Ergebnisse α -alkylierter bzw. α -arylierter Pirinixinsäurederivate **53-59** und **62**. ^a bei 100 μ M, ^b bei 30 μ M, ^c bei 20 μ M, ^d bei 10 μ M, ia: inaktiv, nb: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

Im Gegensatz zu den α -alkylierten Liganden **53-57** und **62** zeigen die α -arylierten Derivate **58** (R=Phenyl) und **59** (R=Naphtyl) am hPPAR α und hPPAR γ nur eine schwache Aktivierung bzw. weisen Inaktivität auf (s. Tabelle 12). Die Einführung von α -Substituenten in das Grundgerüst von WY 14643 provoziert in Anlehnung an das Pharmakophormodell von *Pirard et al*⁷⁷ das Besetzen der linken proximalen Bindungstasche und führt, wie aus den in Tabelle 12 ersichtlichen *in-vitro* pharmakologischen Daten abzuleiten ist, zu einer mit der Kettenlänge des α -positionierten Restes R steigenden Rezeptoraktivität, welche durch hydrophobe Ligand-Rezeptor-Interaktionen vom van der Waals-Typ begründet werden kann. Die Rezeptorinaktivität α -arylierter Liganden **58** und **59** hat vermutlich sterische Gründe. Im Gegensatz zu den frei drehbaren C-C-Einfachbindungen aliphatischer α -Alkylreste, welche konformationell sehr flexibel sind, besitzen α -Arylreste aufgrund ihres starren Ringsystems einen sterisch anspruchsvollen raumerfüllenden Charakter und somit eine weniger flexible konformationelle Struktur, so dass sich diese Substituenten offensichtlich nicht optimal in die Bindungstasche „einfügen“ können. Zum anderen sind π -Bindungen zur Ausbildung von π - π -Ligand-Rezeptor-Interaktionen prädestiniert. Als Spekulation verbleibt die Annahme der fehlenden Bereitstellung von aromatischen zu π - π -Wechselwirkungen befähigten Aminosäureresten innerhalb der linken proximalen Bindungstasche der LBD der PPARs.

Alle in diesem Kapitel diskutierten α -substituierten Liganden sind am hPPAR β bereits bei 30 μ M inaktiv (oder zeigen eine schwache relative Aktivierung < 20% bei 30 μ M (**53**) bzw. < 80% bei 100 μ M (**62**)) und qualifizieren sich demzufolge als duale PPAR α/γ -Agonisten. Die Gründe hierfür liegen in dem von *Pirard* etablierten Postulat, dass die linke proximale Bindungstasche aufgrund der hohen Sequenzidentität der LBDs sowohl im PPAR α als auch im PPAR γ besetzt werden kann. PPAR-Selektivität kann lediglich durch die Modulation des hydrophoben terminalen Restes, welcher im Grundgerüst der Pirinixinsäure dem Arylamino-Bereich entspricht, aufgrund veränderter Bindungseigenschaften des Liganden an linker und rechter distaler Bindungstasche erzielt werden. Darüber hinaus bestätigt der duale PPAR α/γ -Charakter der α -substituierten Derivate **53-59** und **62** die bereits in den Kapiteln 1.2.4 und 3.2.2 vorgestellte These von *Cronet et al*⁷⁶ eines für pharmakophore Carboxyl-Kopfgruppen charakteristischen Wasserstoffbrücken-Netzwerkes.

Die Auffindung potenter dualer PPAR α/γ -Aktivatoren bietet wissenschaftlich gesehen einen großen Vorteil gegenüber selektiver PPAR α - bzw. PPAR γ -Agonisten. Wie bereits in

Kapitel 1.2.5 erwähnt, werden PPAR α -Aktivatoren wie die Fibrate als Lipidsenker eingesetzt, wohingegen selektive PPAR γ -Agonisten wie die TZDs bei Diabetes Typ 2 indiziert sind. Da die Dyslipidämie eine Komorbidität des Diabetes Typ 2 darstellt und umgekehrt Adipositas mit dem Diabetes Typ 2 eng assoziiert ist, könnte es aus medizinischer Sicht sinnvoll sein, eine gleichzeitige Therapie beider Krankheitsbilder mit dualen PPAR α/γ -Aktivatoren zu erzielen.

3.2.4.1 PPAR-Agonisten als Hemmstoffe der 5-Lipoxygenase

Die 5-Lipoxygenase (5-LO) bildet das Schlüsselenzym der Leukotrien-Biosynthese und katalysiert die ersten beiden Reaktionen der Umsetzung von Arachidonsäure zu den biologisch hochwirksamen Leukotrienen B₄, C₄, D₄ und E₄, welche wichtige Mediatoren entzündlicher und allergischer Reaktionen darstellen.¹⁰⁶ Aufgrund des bekannten Zusammenhangs zwischen Entzündung und PPAR-Agonismus über die NF- κ B-Signaltransduktion (vgl. Kap. 1.2.5.1), wurde im Hinblick auf antiinflammatorische Eigenschaften von PPAR-Agonisten das 5-LO-inhibitorische Potential der α -substituierten dualen PPAR α/γ -Agonisten **50**, **53-59** und **62** (s. Tab. 12) in intakten humanen polymorphkernigen Leukozyten (PMNL, *Polymorphonuclear Leukocytes*) untersucht.

Die Substanzen **50**, **55-57** und **59** zeigen einen deutlichen inhibitorischen Effekt der 5-LO, wohingegen die Verbindungen **53**, **54**, **58** und **62** bei einer Konzentration von 10 μ M inaktiv sind (s. Tab. 13). Die α -alkylierten Pirinixinsäurederivate **55-57** weisen also duale pharmakologische Eigenschaften auf, da sie zum einen potente PPAR-Aktivatoren sind (s. Kap. 3.2.4) und zum anderen die 5-LO auf signifikante Weise inhibieren. Das α -hexylsubstituierte Derivat **57** stellt den potentesten 5-LO-Inhibitor dieser Substanzserie mit einem IC₅₀-Wert von 2 μ M dar, zugleich kann **57** aber auch als potentester PPAR α/γ -Aktivator (EC₅₀ (hPPAR α) = 1.2 μ M, EC₅₀ (hPPAR γ) = 3.6 μ M) und somit als potentester dualer PPAR/5-LO-Ligand charakterisiert werden.

Des Weiteren können aufgrund des 5-LO-inhibitorischen Potentials des α -hexylsubstituierten Carbonsäureesters **50** interessante Rückschlüsse auf zur 5-LO-Inhibierung notwendige pharmakophore Kopfgruppen geschlossen werden. Die Inhibierung der 5-LO ist nicht durch die Wechselwirkung mit einer Carbonsäure-Kopfgruppe bedingt, wohingegen Liganden mit Carbonsäureester-Kopfgruppen aufgrund der fehlenden Fähigkeit zur Ausbildung eines für PPARs charakteristischen Wasserstoffbrückennetzwerks (vgl. Kap. 1.2.4) nicht als PPAR-Aktivatoren fungieren.

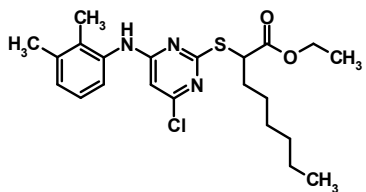
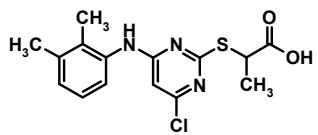
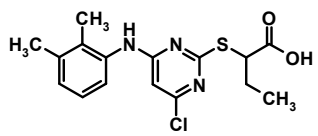
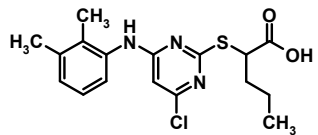
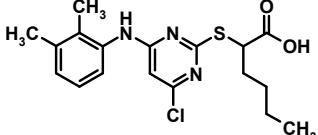
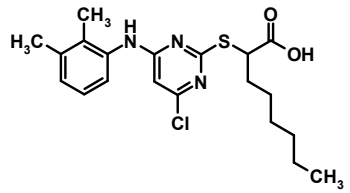
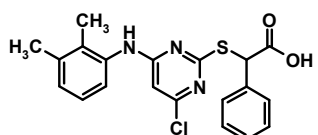
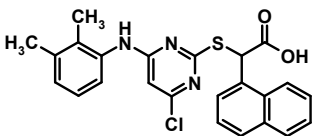
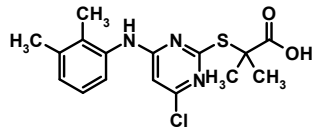
Serien-Nr.	Struktur	5-LO
		IC ₅₀ (μM)
50		~3
53		ia
54		ia
55		~5
56		10
57		2
58		ia
59		~5
62		ia

Tabelle 13: *In vitro*-pharmakologische Ergebnisse α -substituierter Pirinixinsäurederivate bezüglich der Inhibierung der 5-Lipoxygenase. ia: inaktiv bei 10 μ M.

3.2.5 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Ureido-Partialstruktur und dem Strukturelement eines tertiären Amins

Basierend auf der Struktur der Ureido-thioisobuttersäure GW 9578³⁰ (vgl. Kap. 1.2.3.1), die sich durch eine hohe Aktivität am hPPAR α auszeichnet, wurde eine Leitstrukturoptimierung im Sinne der Einführung einer 2,4-Difluorphenylureido-Partialstruktur in das Grundgerüst von WY 14643 vorgenommen, um somit zu untersuchen, ob ein derartiges Strukturelement zu höheren PPAR-Bindungsbeiträgen führt. Die Rationale dieser Grundidee besteht zum einen in der Generierung einer neuen funktionellen Gruppe und zum anderen in der Implementierung eines weiteren sterisch anspruchsvollen Restes und betrifft die Modulation des terminalen hydrophoben Molekülrestes.

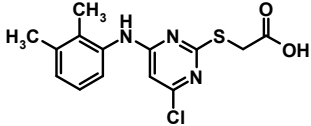
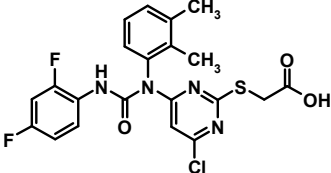
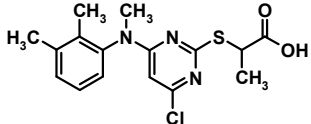
Serien-Nr.	Struktur	mPPAR α EC ₅₀ (μ M)	hPPAR α EC ₅₀ (μ M)	hPPAR β EC ₅₀ (μ M)	hPPAR γ EC ₅₀ (μ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% ^a	53.7
65		5.81	nb	nb	nb
69		Akt. > 2 ^b	nb	nb	nb

Tabelle 14: *In vitro*-pharmakologische Ergebnisse von Liganden mit Ureido-Partialstruktur (**65**) und dem Strukturelement eines tertiären Amins (**69**). ^a bei 100 μ M, ^b bei 30-100 μ M, nb: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

Aufgrund des im Vergleich zu WY 14643 signifikanten Aktivitätsverlustes des Ureido-Derivates **65** um ~Faktor 6 und des schwach PPAR-aktiven tertiären Amins **69** (s. Tab. 14) wurden keine weiteren Testungen an den humanen PPAR-Subtypen α , β und γ durchgeführt. Dem Verlust an Bindungsaktivität von **65** und **69** relativ zu WY 14643 am mPPAR α könnte unter Umständen ein verändertes Wasserstoffbrückenprofil im Bereich

der distalen Bindungstaschen zugrunde liegen. Offensichtlich wird im Falle von WY 14643 ein hoher Bindungsbeitrag durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen NH-Funktion und einem Wasserstoffakzeptor innerhalb der LBP erreicht. Sowohl Verbindung **65** (Harnstoff) als auch Verbindung **69** (tertiäres Amin) können aufgrund der fehlenden NH-Funktion nicht auf diese Art und Weise interagieren.

3.2.6 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von in 6-Pyrimidin-Position alkyl-amino-substituierten Liganden

Um den Effekt des 2,3-Dimethylphenylrestes auf PPAR-Aktivität zu untersuchen, wurde dieser durch aliphatische Alkylreste mit einer Kettenlänge von $n=7$ (**71**) und $n=8$ (**71**) substituiert (s. Tabelle 15). Durch diesen Ansatz konnten keine signifikanten Aktivitätssteigerungen erzielt werden. Vermutlich werden optimale Bindungseigenschaften durch π - π -Wechselwirkungen zwischen dem 2,3-Dimethylphenylsubstituenten von WY 14643 und π - π -Akzeptoren aromatischer Aminosäureseitenketten innerhalb der LBP im Bereich der distalen Bindungstaschen geprägt. Der schwach ausgeprägte positive mPPAR α -Effekt des Liganden **73** ist durch den Bindungsbeitrag des α -Butylrestes zu erklären (vgl. Kap. 3.2.4).

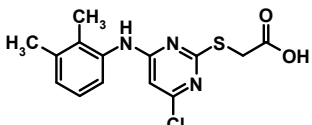
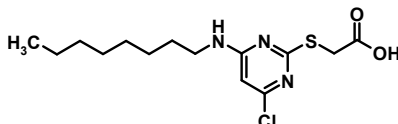
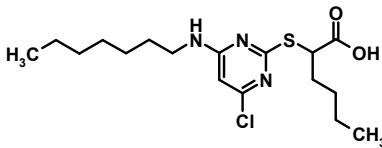
Serien-Nr.	Struktur	mPPAR α	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% ^a	53.7
71		1.42	nb	nb	nb
73		0.57	nb	nb	nb

Tabelle 15: *In vitro*-pharmakologische Ergebnisse *N*-alkylsubstituierter Liganden **71** und **73**. ^a bei 100 μ M, nb: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

3.2.7 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Precursorverbindungen der Pirinixinsäure

Die Rationale des synthetischen Aufbaus der in Tabelle 16 aufgeführten Precursor der Leitstruktur WY 14643 liegt in der Identifizierung zwecks optimaler PPAR-Aktivität pharmakophorer Partialstrukturen. Die in nachfolgender Tabelle 16 gezeigten *in vitro*-pharmakologischen Daten der Liganden **74-77** belegen aufgrund ihres inaktiven Verhaltens am mPPAR α das von Pirard *et al* etablierte Pharmakophormodell.

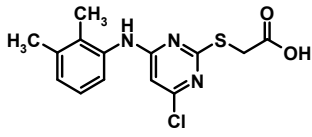
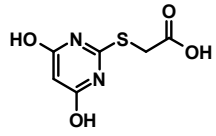
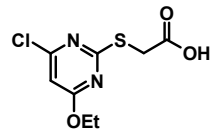
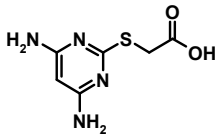
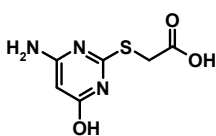
Serien-Nr.	Struktur	mPPAR α	hPPAR α	hPPAR β	hPPAR γ
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% ^a	53.7
74		ia ^b	nb	nb	nb
75		Akt. > 2 ^c	nb	nb	nb
76		ia ^b	nb	nb	nb
77		ia ^b	nb	nb	nb

Tabelle 16: *In-vitro* pharmakologische Ergebnisse der Precursor **74-77** der Pirinixinsäure. ^a bei 100 μ M, ^b bei 6000 μ M, ^c bei 500 μ M, ia: inaktiv, nb: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

Die Struktur der Precursor **74-77** beinhaltet eine pharmakophore Carboxyl-Kopfgruppe und einen hydrophoben Linker, welcher durch den Pyrimidinylsulfanyl-Rest beschrieben werden kann. Das Fehlen von zur Interaktion mit den distalen (entspricht 2,3-Dimethylphenyl-Strukturelement in WY 14643) und der linken proximalen Bindungstasche (entspricht Substituenten in α -Position zur Carboxylgruppe) befähigten

Strukturelementen erklärt den inaktiven Charakter der Substanzen **74-77**. Der 2,3-Dimethylphenylamino-Rest in 6-Position der Pirinixinsäure scheint somit in Form hydrophober Wechselwirkungen einen essentiellen Beitrag zu einem optimalen Ligand-Rezeptor-Bindungsverhalten zu liefern. Die 4,6-Pyrimidinyl-positionierten polaren Hydroxyl- und Amino-Gruppen der Liganden **74**, **76** und **77** sind zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen mit negativ polarisierten Aminosäureresten der LBDs der PPARs prädestiniert, jedoch scheinen in dieser Bindungsregion keine geeigneten H-Brücken-Akzeptoren zur Verfügung zu stehen. Die schwache durch Verbindung **75** induzierte Rezeptoraktivierung am mPPAR α resultiert vermutlich aus der Fähigkeit des Chlor-Atoms in 4-Position des Pyrimidins und des relativ kleinen Ethoxyrestes in 6-Position des Pyrimidins, hydrophobe Wechselwirkungen zu unpolaren Aminosäureseitenketten der LBD auszubilden.

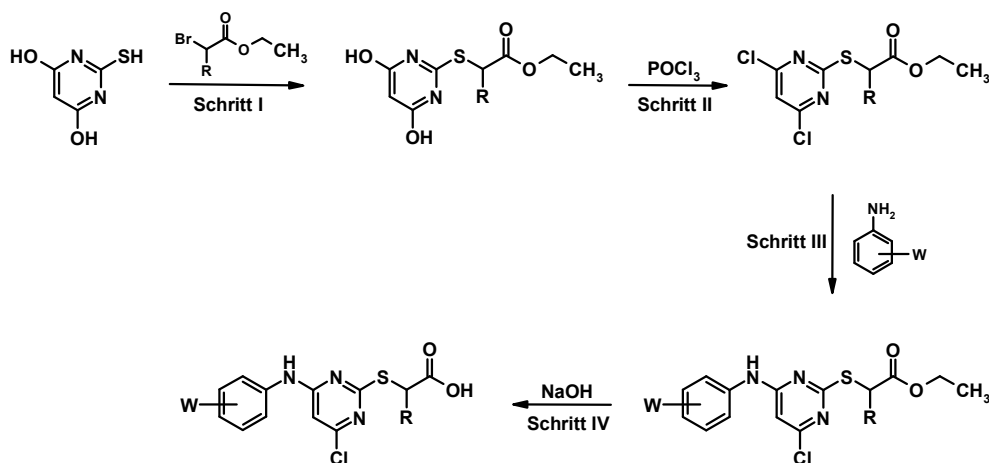
4. Zusammenfassung

Die Behandlung von Hypertriglyceridämien und Insulinresistenz erfolgt heute vor allem durch den Einsatz der Fibrate und Thiazolidindione (TZDs). Eine neue Wirkstoffklasse stellen die vor der Zulassung stehenden Glitazare dar, die als duale PPAR α / γ -Agonisten die lipidsenkenden Eigenschaften der Fibrate und die insulinsensitivierenden Eigenschaften der TZDs in einer Molekülklasse vereinen.

Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) gehören zur Klasse der nukleären Rezeptoren, von denen drei Subtypen (PPAR α , β und γ) bekannt sind. PPAR α fungiert als molekulares Target für die Klasse der Fibrate, welche als Lipidsenker eingesetzt werden, wohingegen die Thiazolidindione (TZDs) bei Typ 2 Diabetes indiziert sind und ihre Wirkung als selektive PPAR γ -Aktivatoren (Insulinsensitizer) entfalten. Duale PPAR α / γ -Agonisten wie Muraglitazar und Tesaglitazar stellen eine neue Klasse von Arzneistoffen dar, deren Zulassung beantragt ist und die zukünftig zur Behandlung von Typ 2 Diabetikern mit gestörtem Lipidprofil eingesetzt werden.

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde eine Leitstrukturoptimierung am selektiven PPAR α -Agonist Pirinixinsäure (WY 14643) mit Hilfe subtypespezifischer Reporterassays durchgeführt.

Dabei wurde zunächst eine geeignete Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten etabliert, was zur Charakterisierung und Identifizierung einer Serie von potenten dualen PPAR α / γ -Agonisten führte. Die Synthesestrategie zur Darstellung von sowohl im Arylamino-Bereich (W) als auch in α -Position (R) modifizierten Derivaten der Pirinixinsäure bestand in einer vierstufigen Reaktionsfolge, welche durch folgende Schlüsselreaktionen I-IV charakterisiert ist.



Allgemeines Syntheschema zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten mit dualen PPAR α / γ -agonistischen Eigenschaften.

Die PPAR-Modulatoren **18-25**, **30**, **53-59**, **62**, **65**, **69**, **71**, **73** und **74-77** wurden *in vitro*-pharmakologisch unter Anwendung Subtyp-selektiver Reporter-gen-Assays (mPPAR α , hPPAR α , β , γ) charakterisiert. Durch Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich (Substanzen **18-25**) der Leitstruktur WY 14643 (EC_{50} (hPPAR α) = 39.8 μ M, EC_{50} (hPPAR γ) = 53.7 μ M) konnte im Falle der 4-Halogenaryl-substituierten Liganden **18** (Br) und **20** (Cl) eine signifikante Steigerung der hPPAR α -Aktivität um den Faktor 4 (**18**) bzw. den Faktor 3 (**20**) erzielt werden. Die Inaktivität der Precursorverbindungen **74-77** demonstriert den für PPAR-Aktivität essentiellen terminalen hydrophoben Molekülrest, welcher dem 2,3-Dimethylphenyl-Rest von WY 14643 entspricht. Die α -alkyl-substituierten Derivate **53-57** zeigten sowohl am hPPAR α als auch am hPPAR γ eine mit der aliphatischen Kettenlänge steigende Potenz. Die EC_{50} -Werte (hPPAR α) der Carbonsäuren **53-57** und **62** liegen zwischen 1.2 und 8.8 μ M, wobei sich das α -Hexyl-Derivat **57** und das α -Butyl-Derivat **56** mit EC_{50} -Werten von 1.2 μ M (**57**) bzw. 1.3 μ M (**56**) entsprechend einer Steigerung der Aktivität gegenüber WY 14643 um Faktor 33 (**57**) bzw. Faktor 30 (**56**) als besonders potent erwies. Am hPPAR γ präsentieren ebenso das α -butylsubstituierte Derivat **56** und der α -hexylsubstituierte Ligand **57** mit EC_{50} -Werten von 3 μ M (**56**) bzw. 3.6 μ M (**57**) und einer Steigerung der Bindungsaktivität gegenüber WY 14643 von \sim Faktor 18 (**56**) bzw. \sim Faktor 15 (**57**) die Verbindungen mit der höchsten PPAR γ -Aktivität. Im Rahmen dieser Dissertation gelang somit die Auffindung neuartiger Leitstrukturen **56** und **57**. Die α -butyl- und α -hexylsubstituierten Liganden **56** und **57** besitzen dualen hPPAR α / γ -Charakter. Die PPAR α / γ -agonistischen Eigenschaften der neuentwickelten α -alkylsubstituierten Pirinixinsäurederivate werden durch ein von *Pirard et al* etabliertes Pharmakophor- und Selektivitätsmodell, welches die Ligandenbindungsdomäne (LBD) der PPARs durch fünf Bindungstaschen beschreibt, unterstützt. Die Einführung von α -Alkylsubstituenten in das Grundgerüst der Pirinixinsäure führt offensichtlich zum Besetzen der linken proximalen Bindungstasche und somit zu einer im Vergleich zur Leitstruktur WY 14643 stärkeren Bindung an die Ligandenbindungsdomäne des Rezeptors. Die Okkupierung dieser proximalen Bindungstasche entscheidet jedoch nicht über PPAR-Selektivität, da diese sowohl von hPPAR α - als auch von hPPAR γ -Agonisten besetzt wird. PPAR α / γ -Selektivität kann zum einen durch das Besetzen der linken bzw. rechten distalen Bindungstasche erzielt werden, zum anderen durch die Auswahl verschiedener polarer Kopfgruppen. Aufgrund unterschiedlicher Aminosäuresequenzen der Bindungstaschen der einzelnen PPAR-

Subtypen für die Kopfgruppen der PPAR-Modulatoren ergibt sich im hPPAR α und hPPAR γ eine durch den sterischen Einfluss von Carboxyl- bzw. TZD-Kopfgruppen verursachtes unterschiedliches Wasserstoffbrückennetzwerk. *Cronet et al* postulierte am Beispiel Tesaglitazar eine strukturelle Basis für dessen duale PPAR α/γ -Selektivität. Der zur Wasserstoffbrückenbindung erforderliche Tyr314-Rest in der hPPAR α -LBD ist sperriger als dessen äquivalenter His321-Rest in der hPPAR γ -LBD, wodurch postuliert werden kann, dass Tesaglitazar aufgrund seiner im Vergleich zur TZD-Kopfgruppe des Rosiglitazons kleineren Carboxyl-Kopfgruppe mit somit niedrigerem Raumbedarf sowohl an Tyr314 (PPAR α) als auch an His321 (PPAR γ) binden kann, wohingegen die TZD-Kopfgruppe des Rosiglitazons aufgrund seines relativ raumerfüllenden Charakters nur zur Bindung an His321 (PPAR γ) befähigt ist. Dieser Sachverhalt erklärt, warum die meisten TZDs als selektive PPAR γ -Agonisten fungieren, wohingegen duale PPAR α/γ -Agonisten hauptsächlich durch ihre pharmakophore Carboxyl-Kopfgruppe charakterisiert sind.

Mit der Kenntnis der Funktion ungesättigter Fettsäuren als endogene PPAR-Liganden sollte eine derartige ungesättigte Carbonsäurefunktionalität in das Grundgerüst der Pirinixinsäure eingeführt werden. Dieses α,β -ungesättigte Pirinixinsäurederivat konnte aufgrund chemisch-synthetischer Problemstellungen nicht isoliert werden. Dieser Reaktionsansatz führte jedoch nach dem Prinzip der *Serendipity* („Der glückliche Zufall“) zur Etablierung eines neuartigen Syntheseweges zur Darstellung von Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-onen über eine *Michael*-artige Tandem-Reaktion.

5. Experimenteller Teil

5.1 Allgemeine Angaben

Schmelzpunkte (Smp.): Schmelzpunktbestimmungsapparat nach Dr. Tottoli (Firma Büchi), unkorrigiert.

Dünnschichtchromatographie (DC): DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Firma Merck KGaA), Schichtdicke 0.2 mm. Die Chromatogramme wurden entweder durch UV-Licht oder durch das Sprühreagenz Ninhydrin visualisiert.

Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (Firma Merck KGaA), Korngröße 0.04-0.063 mm.

Kernresonanzspektroskopie (NMR): Zur Aufnahme von ¹H-NMR-Spektren wurde das Spektrometer Bruker ARX 300 (300 MHz) verwendet; ¹³C-NMR-Spektren wurden am Spektrometer AC 200 E (50 MHz) aufgenommen. Die Zuordnung der ¹³C-NMR-Signale erfolgte mit Hilfe von DEPT 135-Pulssequenzen oder des HMBC- bzw. HMQC-Experimentes. Die chemischen Verschiebungen δ der ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren wurden auf CDCl₃ (7.26 ppm (¹H-NMR), 77.2 ppm (¹³C-NMR)) bzw. DMSO-d₆ (2.50 (¹H-NMR), 39.5 (¹³C-NMR)) geeicht und beziehen sich auf eine Messtemperatur von 25 °C. Die Kopplungskonstante J wird in der Einheit Hertz (Hz) angegeben und bezeichnet, wenn nicht spezifiziert, eine ³J_{HH}-Kopplung über drei Bindungen benachbarter H-Atome.

Elementaranalysen wurden am Institut für Organische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main durchgeführt (Foss Heraeus CHN-O-rapid).

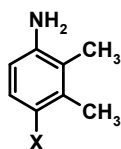
Massenspektrometrie (MS): Massenspektren wurden mittels der Methode ESI (*Elektrosprayionization*) im positiven oder negativen Modus (Fisous Instruments VG Platform 2) am Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt am Main aufgenommen

Verwendete Chemikalien: Der Großteil aller verwendeten Lösemittel wurde, soweit nicht anders angegeben, in technischer Form eingesetzt. Absolutierte Lösemittel sowie alle weiteren Chemikalien wurden von den Firmen Merck KGaA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Fluka) und Acros Organics BVBA bezogen.

5.2 Synthesevorschriften und Charakterisierungen

5.2.1 Synthese von Edukten

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der 4-Halogen-2,3-dimethylaniline **26** und **27**⁹⁴

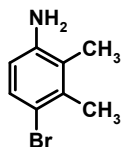


26 (X=Br)
27 (X=Cl)

2,3-Dimethylanilin (1 eq) in 10 mL trockenem DMF wurden in einem Dreihalskolben mit Tropftrichter, Rückflusskühler und Trockenrohr (CaCl₂) vorgelegt. Bei RT wurde NBS (**26**) bzw. NCS (**27**) (1 eq) in trockenem DMF zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde 24 h bei RT gerührt. Die lilafarbene Lösung wurde in Wasser aufgenommen und viermal mit CH₂Cl₂ extrahiert. Anschließend wurden die vereinigten organischen Phasen zweimal mit Wasser und zweimal mit NaHCO₃-Lsg. gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer unter Vakuum entfernt und der ölige Rückstand zweimal mittels Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase: *n*-Hexan/CH₂Cl₂ 1:1) gereinigt.

Nr.	X	2,3-DMA	NBS	NCS	DMF	Ausbeute	Aussehen
		(mL (mmol))	(g (mmol))	(g (mmol))	(mL)	(g (% d. Th.))	
26	Br	3.68 (30)	5.34 (30)	–	13	3.1 (52)	orangenes Öl
27	Cl	4.28 (35)	–	4.67 (35)	24	2.1 (39)	orangenes Öl

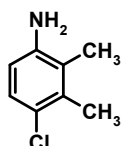
Tabelle 17: Reaktionsansätze zur Darstellung der substituierten Aniline **26** und **27**. 2,3-DMA: 2,3-Dimethylanilin, NBS: *N*-Bromsuccinimid, NCS: *N*-Chlorsuccinimid, DMF: *N,N*-Dimethylformamid.

Charakterisierung von 4-Brom-2,3-dimethylanilin 26

26

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.08$ (s, 3H, 2- CH_3), 2.33 (s, 3H, 3- CH_3), 3.50 (s (br), 2H, NH_2), 6.41 (d, 1H, 6- H , $J = 8.5$ Hz), 7.17 (d, 1H, 5- H , $J = 8.5$ Hz).

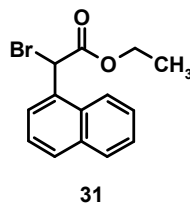
$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): $\delta = 14.10$ (2- CH_3), 20.00 (3- CH_3), 114.27 (2- C), 114.36 (6- C), 122.61 (3- C), 129.93 (5- C), 136.06 (4- C), 143.75 (1- C).

Charakterisierung von 4-Chlor-2,3-dimethylanilin 27

27

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.09$ (s, 3H, 2- CH_3), 2.32 (s, 3H, 3- CH_3), 3.54 (s (br), 2H, NH_2), 6.48 (d, 1H, 6- H , $J = 9$ Hz), 7.02 (d, 1H, 5- H , $J = 9$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): $\delta = 13.79$ (2- CH_3), 16.84 (3- CH_3), 113.83 (6- C), 122.53, 124.35 (3- C), 126.70 (5- C), 134.48 (4- C), 143.09 (1- C).

Synthese von Brom-naphtalen-1-yl-essigsäureethylester 31⁹⁵

In einer ausgeheizten Apparatur wurden unter Argon 5 g (23.34 mmol) 1-Naphtylessigsäureethylester, 4.98 g (28 mmol) *N*-Bromsuccinimid und 0.031 g (0.13 mmol) Dibenzoylperoxid in 70 mL abs. Tetrachlorkohlenstoff suspendiert und 3.5 h auf 90 °C erhitzt. Die erhaltene gelbe Suspension wurde filtriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde im Hochvakuum fraktionierend destilliert.

Ausbeute: 5.5 g (80 % d. Th.), gelbe Flüssigkeit.

Charakterisierung

Sdp. = 128-130 °C bei $p = 2 \times 10^{-3}$ mbar.

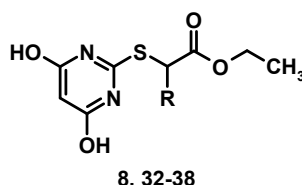
¹H-NMR (300.13 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.27$ (t, 3H, CH₂CH₃, $J = 7.1$ Hz), 4.31 (q, O-CH₂, $J = 7.1$ Hz), 6.19 (s, 1H, CHBr), 7.46-7.65 (m, 3H, *H* (Naph)), 7.82 (d, 1H, *H* (Naph)), 7.90 (t, 2H, *H* (Naph)), 8.16 (d, 1H, *H* (Naph)).

¹³C-NMR (50.32 MHz, CDCl₃): $\delta = 13.83$ (CH₂CH₃), 45.26 (CHBr), 62.65 (O-CH₂), 122.87 (Naph-8-C), 125.33 (Naph-3-C), 126.08 (Naph-6-C), 126.75 (Naph-7-C), 127.06 (Naph-2-C), 128.59 (Naph-5-C), 128.93 (Naph-4-C), 130.28 (Naph-8a-C), 131.55 (Naph-1-C), 133.89 (Naph-4a-C), 168.17 (CO).

Anal. (C₁₄H₁₃BrO₂ [293.15]) C, H: ber. C 57.36, H 4.47; gef. C 57.65, H 4.58; Abw. C 0.29, H 0.11.

5.2.2 Synthese der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **8** und **32-38**

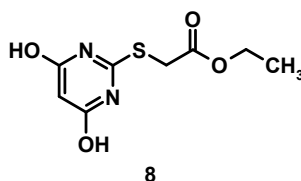
Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von **8** und **32-38**



Zu einer Suspension aus 2-Thiobarbitursäure (1eq) in EtOH wurde eine Lösung aus NaOH in Wasser (1M, 1.08 eq) gegeben und anschließend der entsprechende 2-Brom-ethylester **a-h** (1.17 eq) zugetropft. Die Suspension wurde auf 60 °C erhitzt und anschließend bei +4 °C zur Kristallisation im Kühlschrank gelagert. Die Kristalle wurden abfiltriert, mit Wasser und Diethylether gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

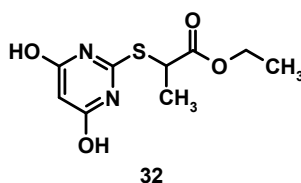
Nr.	R	TBS	1M NaOH	Ethylester	LM	Zeit	Ausbeute	Aussehen
		(g (mmol))	(mL (mmol))	(g (mmol))	(mL)		(g (% d. Th.))	
8	H	10 (69.4)	75 (75)	13.6 (81.2) ^a	75	2	12.6 (79)	weiße Kristalle
32	Me	10 (69.4)	75 (75)	14.7 (81.2) ^b	75	22	6.98 (41)	weiße Kristalle
33	Et	10 (69.4)	75 (75)	15.83 (81.2) ^c	75	30	7.74 (43)	weiße Kristalle
34	<i>n</i> -Pr	10 (69.4)	75 (75)	16.98 (81.2) ^d	75	29	7.6 (40)	weiße Kristalle
35	<i>n</i> -Bu	10 (69.4)	75 (75)	18.12 (81.2) ^e	75	42	6.68 (34)	gelbe Kristalle
36	Hex	10 (69.4)	75 (75)	20.4 (81.2) ^f	75	96	3.52 (16)	weiße Kristalle ⁱ
37	Ph	10 (69.4)	75 (75)	19.74 (81.2) ^g	75	6	19 (89)	weiße Kristalle
38	Naph	1.76 (12.25)	13 (13)	4.2 (14.33) ^h	13	6	3.32 (76)	weiße Kristalle

Tabelle 18: Reaktionsansätze zur Darstellung der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **8** und **32-38**. TBS: Thiobarbitursäure, LM: Lösemittel. ^a 2-Brom-essigsäureethylester, ^b 2-Brom-propansäureethylester, ^c 2-Brom-butansäureethylester, ^d 2-Brom-pentansäureethylester, ^e 2-Brom-hexansäureethylester, ^f 2-Brom-octansäureethylester, ^g 2-Brom-2-phenyl-essigsäureethylester, ^h Brom-naphtalen-1-yl-essigsäureethylester, ⁱ 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-octansäureethylester **36** wurde mittels Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase AcOEt/*n*-Hex 3:1) gereinigt.

Charakterisierung von (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester 8

Smp. = 195-196 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.17 (t, 3H, CH_3 , J = 7.2 Hz), 3.99 (s, 2H, S- CH_2), 4.10 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.2 Hz), 5.19 (s, 1H, Pyr-5- H), 11.78 (s (br), 2H, OH).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-propansäureethylester 32

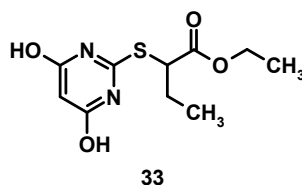
Smp. = 149 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.30 (t, 3H, CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 1.63 (d, 3H, CHCH_3 , J = 7.3 Hz), 4.24 (q, 2H, CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 4.63 (q, 1H, S- CH , J = 7.3 Hz), 5.36 (s, 1H, Pyr-5- H), 11.91 (s (br), 2H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.86 (CH_2CH_3), 17.71 (CHCH_3), 41.54 (S- CH), 61.17 (O- CH_2), 85.65 (Pyr-5- C), 162.63 (Pyr-2- C), 167.82 (Pyr-4,6- C), 171.22 (CO).

Anal. ($\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [244.21]) C, H, N: ber. C 44.25, H 4.95, N 11.47; gef. C 44.30, H 5.07, N 11.25; Abw. C 0.05, H 0.12, N 0.22.

MS (ESI $^-$): m/e = 242.8 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-butansäureethylester 33

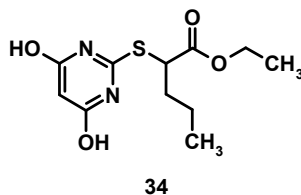
Smp. = 174 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.07 (t, 3H, S-CHCH₂CH₃, J = 7.3 Hz), 1.30 (t, 3H, O-CH₂CH₃, J = 7.1 Hz), 1.99 (m, 2H, S-CHCH₂CH₃), 4.25 (q, 2H, O-CH₂CH₃, J = 7.1 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, J = 6.9 Hz), 5.35 (s, 1H, Pyr-5-H), 11.94 (s (br), 2H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 11.21 (S-CHCH₂CH₃), 13.92 (O-CH₂CH₃), 25.13 (S-CHCH₂CH₃), 47.89 (S-CH), 61.11 (O-CH₂), 85.65 (Pyr-5-C), 162.65 (Pyr-2-C), 167.79 (Pyr-4,6-C), 170.69 (CO).

Anal. ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [258.23]) C, H, N: ber. C 46.50, H 5.46, N 10.85; gef. C 46.62, H 5.42, N 10.72; Abw. C 0.12, H 0.04, N 0.13.

MS (ESI⁺): m/e = 258.9 (M + 1).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-pentansäureethylester 34

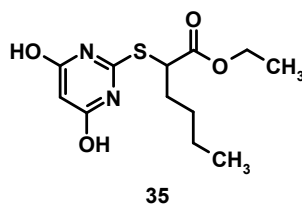
Smp. = 175 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.01 (t, 3H, CH_3 (*n*-Pr), J = 7.2 Hz), 1.29 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7 Hz), 1.49 (m, 2H, $\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 1.98 (m, 2H, $\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 4.24 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7 Hz), 4.63 (t, 1H, S-CH , J = 7.2 Hz), 5.45 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 11.80 (s (br), 2H, *OH*).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.50 (CH_3 (*n*-Pr)), 13.97 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 19.81 ($\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 33.68 ($\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 46.31 (S-CH), 61.16 (O-CH_2), 85.72 (Pyr-5-*C*), 162.68 (Pyr-2-*C*), 167.83 (Pyr-4,6-*C*), 170.97 (*CO*).

Anal. ($\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [272.26]) C, H, N: ber. C 48.52, H 5.92, N 10.29; gef. C 48.29, H 5.69, N 10.12; Abw. C 0.23, H 0.23, N 0.17.

MS (ESI⁻): m/e = 271 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-hexansäureethylester 35

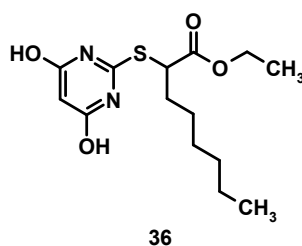
Smp. = 172-173 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.96 (t, 3H, CH_3 (*n*-Bu), J = 7.1 Hz), 1.29 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1 Hz), 1.41-1.43 (m, 4H, CH_2 (*n*-Bu)), 1.84-2.06 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)), 4.24 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.62 (t, 1H, S-CH , J = 7.1 Hz), 5.35 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 11.91 (s (br), 2H, *OH*).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.61 (CH_3 (*n*-Bu)), 13.89 (CH_3 (*n*-Bu)), 21.59 (CH_2 (*n*-Bu)), 28.49 (CH_2 (*n*-Bu)), 31.28 (CH_2 (*n*-Bu)), 46.42 (S-CH), 61.05 (O-CH_2), 85.63 (Pyr-5-*C*), 162.70 (Pyr-2-*C*), 167.78 (Pyr-4,6-*C*), 170.85 (*CO*).

Anal. ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [286.29]) C, H, N: ber. C 50.33, H 6.34, N 9.78; gef. C 50.08, H 6.30, N 9.56; Abw. C 0.25, H 0.04, N 0.22.

MS (ESI⁻): m/e = 284.9 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-octansäureethylester 36

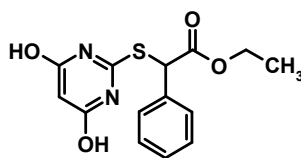
Smp. = 138 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.83 (t, 3H, CH_3 (Hex), J = 6.9 Hz), 1.17 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1 Hz), 1.23-1.30 (m, 8H, CH_2 (Hex)), 1.76-1.88 (m, 2H, CH_2 (Hex)), 4.11 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.50 (t, 1H, S-CH , J = 7.1 Hz), 5.22 (s, 1H, Pyr-5-H), 11.79 (s (br), 2H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.83 (CH_3 (Hex)), 13.91 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 21.89 (CH_2 (Hex)), 26.28 (CH_2 (Hex)), 28.07 (CH_2 (Hex)), 30.92 (CH_2 (Hex)), 31.59 (CH_2 (Hex)), 46.46 (S-CH), 61.07 (O-CH_2), 85.65 (Pyr-5-C), 162.69 (Pyr-2-C), 167.80 (Pyr-4,6-C), 170.87 (CO).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [314.41]) C, H, N: ber. C 53.48, H 7.05, N 8.91; gef. C 53.70, H 7.23, N 8.77; Abw. C 0.22, H 0.18, N 0.14.

MS (ESI⁺): m/e = 315.1 ($\text{M} + 1$).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-phenyl-essigsäure-ethylester 37

37

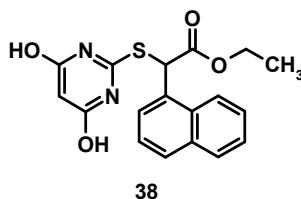
Smp. = 200-205 °C (Zersetzung).

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.26 (t, 3H, CH_3 , J = 7.1 Hz), 4.16-4.34 (m, 2H, O- CH_2), 5.40 (s, 1H, Pyr-5- H), 5.74 (s, 1H, S- CH), 7.44-7.60 (m, 5H, H (Ph)), 11.97 (s (br), 2H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.81 (CH_3), 51.21 (S- CH), 61.66 (O- CH_2), 85.74 (Pyr-5- C), 128.32 (Ph-4- C), 128.58 (Ph-3,5- C), 129.0 (Ph-2,6- C), 134.62 (Ph-1- C), 162.88 (Pyr-2- C), 167.98 (Pyr-4,6- C), 169.30 (CO).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [306.27]) C, H, N: ber. C 54.89, H 4.61, N 9.14; gef. C 54.63, H 4.45, N 9.03; Abw. C 0.26, H 0.16, N 0.11.

MS (ESI $^+$): m/e = 306.8 (M + 1).

Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-naphthalen-1-yl-essigsäureethylester 38

Smp. = 200-208 °C (Zersetzung).

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ 1.10 = (t, 3H, CH_3 , $J = 7.1$ Hz), 4.10-4.21 (m, 2H, O- CH_2), 5.31 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.38 (s, 1H, S- CH), 7.49-7.65 (m, 4H, H (Naph)), 7.95-8.02 (m, 2H, H (Naph)), 8.08-8.11 (m, 1H, H (Naph)), 11.90 (s (br), 2H, OH).

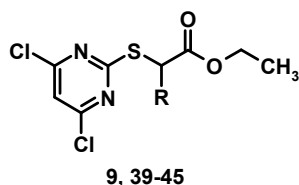
$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): $\delta = 13.82$ (CH_3), 48.46 (S- CH), 61.87 (O- CH_2), 85.73 (Pyr-5- C), 123.01 (Naph-8- C), 125.61 (Naph-6- C), 126.33 (Naph-7- C), 126.88 (Naph-4- C), 127.11 (Naph-2- C), 129.01 (Naph-3- C), 129.29 (Naph-5- C), 130.30 (Naph-8a- C), 130.49 (Naph-4a- C), 133.67 (Naph-1- C), 162.9 (Pyr-2- C), 168.14 (Pyr-4,6- C), 169.62 (CO).

Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [356.40]) C, H, N: ber. C 60.66, H 4.53, N 7.86; gef. C 60.44, H 4.52, N 7.73; Abw. C 0.22, H 0.01, N 0.13.

MS (MALDI): $m/e = 355.92$ (M).

5.2.3 Synthese 4,6-dihalogen substituierter (Pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **9**, **28**, **39-45** und **60**

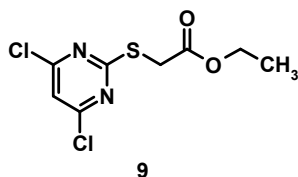
Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von **9** und **39-45**



Eine Lösung der entsprechenden (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **8** bzw. **32-38** (1 eq) in POCl₃ (18 eq) wurde mit *N,N*-Diethylanilin (1 eq) versetzt und bei 110 °C zum Sieden erhitzt. Das überschüssige POCl₃ wurde abdestilliert und der Rückstand auf Eis gegeben. Die wässrige Phase wurde dreimal mit AcOEt extrahiert, die vereinigten organischen Phasen dreimal mit verd. HCl, dreimal mit ges. NaHCO₃-Lsg. und einmal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch oder durch Umkristallisieren gereinigt (s. Tab. 19).

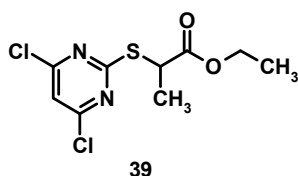
Nr.	R	Edukt	POCl ₃	Zeit	Ausbeute	UK	SC	Aussehen
		(g (mmol))	(mL (mol))	(h)	g (% d. Th.)	(mL)		
9	H	10 (43.4) 8	70 (0.79)	4.5	10 (86)	500	–	weiße Kristalle
39	Me	6.5 (26.6) 32	42.42 (0.48)	5.5	7 (94)	–	30:1	gelbes Öl
40	Et	7 (27.1) 33	43.22 (0.5)	5.5	6.57 (82)	–	40:1	gelbes Öl
41	<i>n</i> -Pr	7 (25.7) 34	40.98 (0.46)	5	7.35 (92)	–	50:1	gelbes Öl
42	<i>n</i> -Bu	5.5 (19.21) 35	30.6 (0.35)	5.5	5.86 (94)	–	50:1	gelbes Öl
43	Hex	3.52 (11.2) 36	17.9 (0.2)	6	2.38 (61)	–	50:1	rotes Öl
44	Ph	7.5 (24.53) 37	39 (0.44)	6	8.38 (99)	400	–	orangenes. Öl
45	Naph	3.26 (9.15) 38	14.59 (0.17)	6	3.12 (87)	100	–	weiße Kristalle

Tabelle 19: Reaktionsansätze zur Darstellung der (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **9** und **39-45**. UK: Umkristallisation aus *n*-Hexan. Die entstandene Lösung wurde heiß von unlöslichen Rückständen abfiltriert. SC: Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt).

Charakterisierung von (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester 9

Smp. = 70-72 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.29 (t, 3H, CH_3 , J = 7.1 Hz), 3.90 (s, 2H, S- CH_2), 4.23 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 7.06 (s, 1H, Pyr-5- H).

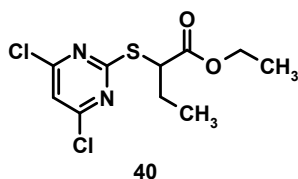
Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-propansäureethylester 39

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.24 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 1.58 (d, 3H, S- CHCH_3 , J = 7.4 Hz), 4.16 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.38 (q, 1H, S- CH , J = 7.4 Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.05 (O- CH_2CH_3), 16.91 (S- CHCH_3), 43.29 (S- CH), 61.67 (O- CH_2), 116.30 (Pyr-5- C), 161.40 (Pyr-4,6- C), 171.58 (Pyr-2- C), 172.49 (CO).

Anal. ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [281.09]) C, H, N: ber. C 38.45, H 3.59, N 9.96; gef. C 38.67, H 3.61, N 9.73; Abw. C 0.22, H 0.02, N 0.23.

MS (ESI+): m/e = 281 (M + 1).

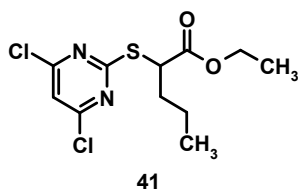
Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-butansäureethylester
40

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.05$ (t, 3H, S- CHCH_2CH_3 , $J = 7.4$ Hz), 1.26 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , $J = 7.1$ Hz), 1.87-2.07 (quint, 2H, S- CHCH_2CH_3 , $J = 7.0$ Hz, $J = 7.4$ Hz), 4.20 (q, 2H, O- CH_2 , $J = 7.1$ Hz), 4.33 (t, 1H, S- CH , $J = 7.0$ Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): $\delta = 11.59$ (S- CHCH_2CH_3), 14.16 (O- CH_2CH_3), 24.78 (S- CHCH_2CH_3), 50.05 (S- CH), 61.61 (O- CH_2), 116.34 (Pyr-5- C), 161.42 (Pyr-4,6- C), 171.22 (Pyr-2- C), 172.78 (CO).

Anal. ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [295.11]) C, H, N: ber. C 40.69, H 4.10, N 9.49; gef. C 42.39, H 3.93, N 9.16; Abw. C 1.70, H 0.17, N 0.33.

MS (ESI $^+$): $m/e = 295$ (M + 1).

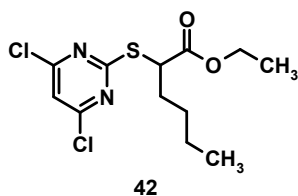
Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-pentansäureethylester
41

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.92 (t, 3H, CH_3 (*n*-Pr), J = 7.3 Hz), 1.24 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1 Hz), 1.44-1.50 (m, 2H, $\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 1.80-2.97 (m, 2H, $\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 4.18 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.35 (t, 1H, S-CH , J = 7.3 Hz), 7.0 (s, 1H, Pyr-5-*H*).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.55 (CH_3 (*n*-Pr)), 14.12 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 20.32 ($\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 33.24 ($\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 48.28 (S-CH), 61.53 (O-CH_2), 116.26 (Pyr-5-*C*), 161.38 (Pyr-4,6-*C*), 171.38 (Pyr-2-*C*), 172.76 (CO).

Anal. ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [309.14]) C, H, N: ber. C 42.73, H 4.56, N 9.06; gef. C 42.96, H 4.70, N 8.83; Abw. C 0.23, H 0.14, N 0.23.

MS (ESI⁺): m/e = 309 ($\text{M} + 1$).

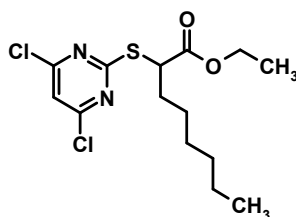
Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-hexansäureethylester
42

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.88 (t, 3H, CH_3 (*n*-Bu), J = 7.2 Hz), 1.26 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1 Hz), 1.30-1.45 (m, 4H, CH_2 (*n*-Bu)), 1.87-1.96 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)), 4.19 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.35 (t, 1H, S-CH , J = 7.2 Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-5-*H*).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.75 (CH_3 (*n*-Bu)), 14.15 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 22.17 (CH_2 (*n*-Bu)), 29.14 (CH_2 (*n*-Bu)), 30.95 (CH_2 (*n*-Bu)), 48.55 (S-CH), 61.58 (O-CH_2), 116.31 (Pyr-5-*C*), 161.40 (Pyr-4,6-*C*), 171.43 (Pyr-2-*C*), 172.79 (CO).

Anal. ($\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [323.17]) C, H, N: ber. C 44.59, H 4.99, N 8.67; gef. C 44.74, H 4.83, N 8.66; Abw. C 0.15, H 0.16, N 0.01.

MS (ESI⁺): m/e = 322.9 ($\text{M} + 1$).

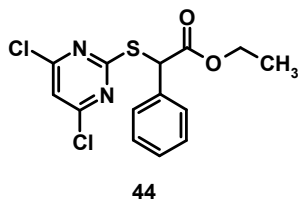
Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-octansäureethylester
43

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.87 (t, 3H, CH_3 (Hex), J = 6.8 Hz), 1.28 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1 Hz), 1.26-1.36 (m, 6H, CH_2 (Hex)), 1.43-1.49 (m, 2H, CH_2 (Hex)), 1.86-1.98 (m, 2H, CH_2 (Hex)), 4.20 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.38 (t, 1H, S-CH , J = 7.2 Hz), 7.03 (s, 1H, Pyr-5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.98 (CH_3 (Hex)), 14.16 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 22.47 (CH_2 (Hex)), 26.97 (CH_2 (Hex)), 28.70 (CH_2 (Hex)), 31.03 (CH_2 (Hex)), 31.24 (CH_2 (Hex)), 48.55 (S-CH), 61.56 (O-CH_2), 116.31 (Pyr-5- C), 161.39 (Pyr-4,6- C), 171.38 (Pyr-2- C), 172.80 (CO).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S} \times 0.5 \text{ AcOEt}$ [395.36]) C, H, N: ber. C 48.61, H 6.12, N 7.09; gef. C 48.87, H 6.06, N 7.28; Abw. C 0.26, H 0.06, N 0.19.

MS (ESI+): m/e = 350.9 ($\text{M} + 1$).

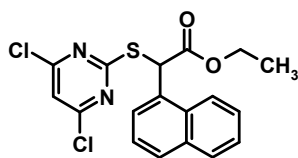
Charakterisierung von (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-phenyl-essigsäureethyl-ester 44

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.28$ (t, 3H, CH_3 , $J = 7.1$ Hz), 4.10-4.33 (m, 2H, CH_2), 5.48 (s, 1H, S-CH), 7.06 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.34-7.39 (m, 3H, H (Ph)), 7.49-7.53 (m, 2H, H (Ph)).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): $\delta = 14.09$ (CH_3), 53.35 (S-CH), 62.17 (CH_2), 116.53 (Pyr-5-C), 128.71 (Ph-4-C), 128.80 (Ph-3,5-C), 128.99 (Ph-2,6-C), 133.47 (Ph-1-C), 161.44 (Pyr-4,6-C), 169.58 (Pyr-2-C), 172.39 (CO).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [343.15]) C, H, N: ber. C 48.99, H 3.52, N 8.16; gef. C 49.07, H 3.53, N 7.96; Abw. C 0.08, H 0.01, N 0.20.

MS (ESI⁺): $m/e = 342.9$ ($M + 1$).

Charakterisierung von (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-naphthalen-1-yl-essigsäureethylester 45

45

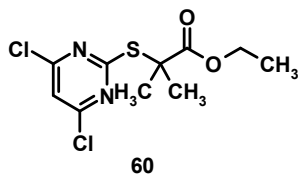
Smp. = 117 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, CH_3 , J = 7.1 Hz), 4.13-4.37 (m, 2H, CH_2), 6.28 (s, 1H, S-CH), 7.09 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.45-7.63 (m, 3H, Naph-2,3,6-H), 7.70 (d, 1H, H (Naph), J = 7 Hz), 7.86-7.92 (m, 2H, H (Naph)), 8.23 (d, 1H, Naph-8-H, J = 8.5 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.13 (CH_3), 49.90 (S-CH), 62.30 (O- CH_2), 116.55 (Pyr-5-C), 123.34 (Naph-8-C), 125.42 (Naph-6-C), 126.17 (Naph-7-C), 126.92 (Naph-4-C), 127.20 (Naph-2-C), 128.99 (Naph-3-C), 129.36 (Naph-8a-C), 129.65 (Naph-5-C), 131.09 (Naph-4a-C), 134.12 (Naph-1-C), 161.58 (Pyr-4,6-C), 169.96 (Pyr-2-C), 172.77 (CO).

Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [393.29]) C, H, N: ber. C 54.97, H 3.59, N 7.12; gef. C 54.73, H 3.70, N 7.09; Abw. C 0.24, H 0.11, N 0.03.

MS (ESI⁺): m/e = 392.9 (M + 1).

**Synthese von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-2-methyl-propansäureethylester
60**

In einer ausgeheizten Apparatur wurden unter Argon 3 g (11.23 mmol) (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **9** in 100 mL abs. THF gelöst und im Kältebad (EtOH/fl. Stickstoff) auf $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1.96 mL (1 eq) HMPA und 11.23 mL (11.23 mmol) einer 1M Lösung aus LiHMDS in *n*-Hexan gegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz mit 1.59 g (11.23 mmol) Methyljodid versetzt und nach langsamem Erwärmen 3.5 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde wiederum im Kältebad auf $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt, 1.96 mL (1 eq) HMPA und 11.23 mL (11.23 mmol) einer 1M Lösung aus LiHMDS in *n*-Hexan zugegeben, 30 min bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und 1.59 g (11.23 mmol) Methyljodid zugegeben. Nach 18-stündigem Rühren bei RT wurde die Lösung zwischen 100 mL Wasser und 100 mL AcOEt verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase noch zweimal mit je 50 mL AcOEt extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 100 mL Wasser, einmal mit 100 mL ges. NaHCO_3 -Lsg. und einmal mit 100 mL Wasser extrahiert, über MgSO_4 getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase: *n*-Hex/AcOEt 25:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.69 g (52 % d. Th.), gelbes Öl.

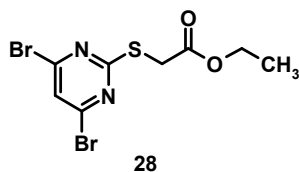
Charakterisierung

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.27$ (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.2$ Hz), 1.69 (s, 6H, $\text{S-C}(\text{CH}_3)_2$), 4.17 (q, 2H, O-CH_2 , $J = 7.2$ Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-5-*H*).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): $\delta = 13.97$ ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 25.89 ($\text{S-C}(\text{CH}_3)_2$), 52.14 ($\text{S-C}(\text{CH}_3)_2$), 61.68 (O-CH_2), 116.06 (Pyr-5-*C*), 161.14 (Pyr-4,6-*C*), 172.59 (Pyr-2-*C*), 173.20 (CO).

Anal. (C₁₀H₁₂Cl₂N₂O₂S [295.19]) C, H, N: ber. C 40.69, H 4.10, N 9.49; gef. C 40.96, H 4.02, N 9.29; Abw. C 0.27, H 0.08, N 0.20.

MS (ESI⁺): $m/e = 294.9$ (M + 1).

Synthese von (4,6-Dibrom-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester 28

Eine Mischung aus 3.5 g (15.19 mmol) (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **8** und 18.07 g (63.04 mmol) POBr₃ in 75 mL Acetonitril wurde 3 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Lösemittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in 90 mL Methylenchlorid aufgenommen und anschließend vorsichtig mit 100 mL Wasser verdünnt. Die organische Phase wurde dreimal mit je 50 mL Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Das Rohprodukt wurde aus 200 mL *n*-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 2.81 g (52 % d. Th.), weiße Kristalle.

Charakterisierung

Smp. = 120 °C.

¹H-NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ = 1.28 (t, 3H, CH₃, *J* = 7.1 Hz), 3.87 (s, 2H, S-CH₂), 4.21 (q, 2H, O-CH₂, *J* = 7.1 Hz), 7.37 (s, 1H, Pyr-5-*H*).

¹³C-NMR (50.32 MHz, CDCl₃): δ = 14.17 (CH₃), 33.89 (S-CH₂), 61.90 (O-CH₂), 124.00 (Pyr-5-*C*), 152.11 (Pyr-4,6-*C*), 168.16 (Pyr-2-*C*), 172.06 (CO).

Anal. (C₈H₈Br₂N₂O₂S [356.18]) C, H, N: ber. C 26.99, H 2.26, N 7.87; gef. C 27.07, H 2.33, N 7.60; Abw. C 0.08, H 0.07, N 0.27.

MS (ESI⁺): *m/e* = 356.6 (M + 1).

5.2.4 Synthese der aus nukleophiler aromatischer Substitution am Pyrimidin resultierenden 6-Pyrimidin-substituierten Ethylester 10-17, 29, 46-52, 61, 68, 70 und 72

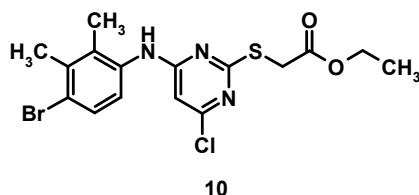
Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von 10-17, 29, 46-52, 61, 70 und 72

Nr.	Edukt (g (mmol))	Amin (g (mmol))	Na ₂ CO ₃ (g (mmol))	LM (mL)	Zeit (h)	UK (mL)	SC	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aussehen
10	1.97 (7.14) 9	1.5 (7.5) ^a	0.79 (7.5)	25	80	–	8:1	0.5 (17)	weiße Kristalle
11	3.5 (13.11) 9	2.56 (13.77) ^b	1.46 (13.77)	50	28	10	–	2.43 (45)	gelbe Kristalle
12	3.37 (12.21) 9	2 (12.85) ^c	1.36 (12.85)	50	52	–	8:1	2.58 (55)	weiße Kristalle
13	6.89 (24.97) 9	3.5 (26.28) ^d	2.79 (26.28)	80	24	–	8:1	5.02 (55)	weiße Kristalle
14	6 (21.73) 9	3.04 (22.82) ^e	2.42 (22.82)	70	24	40	–	3.8 (48)	weiße Kristalle
15	5.34 (19.33) 9	2.5 (20.3) ^f	2.15 (20.3)	70	24	15	–	5.82 (83)	gelbe Kristalle
16	5.83 (21.82) 9	2.5 (22.91) ^g	2.43 (22.91)	60	24	40	–	5.3 (71)	rosa Kristalle
17	4.93 (18.44) 9	2.5 (19.36) ^h	2.05 (19.36)	70	63	–	5:1	1.17 (18)	weiße Kristalle
29	2.5 (7) 28	0.89 (7.35) ⁱ	0.78 (7.35)	20	7	–	5:1	2.02 (73)	weiße Kristalle
46	3.16 (11.24) 39	1.43 (11.8) ⁱ	1.25 (11.8)	30	30	–	10:1	2.15 (52)	gelbes Öl
47	4 (13.55) 40	1.64 (13.55) ⁱ	1.44 (13.55)	35	29	–	12:1	3.18 (62)	gelbe Kristalle
48	4 (12.94) 41	1.56 (12.94) ⁱ	1.37 (12.94)	35	28	–	15:1	3.11 (62)	weiße Kristalle
49	4.5 (13.92) 42	1.68 (13.92) ⁱ	1.48 (13.92)	40	30	–	15:1	3.06 (54)	gelbe Kristalle
50	2.27 (6.46) 43	0.78 (6.46) ⁱ	0.68 (6.46)	20	44	–	10:1	1.13 (40)	gelbes Öl
51	5 (14.57) 44	1.76 (14.57) ⁱ	1.54 (14.57)	40	28	–	12:1	2.3 (37)	gelbe Kristalle
52	3 (7.63) 45	0.92 (7.63) ⁱ	0.81 (7.63)	20	45	–	10:1	0.56 (16)	weiße Kristalle
61	1.5 (5.19) 60	0.66 (5.45) ⁱ	0.58 (5.45)	15	51	2	–	0.24 (12)	weiße Kristalle
70	4.5 (16.85) 9	2.21 (17.07) ^k	1.81 (17.07)	60	5	2.5	5:1	2.64 (45)	weiße Kristalle
72	5.75 (17.79) 42	2.05 (17.79) ^l	1.89 (17.79)	50	2.5	–	–	6.24 (87)	gelbes Öl

Tabelle 20: Reaktionsansätze zur Darstellung 6-Pyrimidin-substituierter Ethylester **10-17, 29, 46-52, 61, 70** und **72**. LM: Lösemittel (Ethanol), UK: Umkristallisation aus Ethanol, SC: Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt). ^a 4-Brom-2,3-dimethylanilin, ^b 3-Methyl-4-bromanilin, ^c 4-Chlor-2,3-dimethylanilin, ^d 4-Aminoindan, ^e 5-Aminoindan, ^f *para*-Anisidin, ^g *para*-Hydroxyanilin, ^h 2,4-Difluoranilin, ⁱ 2,3-Dimethylanilin, ^k 1-Aminoctan, ^l 1-Aminoheptan.

Die jeweiligen 4,6-dihalogenierten Ethylester **9**, **28**, **39-45** bzw. **60** (1 eq), die entsprechenden Amine **a-I** (1.05 eq) (s. Tab. 20) und Na₂CO₃ (1.05 eq) wurden in EtOH suspendiert und unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Na₂CO₃ wurde abfiltriert, das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in AcOEt (**11**, **16**, **29**, **46-52**, **61** und **72**) bzw. Diethylether (**10**, **12-15**, **17** und **70**) gelöst. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser, dreimal mit 2N HCl, zweimal mit NaHCO₃-Lsg. und noch einmal mit Wasser extrahiert und anschliessend über MgSO₄ getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert oder säulenchromatographisch gereinigt (s. Tab. 20).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-brom-2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester **10**



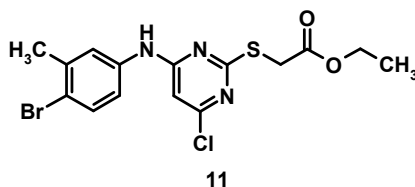
Smp. = 93-95°C.

¹H-NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ = 1.27 (t, 3H, O-CH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz), 2.19 (s, 3H, Ph-2-CH₃), 2.42 (s, 3H, Ph-3-CH₃), 3.85 (s, 2H, S-CH₂), 4.20 (q, 2H, O-CH₂, *J* = 7.1 Hz), 5.90 (s, 1H, Pyr-5-H), 6.57 (s (br), 1H, NH), 6.96 (d, 1H, Ph-6-H, *J* = 9 Hz), 7.45 (d, 1H, Ph-5-H, *J* = 9 Hz).

¹³C-NMR (50.32 MHz, CDCl₃): δ = 14.17 (Ph-2-CH₃), 15.57 (Ph-3-CH₃), 20.36 (O-CH₂CH₃), 33.51 (S-CH₂), 61.64 (O-CH₂), 97.92 (Pyr-5-C), 124.44 (Ph-3-C), 125.45 (Ph-6-C), 130.81 (Ph-5-C), 134.05 (Ph-2-C), 135.35 (Ph-4-C), 138.21 (Ph-1-C), 160.24 (Pyr-4-C), 162.49 (Pyr-2-C), 169.15 (Pyr-6-C), 170.49 (CO).

Anal. (C₁₆H₁₇BrClN₃O₂S × 0.5 H₂O [439.77]) C, H, N: ber. C 43.70, H 4.13, N 9.56; gef. C 43.51, H 3.91, N 9.42; Abw. C 0.19, H 0.22, N 0.14.

MS (ESI⁻): *m/e* = 427.9 (M - 1).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-brom-3-methyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-essigsäureethylester 11

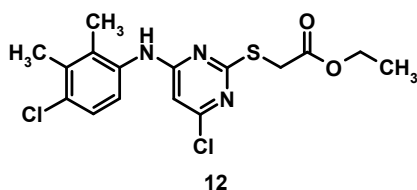
Smp. = 125 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.28 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 2.40 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.89 (s, 2H, S- CH_2), 4.20 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 6.30 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.93 (s (br), 1H, NH), 7.04 (dd, 1H, Ph-6- H , 3J = 8.5 Hz, 4J = 2.5 Hz), 7.19 (d, 1H, Ph-2- H , 4J = 2.5 Hz), 7.51 (d, 1H, Ph-5- H , 3J = 8.5 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.14 (Ph-3- CH_3), 23.00 (O- CH_2CH_3), 33.48 (S- CH_2), 61.76 (O- CH_2), 99.19 (Pyr-5- C), 120.96 (Ph-4- C), 121.57 (Ph-6- C), 124.84 (Ph-2- C), 133.13 (Ph-5- C), 136.38 (Ph-3- C), 139.26 (Ph-1- C), 159.95 (Pyr-4- C), 161.13 (Pyr-2- C), 169.26 (Pyr-6- C), 170.58 (CO).

Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{BrClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [416.66]) C, H, N: ber. C 43.23, H 3.63, N 10.08; gef. C 43.11, H 3.34, N 9.88; Abw. C 0.12, H 0.29, N 0.20.

MS (ESI $^-$): m/e = 415.9 (M ($^{35}\text{Cl}/^{79}\text{Br}$)), 419 (M($^{37}\text{Cl}/^{81}\text{Br}$) - 1).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-chlor-2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 12

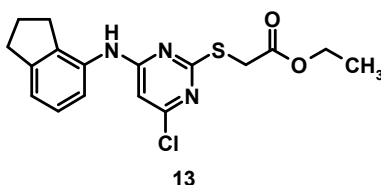
Smp. = 96 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.27 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz), 2.17 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.37 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.85 (s, 2H, S- CH_2), 4.20 (q, 2H, O- CH_2 , $J = 7.1$ Hz), 5.89 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.55 (s (br), 1H, NH), 7.03 (d, 1H, Ph-6- H , $J = 9$ Hz), 7.25 (d, 1H, Ph-5- H , $J = 9$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.15 (Ph-2- CH_3), 15.25 (Ph-3- CH_3), 17.16 (O- CH_2CH_3), 33.50 (S- CH_2), 61.61 (O- CH_2), 97.86 (Pyr-5- C), 125.17 (Ph-6- C), 127.52 (Ph-5- C), 133.33 (Ph-4- C), 133.82 (Ph-3- C), 135.39 (Ph-2- C), 136.48 (Ph-1- C), 160.26 (Pyr-4- C), 162.59 (Pyr-2- C), 169.11 (Pyr-6- C), 170.51 (CO).

Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.5 \text{H}_2\text{O}$ [395.31]) C, H, N: ber. C 48.61, H 4.59, N 10.63; gef. C 48.68, H 4.39, N 10.29; Abw. C 0.07, H 0.20, N 0.34.

MS (ESI $^-$): $m/e = 383.8$ ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(indan-4-ylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 13

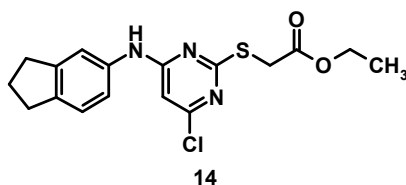
Smp. = 78-80 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.26 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 2.11 (quin, 2H, Indan-2- H , J = 7.5 Hz), 2.76 (t, 2H, Indan-3- H , J = 7.5 Hz), 2.96 (t, 2H, Indan-1- H , J = 7.5 Hz), 3.86 (s, 2H, S- CH_2), 4.20 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 6.19 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.62 (s (br), 1H, NH), 7.09-7.18 (m, 3H, Indan-5,6,7- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.17 (CH_3), 24.87 (Indan-3- C), 30.48 (Indan-2- C), 33.25 (Indan-1- C), 33.52 (S- CH_2), 61.63 (O- CH_2), 98.26 (Pyr-5- C), 121.58 (Indan-5- C), 122.68 (Indan-7- C), 127.56 (Indan-6- C), 132.77 (Indan-3a- C), 138.59 (Indan-7a- C), 146.66 (Indan-4a- C), 160.14 (Pyr-4- C), 161.70 (Pyr-2- C), 169.14 (Pyr-6- C), 170.43 (CO).

Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [363.87]) C, H, N: ber. C 56.12, H 4.99, N 11.55; gef. C 56.05, H 5.03, N 11.45; Abw. C 0.07, H 0.04, N 0.10.

MS (ESI $^-$): m/e = 361.9 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(indan-5-ylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 14

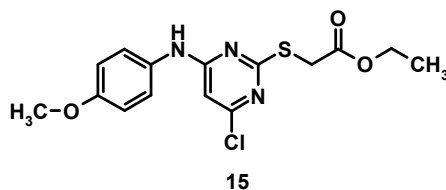
Smp. = 89-90 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.26 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 2.09 (quin, 2H, Indan-2- H , J = 7.5 Hz), 2.86-2.92 (m (2 \times t überlagert), 4H, Indan-1,3- H , J = 7.5 Hz), 3.86 (s, 2H, S- CH_2), 4.19 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 6.27 (s (br), 1H, Pyr-5- H), 6.84 (s (br), 1H, NH), 7.01 (d, 1H, Indan-6- H , J = 7.9 Hz), 7.07 (s, 1H, Indan-4- H), 7.20 (d, 1H, Indan-7- H , J = 7.9 Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.14 (CH_3), 25.58 (Indan-2- C), 32.42 (Indan-1- C), 32.91 (Indan-3- C), 33.49 (S- CH_2), 61.61 (O- CH_2), 98.22 (Pyr-5- C), 119.94 (Indan-6- C), 121.76 (Indan-4- C), 125.16 (Indan-7- C), 134.80 (Indan-7a- C), 142.47 (Indan-3a- C), 146.02 (Indan-5- C), 159.95 (Pyr-4- C), 162.06 (Pyr-2- C), 169.22 (Pyr-6- C), 170.36 (CO).

Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [363.87]) C, H, N: ber. C 56.12, H 4.99, N 11.55; gef. C 56.06, H 4.95, N 11.43; Abw. C 0.06, H 0.04, N 0.12.

MS (ESI $^-$): m/e = 362.1 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-methoxy-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 15

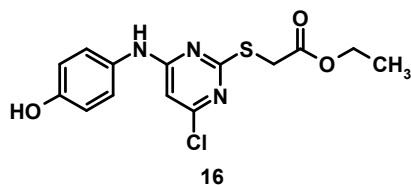
Smp. = 98 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz), 3.80 (s, 3H, O-CH_3), 3.84 (s, 2H, S-CH_2), 4.18 (q, 2H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz), 6.14 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 6.85 (s (br), 1H, *NH*), 6.90 (d, 2H, Ph-2,6-*H*), $J = 8.9$ Hz), 7.14 (d, 2H, Ph-3,5-*H*, $J = 8.9$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.16 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 33.48 (S-CH_2), 55.51 (O-CH_3), 61.65 (O-CH_2), 98.12 (Pyr-5-*C*), 114.82 (Ph-3,5-*C*), 125.88 (Ph-2,6-*C*), 129.46 (Ph-1-*C*), 158.00 (Ph-4-*C*), 159.86 (Pyr-4-*C*), 162.36 (Pyr-2-*C*), 169.27 (Pyr-6-*C*), 170.32 (*CO*).

Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$ [353.83]) C, H, N: ber. C 50.92, H 4.56, N 11.88; gef. C 51.07, H 4.61, N 11.73; Abw. C 0.15, H 0.05, N 0.15.

MS (ESI⁻): $m/e = 352.1$ ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-hydroxy-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 16

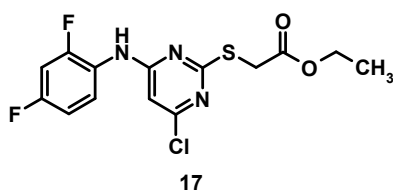
Smp. = 160 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.28 (t, 3H, CH_3 , J = 7.1 Hz), 4.06 (s, 2H, S- CH_2), 4.17 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 6.40 (s (br), 1H, Pyr-5- H), 6.88 (d, 2H, Ph-2,6- H , J = 8.7 Hz), 7.35 (d (br), 2H, Ph-3,5- H), 9.48 (s (br), 1H, NH), 9.77 (s (br), 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.91 (CH_3), 32.66 (S- CH_2), 60.90 (O- CH_2), 99.80 (Pyr-5- C), 115.29 (Ph-2,6- C), 123.13 (Ph-3,5- C), 129.43 (Ph-1- C), 154.12 (Ph-4- C), 157.09 (Pyr-4- C), 160.80 (Pyr-2- C), 168.59 (Pyr-6- C), 169.67 (CO).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$ [339.80]) C, H, N: ber. C 49.49, H 4.15, N 12.37; gef. C 49.27, H 4.22, N 12.23; Abw. C 0.22, H 0.07, N 0.14.

MS (ESI $^-$): m/e = 338.0 (M - 1).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(2,4-difluor-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 17

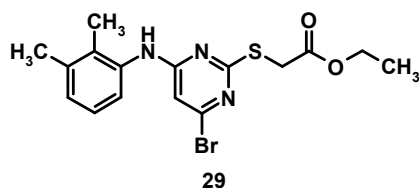
Smp. = 110-111°C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, CH_3 , J = 7.1 Hz), 3.85 (s, 2H, S- CH_2), 4.18 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 6.21 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.65 (s (br), 1H, NH), 6.88-6.94 (m, 2H, Ph-3,6- H), 7.67 (m, 1H, Ph-5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.11 (O- CH_2CH_3), 33.47 (S- CH_2), 61.69 (O- CH_2), 99.43 (Pyr-5- C), 104.62 (dd, Ph-3- C , $^2J_{\text{CF}}$ = 26.5 Hz), 111.60 (dd, Ph-5- C , $^2J_{\text{CF}}$ = 22 Hz, $^4J_{\text{CF}}$ = 3.9 Hz), 121.58 (dd, Ph-1- C , $^4J_{\text{CF}}$ = 4 Hz), 126.14 (dd, Ph-6- C , $^3J_{\text{CF}}$ = 11 Hz, $^5J_{\text{CF}}$ = 1.7 Hz), 155.18 (dd, Ph-2- C , $^1J_{\text{CF}}$ = 234 Hz, $^3J_{\text{CF}}$ = 12 Hz), 160.27 (dd, Ph-4- C , $^1J_{\text{CF}}$ = 233 Hz, $^3J_{\text{CF}}$ = 11,3 Hz), 160.08 (Pyr-4- C), 161.21 (Pyr-2- C), 169.03 (Pyr-6- C), 170.73 (CO).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{ClF}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ [359.78]) C, H, N: ber. C 46.74, H 3.36, N 11.68; gef. C 46.91, H 3.38, N 11.50; Abw. C 0.17, H 0.02, N 0.18.

MS (ESI⁻): m/e = 358.0 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Brom-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-essigsäureethylester 29

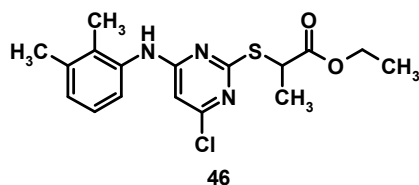
Smp. = 84 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.27 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 2.11 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.30 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.84 (s, 2H, S- CH_2), 4.20 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 6.10 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.64 (s (br), 1H, NH), 7.03-7.07 (m, 1H, Ph-6- H), 7.09-7.16 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.99 (Ph-2- CH_3), 14.15 (O- CH_2CH_3), 20.45 (Ph-3- CH_3), 33.54 (S- CH_2), 61.60 (O- CH_2), 101.78 (Pyr-5- C), 124.17 (Ph-6- C), 126.44 (Ph-4- C), 129.13 (Ph-5- C), 133.16 (Ph-2- C), 134.57 (Ph-3- C), 138.72 (Ph-1- C), 151.13 (Pyr-4- C), 161.98 (Pyr-2- C), 169.23 (Pyr-6- C), 170.04 (CO).

Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}$ [396.45]) C, H, N: ber. C 48.89, H 4.58, N 10.60; gef. C 48.70, H 4.54, N 10.36; Abw. C 0.21, H 0.04, N 0.24.

MS (EI): m/e = 395.8 (M).

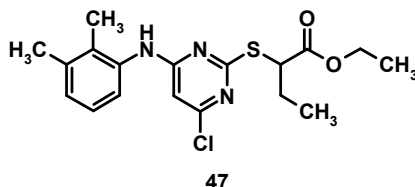
Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-propansäureethylester 46

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 1.58 (d, 3H, CHCH_3 , J = 7.3 Hz), 2.11 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.30 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.19 (q, 2H, CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.41 (q, 1H, S- CH , J = 7.3 Hz), 5.91 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.71 (s (br), 1H, NH), 7.06-7.10 (m, 1H, Ph-6- H), 7.13-7.16 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.04 (Ph-2- CH_3), 14.16 (O- CH_2CH_3), 17.36 (Ph-3- CH_3), 20.49 (S- CHCH_3), 42.74 (S- CH), 61.47 (CH_2), 97.71 (Pyr-5- C), 124.26 (Ph-6- C), 126.49 (Ph-4- C), 129.18 (Ph-5- C), 133.25 (Ph-2- C), 134.69 (Ph-3- C), 138.78 (Ph-1- C), 160.08 (Pyr-4- C), 162.70 (Pyr-2- C), 170.55 (Pyr-6- C), 172.58 (CO).

Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [365.88]) C, H, N: ber. C 55.81, H 5.51, N 11.48; gef. C 55.92, H 5.36, N 11.26; Abw. C 0.11, H 0.15, N 0.22.

MS (ESI⁺): m/e = 366.1 (M + 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-butansäureethylester 47

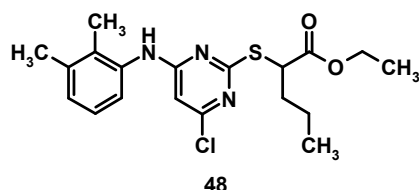
Smp. = 63-64 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.03 (t, 3H, CHCH_2CH_3 , $J = 7.4$ Hz), 1.23 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, $J = 7.1$ Hz), 1.86-2.01 (m, 2H, CHCH_2CH_3), 2.11 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.30 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.18 (q, 2H, O- CH_2 , $J = 7.1$ Hz), 4.34 (t, 1H, S- CH , $J = 7.1$ Hz), 5.91 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.82 (s (br), 1H, NH), 7.03-7.11 (m, 1H, Ph-6- H), 7.12-7.15 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 11.66 (Ph-2- CH_3), 14.02 (S- CHCH_2CH_3), 14.18 (O- CH_2CH_3), 20.43 (Ph-3- CH_3), 25.12 (CHCH_2CH_3), 49.39 (S- CH), 61.26 (O- CH_2), 97.73 (Pyr-5- C), 124.29 (Ph-6- C), 126.46 (Ph-4- C), 129.14 (Ph-5- C), 133.27 (Ph-2- C), 134.75 (Ph-3- C), 138.73 (Ph-1- C), 160.02 (Pyr-4- C), 162.68 (Pyr-2- C), 170.75 (Pyr-6- C), 172.05 (CO).

Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [379.83]) C, H, N: ber. C 56.91, H 5.84, N 11.06; gef. C 57.10, H 5.86, N 10.85; Abw. C 0.19, H 0.02, N 0.21.

MS (ESI⁺): $m/e = 380.1$ (M + 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-pentansäureethylester 48

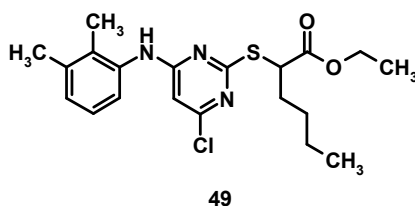
Smp. = 89-90 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.94 (t, 3H, CH_3 (*n*-Pr), J = 7.3 Hz), 1.26 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1 Hz), 1.46-1.52 (m, 2H, $\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 1.81-1.97 (m, 2H, $\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 2.12 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.31 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.19 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.39 (t, 1H, S-CH , J = 7.4 Hz), 5.91 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.63 (s (br), 1H, NH), 7.03-7.11 (m, 1H, Ph-6- H), 7.13-7.16 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.66 (Ph-2- CH_3), 14.02 (CH_3 (*n*-Pr)), 14.18 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 20.42 (Ph-3- CH_3), 20.44 ($\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 33.65 ($\text{S-CHCH}_2\text{CH}_2$), 47.72 (S-CH), 61.28 (O-CH_2), 97.71 (Pyr-5- C), 124.27 (Ph-6- C), 126.46 (Ph-4- C), 129.14 (Ph-5- C), 133.27 (Ph-2- C), 134.73 (Ph-3- C), 138.74 (Ph-1- C), 160.02 (Pyr-4- C), 162.67 (Pyr-2- C), 170.78 (Pyr-6- C), 172.30 (CO).

Anal. ($\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [393.86]) C, H, N: ber. C 57.93, H 6.14, N 10.67; gef. C 58.06, H 6.02, N 10.56; Abw. C 0.13, H 0.12, N 0.11.

MS (ESI $^-$): m/e = 392.0 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-hexansäureethylester 49

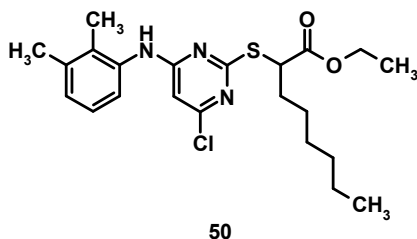
Smp. = 68-69 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.92 (t, 3H, CH_3 (*n*-Bu), J = 6.9 Hz), 1.29 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.1), 1.34-1.49 (m, 4H, CH_2 (*n*-Bu)), 1.86-2.00 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)), 2.15 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.34 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.22 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.1 Hz), 4.40 (t, 1H, S- CH , J = 7.3 Hz), 5.94 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.69 (s (br), 1H, NH), 7.06-7.12 (m, 1H, Ph-6- H), 7.15-7.19 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.81 (Ph-2- CH_3), 14.05 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 14.20 (CH_3 (*n*-Bu)), 20.47 (Ph-3- CH_3), 22.25 (CH_2 (*n*-Bu)), 29.22 (CH_2 (*n*-Bu)), 31.33 (CH_2 (*n*-Bu)), 47.89 (S- CH), 61.29 (O-CH_2), 97.72 (Pyr-5- C), 124.30 (Ph-6- C), 126.46 (Ph-4- C), 129.15 (Ph-5- C), 133.27 (Ph-2- C), 134.76 (Ph-3- C), 138.73 (Ph-1- C), 160.03 (Pyr-4- C), 162.68 (Pyr-2- C), 170.79 (Pyr-6- C), 172.26 (CO).

Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [407.89]) C, H, N: ber. C 58.88, H 6.42, N 10.30; gef. C 59.03, H 6.70, N 10.11; Abw. C 0.15, H 0.28, N 0.19.

MS (ESI⁺): m/e = 408.1 ($\text{M} + 1$).

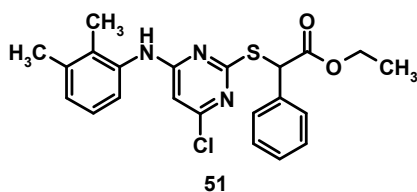
Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-octansäureethylester 50

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.89 (t, 3H, CH_3 (Hex), J = 6.9 Hz), 1.29 (t, 3H, $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$, J = 7.2 Hz), 1.24-1.39 (m, 6H, CH_2 (Hex)), 1.43-1.50 (m, 2H, CH_2 (Hex)), 1.85-1.99 (m, 2H, CH_2 (Hex)), 2.15 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.33 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.22 (q, 2H, O-CH_2 , J = 7.2 Hz), 4.40 (t, 1H, S- CH , J = 7.3 Hz), 5.94 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.72 (s (br), 1H, NH), 7.06-7.10 (m, 1H, Ph-6- H), 7.12-7.19 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.99 (Ph-2- CH_3), 14.01 ($\text{O-CH}_2\text{CH}_3$), 14.17 (CH_3 (Hex)), 20.47 (Ph-3- CH_3), 22.51 (CH_2 (Hex)), 27.04 (CH_2 (Hex)), 28.79 (CH_2 (Hex)), 31.50 (CH_2 (Hex)), 31.61 (CH_2 (Hex)), 47.92 (S- CH), 61.28 (O-CH_2), 97.73 (Pyr-5- C), 124.31 (Ph-6- C), 126.45 (Ph-4- C), 129.13 (Ph-5- C), 133.27 (Ph-2- C), 134.77 (Ph-3- C), 138.70 (Ph-1- C), 160.00 (Pyr-4- C), 162.69 (Pyr-2- C), 170.77 (Pyr-6- C), 172.28 (CO).

Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [435.94]) C, H, N: ber. C 60.60, H 6.94, N 9.64; gef. C 60.72, H 7.12, N 9.81; Abw. C 0.12, H 0.18, N 0.17.

MS (ESI $^+$): m/e = 436.1 (M + 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-phenyl-essigsäureethylester 51

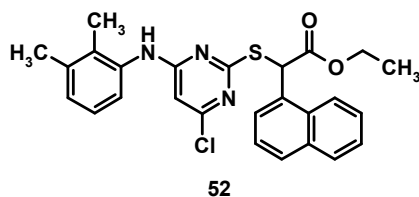
Smp. = 100 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.27 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 2.15 (s, 3H, N-Ph-2- CH_3), 2.34 (s, 3H, N-Ph-3- CH_3), 4.11-4.31 (m, 2H, O- CH_2), 5.50 (s, 1H, S- CH), 5.96 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.75 (s (br), 1H, NH), 7.08-7.09 (m, 1H, N-Ph-6- H), 7.15-7.17 (m, 2H, N-Ph-4,5- H), 7.33-7.38 (m, 3H, C-Ph-2,4,6- H), 7.48-7.51 (m, 2H, C-Ph-3,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.07 (N-Ph-2- CH_3), 14.13 (O- CH_2CH_3), 20.48 (N-Ph-3- CH_3), 52.82 (S- CH), 61.86 (O- CH_2), 97.92 (Pyr-5- C), 124.34 (N-Ph-6- C), 126.48 (N-Ph-4- C), 128.43 (N-Ph-5- C), 128.69 (C-Ph-4- C), 128.82 (C-Ph-3,5- C), 129.19 (C-Ph-2,6- C), 133.35 (N-Ph-2- C), 134.47 (C-Ph-1- C), 134.70 (N-Ph-3- C), 138.75 (N-Ph-1- C), 159.99 (Pyr-4- C), 162.72 (Pyr-2- C), 170.39 (Pyr-6- C), 170.51 (CO).

Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [427.87]) C, H, N: ber. C 61.75, H 5.18, N 9.82; gef. C 61.76, H 5.37, N 9.56; Abw. C 0.01, H 0.19, N 0.26.

MS (ESI $^-$): m/e = 426.2 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-naphthalen-1-yl-essigsäureethylester 52

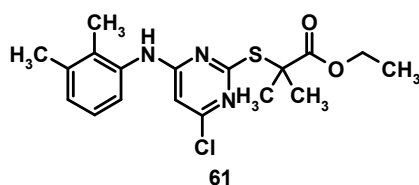
Smp. = 130 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, O- CH_2CH_3), J = 7 Hz), 2.15 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.34 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.09-4.35 (m, 2H, O- CH_2), 6.02 (s, 1H, S- CH), 6.35 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.06-7.10 (m, 1H, Ph-6- H), 7.16-7.17 (m, 2H, Ph-4,5- H), 7.47-7.60 (m, 3H, Naph-2,3,6- H), 7.71 (m, 1H, Naph-7- H), 7.84-7.91 (m, 2H, Naph-4,5- H), 8.27 (m, 1H, Naph-8- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.11 (Ph-2- CH_3), 14.14 (O- CH_2CH_3), 20.41 (Ph-3- CH_3), 49.41 (S- CH), 62.09 (O- CH_2), 98.24 (Pyr-5- C), 123.47 (Ph-6- C), 124.05 (Ph-4- C), 125.38 (Naph-8- C), 126.01 (Naph-6- C), 126.49 (Naph-7- C), 126.73 (Ph-5- C), 127.04 (Naph-4- C), 128.89 (Naph-2- C), 129.37 (Naph-3- C), 129.42 (Naph-5- C), 129.99 (Ph-2- C), 131.13 (Naph-8a- C), 133.29 (Naph-4a- C), 134.04 (Naph-1- C), 134.16 (Ph-3- C), 138.93 (Ph-1- C), 160.41 (Pyr-4- C), 161.55 (Pyr-2- C), 169.46 (Pyr-6- C), 170.31 (CO).

Anal. ($\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.7 \text{ H}_2\text{O}$ [490.52]) C, H, N: ber. C 63.65, H 5.22, N 8.56; gef. C 63.71, H 5.12, N 8.33; Abw. C 0.06, H 0.10, N 0.23.

MS (ESI⁺): m/e = 478.2 (M + 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-2-methyl-propansäureethylester 61

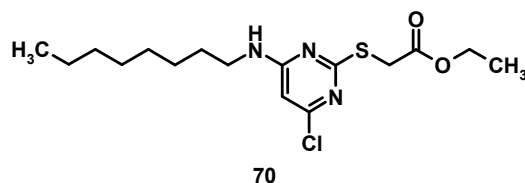
Smp. = 106 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 1.71 (s, 6H, S- $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 2.13 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.33 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.19 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7.1 Hz), 5.91 (s, 1H, Pyr-5- H), 6.63 (s (br), 1H, NH), 7.04-7.09 (m, 1H, Ph-6- H), 7.14-7.16 (m, 2H, Ph-4,5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.99 (Ph-2- CH_3), 14.08 (O- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 20.48 (Ph-3- CH_3), 26.24 (S- $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 51.15 (S- $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 61.42 (O- CH_2), 97.32 (Pyr-5- C), 124.29 (Ph-6- C), 126.49 (Ph-4- C), 129.18 (Ph-5- C), 133.28 (Ph-2- C), 134.67 (Ph-3- C), 138.77 (Ph-1- C), 159.92 (Pyr-4- C), 162.59 (Pyr-2- C), 170.72 (Pyr-6- C), 174.41 (CO).

Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [379.91]) C, H, N: ber. C 56.91, H 5.84, N 11.06; gef. C 56.74, H 5.79, N 10.96; Abw. C 0.17, H 0.05, N 0.10.

MS (ESI+): m/e = 379.9 (M + 1).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(octylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure-ethylester 70

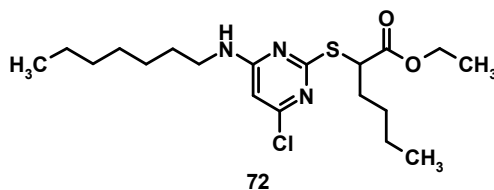
Smp. = 33-34 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.86 (t, 3H, O- CH_2CH_3 , J = 7 Hz), 1.22-1.29 (m, 14H, Octyl- CH_2), 1.53-1.62 (m, 3H, Octyl- CH_3), 3.81 (s, 2H, S- CH_2), 4.18 (q, 2H, O- CH_2 , J = 7 Hz), 5.05 (s (br), NH), 5.99 (s, 1H, Pyr-5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 14.00 (O- CH_2CH_3), 14.13 (CH_3 (Octyl)), 22.57-31.72 ($6 \times \text{CH}_2$ (Octyl)), 33.51 (S- CH_2), 41.52 (N- CH_2), 61.51 (O- CH_2), 97.16 (Pyr-5- C), 159.09 (Pyr-4- C), 162.78 (Pyr-2- C), 169.28 (Pyr-6- C), 169.99 (CO).

Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [359.87]) C, H, N: ber. C 53.39, H 7.28, N 11.67; gef. C 53.49, H 7.38, N 11.71; Abw. C 0.10, H 0.10, N 0.04.

MS (ESI $^-$): m/e = 358.1 ($M - 1$).

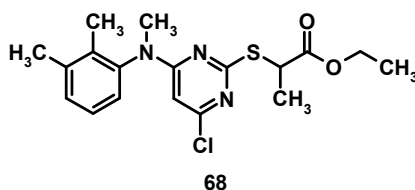
Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(heptylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-hexansäureethylester 72

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 0.86-0.92 (m ($2 \times$ t, überlagert), 6H, CH_3 (*n*-Bu)/ CH_3 (Heptyl)), 1.23-1.45 (m, 17H, CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)/O- CH_2CH_3), 1.55-1.60 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)), 1.78-1.95 (m, 2H, N- CH_2), 4.18 (q, 2H, O- CH_2 , $J = 7.1$ Hz), 4.36 (t, 1H, S- CH , $J = 7.3$ Hz), 5.12 (s (br), 1H, NH), 6.00 (s, 1H, Pyr-5- H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.78, 14.00 (CH_3 (*n*-Bu)/ CH_3 (Heptyl)), 14.15 (O- CH_2CH_3), 22.26, 22.54, 26.79, 28.90, 29.28, 29.58, 31.37, 31.69 (CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)), 41.53 (N- CH_2), 47.85 (S- CH), 61.20 (O- CH_2), 97.58 (Pyr-5- C), 159.12 (Pyr-4- C), 162.75 (Pyr-2- C), 170.51 (Pyr-6- C), 172.36 (CO).

Anal. ($\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [401.93]) C, H, N: ber. C 56.77, H 8.02, N 10.45; gef. C 56.80, H 8.10, N 10.31; Abw. C 0.03, H 0.08, N 0.14.

MS (ESI⁺): $m/e = 402.1$ (M + 1).

Synthese von 2-[4-Chlor-6-[(2,3-dimethyl-phenyl)-methyl-amino]-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-propansäureethylester 68

In einer ausgeheizten Apparatur wurden unter Argon 2 g (5.68 mmol) [4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester in 70 mL abs. THF gelöst und im Kältebad (EtOH/fl. Stickstoff) auf $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 mL (1 eq) HMPA und 5.68 mL (5.68 mmol) einer 1M Lösung aus LiHMDS in *n*-Hexan gegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz mit 0.81 g (5.68 mmol) Methyljodid versetzt und nach langsamem Erwärmen 3 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde wiederum im Kältebad auf $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt, 1 mL (1 eq) HMPA und 5.68 mL (5.68 mmol) einer 1M Lösung aus LiHMDS in *n*-Hexan zugegeben, 30 min bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und 0.81 g (5.68 mmol) Methyljodid zugegeben. Nach 18-stündigem Rühren bei RT wurde die Lösung zwischen 50 mL Wasser und 50 mL AcOEt verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige Phase ein weiteres Mal mit 50 mL AcOEt extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 30 mL Wasser, zweimal mit je 30 mL ges. NaHCO_3 -Lsg. und einmal mit 50 mL Wasser extrahiert, über MgSO_4 getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase: *n*-Hex/AcOEt 15:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.82 g (84 % d. Th.), leicht gelbe Kristalle.

Charakterisierung

Smp. = $68\text{ }^{\circ}\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, CDCl_3): δ = 1.25 (t, 3H, O- CH_2CH_3), 1.64 (d, 3H, S- CHCH_3), 2.02 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.33 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.35 (s, 3H, N- CH_3), 4.17 (q, 2H, O- CH_2), 4.45 (q, 1H, S- CH), 6.90-6.95 (m, 1H, Ph-6- H), 7.18-7.36 (m, 2H, Ph-4,5- H).

Dieses Spektrum enthält breite Signale und Überlagerungen, so dass es nicht möglich war, Kopplungskonstanten anzugeben.

^{13}C -NMR (50.32 MHz, CDCl_3): δ = 13.64 (Ph-2- CH_3), 14.06 (O- CH_2CH_3), 17.29 (Ph-3- CH_3), 20.32 (S- CHCH_3), 37.35 (N- CH_3), 42.72 (S-CH), 61.31 (O- CH_2), 98.62 (Pyr-5-C), 125.14 (Ph-6-C), 127.34 (Ph-4-C), 129.97 (Ph-5-C), 134.29 (Ph-2-C), 139.30 (Ph-3-C), 141.44 (Ph-1-C), 158.61 (Pyr-4-C), 162.45 (Pyr-2-C), 170.02 (Pyr-6-C), 172.66 (CO).

Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [379.91]) C, H, N: ber. C 56.91, H 5.84, N 11.06; gef. C 57.05, H 5.75, N 10.79; Abw. C 0.14, H 0.09, N 0.27.

MS (ESI+): m/e = 380.0 (M + 1).

5.2.5 Synthese der Carbonsäuren 18-25, 30, 53-59, 62, 65, 69, 71 und 73

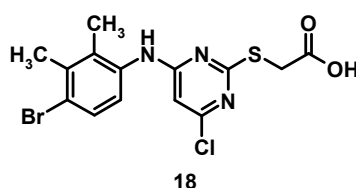
Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von 18-25, 30, 53-59, 62, 69, 71 und 73

Nr.	Edukt	1N NaOH	LM	Zeit	UK	Ausbeute	Aussehen
	(g (mmol))	(mL (mmol))	(mL)	(min)	(mL)	(g (% d. Th.))	
18	0.4 (0.91) 10	1.82 (1.82)	6	45	16 (3:5)	0.3 (82)	weiße Kristalle
19	1 (2.4) 11	4.8 (4.8)	20	45	13 (1.5:1)	0.62 (67)	weiße Kristalle
20 ^a	1.2 (3.12) 12	6.14 (6.24)	15	45	16 (3:1)	0.68 (61)	weiße Kristalle
21 ^b	1.5 (4.12) 13	8.24 (8.24)	15	40	5 (3:2)	1.1 (80)	weiße Kristalle
22 ^b	2 (5.5) 14	11 (11)	20	60	(10:1)	1.45 (79)	gelbliche Kristalle
23 ^a	2 (5.65) 15	11.3 (11.1)	30	100	10 (10:0)	0.9 (49)	weiße Kristalle ^a
24 ^a	2 (5.89) 16	11.77 (11.77)	40	120	^c	0.8 (43)	weiße Kristalle
25 ^b	0.7 (1.95) 17	3.89 (3.89)	11	120	10 (1:1)	0.16 (25)	weiße Kristalle
30 ^b	1.5 (3.78) 29	7.57 (7.57)	27	60	12 (5:1)	0.67 (48)	weiße Kristalle
53	1.77 (4.84) 46	9.68 (9.68)	35	55	20 (1:1)	1.33 (82)	weiße Kristalle
54	1.5 (3.95) 47	7.9 (7.9)	30	30	18 (2:1)	1.05 (75)	weiße Kristalle
55	1.54 (3.91) 48	7.82 (7.82)	30	50	18 (2:1)	0.96 (67)	weiße Kristalle
56	1 (2.45) 49	4.9 (4.9)	20	60	6 (1:5)	0.74 (80)	weiße Kristalle
57	1 (2.29) 50	4.58 (4.58)	15	60	6 (1:5)	0.79 (85)	weiße Kristalle
58	1.5 (3.51) 51	7 (7)	25	55	12 (1:2)	1.1 (79)	weiße Kristalle
59 ^a	0.5 (1.05) 52	2.1 (2.1)	8	60	10 (4:1)	0.42 (89)	weiße Kristalle
62	0.2 (0.54) 61	1.07 (1.07)	5	140	–	0.14 (77)	weiße Kristalle
69	1.1 (2.9) 68	5.8 (5.8)	25	150	11 (6:5)	0.8 (78)	weiße Kristalle
71 ^a	1.7 (4.72) 70	9.45 (9.45)	20	60	2 (1:0)	1.28 (82)	weiße Kristalle
73	2.5 (6.22) 72	12.44 (12.44)	40	60	2 (1:0)	0.38 (16)	weiße Kristalle

Tabelle 21: Reaktionsansätze zur Darstellung der Carbonsäuren **18-25, 30, 53-59, 62, 69, 71** und **73**. LM: Lösemittel (Ethanol), UK: Umkristallisation aus AcOEt/*n*-Hex. ^a Die wässrige Phase wurde nach dem Ansäuern aufgrund der Entstehung eines Öls dreimal mit AcOEt extrahiert, die organische Phase über MgSO₄ getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. ^b Die wässrige Phase wurde vor dem Ansäuern mit Diethylether extrahiert, um Eduktüberschüsse abzutrennen. ^c Umkristallisation erfolgte aus EtOH.

Die entsprechenden Ester **10-17**, **29**, **46-52**, **61**, **68**, **70** und **72** (1 eq) wurden in EtOH suspendiert und zum Sieden erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde mit einer 1N NaOH-Lösung (2 eq) versetzt und unter Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässrige Phase wurde mit konz. HCl auf pH 2-3 angesäuert, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und umkristallisiert (s. Tab. 21).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-brom-2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **18**



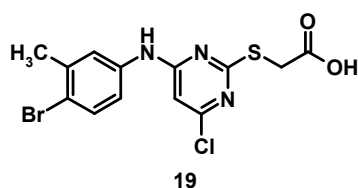
Smp. = 181°C.

¹H-NMR (300.13 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 2.28 (s, 3H, CH₃), 2.50 (s, 3H, CH₃), 3.63 (s, 2H, S-CH₂), 6.33 (s (br), 1H, H (Pyr)), 7.28 (d, 1H, H (Ph), *J* = 8.6 Hz), 7.57 (d, 1H, H (Ph), *J* = 8.6 Hz), 9.63 (s (br), 1H, NH).

¹³C-NMR (50.32 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 15.62 (Ph-2-CH₃), 19.98 (Ph-3-CH₃), 38.02 (S-CH₂), 98.23 (Pyr-5-C), 121.58 (Ph-3-C), 125.35 (Ph-6-C), 129.58 (Ph-5-C), 134.46 (Ph-2-C), 135.77 (Ph-4-C), 136.57 (Ph-1-C), 157.65 (Pyr-4-C), 161.70 (Pyr-2-C), 169.54 (Pyr-6-C), 172.75 (CO).

Anal. (C₁₄H₁₃BrClN₃O₂S [402.68]) C, H, N: ber. C 41.76, H 3.25, N 10.43; gef. C 38.33, H 3.52, N 8.70; Abw. C 3.43, H 0.27, N 1.73.

MS (ESI⁻): *m/e* = 401.9 (M(³⁷Cl) - 1).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-brom-3-methyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-essigsäure 19

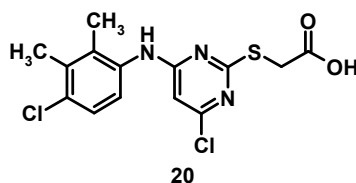
Smp. = 185-186 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.34 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.94 (s, 2H, S- CH_2), 6.50 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.36 (dd, 1H, Ph-6- H , $^4J = 3.8$ Hz, $^3J = 13$ Hz), 7.48-7.56 (m, 2H, Ph-2,5- H), 9.94 (s (br), 1H, NH), 12.76 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 22.52 (Ph-3- CH_3), 32.96 (S- CH_2), 101.06 (Pyr-5- C), 117.62 (Ph-4- C), 119.49 (Ph-6- C), 122.33 (Ph-2- C), 131.98 (Ph-5- C), 137.64 (Ph-3- C), 138.07 (Ph-1- C), 157.39 (Pyr-4- C), 160.35 (Pyr-2- C), 169.77 (Pyr-6- C), 170.28 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrClN}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.1 \text{ AcOEt}$ [397.49]) C, H, N: ber. C 40.49, H 2.99, N 10.57; gef. C 40.63, H 2.95, N 10.29; Abw. C 0.14, H 0.04, N 0.28.

MS (ESI $^-$): $m/e = 387.7$ ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-chlor-2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 20

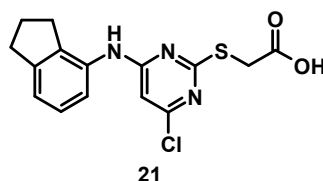
Smp. = 189-190°C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.25 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.45 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.92 (s, 2H, S- CH_2), 6.40 (s (br), 1H, Pyr-5- H), 7.29 (d, 1H, Ph-6- H , J = 8.6 Hz), 7.40 (d, 1H, Ph-5- H , J = 8.6 Hz), 9.63 (s (br), 1H, NH), 12.82 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 15.37 (Ph-2- CH_3), 16.97 (Ph-3- CH_3), 32.88 (S- CH_2), 99.42 (Pyr-5- C), 125.15 (Ph-6- C), 126.66 (Ph-5- C), 131.18 (Ph-2,4- C , Überlagerung), 134.71 (Ph-3- C), 135.26 (Ph-1- C), 158.05 (Pyr-4- C), 162.00 (Pyr-2- C), 170.00 (Pyr-6- C), 170.12 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ [358.24]) C, H, N: ber. C 46.94, H 3.66, N 11.73; gef. C 46.83, H 3.63, N 11.54; Abw. C 0.11, H 0.03, N 0.19.

MS (ESI $^-$): m/e = 355.9 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(indan-4-ylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 21

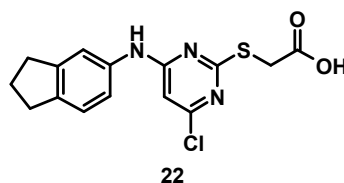
Smp. = 164-165 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.13 (quin, 2H, Indan-2-*H*, J = 7.4 Hz), 2.91 (t, 2H, Indan-3-*H*, J = 7.4 Hz), 3.02 (t, 2H, Indan-1-*H*, J = 7.4 Hz), 3.99 (s, 2H, S- CH_2), 6.57 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 7.18-7.29 (m, 2H, Indan-5,7-*H*), 7.45-7.49 (m, 1H, Indan-6-*H*), 9.55 (s (br), 1H, *NH*), 12.87 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 24.55 (Indan-3-*C*), 30.44 (Indan-2-*C*), 32.71 (Indan-1-*C*), 32.85 (S- CH_2), 99.86 (Pyr-5-*C*), 121.16 (Indan-5,7-*C*, überlagert), 126.80 (Indan-6-*C*), 133.79 (Indan-3a-*C*), 137.20 (Indan-7a-*C*), 145.28 (Indan-4-*C*), 157.63 (Pyr-4-*C*), 161.20 (Pyr-2-*C*), 169.88 (Pyr-6-*C*), 169.98 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [335.82]) C, H, N: ber. C 53.65, H 4.20, N 12.51; gef. C 53.38, H 4.22, N 12.38; Abw. C 0.27, H 0.02, N 0.13.

MS (ESI⁻): m/e = 333.9 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(indan-5-ylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 22

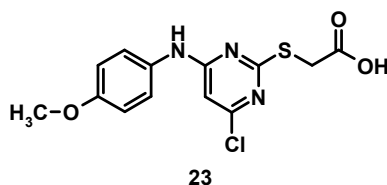
Smp. = 193-195 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.13 (quin, 2H, Indan-2-*H*, J = 7.4 Hz), 2.91-3.00 ($2 \times$ t, 4H, Indan-1,3-*H*, J = 7.4 Hz), 4.04 (s, 2H, S-*CH*₂), 6.59 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 7.28 (m, 2H, Indan-4,6-*H*), 7.57 (s (br), 1H, Indan-7-*H*), 9.99 (s (br), 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 25.02 (Indan-2-*C*), 31.66 (Indan-1-*C*), 32.32 (Indan-3-*C*), 32.77 (S-*CH*₂), 100.25 (Pyr-5-*C*), 116.85 (Indan-6-*C*), 118.80 (Indan-4-*C*), 124.18 (Indan-7-*C*), 136.43 (Indan-7a-*C*), 138.91 (Indan-3a-*C*), 144.37 (Indan-5-*C*), 157.07 (Pyr-4-*C*), 160.53 (Pyr-2-*C*), 169.71 (Pyr-6-*C*), 169.97 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.5 \text{H}_2\text{O}$ [344.81]) C, H, N: ber. C 52.25, H 4.10, N 12.18; gef. C 52.51, H 4.18, N 12.09; Abw. C 0.26, H 0.08, N 0.09.

MS (ESI⁻): m/e = 334.0 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-methoxy-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 23

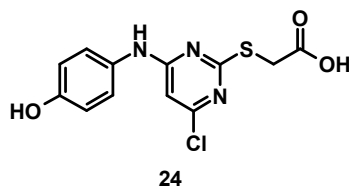
Smp. = 174-176 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 3.86 (s, 3H, O- CH_3), 4.01 (s, 2H, S- CH_2), 6.50 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.04 (d, 2H, Ph-2,6- H , J = 9 Hz), 7.54 (d, 2H, Ph-3,5- H , J = 9 Hz), 9.88 (s (br), 1H, NH), 12.87 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 32.80 (S- CH_2), 55.06 (O- CH_3), 99.88 (Pyr-5- C), 113.98 (Ph-3,5- C), 122.47 (Ph-2,6- C), 131.11 (Ph-1- C), 155.61 (Ph-4- C), 157.05 (Pyr-4- C), 160.59 (Pyr-2- C), 169.71 (Pyr-6- C), 169.97 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$ [325.77]) C, H, N: ber. C 47.93, H 3.71, N 12.90; gef. C 47.65, H 3.75, N 12.68; Abw. C 0.28, H 0.04, N 0.22.

MS (ESI $^-$): m/e = 323.9 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(4-hydroxy-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 24

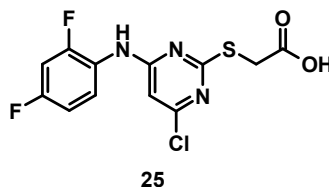
Smp. = 99 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 4.01 (s, 2H, S- CH_2), 6.46 (s (br), 1H, Pyr-5- H), 6.86 (d, 2H, Ph-2,6- H , J = 8.8 Hz), 7.39 (s (br), 2H, Ph-3,5- H), 9.46 (s (br), 1H, NH), 9.77 (s (br), 1H, OH), 12.87 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 32.61 (S- CH_2), 99.33 (Pyr-5- C), 115.0 (Ph-2,6- C), 122.64 (Ph-3,5- C), 129.19 (Ph-1- C), 153.67 (Ph-4- C), 156.74 (Pyr-4- C), 160.43 (Pyr-2- C), 169.46 (Pyr-6- C), 169.62 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S} \times \text{H}_2\text{O}$ [329.76]) C, H, N: ber. C 43.71, H 3.67, N 12.74; gef. C 43.65, H 3.73, N 12.15; Abw. C 0.06, H 0.06, N 0.59.

MS (EI): m/e = 221.1 ($\text{M} - (\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}) - 1$), 267.1 ($\text{M} - (\text{CO}_2)$), 293.1 ($\text{M} - (\text{H}_2\text{O})$), 311.1 (M).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(2,4-difluor-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 25

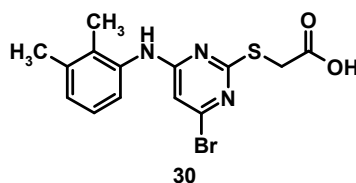
Smp. = 175 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 3.94 (s, 2H, S-CH₂), 6.66 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.17-7.24 (m, 1H, Ph-6-H), 7.43–7.51 (m, 1H, Ph-3-H), 7.80-7.88 (m, 1H, Ph-5-H), 9.83 (s (br), 1H, NH), 12.79 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 32.67 (S-CH₂), 100.15 (Pyr-5-C), 104.35 (dd, Ph-3-C, $^2J_{\text{CF}}$ = 24.4 Hz), 111.31 (dd, Ph-5-C, $^2J_{\text{CF}}$ = 22.1 Hz, $^4J_{\text{CF}}$ = 3.6 Hz), 121.70 (dd, Ph-1-C, $^4J_{\text{CF}}$ = 3.7 Hz), 127.06 (d, Ph-6-C, $^3J_{\text{CF}}$ = 8.2 Hz), 155.17 (dd, Ph-2-C, $^1J_{\text{CF}}$ = 249 Hz), 157.93 (Pyr-4-C), 159.32 (dd, Ph-4-C, $^1J_{\text{CF}}$ = 245 Hz), 161.16 (Pyr-2-C), 169.80 (Pyr-6-C), 170.01 (CO).

Anal. ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClF}_2\text{N}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.6 \text{ H}_2\text{O}$ [342.52]) C, H, N: ber. C 42.08, H 2.71, N 12.27; gef. C 42.13, H 2.49, N 12.29; Abw. C 0.05, H 0.22, N 0.02.

MS (ESI⁺): m/e = 332.1 (M + 1).

Charakterisierung von [4-Brom-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 30

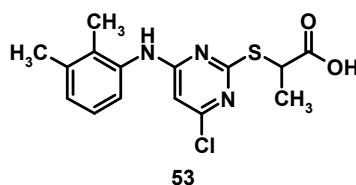
Smp. = 156 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.17 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.39 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 3.92 (s, 2H, S- CH_2), 6.33 (s (br), 1H, Pyr-5- H), 7.20-7.24 (m, 3H, Ph-4,5,6- H), 9.56 (s (br), 1H, NH), 12.85 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 14.11 (Ph-2- CH_3), 20.24 (Ph-3- CH_3), 32.86 (S- CH_2), 102.95 (Pyr-5- C), 123.94 (Ph-6- C), 125.92 (Ph-4- C), 127.98 (Ph-5- C), 132.30 (Ph-2- C), 135.53 (Ph-3- C), 137.82 (Ph-1- C), 149.35 (Pyr-4- C), 161.57 (Pyr-2- C), 169.75 (Pyr-6- C), 169.96 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{O}_2\text{S}$ [368.45]) C, H, N: ber. C 45.66, H 3.83, N 11.41; gef. C 45.92, H 3.87, N 11.18; Abw. C 0.26, H 0.04, N 0.23.

MS (ESI $^-$): m/e = 368.9 (M (^{81}Br) - 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-propansäure 53

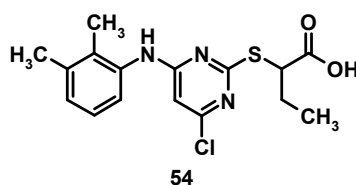
Smp. = 176 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.56 (d, 3H, S-CHCH₃, J = 7.2 Hz), 2.19 (s, 3H, Ph-2-CH₃), 2.39 (s, 3H, Ph-3-CH₃), 4.38 (q (br), 1H, S-CH), 6.28 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.19-7.25 (m, 3H, Ph-4,5,6-H), 9.65 (s (br), 1H, NH), 12.90 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.97 (Ph-2-CH₃), 17.88 (Ph-3-CH₃), 20.09 (S-CHCH₃), 42.07 (S-CH), 98.75 (Pyr-5-C), 124.01 (Ph-6-C), 125.75 (Ph-4-C), 127.89 (Ph-5-C), 132.33 (Ph-2-C), 135.58 (Ph-3-C), 137.66 (Ph-1-C), 157.62 (Pyr-4-C), 162.27 (Pyr-2-C), 169.60 (Pyr-6-C), 172.86 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [337.75]) C, H, N: ber. C 53.33, H 4.77, N 12.44; gef. C 53.31, H 4.59, N 12.17; Abw. C 0.02, H 0.18, N 0.27.

MS (ESI⁻): m/e = 335.9 (M - 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-butansäure 54

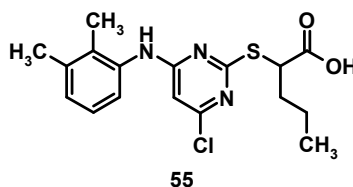
Smp. = 178 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.99 (t (br), 3H, S-CHCH₂CH₃), 1.79-1.96 (m, 2H, S-CHCH₂CH₃), 2.15 (s, 3H, Ph-2-CH₃), 2.36 (s, 3H, Ph-3-CH₃), 4.27-4.33 (m, 1H, S-CH), 6.29 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.19-7.22 (m, 3H, Ph-4,5,6-H), 9.60 (s (br), 1H, NH), 12.93 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 11.31 (Ph-2-CH₃), 14.01 (S-CHCH₂CH₃), 20.08 (Ph-3-CH₃), 25.32 (S-CHCH₂CH₃), 48.49 (S-CH), 98.87 (Pyr-5-C), 124.01 (Ph-6-C), 125.74 (Ph-4-C), 127.88 (Ph-5-C), 132.39 (Ph-2-C), 135.62 (Ph-3-C), 137.68 (Ph-1-C), 157.76 (Pyr-4-C), 162.19 (Pyr-2-C), 169.65 (Pyr-6-C), 172.27 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [351.77]) C, H, N: ber. C 54.62, H 5.16, N 11.94; gef. C 54.81, H 5.23, N 11.68; Abw. C 0.19, H 0.07, N 0.26.

MS (ESI⁻): m/e = 350.0 (M - 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-pentansäure 55

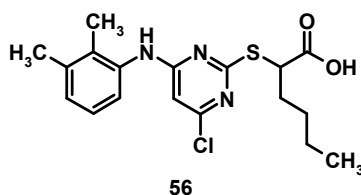
Smp. = 166-167 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.93 (t, 3H, CH_3 (*n*-Pr), J = 7.2 Hz), 1.26-1.30 (m, 2H, S-CHCH₂CH₂), 1.74-1.96 (m, 2H, S-CHCH₂CH₂), 2.17 (s, 3H, Ph-2-CH₃), 2.38 (s, 3H, Ph-3-CH₃), 4.34 (m, 1H, S-CH), 6.32 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.20-7.24 (m, 3H, Ph-4,5,6-H), 9.63 (s (br), 1H, NH), 12.94 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.42 (Ph-2-CH₃), 14.01 (CH_3 (*n*-Pr)), 19.81 (S-CHCH₂CH₂), 20.07 (Ph-3-CH₃), 34.01 (S-CHCH₂CH₂), 46.70 (S-CH), 98.91 (Pyr-5-C), 124.02 (Ph-6-C), 125.71 (Ph-4-C), 127.88 (Ph-5-C), 132.42 (Ph-2-C), 135.62 (Ph-3-C), 137.62 (Ph-1-C), 157.73 (Pyr-4-C), 162.20 (Pyr-2-C), 169.64 (Pyr-6-C), 172.50 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [364.80]) C, H, N: ber. C 55.81, H 5.51, N 11.48; gef. C 55.79, H 5.58, N 11.32; Abw. C 0.02, H 0.07, N 0.16.

MS (ESI⁻): m/e = 364.1 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-hexansäure 56

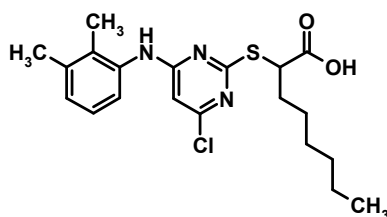
Smp. = 120-121 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.80-0.83 (m, 3H, CH_3 (*n*-Bu)), 1.21-1.38 (m, 4H, CH_2 (*n*-Bu)), 1.68-1.78 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)), 2.05 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.26 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.19 (s (br), 1H, S- CH), 6.21 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.06-7.10 (m, 3H, Ph-4,5,6- H), 9.51 (s (br), 1H, NH), 12.82 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.67 (Ph-2- CH_3), 14.00 (CH_3 (*n*-Bu)), 20.07 (Ph-3- CH_3), 21.60 (CH_2 (*n*-Bu)), 28.65 (CH_2 (*n*-Bu)), 31.71 (CH_2 (*n*-Bu)), 46.68 (S-CH), 98.94 (Pyr-5-C), 124.02 (Ph-6-C), 125.69 (Ph-4-C), 127.85 (Ph-5-C), 132.41 (Ph-2-C), 135.63 (Ph-3-C), 137.60 (Ph-1-C), 157.73 (Pyr-4-C), 162.17 (Pyr-2-C), 169.63 (Pyr-6-C), 172.47 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [379.83]) C, H, N: ber. C 56.91, H 5.84, N 11.06; gef. C 57.09, H 5.86, N 10.87; Abw. C 0.18, H 0.02, N 0.19.

MS (ESI⁻): m/e = 377.9 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-octansäure 57

57

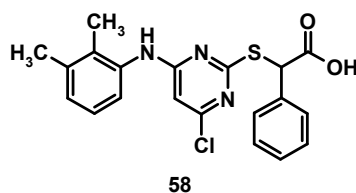
Smp. = 95 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.83 (t, 3H, CH_3 (Hex), J = 6.3 Hz), 1.15-1.22 (m, 8H, CH_2 (Hex)), 1.68-1.78 (m, 2H, CH_2 (Hex)), 2.05 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.26 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 4.21 (t (br), 1H, S-CH), 6.21 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.07-7.11 (m, 3H, Ph-4,5,6- H), 9.51 (s (br), 1H, NH), 12.85 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.79 (Ph-2- CH_3), 13.94 (CH_3 (Hex)), 20.00 (Ph-3- CH_3), 21.85 (CH_2 (Hex)), 26.34 (CH_2 (Hex)), 28.03 (CH_2 (Hex)), 30.89 (CH_2 (Hex)), 31.91 (CH_2 (Hex)), 46.89 (S-CH), 98.81 (Pyr-5-C), 123.94 (Ph-6-C), 125.62 (Ph-4-C), 127.78 (Ph-5-C), 132.30 (Ph-2-C), 135.58 (Ph-3-C), 137.53 (Ph-1-C), 157.67 (Pyr-4-C), 162.11 (Pyr-2-C), 169.58 (Pyr-6-C), 172.42 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [407.97]) C, H, N: ber. C 58.88, H 6.42, N 10.30; gef. C 58.63, H 6.32, N 10.24; Abw. C 0.25, H 0.10, N 0.06.

MS (ESI $^-$): m/e = 406.1 ($M - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-phenyl-essigsäure 58

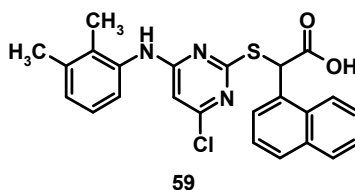
Smp. = 192-200 °C (Zersetzung).

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.05 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.28 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 5.37 (s, 1H, S- CH), 6.20 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.08-7.17 (m, 3H, N-Ph-4,5,6- H), 7.28-7.36 (m, 5H, C-Ph-2,3,4,5,6- H), 9.57 (s (br), 1H, NH), 13.05 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 14.04 (N-Ph-2- CH_3), 20.08 (N-Ph-3- CH_3), 52.01 (S- CH), 98.94 (Pyr-5- C), 124.22 (N-Ph-6- C), 125.83 (N-Ph-4- C), 128.03 (N-Ph-5- C), 128.33 (C-Ph-4- C), 128.57 (C-Ph-3,5- C), 128.88 (C-Ph-2,6- C), 132.60 (N-Ph-2- C), 135.65 (C-Ph-1- C), 136.07 (N-Ph-3- C), 137.73 (N-Ph-1- C), 157.76 (Pyr-4- C), 162.19 (Pyr-2- C), 169.31 (Pyr-6- C), 170.72 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [399.81]) C, H, N: ber. C 60.07, H 4.54, N 10.51; gef. C 59.86, H 4.70, N 10.35; Abw. C 0.21, H 0.16, N 0.16.

MS (ESI $^-$): m/e = 398.1 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-naphthalen-essigsäure 59

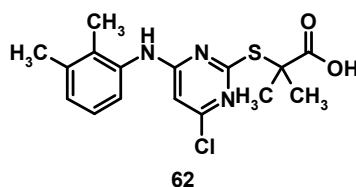
Smp. = 150 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 2.08 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.27 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 6.16 (s, 1H, S- CH), 6.25 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.11-7.15 (m, 3H, Ph-4,5,6- H), 7.43-7.46 (m, 2H, Naph-2,3- H), 7.53-7.56 (m, 2H, Naph-6,7- H), 7.88-7.97 (m, 3H, Naph-4,5,8- H), 9.60 (s (br), 1H, NH), 13.15 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.98 (Ph-2- CH_3), 20.01 (Ph-3- CH_3), 49.00 (S- CH), 99.01 (Pyr-5- C), 123.19 (Ph-6- C), 124.00 (Ph-4- C), 125.40 (Naph-8- C), 125.77 (Naph-6- C), 126.01 (Naph-7- C), 126.67 (Ph-5- C), 126.81 (Naph-4- C), 127.94 (Naph-2- C), 128.71 (Naph-3- C), 128.78 (Naph-5- C), 130.37 (Ph-2- C), 131.88 (Naph-8a- C), 132.49 (Naph-4a- C), 133.52 (Naph-1- C), 135.57 (Ph-3- C), 137.67 (Ph-1- C), 157.82 (Pyr-4- C), 162.16 (Pyr-2- C), 169.32 (Pyr-6- C), 171.04 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.8 \text{ AcOEt}$ [520.45]) C, H, N: ber. C 62.77, H 5.10, N 8.07; gef. C 62.44, H 4.81, N 8.19; Abw. C 0.33, H 0.30, N 0.12.

MS (ESI⁺): m/e = 450.1 (M + 1).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-yl-sulfanyl]-2-methyl-propansäure 62

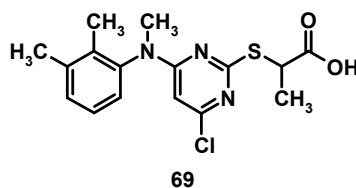
Smp. = 162-163 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.55 (s, 6H, S-C(CH_3) $_2$), 2.05 (s, 3H, Ph-2- CH_3), 2.26 (s, 3H, Ph-3- CH_3), 6.08 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.05-7.09 (m, 3H, Ph-4,5,6- H), 9.41 (s (br), 1H, NH), 12.54 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.95 (Ph-2- CH_3), 20.08 (Ph-3- CH_3), 25.97 (S-C(CH_3) $_2$), 51.01 (S-C(CH_3) $_2$), 98.50 (Pyr-5- C), 124.21 (Ph-6- C), 125.84 (Ph-4- C), 127.95 (Ph-5- C), 132.56 (Ph-2- C), 135.67 (Ph-3- C), 137.67 (Ph-1- C), 157.42 (Pyr-4- C), 162.33 (Pyr-2- C), 170.32 (Pyr-6- C), 174.40 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.4 \text{ H}_2\text{O}$ [359.07]) C, H, N: ber. C 53.52, H 5.28, N 11.70; gef. C 53.75, H 4.76, N 11.04; Abw. C 0.23, H 0.52, N 0.66.

MS (ESI $^-$): m/e = 350.1 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-[(2,3-dimethyl-phenyl)-methyl-amino]-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-propansäure 69

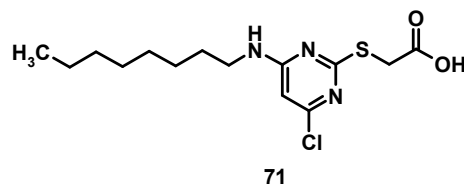
Smp. = 155 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.54 (d, 3H, S-CHCH₃, J = 10.8 Hz), 1.98 (s, 3H, Ph-2-CH₃), 2.30 (s, 3H, Ph-3-CH₃), 3.32 (s, 3H, N-CH₃), 4.36 (q, 1H, S-CH, J = 10.8 Hz), 5.44 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.07-7.12 (m, 1H, Ph-6-H), 7.24-7.27 (m, 2H, Ph-4,5-H), 12.80 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.34 (Ph-2-CH₃), 17.34 (Ph-3-CH₃), 19.96 (S-CHCH₃), 37.26 (N-CH₃), 42.45 (S-CH), 97.81 (Pyr-5-C), 125.05 (Ph-6-C), 127.43 (Ph-4-C), 129.96 (Ph-5-C), 133.93 (Ph-2-C), 139.06 (Ph-3-C), 140.96 (Ph-1-C), 157.62 (Pyr-4-C), 161.99 (Pyr-2-C), 169.78 (Pyr-6-C), 173.10 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S} \times 0.4 \text{ H}_2\text{O}$ [359.07]) C, H, N: ber. C 53.52, H 5.28, N 11.21; gef. C 53.63, H 5.02, N 11.21; Abw. C 0.11, H 0.26, N 0.49.

MS (MALDI): 351.68 (M).

Charakterisierung von [4-Chlor-6-(octylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 71

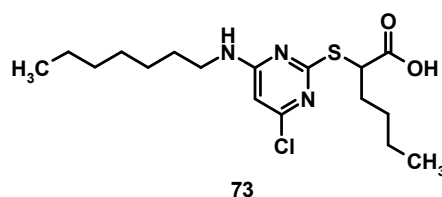
Smp. = 95 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.85 (t, 3H, Octyl- CH_3 , J = 6.1 Hz), 1.20-1.30 (m, 8H, Octyl- CH_2), 1.40-1.50 (m, 2H, Octyl- CH_2), 3.25-3.34 (m, 4H, Octyl- CH_2), 3.82 (s, 2H, S- CH_2), 6.19 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.81 (s (br), 1H, NH), 12.65 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.96 (Octyl- CH_3), 22.10 (Octyl- CH_2), 26.37 (Octyl- CH_2), 28.68 (Octyl- CH_2), 31.24 (Octyl- CH_2), 32.97 (Octyl- CH_2), 33.04 (Octyl- CH_2), 40.01 (N- CH_2), 99.24 (Pyr-5- C), 156.34 (Pyr-4- C), 162.43 (Pyr-2- C), 169.85 (Pyr-6- C), 170.04 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [331.87]) C, H, N: ber. C 50.67, H 6.68, N 12.66; gef. C 50.82, H 6.75, N 12.39; Abw. C 0.15, H 0.07, N 0.27.

MS (ESI $^-$): m/e = 329.9 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von 2-[4-Chlor-6-(heptylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-hexansäure 73

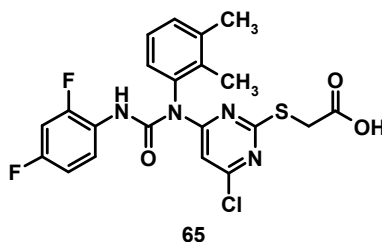
Smp. = 93 °C:

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 0.85 (2 \times t, 6H, CH_3 (*n*-Bu)/ CH_3 (Heptyl), J = 7.2 Hz), 1.26-1.37 (m, 12H, CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)), 1.45-1.49 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)), 1.75-1.86 (m, 2H, CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)), 3.27-3.36 (m, 2H, N- CH_2), 4.24 (t, 1H, S- CH , J = 7.1 Hz), 6.18 (s, 1H, Pyr-5- H), 7.82 (s (br), 1H, NH), 12.79 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.73, 13.90 (CH_3 (*n*-Bu)/ CH_3 (Heptyl)), 21.73, 22.02, 26.34, 28.38, 28.70, 28.91, 31.23, 31.41 (CH_2 (*n*-Bu)/ CH_2 (Heptyl)), 40.12 (N- CH_2), 47.46 (S- CH), 99.32 (Pyr-5-C), 156.25 (Pyr-4-C), 162.48 (Pyr-2-C), 169.78 (Pyr-6-C), 172.68 (COOH).

Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$ [373.95]) C, H, N: ber. C 54.60, H 7.55, N 11.24; gef. C 54.35, H 7.53, N 11.41; Abw. C 0.25, H 0.02, N 0.17.

MS (ESI $^-$): m/e = 372.1 ($\text{M} - 1$).

Synthese von [4-Chlor-6-[3-(2,4-difluor-phenyl)-1(2,3-dimethyl-phenyl)-ureido]-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 65

0.31 g (0.96 mmol) [4-Chlor-6-(2,3-dimethyl-phenylamino)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure, 0.15 g (0.96 mmol) 2,4-Difluorphenylisocyanat und katalytische Mengen Di-*n*-butylphosphat wurden in 10 mL abs. Toluol suspendiert und 3 h auf 100 °C erhitzt. Das Lösemittel wurde unter vermindertem Druck abdestilliert und das entstandene ölige Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt 5:1) gereinigt.

Ausbeute: 0.13 g (28 % d. Th.), weisse Kristalle.

Charakterisierung

Smp. = 135 °C.

¹H-NMR (300.13 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 2.17 (s, 3H, Ph-2-CH₃), 2.35 (s, 3H, Ph-3-CH₃), 4.15 (s, 2H, S-CH₂), 6.30 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.17-7.23 (m, 4H, Ph-H), 7.39-7.47 (m, 1H, Ph-H), 7.87 (m, 1H, HN-Ph-6-H), 9.63 (s (br), 1H, NH), 9.97 (s (br), 1H, COOH).

¹³C-NMR (50.32 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 13.88 (Ph-2-CH₃), 19.97 (Ph-3-CH₃), 34.58 (S-CH₂), 98.75 (Pyr-5-C), 104.0 (dd, HN-Ph-3-C, ²J_{CF} = 24 Hz), 110.96 (HN-Ph-5-C, ²J_{CF} = 21.9 Hz, ⁴J_{CF} = 3.6 Hz), 122.46 (dd, HN-Ph-1-C, ⁴J_{CF} = 3.7 Hz), 123.87 (Ph-6-C), 125.27 (d, HN-Ph-6-C, ³J_{CF} = 6.6 Hz), 125.67 (Ph-4-C), 127.81 (Ph-5-C), 132.20 (Ph-2-C), 135.44 (Ph-3-C), 137.63 (Ph-1-C), 153.65 (dd, HN-Ph-2-C, ¹J_{CF} = 249 Hz), 156.13 (CONH), 157.78 (Pyr-4-C), 158.67 (dd, HN-Ph-4-C, ¹J_{CF} = 232 Hz), 162.13 (Pyr-2-C), 166.68 (Pyr-6-C), 170.03 (CO),

Anal. (C₂₁H₁₇ClF₂N₄O₃S [478.91]) C, H, N: ber. C 52.67, H 3.58, N 11.70; gef. C 52.70, H 3.73, N 11.86; Abw. C 0.03, H 0.15, N 0.16.

MS (ESI⁻): $m/e = 433$ (M - (CO₂) - 1).

5.2.6 Synthese von Precursoren der Pirinixinsäure

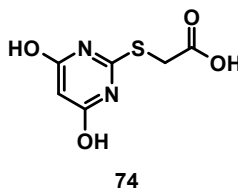
Synthese der Precursor (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäure **74** und (4-Chlor-6-ethoxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäure **75**

Die Precursor **74** und **75** wurden nach der in Kap. 5.2.5 vorgestellten allgemeinen Arbeitsvorschrift synthetisiert.

Nr.	Edukt (g (mmol))	1N NaOH (mL (mmol))	EtOH (mL)	Zeit (h)	UK (mL)	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aussehen
74	2 (8.69) 8	17.38 (17.38)	35	1	30 ^a	1.07 (61)	weiße Kristalle
75	2.5 (9.36) 9	18.72 (18.72)	30	2	^b	0.98 (42)	weiße Kristalle

Tabelle 22: Reaktionsansätze zur Darstellung der Precursor **74** und **75**. ^a Umkristallisation aus EtOH, ^b Umkristallisation aus *n*-Hexan/AcOEt 1:1.

Charakterisierung von (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäure **74**



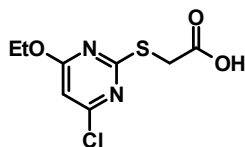
Smp. = 190-215°C (Zersetzung).

¹H-NMR (300.13 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 4.07 (s, 2H, S-CH₂), 5.31 (s, 1H, Pyr-5-H), 12.30 (s (br), 3H, OH).

¹³C-NMR (50.32 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 32.17 (S-CH₂), 85.49 (Pyr-5-C), 162.78 (Pyr-2-C), 167.45 (Pyr-4,6-C), 169.44 (COOH).

MS (ESI⁻): *m/e* = 200.9 (M - 1).

MS (ESI⁺): *m/e* = 203 (M + 1).

Charakterisierung von (4-Chlor-6-ethoxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäure 75

75

Smp. = 212 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.42 (t, 3H, CH_2CH_3 , $J = 7$ Hz), 4.05 (s, 2H, S- CH_2), 4.51 (q, 2H, CH_2CH_3 , $J = 7$ Hz), 6.95 (s, 1H, Pyr-5- H), 12.93 (s (br), 1H, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 14.05 (CH_3), 33.31 (S- CH_2), 63.56 (O- CH_2), 102.69 (Pyr-5- C), 159.57 (Pyr-4- C), 169.35 (Pyr-2- C), 169.69 (Pyr-6- C), 170.63 (COOH).

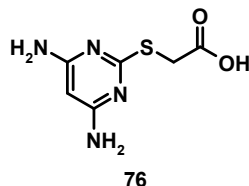
Anal. ($\text{C}_8\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$ [248.69]) C, H, N: ber. C 38.64, H 3.65, N 11.26; gef. C 38.46, H 3.64, N 11.44; Abw. C 0.18, H 0.01, N 0.18.

MS (ESI $^-$): $m/e = 246.9$ ($M - 1$).

Synthese des 4,6-diaminierten Precursors 76 und des 4-Amino-6-hydroxylierten Precursors 77

Die Precursor 76 und 77 wurden nach einer literaturbekannten Vorschrift synthetisiert.⁹⁶

Charakterisierung von (4,6-Diamino-pyrimidin-2-yl-sulfanyl)-essigsäure 76



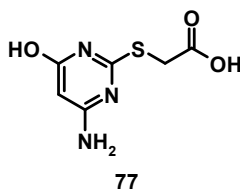
Ausbeute: 6.18 g (98 % d. Th.).

Smp. = 265 °C (Lit.: 270-273 °C).

¹H-NMR (300.13 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 3.89 (s, 2H, S-CH₂), 5.26 (s, 1H, Pyr-5-H), 6.26 (s (br), 4H, NH₂).

MS (ESI⁺): *m/e* = 200.8 (M+1).

Charakterisierung von (4-Amino-6-hydroxy-pyrimidin-2-yl-sulfanyl)-essigsäure 77



Ausbeute: 7.84 g (90 % d. Th.).

Smp. = 235 °C (Lit.: 241-242 °C).

¹H-NMR (300.13 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 4.03 (s, 2H, S-CH₂), 5.09 (s, 1H, Pyr-5-H), 6.59 (s (br), 2H, NH₂), 12.24 (s (br), 1H, OH).

Anal. (C₆H₇N₃O₃S [201.22]) C, H, N: ber. C 35.82, H 3.51, N 20.88; gef. C 35.55, H 3.52, N 21.13; Abw. C 0.27, H 0.01, N 0.25.

5.2.7 Synthese α,β -ungesättigter Pirinixinsäurederivate **79** und **82** und der Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-one **80** und **81**

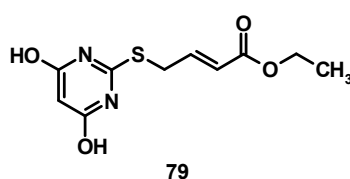
Allgemeine Arbeitsvorschrift des 4,6-dihydroxylierten α,β -ungesättigten Pirinixinsäurederivate **79** und des 7-hydroxylierten Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **80**

Die Synthese der Verbindungen **79** und **80** erfolgte analog der in Kap. 5.2.2 vorgestellten allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester. Die Darstellung von **79** und **80** erforderte lediglich verschiedene Reaktionstemperaturen (s. Tab. 23).

Nr.	T (°C)	TBS (g (mmol))	1M NaOH (mL (mmol))	Ethylester (g (mmol))	LM (mL)	Zeit (h)	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aussehen
79	25	1.44 (10)	10 (10)	2.15 (11.14) ^a	10	19	1.7 (66)	weiße Kristalle
80	60	7.5 (52.05)	56 (56)	11.76 (60.9) ^a	56	2	9.8 (73)	weiße Kristalle

Tabelle 23: Reaktionsansätze zur Darstellung des 4,6-dihydroxylierten α,β -ungesättigten Pirinixinsäurederivates **79** und des 7-hydroxylierten Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **80**. TBS: Thiobarbitursäure, LM: Lösemittel (EtOH). ^a 4-Bromcrotonsäureethylester.

Charakterisierung von 4-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-but-2-ensäureethylester **79**



Smp. = 165 °C.

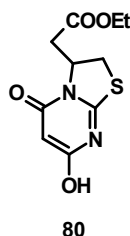
¹H-NMR (300.13 MHz, (CD₃)₂SO): δ = 1.32 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.03 (d, 2H, S-CH₂, *J* = 7.2 Hz), 4.21 (q, 2H, CH₂CH₃, *J* = 7.1 Hz), 5.33 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 6.25 (d, 1H, Buten-2-*H*, *J* (trans) = 15.5 Hz), 6.99 (dt, 1H, Buten-3-*H*, *J* (trans) = 15.5 Hz, *J* = 7.2 Hz), 11.82 (s (br), 2H, OH).

^{13}C -NMR (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 13.94 (CH_3), 29.90 (S-CH_2), 59.91 (O-CH_2), 85.47 (Pyr-5-C), 123.07 (Buten-2-C), 143.17 (Buten-3-C), 162.44 (Pyr-2-C), 165.25 (CO), 167.55 (Pyr-4,6-C).

Anal. ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [256.28]) C, H, N: ber. C 46.87, H 4.72, N 10.93; gef. C 45.41, H 4.63, N 9.83; Abw. C 1.41, H 0.09, N 1.10.

MS (ESI $^-$): m/e = 254.8 ($\text{M} - 1$).

Charakterisierung von (7-Hydroxy-5-oxo-2,3-dihydro-5H-thiazolo[3,2-a]pyrimidin-3-yl)-essigsäureethylester 80



Smp. = 163 °C.

^1H -NMR (300.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 1.30 (t, 3H, CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 2.84 (dd, 1H, CH_2CO , 2J = 15.7 Hz, 3J = 3.6 Hz), 2.99 (dd, 1H, CH_2CO , 2J = 15.7 Hz, 3J = 8.9 Hz), 3.41 (dd, 1H, S-CH_2 , 2J = 11.7 Hz, 3J = 1.3 Hz), 3.98 (dd, 1H, S-CH_2 , 2J = 11.7 Hz, 3J = 8.2 Hz), 4.19 (q, 2H, CH_2CH_3 , J = 7.1 Hz), 5.24 (s, 1H, Pyr-6-H), 5.20-5.26 (m, 1H, N-CH), 11.67 (s (br), 1H, OH).

^{13}C -NMR (50.32 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$): δ = 3.75 (CH_3), 31.07 (S-CH_2), 34.63 (CH_2CO), 56.53 (N-CH), 60.40 (O-CH_2), 85.06 (6-C), 161.07 (5-C), 164.69 (8a-C), 169.20 (7-C), 169.58 (COOEt).

Anal. ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ [256.28]) C, H, N: ber. C 46.87, H 4.72, N 10.93; gef. C 47.04, H 4.74, N 10.67; Abw. C 0.17, H 0.02, N 0.26.

MS (ESI $^+$): m/e = 257.1 ($\text{M} + 1$).

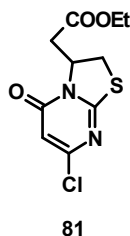
Allgemeine Arbeitsvorschrift des 4,6-dichlorierten α,β -ungesättigten Pirinixinsäurederivate **82** und des 7-chlorierten Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **81**

Die Synthese der Verbindungen **81** und **82** erfolgte analog der in Kap. 5.2.3 vorgestellten allgemeinen Arbeitsvorschrift zur Darstellung der 4,6-dihalogensubstituierten (Pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester. Die Darstellung von **81** und **82** erforderte lediglich verschiedene Reaktionstemperaturen (s. Tab. 24).

Nr.	T (°C)	Edukt (g (mmol))	POCl ₃ (mL (mmol))	Zeit (h)	Ausbeute g (% d. Th.)	SC	UK (mL)	Aussehen
81	110	5 (19.51) 79	34.5 (0.390)	6	2.14 (40)	–	250	gelbe Kristalle
82	25	1.4 (5.46) 78	8.7 (98.3)	25	0.8 (50)	15:1	–	weiße Kristalle

Tabelle 24: Reaktionsansätze zur Darstellung des 4,6-dichlorierten α,β -ungesättigten Pirinixinsäurederivate **82** und des 7-chlorierten Thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ons **81**. SC: Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt), UK: Umkristallisation aus *n*-Hexan.

Charakterisierung von (7-Chlor-5-oxo-2,3-dihydro-5*H*-thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-3-yl)-essigsäureethylester **81**



Smp. = 86 °C.

¹H-NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ = 1.25 (t, 3H, CH₂CH₃, *J* = 7.2 Hz), 2.91 (m, 1H, CH₂CO), 3.32 (dd, 1H, S-CH₂, ²*J* = 12 Hz, ³*J* = 1.3 Hz), 3.79 (dd, 1H, S-CH₂, ²*J* = 12 Hz, ³*J* = 8 Hz), 4.16 (q, 2H, CH₂CH₃, *J* = 7.2 Hz), 5.28-5.35 (m, 1H, N-CH), 6.19 (s, 1H, 6-*H*).

¹³C-NMR (50.32 MHz, CDCl₃): δ = 14.05 (CH₃), 31.73 (S-CH₂), 34.14 (CH₂CO), 57.32 (N-CH), 61.42 (O-CH₂), 108.39 (6-*C*), 158.59 (5-*C*), 159.22 (8a-*C*), 165.31 (7-*C*), 169.59 (COOEt).

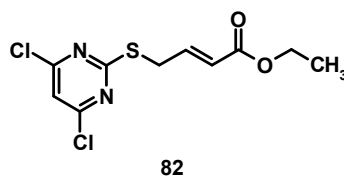
Anal. (C₁₀H₁₁ClN₂O₃S [274.73]) C, H, N: ber. C 43.72, H 4.04, N 10.20; gef. C 43.95, H 4.11, N 10.33; Abw. C 0.23, H 0.07, N 0.13.

MS (ESI+): $m/e = 274.7$ (M(³⁵Cl) + 1), 276.9 (M(³⁷Cl) + 1).

Kristalldaten: C₁₀H₁₁ClN₂O₃S, $M=274.72$, triklin, P-1, $a = 5.1912$ (5) Å, $b = 10.4877$ (10) Å, $c = 11.1042$ (10) Å, $\alpha = 87.591$ (10)°, $\beta = 77.845$ (10)°, $\gamma = 84.121$ (10)°, $V = 587.76$ (10) Å³, $Z = 2$, $D_x = 1.552$ Mg m⁻³, Mo $K\alpha$ -Strahlung, $\theta = 1.9$ - 29.8 °, $\mu = 0.5$ mm⁻¹, $T = -159$ (2) K, gelbes Blättchen (0.07 × 0.40 × 1.2 mm).

SIEMENS SMART CCD Diffraktometer; Absorptions-Korrektur: SADABS, Sheldrick, 2000, empirisch, $T_{\min} = 0.822$, $T_{\max} = 1.0$; $R_{\text{int}} = 0.038$; $h = -7 \rightarrow 7$, $k = -14 \rightarrow 13$, $l = -15 \rightarrow 15$; Verfeinerung: F^2 , $S = 1.102$.

Charakterisierung von 4-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-but-2-ensäureethyl-ester **82**



¹H-NMR (300.13 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.24$ (t, 3H, CH₂CH₃, $J = 7.4$ Hz), 3.86 (dd, 2H, S-CH₂, $J = 5.8$ Hz, $J = 3$ Hz), 4.11 (q, 2H, CH₂CH₃, $J = 7.4$ Hz), 6.05 (d, 1H, Buten-2-H, J (trans) = 15.5 Hz), 6.91 (dt, 1H, Buten-3-H, J (trans) = 15.5 Hz, $J = 7.2$ Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-5-H).

¹³C-NMR (50.32 MHz, CDCl₃): $\delta = 14.12$ (CH₃), 31.96 (S-CH₂), 60.43 (O-CH₂), 116.38 (Pyr-5-C), 124.50 (Buten-2-C), 141.19 (Buten-3-C), 161.56 (Pyr-2-C), 165.77 (CO), 172.29 (Pyr-4,6-C).

Anal. (C₁₀H₁₀Cl₂N₂O₂S [293.17]) C, H, N: ber. C 40.97, H 3.44, N 9.56; gef. C 41.41, H 4.05, N 9.07; Abw. C 0.44, H 0.61, N 0.49.

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
A-Box	Adenin-Box
abs.	absolut
Abw.	Abweichung
AcOEt	Ethylacetat
AF	Aktivierungsfunktion
Anal.	Analyse
AP-1	Aktivator-Protein 1
AS	Aminosäure
AT-Bereich	Adenin-Thymidin-Bereich
ber.	berechnet
<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Butyl
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
COX	Cyclooxygenase
CPCA	Consensus Principal Component Analysis
CRP	C-reaktives Protein
CTE	C-terminal extension
d	Dublett
DBD	DNA-Bindungsdomäne
D-Box	distale Box
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Dublett von Dublett
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
2,3-DMA	2,3-Dimethylanilin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DR	direct repeat

d. Th.	der Theorie
δ	Chemische Verschiebung
EC ₅₀	Effektive Konzentration (Konzentration, bei der 50 % des Maximaleffektes am Rezeptor erreicht wird)
eq	Äquivalent
ER	Estrogen-Rezeptor
ESI	Electro Spray Ionization
Et	Ethyl
EtOH	Ethanol
FF	Freie Fettsäure
fl.	flüssig
g	Gramm
GC	Gesamt-Cholesterol
gef.	gefunden
h	human
H	Helix
HDLc	High Density Lipoprotein Cholesterol
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure
Hex	Hexyl
<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -Hexan
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HODE	Hydroxyoctadecadiensäure
hPPAR	humaner PPAR
HRE	Hormon Responseelement
Hsp	Hitzeschockprotein
Hz	Hertz
ia	inaktiv
I κ B α	NF κ B-inhibierendes Protein alpha

I-Effekt	induktiver Effekt
IKK	I κ B α Kinase Komplex
IL	Interleukin
J	Kopplungskonstante
Kap.	Kapitel
LBD	Ligandenbindungsdomäne
LBP	Ligandenbindungstasche (ligand binding pocket)
LDLc	Low Density Lipoprotein Cholesterol
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazid
Lit.	Literatur
LM	Lösemittel
5-LO	5-Lipoxygenase
Lsg.	Lösung
LT	Leukotrien
LTB ₄	Leukotrien B ₄
m	Multipllett
m	murin
M	Masse
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization
mbar	Millibar
Me	Methyl
m/e	Masse pro Ladung
MeCN	Acetonitril
M-Effekt	mesomerer Effekt
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
min	Minuten
mL	Milliliter
mmol	Millimol
mPPAR	muriner PPAR

MR	Mineralcorticoid Rezeptor
MS	Massenspektrum oder Massenspektrometrie
μM	mikromolar
n	Kettenlänge
na	nicht angegeben
Napht	Naphtyl
nb	nicht bestimmt
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
NCS	<i>N</i> -Chlorsuccinimid
NFκB	Nukleärer Faktor kappa B
NGF	Nerve Growth Factor
NID	Nuclear Receptor Interacting Domain
nM	nanomolar
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
Nr.	Nummer
NR	Nukleärer Rezeptor
p	Druck
P-Box	Proximale Box
PG	Prostaglandine
Ph	Phenyl
PMNL	Polymorphkernige Leukozyten
PPAR	Peroxisome Proliferator Activated Receptor
ppm	parts per million
PPRE	Peroxisomen Proliferator Responselement
<i>n</i> -Pr	<i>n</i> -Propyl
Pyr	Pyrimidin
q	Quartett
quin	Quintett
RAR	Retinsäure-Rezeptor
RE	Responselement

rel. Akt.	relative Aktivierung
RT	Raumtemperatur
RXR	Retinoid X Rezeptor
s	Singulett
s.	siehe
SC	Säulenchromatographie
Sdp.	Siedepunkt
Smp.	Schmelzpunkt
SRC	Steroid Receptor Coactivating Factor
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
t	Triplet
Tab.	Tabelle
T-Box	Tandem-Box
T2DM	Typ 2 Diabetes Mellitus
TG	Triglycerid
THF	Tetrahydrofuran
TiBA	Thioisobutyric acid
TIK	Transkriptionsinitiationskomplex
TR	Thyroid-Rezeptor
TZD	Thiazolidindion
UK	Umkristallisation
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
VDR	Vitamin D Rezeptor
vgl.	vergleiche
VLDLc	Very Low Density Lipoprotein Cholesterol
WY 14643	Leitstruktur Pirinixinsäure
z. Bsp.	zum Beispiel

6.2 Literaturverzeichnis

- ¹ H. Gronemeyer, J.-Å. Gustafsson, V. Laudet, Principles for Modulation of the Nuclear Receptor Superfamily, *Nature*, **2004**, *3*, 950-964.
- ² V. Laudet, H. Gronemeyer, *The Nuclear Receptors Factbooks*, **2001**, Academic.
- ³ V. Laudet, Evolution of the nuclear receptor superfamily: early diversification from an ancestral orphan receptor, *J. Mol. Endocrinol.*, **1997**, *19*, 207-226.
- ⁴ The Nuclear Receptor Nomenclature Committee, A Unified Nomenclature System for the Nuclear Receptor Superfamily, *Cell*, **1999**, *97*, 161-163.
- ⁵ A. Tremblay, G. B. Tremblay, F. Labrie, V. Giguere, Ligand-independent recruitment of SCR-1 to estrogen receptor beta through phosphorylation of activation function AF-1, *Mol. Cell*, **1999**, *3*, 513-519.
- ⁶ J. P. Renaud, D. Moras, Structural studies on nuclear receptors, *Cell. Mol. Life Sci.*, **2000**, *57*, 1748-1769.
- ⁷ A. C. U. Steinmetz, J.-P. Renaud, D. Moras, Binding of Ligands and Activation of Transcription by Nuclear Receptors, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **2001**, *30*, 329-359.
- ⁸ L. P. Freedman, B. F. Luisi, Z. R. Korszun, R. Basavappa, P. B. Sigler, K. R. Yamamoto, The function and structure of the metal coordination sites within the glucocorticoid receptor DNA binding domain, *Nature*, **1988**, *334*, 543-546.
- ⁹ T. Hard, E. Kellenbach, R. Boelens, B. A. Maler, K. Dahlman, L. P. Freedman, Solution structure of the glucocorticoid receptor DNA-binding domain, *Science*, **1990**, *249*, 157-160.
- ¹⁰ J. W. R. Schwabe, D. Neuhaus, D. Rhodes, Solution structure of the DNA-binding domain of the estrogen receptor, *Nature*, **1990**, *348*, 458-481.
- ¹¹ S. Mader, V. Kumar, H. de Verneuil, P. Chambon, Three amino acids of the oestrogen receptor are essential to its ability to distinguish an oestrogen from a glucocorticoid-responsive element, *Nature*, **1989**, *338*, 271-274.
- ¹² K. Umesono, R. M. Evans, Determinants of target gene specificity for steroid/thyroid hormone receptors, *Cell*, **1989**, *57*, 1139-1146.
- ¹³ T. E. Wilson, R. E. Paulsen, K. A. Padgett, J. Milbrandt, Participation of non-zinc finger residues in DNA binding by two nuclear orphan receptors, *Science*, **1992**, *256*, 107-110.
- ¹⁴ W. Bourguet, M. Ruff, P. Chambon, H. Gronemeyer, D. Moras, Crystal structure of the ligand-binding domain of the human nuclear receptor RXR- α , *Nature*, **1995**, *375*, 377-382.

- ¹⁵ W. Bourguet, P. Germain, H. Gronemeyer, Nuclear receptor ligand-binding domains: three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications, *Trends Pharmacol. Sci.*, **2000**, *21*, 381-388.
- ¹⁶ J. M. Wurtz, W. Bourguet, J.-P. Renaud, V. Vivat, P. Chambon, D. Moras, H. Gronemeyer, A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors, *Nat. Struct. Biol.*, **1996**, *1*, 87-94.
- ¹⁷ A. Aranda, A. Pascual, Nuclear Hormone Receptors and Gene Expression, *Physiol. Rev.*, **2001**, *3*, 1269-1304.
- ¹⁸ L. P. Freedman, *Molecular biology of Steroid and Nuclear Hormone Receptors*, **1998**, Birkhäuser.
- ¹⁹ P. Germain, L. Altucci, W. Bourguet, C. Rochette-Egly, H. Gronemeyer, Nuclear receptor superfamily: Principles of signalling, *Pure Appl. Chem.*, **2003**, *75*, 1619-1664.
- ²⁰ V. Giguere, Orphan nuclear receptors: from gene to function, *Endocr. Rev.*, **1999**, *20*, 689-725.
- ²¹ G. Krauss, *Biochemie der Regulation und Signaltransduktion*, **1997**, 152-178, Wiley-VCH.
- ²² I. Isseman, S. Green, Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, **1990**; *347*, 645-650.
- ²³ K. Schoonjans, B. Staels, J. Auwerx, The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation, *Biochem. Biophys. Acta*, **1996**; *1302*, 93-109.
- ²⁴ C. Dreyer, G. Krey, H. Keller, F. Givel, G. Helftenbein, W. Wahli, Control of the peroxisomal β -oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors, *Cell*, **1992**; *68*, 879-887.
- ²⁵ B. Desvergne, W. Wahli, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Nuclear Control in Metabolism, *Endocrine Reviews*, **1999**, *20*, 649-688.
- ²⁶ O. Braissant, F. Fougère, C. Scotto, M. Dauca, W. Wahli, Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors: tissue distribution of PPAR α , β and γ in the adult rat, *Endocrinology*, **1995**; *137*, 354-366.
- ²⁷ T. M. Willson, W. Wahli, Peroxisome proliferator-activated receptor agonists, *Current Opinion in Chemical Biology*, **1997**, *1*, 235-241.
- ²⁸ T. M. Willson, P. J. Brown, D. D. Sternbach, B. R. Henke, The PPARs: From Orphan Receptors to Drug Discovery, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 527-550.

- ²⁹ H. Miyachi, Synthetic ligands for peroxisome proliferators-activated receptor α , review of the patent literature 2000-2003, *Expert Opin. Ther. Patents*, **2004**, *14*, 607-618.
- ³⁰ P. J. Brown, D. A. Wineger, K. D. Plunket, A ureido-thiobutyric acid (GW 9578) is a subtype-selective PPAR α agonist with potent lipid-lowering activity, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 3785-3788.
- ³¹ Y. Xu, D. Mayhugh, A. Saeed, Design and synthesis of a potent and selective triazolone-based peroxisome proliferators-activated receptor α agonist, *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 5121-5124.
- ³² Bayer Aktiengesellschaft, WO 0228821 (**2002**).
- ³³ M. Nomura, T. Tanase, T. Ide, M. Tsunoda, M. Suzuki, H. Uchiki, K. Muratami, H. Miyachi, Design, Synthesis, and Evaluation of Substituted Phenylpropanoic Acid Derivates as Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor Activators. Discovery of Potent and Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor alpha Subtype-Selective Activators, *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*, 3581-3599.
- ³⁴ Y. Sugiyama, T. Aoki, T. Asaki, A novel 1,3-dioxane-2-carboxylic acid derivates, NS-220, as a highly potent and selective PPAR α agonist, AIMECS03, Kyoto, Japan, **2003**, B22.
- ³⁵ A. D. Adams, W. Yuen, Z. Hu, C. Santini, A. B. Jones, K. L. MacNaul, J. P. Berger, T. W. Doebber, D. E. Moller, Amphipatic 3-Phenyl-7-propylöbenzisoxazoles; Human PPAR γ , δ and α Agonists, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 931-935.
- ³⁶ Eisai. Co. LTD, WO 02098840 (**2003**).
- ³⁷ Aventis Pharma Deutschland GmbH, WO 03020269 (**2003**).
- ³⁸ G. d'Atri, P. Gomasca, G. Resnati, G. Tronconi, C. Scolastico, C. R. Sirtori, Novel Pyrimidine and 1,3,5-Triazine Hypolipidemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1984**, *27*, 1621-1629.
- ³⁹ F. D. King, G. Lawton, A. W. Oxford, *Progress in Medicinal Chemistry*, **2004**, *Vol. 42*, 1-53, Elsevier.
- ⁴⁰ J. M. Lehmann, L. B. Moore, T. A. Simth-Oliver, W. O. Wilkison, T. M. Willson, S. A. Kliewer, An Antidiabetic Thiazolidinedione Is a High Affinity Ligand for Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPAR γ), *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270*, 12953-12956.
- ⁴¹ B. M. Forman, P. Tontonoz, J. Chen, R. P. Brun, B. M. Spiegelman, R. M. Evans, 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin is a Ligand for the Adipocyte Determination Factor PPAR γ , *Cell*, **1995**, *83*, 803-812.

- ⁴² B. R. Henke, S. G. Blanchard, M. F. Brackeen, K. K. Brown, J. E. Cobb, J. L. Collins, W. W. Harrington Jr., M. A. Hashim, E. A. Hull-Ryde, I. Klador, S. A. Kliewer, D. H. Lake, L. M. Leesnitzer, J. M. Lehmann, J. M. Lenhard, L. A. Orband-Miller, J. F. Miller, R. A. Mook, S. A. Noble, W. Oliver, D. J. Parks, K. D. Plunket, J. R. Szewczyk, T. M. Willson, *N*-(2-Benzoylphenyl)-L-tyrosine PPAR γ Agonists. 1. Discovery of a Novel Series of Potent Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 5020-5036.
- ⁴³ M. Oguchi, K. Wada, H. Honma, A. Tanaka, T. Kaneko, S. Sakakibara, J. Ohsumi, N. Serzawa, T. Fujiwara, H. Horikoshi, T. Fujita, Molecular Design, Synthesis, and Hypoglycemic Activity of a Series of Thiazolidine-2,4-diones, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 3052-3066.
- ⁴⁴ B. Hulin, D. A. Clark, S. W. Goldstein, R. E. McDermott, P. J. Dambek, W. H. Kappeler, C. H. Lamphere, D. M. Lewis, J. P. Rizzi, Novel Thiazolidine-2,4-diones as Potent Euglycemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1992**, *35*, 1853-1864.
- ⁴⁵ K. Anji Reddy, B. B. Lohray, V. Bhushan, A. Sekar Reddy, N. V. S. Rao Mamidi, P. Papi Reddy, V. Saibaba, N. Jaipal Reddy, A. Suryaprakash, P. Misra, R. K. Vikramadithyan, R. Rajagopalanr, Novel Antidiabetic and Hypolipidemic Agents. 5. Hydroxyl versus Benzyloxy Containing Chroman Derivatives, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 3265-3278.
- ⁴⁶ D. A. Clark, S. W. Goldstein, R. A. Volkmann, J. F. Egger, G. F. Holland, B. Hulin, R. W. Stevenson, D. K. Kreutter, E. M. Gibbs, M. N. Krupp, P. Merrigan, P. L. Kelbaugh, E. G. Andrews, D. L. Tickner, R. T. Suleske, C. H. Lamphere, F. J. Rajeckas, W. H. Kappeler, R. E. McDermott, N. J. Hutson, M. Ross Johnson, Substituted Dihydrobenzopyran and Dihydrobenzofuran Thiazolidine-2,4-diones as Hypoglycemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, 319-325.
- ⁴⁷ R. L. Dow, B. M. Bechle, T. T. Chou, D. A. Clark, B. Hulin, R. W. Stevenson, Benzyloxazolidin-2,4-diones as Potent Hypoglycemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, 1538-1544.
- ⁴⁸ S. W. Goldstein, R. E. McDermott, E. M. Gibbs, R. W. Stevenson, Hydroxyurea Derivates as Hypoglycemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1993**, *36*, 2238-2240.
- ⁴⁹ J. L. Collins, S. G. Blanchard, G. E. Boswell, P. S. Charifson, J. E. Cobb, B. R. Henke, E. A. Hull-Ryde, W. M. Kazmierski, D. H. Lake, L. M. Leesnitzer, J. Lehmann, J. M. Lenhard, L. A. Orband-Miller, Y. Gray-Nunez, D. J. Parks, K. D. Plunkett, W.-Q. Tong,

N-(2-Benzoylphenyl)-L-tyrosine PPAR α Agonists. 2. Structure-Activity Relationship and Optimization of the Phenyl Alkyl Ether Moiety, *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 5037-5054.

⁵⁰ H. Yki-Järvinen, Thiazolidindiones, *N. Engl. J. Med.*, **2004**, *351*, 1106-1118.

⁵¹ J. P. Berger, A. E. Petro, K. L. MacNaul, L. J. Kelly, B. B. Zhang, K. Richards, A. Elbrecht, B. A. Johnson, G. Zhou, T. W. Doebber, C. Biswas, M. Parikh, N. Sharma, M. R. Tanen, G. M. Thompson, J. Ventre, A. D. Adams, R. Mosley, R. S. Surwit, D. E. Moller, Distinct Properties and Advantages of a Novel Peroxisome Proliferator-Activated Protein γ Selective Modulator, *Mol. Endocrinol.*, **2003**, *17*, 662-676.

⁵² J. J. Acton III, R. M. Black, A. B. Jones, D. E. Moller, L. Colwell, T. W. Doebber, K. L. MacNaul, J. Berger, H. B. Wood, Benzoyl 2-methyl indoles as selective PPAR γ modulators, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 357-362.

⁵³ H. Minoura, S. Takeshita, M. Ita, J. Hirosumi, M. Mabuchi, I. Kawamura, S. Nakajima, O. Nakayama, H. Kayakiri, T. Oku, A. Ohkubo-Suzuki, M. Fukagawa, H. Kojo, K. Hanioka, N. Yamasaki, T. Imoto, Y. Kobayashi, S. Mutoh, Pharmacological characteristics of a novel nonthiazolidindione insulin sensitizer, FK614, *Eur. J. Pharmacol.*, **2004**, *494*, 273-281.

⁵⁴ K. Murakami, K. Tobe, T. Ide, T. Mochizuki, M. Ohashi, Y. Akanuma, Y. Yazaki, T. Kadowaki, A Novel Insulin Sensitizer Acts as a Coligand for Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α (PPAR- α) and PPAR- γ , *Diabetes*, **1998**, *47*, 1841-1847.

⁵⁵ T. W. Doebber, L. J. Kelly, G. Zhou, R. Meurer, C. Biswas, Y. Li, M. S. Wu, M. C. Ippolito, Y.-S. Chao, P.-R. Wang, S. D. Wright, D. E. Moller, J. P. Berger, MK-0767, a novel dual PPAR α/γ agonist, displays robust antihyperglycemic and hypolipidemic activities, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2004**, *318*, 323-328.

⁵⁶ Q. Guo, S. P. Sahoo, P.-R. Wang, D. P. Milot, M. C. Ippolito, M. S. Wu, J. Baffic, C. Biswas, M. Hernandez, M.-H. Lam, N. Sharma, W. Han, L. J. Kelly, K. L. Macnaul, G. Zhou, R. Desai, J. V. Heck, T. W. Doebber, J. P. Berger, D. E. Moller, C. P. Sparrow, Y.-S. Chao, S. D. Wright, A Novel Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α/γ Dual Agonist Demonstrates Favorable Effects on Lipid Homeostasis, *Endocrinology*, **2004**, *145*, 1640-1648.

⁵⁷ P. Sauerberg, I. Pettersson, L. Jeppesen, P. S. Bury, J. P. Mogensen, K. Wassermann, C. L. Brand, J. Sturis, H. F. Wöldike, J. Fleckner, A.-S. T. Andersen, S. B. Mortensen, L. A. Svensson, H. B. Rasmussen, S. V. Lehmann, Z. Polivka, K. Sindelar, V. Panajotova, L. Ynddal, E. M. Wulff, Novel Tricyclic- α -alkyloxyphenylpropionic Acids: Dual PPAR α/γ

Agonists with Hypolipidemic and Antidiabetic Activity, *J. Med. Chem.*, **2002**, *45*, 789-804.

⁵⁸ R. Chakrabarti, R. K. Vikramadithyan, P. Misra, J. Hiriyani, S. Raichur, R. K. Damarla, C. Gershon, J. Suresh, R. Rajagopalan, Ragaglitazar: a novel PPAR α & PPAR γ agonist with potent lipid-lowering and insulin-sensitizing efficacy in animal models, *Br. J. Pharmacol.*, **2003**, *140*, 527-537.

⁵⁹ M. F. Saad, S. Greco, K. Osei, A. J. Lewin, C. Edwards, M. Nunez, R. R. Reinhardt, Ragaglitazar Improves Glycemic Control and Lipid Profile in Type 2 Diabetic Subjects, *Diabetes Care*, **2004**, *27*, 1324-1329.

⁶⁰ B. Ljung, K. Bamberg, B. Dahllöf, A. Kjellstedt, N. D. Oakes, J. Östling, L. Svensson, G. Camejo, AZ 242, a novel PPAR α/γ agonist with beneficial effects on insulin resistance and carbohydrate and lipid metabolism in ob/ob mice and obese Zucker rats, *J. Lipid. Res.*, **2002**, *43*, 1855-1863.

⁶¹ B. D. Hegarty, S. M. Furler, N. D. Oakes, E. W. Kraegen, G. J. Cooney, Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) Activation Induces Tissue-Specific Effects on Fatty Acid Uptake and Metabolism *in Vivo* – A Study Using the Novel PPAR α/γ Agonist Tesaglitazar, *Endocrinology*, **2004**, *145*, 3158-3164.

⁶² D. A. Brooks, G. J. Etgen, C. J. Rito, A. J. Shuker, S. J. Dominianni, A. M. Warshawsky, R. Ardecky, J. R. Paterniti, J. Tyhonas, D. S. Karanewsky, R. F. Kauffman, C. L. Broderick, B. A. Oldham, C. Montrose-Rafizadeh, L. L. Winneroski, M. M. Faul, J. R. McCarthy, *J. Med. Chem.*, **2002**, *44*, 2061-2064.

⁶³ H. E. Xu, M. H. Lambert, V. G. Montana, K. D. Plunket, L. B. Moore, J. L. Collins, J. A. Oplinger, S. A. Kliewer, R. T. Gampe Jr., D. D. McKee, J. T. Moore, T. M. Willson, Structural determinants of ligand binding selectivity between the peroxisome proliferator-activated receptors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2001**, *98*, 13919-13924.

⁶⁴ P. V. Devasthale, S. Chen, Y. Jeon, F. Qu, C. Shao, W. Wang, H. Zhang, D. Farrelly, R. Golla, G. Grover, T. Harrity, Z. Ma, L. Moore, J. Ren, R. Seethala, L. Cheng, P. Sleph, W. Sun, A. Tieman, J. R. Wetterau, A. Doweyko, G. Chandrasena, S. Y. Chang, W. Griffith Humphreys, V. G. Sasseville, S. A. Biller, D. E. Ryono, F. Selan, N. Hariharan, P. T. W. Cheng, Design and Synthesis of *N*-[(4-Methoxyphenoxy)carbonyl]-*N*-[[4-[2-(5-methyl-2-phenyl-4-oxazolyl)ethoxy]phenyl]methyl]glycine [Muraglitazar/BMS-298585], a Novel Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α/γ Dual Agonist with Efficacious Glucose and Lipid-Lowering Activities, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 2248-2250.

⁶⁵ L. Peterson, *Trends-in-Medicine*, **2003**, 1-16.

- ⁶⁶ I. Melnikowa, Raising HDL cholesterol, *Nature Reviews*, **2005**, *4*, 185-186.
- ⁶⁷ J. P. Berger, T. E. Akiyama, P. T. Meinke, PPARs: therapeutic targets for metabolic disease, *Trends Pharmacol. Sci.*, **2005**, *26*, 244-251.
- ⁶⁸ Y. Xu, C. J. Rito, G. J. Etgen, R. J. Ardecky, J. S. Bean, W. R. Bensch, J. R. Bosley, C. L. Broderick, D. A. Brooks, S. J. Dominianni, P. J. Hahn, S. Liu, D. E. Mais, C. Montrose-Rafizadeh, K. M. Ogilvie, B. A. Oldham, M. Peters, D. K. Rungta, A. J. Shuker, G. A. Stephenson, A. E. Tripp, S. B. Wilson, L. L. Winneroski, R. Zink, R. F. Kauffman, J. R. McCarthy, Design and Synthesis of α -Aryloxy- α -methylhydrocinnamic Acids: A Novel Class of Dual Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α/γ Agonists, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 2422-2425.
- ⁶⁹ H. Koyama, D. J. Miller, J. K. Boueres, R. C. Desai, A. B. Jones, J. P. Berger, K. L. MacNaul, L. J. Kelly, T. W. Doebber, M. S. Wu, G. Zhou, P.-R. Wang, M. C. Ippolito, Y.-S. Chao, A. K. Agrawal, R. Franklin, J. V. Heck, S. D. Wright, D. E. Moller, S. P. Sahoo, (2*R*)-2-Ethylchromane-2-carboxylic Acids: Discovery of Novel PPAR α/γ Dual Agonists as Antihyperglycemic and Hypolipidemic Agents, *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3255-3263.
- ⁷⁰ M. A. Kastenzholz, M. Pastor, G. Cruciani, E. E. J. Haaksma, T. Fox, GRID/CPCA: A New Computational Tool To Design Selective Ligands, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 3033-3044.
- ⁷¹ R. T. Nolte, G. B. Wisely, S. Westin, J. E. Cobb, M. H. Lambert, R. Kurokawa, M. G. Rosenfeld, T. M. Willson, C. K. Glass, M. V. Milburn, Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferators-activated receptor- γ , *Nature*, **1998**, *395*, 137-143.
- ⁷² H. E. Xu, M. H. Lambert, V. G. Montana, D. J. Parks, S. G. Blanchard, P. J. Brown, D. D. Sternbach, J. M. Lehmann, G. B. Wisely, T. M. Willson, S. A. Kliewer, M. V. Milburn, Molecular Recognition of Fatty Acids by Peroxisome Proliferator-Activated Receptors, *Mol. Cell*, **1999**, *3*, 397-403.
- ⁷³ H. E. Xu, T. B. Stanley, V. G. Montana, M. H. Lambert, B. G. Shearer, J. E. Cobb, D. D. McKee, C. M. Galardi, K. D. Plunket, R. T. Nolte, D. J. Parks, J. T. Moore, S. A. Kliewer, T. M. Willson, J. B. Stimmel, Structural basis for antagonist-mediated recruitment of nuclear co-repressors by PPAR α , *Nature*, **2002**, *415*, 813-817.
- ⁷⁴ J. Uppenberg, C. Svensson, M. Jaki, G. Bertilsson, L. Jendeberg, A. Berkenstam, Crystal Structure of the Ligand Binding Domain of the Human Nuclear Receptor PPAR γ , *J. Biol. Chem.*, **1998**, *273*, 31108-31112.
- ⁷⁵ R. T. Gampe, Jr., V. G. Montana, M. H. Lambert, A. B. Miller, R. K. Bledsoe, M. V. Milburn, S. A. Kliewer, T. M. Willson, H. E. Xu, Asymmetry in the PPAR γ /RXR α Crystal

Structure Reveals the Molecular Basis of Heterodimerization among Nuclear Receptors, *Mol. Cell*, **2000**, *5*, 545-555.

⁷⁶ P. Cronet, J. F. W. Petersen, R. Folmer, N. Blomberg, K. Sjöblom, U. Karlsson, E.-L. Lindstedt, K. Bamberg, Structure of the PPAR α and $-\gamma$ Ligand Binding Domain in Complex with AZ 242; Ligand Selectivity and Agonist Activation in the PPAR Family, *Structure*, **2001**, *9*, 699-706.

⁷⁷ B. Pirard, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors target family landscape: A chemometrical approach to ligand selectivity based on protein binding site analysis, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **2003**, *17*, 785-796.

⁷⁸ K. G. Liu, J. S. Smith, A. H. Ayscue, B. R. Henke, M. H. Lambert, L. M. Leesnitzer, K. D. Plunket, T. M. Willson, D. D. Sternbach, Identification of a Series of Oxadiazole-Substituted α -Isopropoxy Phenylpropanoic Acids with Activity on PPAR α , PPAR γ , and PPAR δ , *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, *11*, 2385-2388.

⁷⁹ P. Delerive, J.-C. Fruchart, B. Staels, Peroxisome proliferators-activated receptors in inflammation control, *J. of Endocrinol.*, **2001**, *169*, 453-459.

⁸⁰ G. Chinetti, J.-C. Fruchart, B. Staels, Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation, *Inflamm. Res.*, **2000**, *49*, 497-505.

⁸¹ P. Delerive, P. Gervois, J.-C. Fruchart, B. Staels, Induction of I κ B α Expression as a Mechanism Contributing to the Anti-inflammatory Activities of Peroxisome Proliferator-activated Receptor- α Activators, *J. Biol. Chem.*, **2000**, *275*, 36703-36707.

⁸² N. Marx, G. K. Sukhova, T. Collins, P. Libby, J. Plutzky, PPAR α activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells, *Circulation*, **1999**, *99*, 3125-3131.

⁸³ M. Kockx, P. Gervois, P. Poulin, B. Derudas, J. M. Peters, F. J. Gonzalez, H. M. G. Princen, T. Kooistra, B. Staels, Fibrates suppress fibrinogen gene expression in rodents via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor- α , *Blood*, **1999**, *93*, 2991-2998.

⁸⁴ P. R. Devchand, H. Keller, J. M. Peters, M. Vasquez, F. J. Gonzalez, W. Wahli, The PPAR α -leukotriene B₄ pathway to inflammation control, *Nature*, 1996, *384*, 39-43.

⁸⁵ P. Libby, G. K. Hansson, J. S. Pober, Atherogenesis and inflammation, *Mol. Basis Cardiovasc. Dis.*, **1999**, 349-366.

⁸⁶ M. Alegret, R. Ferrando, M. Vazquez, T. Adzet, M. C. Merlos, J. C. Laguna, Relationship between plasma lipids and palmitoyl-CoA hydrolase and synthetase activities

with peroxisomal proliferation in rats treated with fibrates, *Br. J. Pharmacol.*, **1994**, *112*, 551-556.

⁸⁷ M. Alegret, E. Cerqueda, R. Ferrando, M. Vazquez, R. M. Sanchez, T. Adzet, M. Merlos, J. C. Laguna, Selective modification of rat hepatic microsomal fatty acid chain elongation and desaturation by fibrates: relationship with peroxisome proliferation, *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, *114*, 1351-1358.

⁸⁸ M. Vazquez, S. Munoz, M. Alegret, T. Adzet, M. Merlos, J. C. Laguna, Differential effects of fibrates on the acyl composition of microsomal phospholipids in rats, *Br. J. Pharmacol.*, **1995**, *116*, 2067-2075.

⁸⁹ M. Vazquez, M. Merlos, T. Adzet, J. C. Laguna, Decreased susceptibility to copper-induced oxidation of rat-lipoproteins after fibrate treatment: influence of fatty acid composition, *Br. J. Pharmacol.*, **1996**, *117*, 1155-1162.

⁹⁰ M. F. Linton, S. Fazio, Re-emergence of fibrates in the management of dyslipidemia and cardiovascular risk, *Curr. Atheroscler. Rep.*, **2000**, *2*, 29-35.

⁹¹ S. Mudaliar, R. R. Henry, New Oral Therapies for Type 2 Diabetes Mellitus: The Glitazones or Insulin Sensitizers, *Annu. Rev. Med.*, **2001**, *52*, 239-257.

⁹² H. N. Ginsberg, Insulin resistance and cardiovascular disease, *J. Clin. Invest.*, **2000**, *106*, 453-458.

⁹³ J. W. Kemnitz, D. F. Elson, E. B. Roecker, S. T. Baum, R. N. Bergman, M. D. Meglasson, Pioglitazone increases insulin sensitivity, reduces blood glucose, insulin, and lipid levels, and lowers blood pressure, in obese, insulin-resistant rhesus monkeys, *Diabetes*, **1994**, *43*, 204-211.

⁹⁴ Y.-H. Lai, A. Hui-Tin Yap, Synthesis and Rigid Conformers of 14,15-Dimethyl-2,11-dithia[3.3]-(1,3)(1,4)cyclophane and 12,13-Dimethyl[2,2](1,3)(1,4)cyclophane, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1993**, 1373-1377.

⁹⁵ UK Patent Application, GB 2179941 A, (**1987**).

⁹⁶ Royaume de Belgique, Brevet d'invention, 555210, (**1960**).

⁹⁷ E. J. Masters, M. T. Bogert, Researches on Thiazoles. XXV. Some New Thiazolidinopyrimidines of Barbituric Acid Type, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, *64*, 2709-2712.

⁹⁸ R. A. Glennon, R. G. Bass, E. Schubert, Alkylation Studies on 6-Ethyl-2,3-dihydrothiazolo-[3,2-*a*]pyrimidine-5,7-diones, *J. Heterocyclic Chem.*, **1979**, *16*, 903-907.

⁹⁹ M. E. Rogers, R. A. Glennon, J. D. Smith, M. R. Boots, N. Nanavati, J. E. Maconaughey, D. Aub, S. Thomas, Mesoionic Purinone Analogues as Inhibitors of Cyclic-

AMP Phosphodiesterase: A Comparison of Several Ring Systems, *J. Med. Chem.*, **1981**, *24*, 1284-1287.

¹⁰⁰ K. Danel, E. B. Pedersen, C. Nielsen, Synthesis and Anti-HIV-1 Activity of Novel 2,3-Dihydro-7*H*-thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-7-ones, *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 191-198.

¹⁰¹ E. Campaigne, J. C. Huffman, R. Yodice, *J. Heterocyclic Chem.*, **1981**, *18*, 575-580.

¹⁰² J. N. Low, G. Ferguson, M. Melguizo, A. Sanchez, *Acta Cryst.*, **1999**, *C55*, IUC9900048.

¹⁰³ U. Rychlewska, 2,3-Dihydro-3-hydroxy-5*H*-thiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-one. A 3,*S*²-“Hydroxyethano” Derivate of 2-Thiouracil, *Acta Cryst.* **1980**, *B36*, 971-974.

¹⁰⁴ CCDC 264399 (**81**) contains the supplementary crystallographic data. These data can be obtained free of charge via www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html (or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: (+44) 1223-336-033; e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

¹⁰⁵ H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun, *¹³C-NMR-Spektroskopie*, **1984**, 262-264, Thieme Verlag.

¹⁰⁶ O. Werz, D. Steinhilber, Pharmacological intervention with 5-lipoxygenase: new insights and novel compounds, *Expert Opin. Ther. Patents*, **2005**, *15*, 505-519.

6.3 Substanzverzeichnis

Strukturmodifikation	Nr.	Synthese	Med. Chem.
		Seite (Kapitel)	
Arylamino-Bereich (W)	18	40-42 (3.1.1.1); 121-122 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	19	40-42 (3.1.1.1); 121-123 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	20	40-42 (3.1.1.1); 121-122, 124 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	21	40-42 (3.1.1.1); 121-122, 125 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	22	40-42 (3.1.1.1); 121-122, 126 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	23	40-42 (3.1.1.1); 121-122, 127 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	24	40-42 (3.1.1.1); 121-122, 128 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
	25	40-42 (3.1.1.1); 121-122, 129 (5.2.5)	59-61 (3.2.2)
4-Pyrimidin-Position	30	42-43 (3.1.1.2); 121-122, 130 (5.2.5)	62 (3.2.3)
α -Position zur Carbonsäure	53	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 131 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	54	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 132 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	55	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 133 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	56	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 134 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	57	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 135 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	58	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 136 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	59	43-45 (3.1.1.3); 121-122, 137 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
	62	45-47 (3.1.1.3); 121-122, 138 (5.2.5)	63-68 (3.2.4)
Harnstoff-Derivat	65	47-49 (3.1.2); 142-143 (5.2.5)	69-70 (3.2.5)
tert. Amin	69	47-49 (3.1.2); 121-122, 139 (5.2.5)	69-70 (3.2.5)
Arylamino \Rightarrow aliphatische Reste	71	49-51 (3.1.3); 121-122, 140 (5.2.5)	70 (3.2.6)
	73	49-51 (3.1.3); 121-122, 141 (5.2.5)	70 (3.2.6)
Precursor	74	51-52 (3.1.4); 144 (5.2.6)	71-72 (3.2.7)
	75	51-52 (3.1.4); 144-145 (5.2.6)	71-72 (3.2.7)
	76	51-52 (3.1.4); 146 (5.2.6)	71-72 (3.2.7)
	77	51-52 (3.1.4); 146 (5.2.6)	71-72 (3.2.7)

Tabelle 25: Substanzverzeichnis der Zielstrukturen **18-25**, **30**, **53-59**, **62**, **65**, **69**, **71** und **73-77** mit Seiten- und Kapitelangaben bezüglich Synthese und Medizinischer Chemie. Med. Chem.: Medizinische Chemie.

Publikationen

Patente

A. Bock, S. Kippenberger, M. Kock, L. Popescu, O. Rau, M. Schubert-Zsilavec, D. Steinhilber, Y. Syha, Derivate des Pyrimidins und Triazins und deren Verwendung, *DPMA*, Patentanmeldung H 06746, Aktenzeichen 10 2005 025 161.7, Anmeldetag **01.06.2005**, Offenlegungstag 01.12.2006.

Publikationen in *peer-reviewed journals*

Y. Syha, O. Rau, M. Kock, A. Bock, M. Schubert-Zsilavec, α -Substituted Pirinixic Acid Derivatives are Potent Dual PPAR α/γ -Agonists, *J. Med. Chem.*, Manuskript in Vorbereitung.

Y. Syha, C. Valmalle, J. W. Bats, M. Kock, M. Tawab, M. Schubert-Zsilavec, Synthesis of 2,3-Dihydrothiazolo[3,2-*a*]pyrimidin-5-ones by a *Michael*-type Tandem Reaction, *Eur. J. Org. Chem.*, submitted.

Andere Publikationen

Y. Syha, L. Popescu, M. Wurglics, M. Schubert-Zsilavec, Ein historischer Rückblick – Geschichte der Ulcustherapie, *Pharmazie in unserer Zeit*, **2005**, 3, 188-192.

H. Stark, Y. Syha, L. Popescu, M. Schubert-Zsilavec, Innovationen in der Pipeline – Neue Wirkstoffe zur GERD-Behandlung, *Pharmazie in unserer Zeit*, **2005**, 3, 224-227.

Posterbeiträge

Y. Syha, L. Popescu, O. Rau, M. Schubert-Zsilavec, PPAR: Ligands, Three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications, Posterpräsentation, **2004**, *ZAFES Kick-off Symposium „Lipid Signaling“*.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Syha
Vorname: Yvonne
Geburtsdatum: 07. Februar 1977
Geburtsort: Frankfurt am Main
Nationalität: Deutsch

Hochschulausbildung

Seit Juni 2002 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazeutische Chemie der J. W. Goethe-Universität, Dissertation über das Thema „Synthese und *in vitro*-pharmakologische Charakterisierung von dualen PPAR α / γ -Agonisten“ unter Leitung von Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavecz in Kooperation mit der Firma Phenion GmbH & Co. KG

Okt. 2001-März 2002 Diplomarbeit unter der Anleitung von PD Dr. T. Müller am Institut für Anorganische Chemie der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main über das Thema „Untersuchungen zur Struktur und Dynamik von Vinylkationen“

Okt. 1996-März. 2002 Studium der Chemie an der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main

Beruflicher Werdegang

Seit Sept. 2005 Projektmanagement von Forschungsk Kooperationen im ZAFES (Zentrum für Arzneimittelforschung, -Entwicklung und -Sicherheit)

- Okt. 2004-Sept. 2005 Vollbeschäftigte wissenschaftliche Angestellte am Institut für Pharmazeutische Chemie der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main als semesterleitende Assistentin des 3. Studiensemesters Pharmazie (Pharmazeutische Chemie I)
- Jan. 2003-Juli 2005 Lehrkraft im Fach Organische, Anorganische und Allgemeine Chemie im Rahmen der Frankfurter Pharmazieschule e.V. für Studierende des Studienfachs Pharmazie zur Vorbereitung auf das 1. Staatsexamen
- Juni 2002-Sept. 2004 Wissenschaftliche Angestellte am Institut für Pharmazeutische Chemie der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main, Betreuung von Studierenden des 3. Semesters Pharmazie (Praktikum Pharmazeutische Chemie I)
- Okt. 2001-März 2002 Studentische Hilfskraft am Institut für Anorganische Chemie der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main

Schulbildung

- 1983-1987 Jürgen-Schumann-Grundschule Schmitten/Ts.
- 1987-1996 Private staatlich anerkannte St. Angela-Schule Königstein/Ts.
- 1996 Allgemeine Hochschulreife

Publikationen

T. Müller, D. Margraf, Y. Syha, σ -Delocalization versus π -Resonance in α -Aryl substituted Vinyl Cations, *J. Amer. Chem. Soc.*, in press.

Y. Syha, H. R. Nasiri, D. Margraf, T. Müller, *Chem. Eur. J.*, Manuskript in Vorbereitung.

Meine akademischen Lehrer

Prof. Dr. N. Auner, Prof. Dr. B. Brutschy, Prof. Dr. E. Egert, Prof. Dr. J. W. Engels, Prof. Dr. M. Göbel, Prof. Dr. C. Griesinger, Prof. Dr. G. Kauert, Prof. Dr. G. Kohlmaier, Prof. Dr. B. O. Kolbesen, PD Dr. T. Müller, Prof. Dr. T. Prisner, Prof. Dr. D. Rehm, Prof. Dr. M. Wagner

Eidesstattliche Versicherung

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig angefertigt habe und ich mich anderer Hilfsmittel als der in ihr angegebenen nicht bedient habe, insbesondere, dass aus Schriften Entlehnungen, soweit sie in der Dissertation nicht ausdrücklich als solche mit Angabe der betreffenden Schrift bezeichnet sind, nicht stattgefunden haben.

Frankfurt am Main, den _____

Yvonne Syha