

Synthese und Charakterisierung von Fettsäure-Mimetika als Liganden der nukleären Rezeptoren PPARs und FXR

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

Vorgelegt beim

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie

der Goethe-Universität Frankfurt am Main

Christina Lamers
aus Münster

Frankfurt, 2014
(D30)

vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der
Johann Wolfgang Goethe Universität als Dissertation angenommen

Dekan: Prof. Dr. Thomas Prisner

Gutachter: Prof. Dr. Manfred Schubert-Zsilavecz

Jun.-Prof. Dr. Ewgenij Proschak

Datum der Disputation:

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	9
1.1 Nukleäre Rezeptoren.....	9
1.1.1 Aufbau der nukleären Rezeptoren	10
1.1.2 Liganden der nukleären Rezeptoren	10
1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR).....	12
1.2.1 Struktur und Funktion.....	12
1.2.2 Molekularer Mechanismus der Aktivierung.....	13
1.2.3 Physiologische Funktion der PPARs	14
1.2.4 PPAR-Liganden.....	17
1.3 Farnesoid X Rezeptor.....	26
1.3.1 Struktur und Funktion.....	26
1.3.2 Physiologische Funktion	28
1.3.3 FXR-Liganden.....	32
1.3.4 klinische Rolle von FXR-Liganden	39
1.4 In vitro-Charakterisierung von Liganden nukleärer Rezeptoren	41
2. Zielsetzung	44
3. Ergebnisse und Diskussionen	46
3.1 Pirinixinsäure-Derivate als duale PPAR α / γ -Agonisten.....	46
3.1.1 Chemische Synthesen	47
3.1.2 Struktur-Wirkungs-Beziehung der Pirinixinsäure-Derivate.....	48
3.1.3 Bindungsmodus von MD78 (62).....	50
3.1.4 Mutationsstudie an der PPAR α -LBD	52
3.1.5 Kritische Zusammenfassung und Ausblick.....	54
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden.....	56
3.2.1 Chemische Synthesen	59
3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen der FXR-Liganden.....	65
3.2.3 Zusammenfassung, Bewertung und Ausblick.....	81

4. Zusammenfassung	84
5. Experimenteller Teil	87
5.1 In vitro-pharmakologische und pharmakokinetische Charakterisierung.....	87
5.1.1 PPAR Transaktivierungs-Assay	87
5.1.2 FXR Transaktivierungs-Assay.....	88
5.1.3 TGR5-Assay	90
5.1.4 FXR Targetgen Quantifizierung mittels quantitativer <i>real time polymerase chain reaction</i> (qRT-PCR).....	90
5.1.5 Zelltoxizitäts-Assays	91
5.1.6 Metabolische Stabilität	92
5.2 Allgemeine Angaben zur Synthese	93
5.3 Synthese und Charakterisierung der Pirinixinsäure-Derivate	93
5.3.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Thioether-Vorstufe 73-75.....	93
5.3.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Chlorierung der Hydroxygruppen, 76-78.....	94
5.3.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur aromatischen nukleophilen Substitution	95
5.3.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Verseifung der Estergruppen.....	96
5.3.5 Charakterisierung Substanzen 62, 73-87	97
5.4 Synthese und Charakterisierung der FXR-Liganden.....	104
5.4.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes Ia: Darstellung des Ethers mittels <i>Williamson</i> -ähnlicher nukleophilen Substitution, 115-117	104
5.4.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes Ib: Darstellung des Ethers mittels Mitsunobu-Reaktion, 118-120	104
5.4.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes IIa: Veretherung der Vorstufen 115-117	105
5.4.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes IIb: Veretherung der Vorstufen 118-120 mittels <i>Williamson</i> -ähnliche nukleophile Substitution	106
5.4.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Suzuki-Kupplung	106
5.4.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Verseifung der Estergruppen.....	108
5.4.7 Charakterisierung der FXR-Liganden und ihrer Vorstufen.....	111
6. Anhang	139
6.1 Abkürzungsverzeichnis.....	139

6.2 Tabellen zur Selektivität der FXR-Liganden über PPAR	141
7. Bibliographie	143
8. Lebenslauf	155
9. Danksagung.....	162
10. Eidesstattliche Versicherung.....	163

1. Einleitung

Die Anpassung der Stoffwechselwege unseres Körpers auf Nahrungsangebot und Energiebedarf ist ein komplexer Vorgang. Das Überangebot an Nahrungsmitteln in den westlichen Ländern lässt jedoch Grenzen der möglichen Anpassung erkennen: Die steigende Inzidenz von Adipositas, Typ 2 Diabetes, Dyslipidämien, (zusammengefasst als metabolisches Syndrom bezeichnet) und das damit assoziierte Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen sowie Fett-induzierte Lebererkrankungen (*non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD) lassen das Interesse an der Erforschung der beteiligten Regulationsmechanismen wachsen. Die intensive Forschung zeigte, dass Fettsäuren und andere amphiphile Moleküle, wie Gallensäuren, nicht nur essentielle Nahrungsbestandteile sind, sondern auch eine Funktion als Signalmoleküle besitzen. Gallensäuren aktivieren den G-Protein gekoppelten Rezeptor TGR5 und die nukleären Rezeptoren *Pregnan X Receptor* (PXR)^{1,2}, *constitutive androstane receptor* (CAR)³, *Vitamin D receptor* (VDR)⁴, *Liver X receptor* (LXR)³ und *Farnesoid X receptor* (FXR). Fettsäuren binden an eine Vielzahl von G-Protein gekoppelten Rezeptoren (GPCR), wie GPR40, und nukleären Rezeptoren (NR) wie die PPARs. Durch ihren Einfluss auf die Genexpression erfüllen nukleäre Rezeptoren viele regulatorische Funktionen. Die wichtigen metabolischen Regulatoren *Peroxisome proliferator-activated receptors* (PPARs) und FXR stehen daher im Fokus der aktuellen Forschung und bilden auch das Zentrum dieser Arbeit.

1.1 Nukleäre Rezeptoren

Die Familie der nukleären Rezeptoren (NR) besteht aus 48 Mitgliedern⁵, die sich nach Sequenzübereinstimmungen und phylogenetischer Kategorisierung in sechs Gruppen einteilen lassen.⁶ Nukleäre Rezeptoren (NR) sind Ligand-aktivierte Transkriptionsfaktoren, die sich im prinzipiellen Aufbau gleichen. Die NR übernehmen grundlegende regulatorische Aufgaben in Wachstum, Entwicklung und metabolischen Prozessen. Diese Arbeit fokussiert sich auf die Rezeptoren FXR und die PPARs.

1.1.1 Aufbau der nukleären Rezeptoren

Nukleären Rezeptoren bestehen aus sechs Domänen (Abbildung 1). Der wenig konservierte Amino-Terminus beinhaltet die Ligand-unabhängige Transaktivierungsdomäne (AF-1). Posttranslationale Modifikationen können hier ebenso erfolgen wie die Interaktion mit Coaktivatoren und Transkriptionsfaktoren.⁷

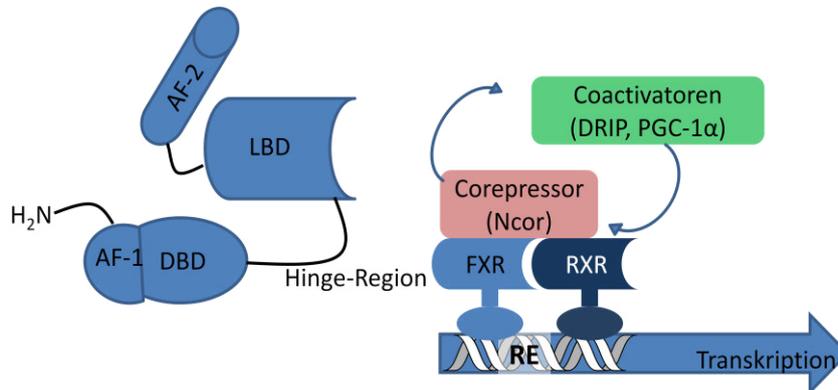


Abb. 1: A Genereller Aufbau der nukleären Rezeptoren aus AF-1, DNA-Bindedomäne, Hinge-Region, Ligand-Bindedomäne und AF-2 und genereller Mechanismus der Transkriptions-Aktivierung durch nukleäre Rezeptoren am Beispiel des FXR/RXR Heterodimer

Für die Bindung an die DNA ist die hoch konservierte zentrale DNA-Bindungsdomäne (DBD) essentiell. Die Sequenzübereinstimmung dieser Region der 48 bekannten nukleären Rezeptoren liegt bei über 40%.⁸ Sie besteht aus 66 Aminosäuren, die zwei Cystein-reiche Zink-Domänen und zwei α -Helices bilden. Diese Region bindet spezifische DNA-Sequenzen, die so genannten *Response Elements* (RE), und erkennt somit die Rezeptor-spezifischen Targetgene.⁵ Auf die DBD folgt die hoch flexible *hinge* Region und die Ligand-Bindungsdomäne (LBD) am Carboxy-terminalen Ende.^{9,7} Die LBD beinhaltet neben einer Dimerisierungsfläche die Ligand-Bindetasche und die Ligand-abhängige Aktivierungsfunktion-2 (AF-2) in Helix 12. Alle nukleären Rezeptoren zeigen den gleichen generellen Aufbau der LBD. Zwölf Helices bilden eine ähnliche dreidimensionale Struktur aus drei Schichten („Sandwich“), wobei durch Sequenzunterschiede die selektive Bindung der Liganden gewährleistet wird.⁷

1.1.2 Liganden der nukleären Rezeptoren

Für etwa die Hälfte der 48 nukleären Rezeptoren sind kleine, meist lipophile Moleküle als endogene Liganden entdeckt worden. Nukleäre Rezeptoren deren endogener Ligand unbekannt ist, werden als *orphan* bezeichnet.¹⁰

1. Einleitung

1.1 Nukleäre Rezeptoren

Liganden eines nukleären Rezeptors führen nach Bindung in der Ligand-Bindungsdomäne zu einer Konformationsänderung des Rezeptors.¹¹

Je nach resultierender Zellantwort werden sie charakterisiert als Agonisten, partielle Agonisten, inverse Agonisten und Antagonisten. Als Agonisten werden Liganden bezeichnet, die den Rezeptor in einer aktiven Konformation stabilisieren und somit den vollen Umfang der Transkription ermöglichen. Hierbei spielt die Stabilisierung der Helix 12 eine entscheidende Rolle.¹² Gemäß dem *mouse trap* Modell führt die Bindung eines agonistischen Liganden zur Stabilisierung der Helix 12 und damit zum Verschluss der Ligand-Bindetasche.^{13,14} Es scheint jedoch für die Helix 12 nicht nur die Position "an" oder "aus" zu geben, sondern ihre Topologie einem Gleichgewicht zwischen verschiedenen Positionen zu unterliegen, welches in Folge einer Agonisten-Bindung zu der stabilisierten Konformation hin verschoben wird.¹⁵ Ein partieller Agonist bewirkt eine teilweise Stabilisierung der Helix 12 im aktiven Zustand. Es kommt zu einer Aktivierung der Transkription, jedoch mit einer reduzierten Wirksamkeit im Vergleich zum Vollagonisten. Das Gleichgewicht zwischen aktiviertem und inaktivem Rezeptor hängt außerdem von der intrazellulären Konzentration der Coaktivatoren und Corepressoren ab.⁷ Ein inverser Agonist ist definiert als Ligand, der die basale Aktivität nukleärer Rezeptoren in Abwesenheit eines Agonisten hemmen kann. Er induziert beispielsweise die Corepressor-Interaktion und bewirkt somit ein *silencing* des Rezeptors.⁷ Die Bindung eines Antagonisten verursacht eine Konformationsänderung der LBD, bei der die Helix 12 im Bereich der Coaktivatoren-Bindestelle stabilisiert wird, sodass die Bindung der Coaktivatoren verhindert wird. Weiterhin scheint die Bindung eines Antagonisten über die Stabilisierung der Helix 7 zu erfolgen und somit die Interaktion des Rezeptors mit Corepressoren zu stabilisieren.^{7,16}

Weiterhin können Liganden als selektive Nukleäre Rezeptor Modulatoren (sNuRMs) beschrieben werden, wenn sie gewebe- oder genspezifisch agonistisch oder antagonistisch aktiv sind.⁷ Die Gewebespezifität solcher Liganden resultiert aus der gewebespezifischen Expression von Coregulatoren.⁵ Prototyp dieser Liganden sind die selektiven Estrogenrezeptor Modulatoren (SERMs) Tamoxifen und Raloxifen.¹⁷

1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

1.2.1 Struktur und Funktion

Als erster PPAR wurde der Subtyp PPAR α 1990 charakterisiert und als molekulares Target der lipidsenkenden Fibrate identifiziert.¹⁸ Heute sind drei PPARs bekannt und werden als PPAR α (NR1C1), PPAR β/δ (NR1C2) und PPAR γ (NR1C3) bezeichnet.⁶ Sie zeigen den typischen generellen Aufbau der nukleären Rezeptoren, wobei zwischen den Subtypen hohe Sequenzhomologien von bis zu 86% bestehen (Abb. 2).¹⁹

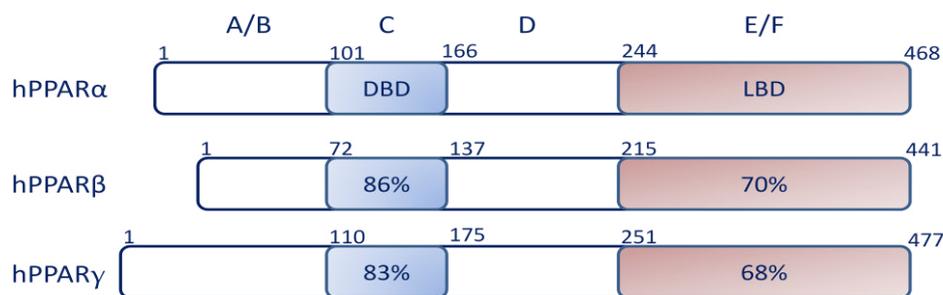


Abb. 2: Schematischer Aufbau nukleärer Rezeptoren am Beispiel der PPARs. Die sechs Domänen werden mit A-F bezeichnet; A/B = N-Terminus mit AF-1, C = DBD, D = hinge-Region, E/F = LBD mit AF-2. Die Zahlen geben die Position der Aminosäuren an.

Die LBD der PPARs wird neben den typischen Helices (H1-H12) aus einer zusätzlichen H2'Helix und vier β -Sheets (S1-S4) gebildet.²⁰ Mit einer Größe von 1300-1600 \AA^3 steht den Liganden der PPARs eine deutlich größere Ligand-Bindetasche zur Verfügung, als in anderen NR.²¹ Nolte *et al.* publizierten 1998 die erste Co-Kristallstruktur eines PPAR Rezeptors (holo-PPAR γ mit Rosiglitazon)^{22,23}, inzwischen gibt es für alle drei Subtypen eine Vielzahl an Co-Kristallstrukturen. Sie zeigten, dass die Ligand-Bindetasche aller drei Subtypen Y-förmig ist, sich PPAR α und PPAR γ in ihrer räumlichen Struktur ähneln und PPAR δ im Vergleich einen schmalen Eingang zur Bindetasche aufweist.²⁴

Insgesamt 34 Aminosäuren beschreiben die Innenflächen der Bindetasche, von denen ca. 80% zwischen den Subtypen konserviert vorliegen. Die Helix 12 hat in ungebundener Form ein dynamisches Verhalten, erst nach Ligand-Bindung wird ihre Konformation über ein Wasserstoffbrückennetzwerk stabilisiert.^{12,15} Das Ausmaß der Stabilisierung bestimmt die Charakteristik des Liganden (siehe Kap 1.1.1). Ein agonistisch wirkender Ligand der PPARs bildet durch eine azide Kopfgruppe

Wasserstoffbrücken zum Rezeptor aus, um die Helix 12 zu stabilisieren. Die daran beteiligten Aminosäuren sind für den jeweiligen PPAR-Subtyp charakteristisch.²⁰

1.2.2 Molekularer Mechanismus der Aktivierung

PPARs interagieren mit dem Retinoid-X-Rezeptor und bilden so ein Heterodimer.²⁵⁻²⁷ Die Interaktion zwischen den beiden Rezeptoren erfolgt unabhängig von der Bindung der DNA oder eines Liganden.²⁸ Die Regulation der Genexpression durch die PPARs kann Ligand-abhängig, aber auch Ligand-unabhängig erfolgen.^{15,29} Das PPAR/RXR-Heterodimer bindet an die *peroxisome proliferator response elements* (PPREs) wie das *direct repeat -1* (DR-1), das aus zwei Wiederholungen von sechs Nukleotiden (AGGTCA), getrennt durch ein beliebiges Nukleotid, besteht.³⁰ Die Einleitung der Transkription erfolgt, wenn aufgrund einer Ligand-induzierten Konformationsänderung Coaktivatoren an das Heterodimer binden. Bei PPAR α und PPAR γ besteht eine basale Transkriptionsaktivität ohne Ligandenbindung, die besonders im Falle des PPAR γ /RXR-Heterodimeres deutlich ausgeprägt ist. Ursächlich hierfür ist neben einer Phosphorylierung der Ligand-unabhängigen Aktivierungsfunktion (AF-1)³¹⁻³³ die Stabilisierung der Helix 12 über Wasserstoffbrückennetze, die zu Coaktivatoren ausgebildet werden.²⁹

Im inaktiven Zustand liegen PPARs an Corepressoren gebunden vor, wie den *nuclear co-repressor* (NCoR)³⁴ oder *silencing mediator for retinoid and thyroid receptor* (SMRT)³⁵. Durch die Ligand-induzierte Konformationsänderung werden die Corepressoren freigesetzt und Coaktivatoren wie *steroid receptor coactivator* (SRC-1) und *PPAR binding protein* (PBP) rekrutiert. Die Bindestellen der Coaktivatoren oder Corepressoren befinden sich an der AF-2 Domäne der nukleären Rezeptoren. Das Bindungsmotiv der Coaktivatoren, die Aminosäuresequenz LXXLL, wird von allen nukleären Rezeptoren erkannt. Über die Aminosäuren (Glu 471, Cys 301) werden die Coaktivatoren durch elektrostatische Wechselwirkungen, eine sogenannte *charge clamp*, an den Rezeptor gebunden.²² Coaktivatoren führen zu einer Histon-Acetylierung und einer Chromatindekondensation, wodurch die Targetgene dem Transkriptionsapparat zugänglich werden, wohingegen Corepressoren zu einer kondensierten Chromatinstruktur führen.

1.2.3 Physiologische Funktion der PPARs

Wie oben beschrieben, sind drei verschiedene Subtypen der PPAR-Rezeptoren bekannt, die sich hinsichtlich ihres Expressionsmusters und in ihren physiologischen Funktionen unterscheiden.

1.2.3.1 PPAR α

PPAR α wird vor allem in Geweben exprimiert, die an der β -Oxidation von Fettsäuren beteiligt sind, wie braunem Fettgewebe, Leber, Herz, Niere, Dünndarm und Skelettmuskulatur.^{36–38} PPAR α -Aktivierung verursacht in Nagern eine Proliferation der Peroxisomen in der Leber, die zu einer Hepatomegalie führt. Diese Eigenschaft, die den PPARs ihren Namen gab, ist jedoch Spezies-spezifisch und tritt nicht im Menschen auf.¹⁸ PPAR α ist der Hauptregulator der adaptiven metabolischen Antwort auf Nahrungskarenz. Durch die Aktivierung von PPAR α wird die β -Oxidation in Fettgewebe befördert, um Fettsäuren als Energielieferant zur Verfügung zu stellen. Gerade die Aktivierung von PPAR α in der Leber steuert durch Induktion der Glukoneogenese und Ketonkörper-Synthese wichtige metabolische Adaptationsmechanismen,³⁹ um das Gehirn auch bei Nahrungskarenz weiterhin mit Glukose versorgen zu können. Klinisch betrachtet bewirkt die Aktivierung von PPAR α bei normalem Nahrungsstatus eine Senkung der Serum-Triglyzeridlevel neben einer Verbesserung des Serum-Cholesterolfprofils. PPAR α ist wesentlich am Metabolismus wichtiger Lipoproteine beteiligt, wie den *high density lipoprotein* (HDL) und dem *very low density lipoprotein* (VLDL). Diese Lipoproteine vermitteln den Transport von Triglyzeriden in das periphere Gewebe zur (Energie-)Versorgung mit freien Fettsäuren (VLDL), bzw. den Rücktransport zur Leber (HDL). Durch diesen Rücktransport wird ein Übermaß an freien Fettsäuren eliminiert, und somit deren Akkumulation im Gewebe verhindert. Die Aufnahme der freien Fettsäuren in das periphere Gewebe erfolgt durch die Lipoprotein-Lipase (LPL), welche gleichzeitig in der Leber zur Transformation von VLDL zu HDL dient. Aktivierung von PPAR α induziert die Expression der LPL,⁴⁰ wodurch der Triglyzerid-Spiegel gesenkt und die HDL-Level erhöht werden. Indirekt wird die Aktivität der LPL durch Hemmung der Expression des Apolipoprotein C3 (ApoC3), einem Inhibitor der LPL, erhöht.^{41,42} Die Expression der Apolipoproteine AI (ApoAI) und AII (ApoAII), den Hauptbestandteilen der HDL, wird durch PPAR α -Aktivierung induziert.⁴³ Somit verändert PPAR α -Aktivierung das Cholesterolfprofil dahingehend, dass VLDL vermindert und HDL

1. Einleitung
 1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

erhöht wird.^{44,45} Der Einfluss auf die Lipid-Level wird über die Induktion von Genen reguliert, die an der mitochondrialen und peroxisomalen Verstoffwechslung der Fettsäuren beteiligt sind, wie AcylCoA Oxidase (AOX)^{46,47}, und *liver fatty acid binding protein* (LFABP).⁴⁸

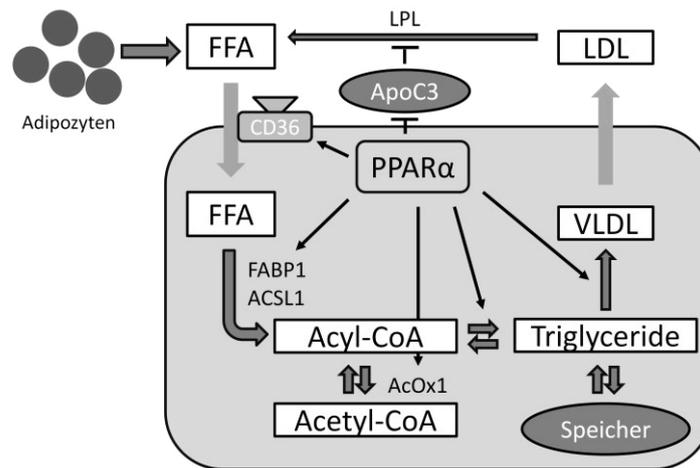


Abb. 3: Regulation des Lipidstoffwechsels in der Leber, vereinfachte Darstellung

Neben dem direkten Einfluss auf den Lipidstoffwechsel vermittelt PPAR α anti-arteriosklerotische Effekte über eine reduzierte Expression von *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1) und NF- κ B in den Gefäßwänden, sowie verminderte Expression von pro-inflammatorischen Genen (IL-6, Fibrinogen, CREBP und COX-2).⁴⁹ Der Einfluss auf den Lipid-Stoffwechsel, kombiniert mit den anti-inflammatorischen Effekten begründet den therapeutischen Einsatz von PPAR α -Agonisten (Fibraten) in der Indikation Dyslipidämie.⁵⁰

1.2.3.2 PPAR γ

Das PPAR γ -Gen codiert durch Verwendung unterschiedlicher Promotoren drei Isoformen des PPAR γ -Rezeptors (PPAR γ 1,2 und PPAR γ 3).^{51,38,52,53} Diese unterscheiden sich strukturell im N-Terminus, der im Falle von PPAR γ 2 um 30 Aminosäuren verlängert ist. Physiologisch unterscheiden sie sich vor allem in ihrem Expressionsmuster, wobei PPAR γ 3 die dominante Isoform in den Makrophagen darstellt.³⁸ PPAR γ 2 tritt in hohem Maße in Fettgewebe auf,^{46,54,55} während PPAR γ 1 in Darm, Gehirn, Gefäßzellen und Immunzellen zu finden ist.^{56,57} Ob die Funktion der Isoformen unterschiedlich ist, ist nicht abschließend geklärt. Studien deuten darauf hin, dass die vergrößerte AF-1 der PPAR γ 2-Isoform die Aktivität des Rezeptors durch eine höhere Affinität zu den Coaktivatoren steigert.⁵⁸

1. Einleitung

1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

Als Hauptregulator der Adipogenese wird PPAR γ während der Differenzierung von Fibroblasten/Prädipozyten zu Adipozyten induziert und führt zu einer Expression zahlreicher Targetgene.⁵⁵ Die essentielle Rolle des Rezeptors in der Adipozyten-Differenzierung konnte in einem knockout Maus-Modell gezeigt werden.⁵³ Die Aktivierung von PPAR γ beeinflusst außerdem über verschiedene Mechanismen die Lipid- und Glukosehomöostase. Die PPAR γ -kontrollierte Expression von *fatty acid translocase* (FAT) und *fatty acid transport protein* (FATP) bewirkt eine erhöhte Aufnahme von freien Fettsäuren in verstoffwechselnde oder speichernde Gewebe.^{58,59} Dies stellt einen essentiellen Mechanismus für die antidiabetische Wirkung der therapeutisch verwendeten PPAR γ -agonistischen Glitazone dar, da freie Fettsäuren zu einer Induktion der Insulinresistenz,^{60,61} unter anderem durch einen verminderten Glukose-Metabolismus in den Skelettmuskel-Zellen,⁶² führen. Ein direkter Einfluss von PPAR γ auf die Glukosehomöostase ergibt sich auch aus dessen Regulation wichtiger Schlüsselproteine, wie dem *glucose transporter type 4* (Glut4). Weiterhin reguliert PPAR γ die Expression einer Reihe endokriner Faktoren, die vom Fettgewebe sezerniert werden und ebenfalls einen Einfluss auf die Insulinsensitivität nehmen, wie Adiponectin, Resistin, Leptin, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α)⁶³⁻⁶⁵ sowie den *fibroblast growth factors 1 und 21* (FGF1 und FGF21). Diese wirken autokrin im Fettgewebe und erhöhen die Insulinsensitivität neben einer Amplifizierung der PPAR γ -Aktivität.^{66,67}

1.2.3.3 PPAR δ

Im Falle von PPAR α und PPAR γ lieferten die selektive Aktivierung der Rezeptoren durch Agonisten entscheidende Hinweise auf ihre physiologische Funktion. Für PPAR δ wurde der erste selektive, synthetische Agonist GW501516 jedoch erst 2001 beschrieben,⁶⁸ sodass die Forschung an diesem Subtyp erst in den letzten Jahren stark intensiviert wurde. PPAR δ wird ubiquitär u.a. in Leber, Dünndarm, Niere und abdominalem Fettgewebe exprimiert,³⁸ wobei er vor allem in der Skelettmuskulatur eine wichtige Funktion in der Lipid- und Glukosehomöostase besitzt. Hinweise dazu lieferten Studien mit PPAR δ Knockout-Mäusen, die Glukoseintoleranz, verminderten metabolischen Umsatz in der Skelettmuskulatur und verminderte Triglyzeridproduktion in der Leber aufwiesen.⁶⁹ Außerdem wird PPAR δ ein essentieller Einfluss auf die Embryonalentwicklung und epidermale Differenzierung

zugeschrieben.⁷⁰ Der Rezeptor könnte daher als therapeutisches Target bei metabolischen Dysregulationen⁷¹ oder zur Wundheilung dienen.^{72,73}

Die metabolische Regulation durch PPAR δ beruht auf Expression von Genen der β -Oxidation in der Skelettmuskulatur,⁵⁸ die eine vermehrte Nutzung von Fettsäuren als Energieträger bewirkt.⁷¹ Die Insulin-sensitivierende Wirkung konnte in einem Diabetes-Mäusemodell (db/db Mäuse),⁶⁹ als auch bei adipösen Patienten im Rahmen einer klinischen Studie⁷⁴ nach Verabreichung von GW501516 gezeigt werden. PPAR δ -Aktivierung induziert außerdem einen erhöhten reversen Cholesterin-Transport durch Expression von *ATP-binding cassette transporter 1* (ABCA-1).⁶⁸

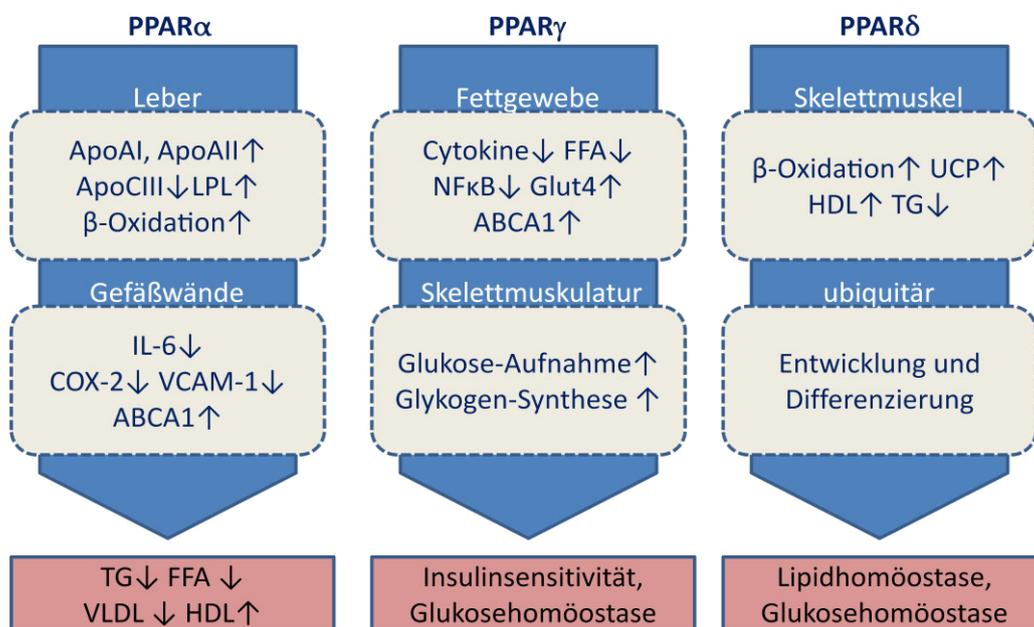


Abb. 4: Zusammenfassung der Effekte der PPAR-Aktivierung

1.2.4 PPAR-Liganden

Die LDB der drei PPAR-Subtypen zeigen eine Sequenzhomologie von 60-70% (Abb. 2 im Kapitel 1.2.1). Ihre Ligand-Bindetaschen können als Y-förmig beschrieben werden, wobei Arm I in Richtung AF-2 der Helix 12 erstreckt und ein Netzwerk von Wasserstoffbrücken zur Bindung von Carboxylat-Funktionen enthält. Die Arme II und III sind weitgehend hydrophob und bestimmen die Selektivität zwischen den PPAR-Subtypen. Ihre Aminosäuren sind weniger konserviert und bilden somit Subtyp-spezifische Bindetaschen.^{20,19}

1.2.4.1 Endogene Liganden der PPARs

Alle drei PPAR-Subtypen werden in zellulären Testsystemen von Fettsäuren aktiviert, wobei PPAR α das breiteste Spektrum von sowohl gesättigten Fettsäuren (z.B. Palmitinsäure) als auch einfach bis mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Ölsäure, Linolsäure, Arachidonsäure) toleriert.⁷⁵ Auch PPAR δ bindet ungesättigte und gesättigten Fettsäuren sowie Vertreter der Arachidonsäure-Kaskade (PGA₁, PGD₂, PGJ₂). PPAR γ wird insbesondere durch mehrfach-ungesättigte Fettsäuren wie Linolensäure, Arachidonsäure, Eicosapentaensäure und 15d-PGJ₂ aktiviert.^{21,76–80}

	PPARα	PPARγ	PPARδ
saure Kopfgruppe	α -Substituenten toleriert Val453, Tyr314	große wie Thiazolidindion toleriert His323	nur kleine, α -unsubstituierte toleriert ^{85,86} Met453, Met314
große lipophile Substituenten H3	nicht toleriert Cys275	toleriert Gly284	nicht toleriert Arg284
große lipophile Substituenten Arm II	nicht toleriert Ile339, Met355	nicht toleriert Met376, Met392	toleriert Val312, Met355
π-π-Wechselwirkungen	nicht toleriert Ile354	toleriert Phe363	nicht toleriert Ile363
Spacer Fettsäure-Mimetika⁸⁷	Alkyl bevorzugt	Aromaten bevorzugt	Aromaten bevorzugt

Tab. 1: Selektivitätsprofil der PPAR-Subtypen gegenüber Liganden

Die Aktivierung der PPAR-Subtypen durch Fettsäuren erfolgt in einem Konzentrationsbereich, in dem die Fettsäuren auch im Serum zu finden sind.⁸¹ Ob diese Konzentrationen unter normalen physiologischen Bedingung auch intrazellulär erreicht werden, ist jedoch unklar, sodass sich nicht eindeutig postulieren lässt, ob Fettsäuren unter physiologischen Bedingungen als Liganden der PPAR-Subtypen fungieren. Vielmehr ist inzwischen das Konzept akzeptiert, dass PPARs als Sensoren bei unphysiologisch hohen Konzentrationen von Fettsäuren aktiviert werden.

1.2.4.2 Synthetische Liganden der PPARs

Gemeinsamer struktureller Aufbau der synthetischen PPAR-Liganden ist die Fettsäure-ähnliche Grundstruktur („Fettsäure-Mimetika“) mit einer sauren Kopfgruppe und einem lipophilen Schwanz. Trotz dieser gemeinsamen Struktur der Liganden, lässt sich Selektivität zu den PPAR-Subtypen erreichen (in Tab. 1

zusammengefasst). Im Folgenden werden die wichtigsten Substanzklassen, deren Struktur-Wirkungs-Beziehung und deren Selektivität an den PPAR-Subtypen vorgestellt. Aufgrund der Vielzahl an Verbindungen wird auch auf entsprechende Reviews verwiesen.^{82–84,72}

PPAR α -Agonisten

Synthetische PPAR α -Liganden werden seit den 1960er Jahren therapeutisch zur Therapie der Dyslipidämie verwendet, bevor ihr molekulares Target identifiziert war.^{44,88} Strukturell lassen sich diese Fibrate (Clofibrat **1**, Fenofibrat **2**, Bezafibrat **3**) mit ihrer Propionsäure-Partialstruktur und lipophilen aromatischen Substituenten den Fettsäure-Mimetika zuordnen. Nach Identifikation des molekularen Targets zeigte die Charakterisierung der Fibrate in zellulären Assay-Systemen, dass sie mit EC₅₀-Werten im mittleren mikromolaren Bereich als schwach aktive PPAR α -Agonisten eingestuft werden können. Im Falle von Bezafibrat (**3**) handelt es sich außerdem nicht um einen PPAR α -selektiven Agonist, sondern um einen so genannten pan-Agonist, der alle drei PPAR-Subtypen aktiviert.

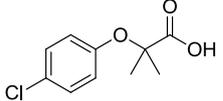
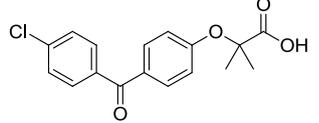
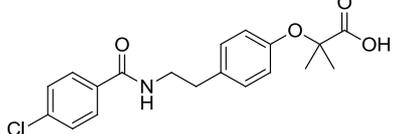
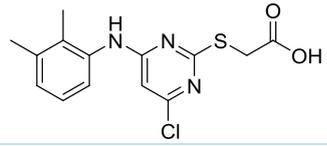
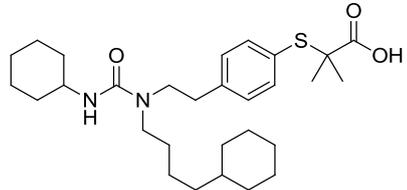
Die ersten Kristallstrukturen von PPAR α ^{89,90,24} ermöglichten eine rationale Entwicklung potenter PPAR α -Liganden. Ein Blick in die Patentliteratur⁷² zeigt jedoch ein abnehmendes Interesse an der Entwicklung von PPAR α -Liganden. Vielmehr wird an neuen Anwendungsgebieten wie anti-inflammatorischen Indikationen für etablierte PPAR α -Liganden geforscht.

Eine in der Literatur häufig als Referenzsubstanz eingesetzte PPAR α -agonistische Verbindung ist die Pirinixinsäure (**4**, WY-14,643).⁹¹ Sie besitzt eine charakteristische Fettsäure-mimetische Struktur mit einer Thioether-substituierten Essigsäure als saure Kopfgruppe und einem zentralen, mit einem 2,3-Dimethylanilin-Strukturelement substituierten Pyrimidin-Ring. In vitro zeigte **4** je nach Testsystem moderate Selektivität für PPAR α (siehe Tab. 2). Die lipidsenkende Eigenschaft der Pirinixinsäure (**4**) ist seit 1974 bekannt⁹¹ und seit vielen Jahren werden im Arbeitskreis Schubert-Zsilavec Studien zu ihrer Struktur-Wirkungs-Beziehung durchgeführt.

Seit 2013 ist der Bindemodus von **4** durch Co-Kristallisation mit der PPAR α -LBD bekannt.⁹² Für die Pirinixinsäure (**4**) wurde dabei zusätzlich eine neue Bindestelle an

1. Einleitung
1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

PPAR α identifiziert. Die bereits bekannte Bindestelle wird über polare Interaktionen der Carboxylgruppe zu den Aminosäuren Ser280 (H3), Tyr315 (H5), His440 (H11) und Tyr464 (H12) definiert, lipophile Interaktionen erfolgen daneben mit den Aminosäuren Cys276, Thr279, Ile317 und Met330. Bisher unbeschrieben ist die Bindung eines zweiten Ligand-Moleküls in einer flexiblen Region der LBD, dem so genannten Ω -Loop zwischen Helix 2' und Helix 3. **4** interagiert hier durch lipophile Kontakte mit den Aminosäuren Ile241, Leu247 (H2'), Val255, Ile263, Arg271 (H3), Ile272 (H3), His274 (H3) und Cys275 (H3) und bildet polare Wechselwirkungen über die Carboxylfunktion (Lys266, His274) und einem zentralen Stickstoff (Glu251) aus. Mutagenese-Studien und MD-Simulationen legten nahe, dass auch die zweite Bindungsstelle zur agonistischen Aktivität von **4** beiträgt.⁹²

# (Substanz)	Struktur	In vitro Aktivität PPAR-Subtypen		
		EC ₅₀ [μ M]		
		PPAR α	PPAR δ	PPAR γ
1 (Clobibrat)		55	i.a.	>500
2 (Fenofibrat)		30	i.a.	300
3 (Bezafibrat)		50	20	60
4 (Pirinixinsäure)		36	i.a.	54
5 (GW7647)		0,006	6,2	1,1

Tab. 2: ausgewählte PPAR α -Liganden und ihre in vitro-Aktivität an den PPAR Subtypen. i.a. = inaktiv.

PPAR γ -Agonisten

Ähnlich wie bei den PPAR α -Agonisten wurde der molekulare Wirkmechanismus der PPAR γ -agonistischen Thiazolidindione (TZD) erst nach der Entdeckung ihrer antidiabetischen Wirkung identifiziert. Die Substanzklasse basiert auf dem namensgebenden Thiazolidindion-Ring als azider Kopfgruppe. Diese ist neben dem

1. Einleitung

1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

para-Substitutionsmuster des zentralen Aromaten auch für die Selektivität an PPAR γ verantwortlich (Tab. 1). Nach der Entdeckung des molekularen Wirkprinzips der TZDs und der Aufklärung der strukturellen Interaktion mit dem Rezeptor²² wurden zahlreiche weitere PPAR γ -Agonisten entwickelt. Aufgrund gravierender unerwünschter Wirkungen kamen jedoch Zweifel an der Sicherheit der Substanzklasse auf. Entwicklungsprogramme wurden in späten Phasen der klinischen Entwicklung gestoppt, da etwa Troglitazon (**6**) Hepatotoxizität zeigte⁹³ und Rosiglitazon (**7**) wurde wegen eines erhöhten Risikos für kardiovaskuläre Zwischenfälle in Europa vom Markt genommen.⁹⁴ Das einzige in Deutschland noch verfügbare TZD Pioglitazon (**8**) befindet sich unter strengen Auflagen auf dem deutschen Markt. In den USA wurde Rosiglitazon (**7**) durch die FDA jedoch weitgehend rehabilitiert.⁹⁵

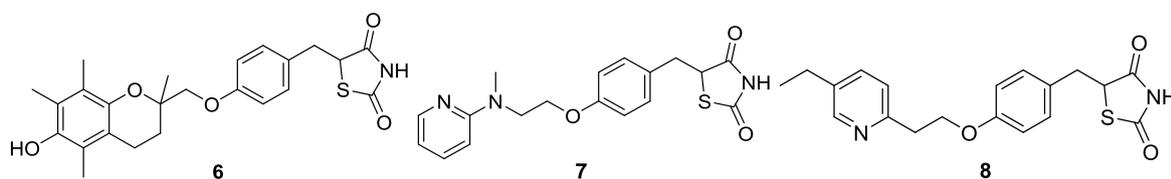


Abb. 5: Struktur der PPAR γ -Agonisten (Thiazolidindione). Troglitazon (**6**), Rosiglitazon (**7**), Pioglitazon (**8**)

Die unerwünschten Wirkungen, die zu Marktrücknahmen und Entwicklungstopps geführt haben, sind vielfältig. Sie könnten teilweise substanz- und nicht klassenspezifisch sein, wobei jedoch Nebenwirkungen auftraten, die direkt an die Aktivierung von PPAR γ gebunden sind. Dazu zählen Flüssigkeitsretention, Ödembildung, verringerte Knochendichte und Gewichtszunahme.⁹⁶ Die erwünschten und unerwünschten Wirkungen könnten möglicherweise dennoch trennbar sein, denn eine gewebespezifische Aktivierung von PPAR γ in den Gefäßwänden und im Sammelrohr der Niere scheint für die Flüssigkeitsretention verantwortlich zu sein.^{97–99} Weiterhin wurde in den letzten Jahren evident, dass die Aktivierung von PPAR γ im zentralen Nervensystem (ZNS) für die Gewichtszunahme mitverantwortlich ist.^{100,101} Somit stellt die Entwicklung von nicht ZNS-gängigen PPAR γ -Agonisten eine Option zur Vermeidung mancher unerwünschter Wirkungen dar.

Ein weiterer Ansatz zur Entwicklung nebenwirkungsarmer PPAR γ -Liganden geht davon aus, dass eine Vollaktivierung des Rezeptors die unerwünschten Wirkungen befördert, sodass sich das Konzept der selektiven PPAR γ -Modulatoren (sPPAR γ Ms)

1. Einleitung

1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

etabliert hat. Adaptiert wurde dieses Konzept von den Modulatoren des nukleären Estrogen-Rezeptors.¹⁷ Einer der ersten Vertreter der sPPAR γ Ms stellt die Substanz GW0072 (**9**) dar, die mit einer Maximalaktivierung von ca. 20% als Partialagonist charakterisiert werden kann.¹⁰² Obwohl eine große Anzahl an sPPAR γ Ms entwickelt wurde,^{103,84} hat bisher kein Entwicklungskandidat den Markt erreicht. Die Entwicklung von Balaglitazon (**10**) wurde in Phase III der klinischen Prüfungen aufgrund fehlender Überlegenheit der Wirkung gestoppt, wobei die Ergebnisse bis dahin vielversprechend waren. So wurde im Vergleich zu Pioglitazon eine geringer Flüssigkeitsretention und Abnahme der Knochendichte berichtet.^{104,105} Ein ebenso gutes Nebenwirkungsprofil in Kombination mit einer guten Wirksamkeit zeigte INT-131 (**11**),^{106–108} das nach 24 wöchiger Applikation von 1 mg eine mit 45 mg Pioglitazon (**8**) vergleichbare Reduktion des HbA_{1c}-Wertes (um 0,8 \pm 0,12%) erreichte mit einer geringeren Gewichtszunahme und Ödemen.¹⁰⁹ Doch die Studien wurden bisher nicht weitergeführt, sodass abzuwarten bleibt, ob ein sPPAR γ M den Markt erreicht.

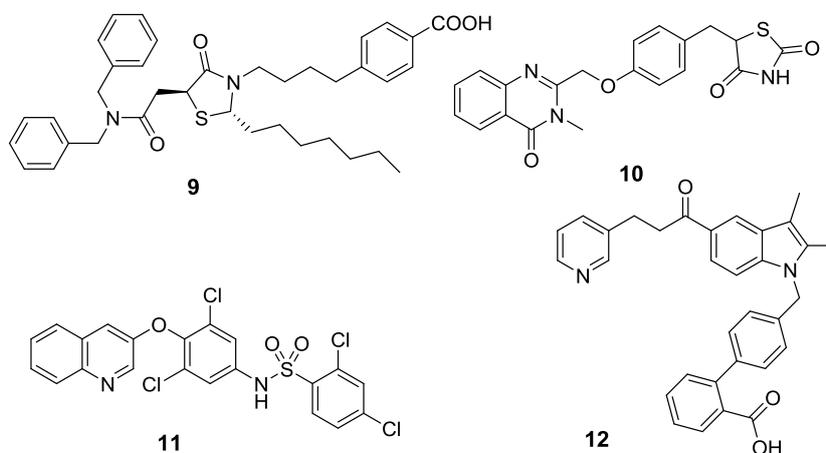


Abb. 6: Struktur der selektiven PPAR γ -Modulatoren GW0072 (**9**), Balaglitazon (**10**) und INT-131 (**11**) und des nicht aktivierenden PPAR γ -Liganden UHC-1 (**12**)

Weitreichendere Folgen für unser Verständnis der Regulation von nukleären Rezeptoren hatte die Erkenntnis von Choi et al., die beobachteten, dass der antidiabetische Effekt der PPAR γ -Agonisten zumindest teilweise durch die Inhibition der Cdk5-vermittelten Phosphorylierung von Ser273 innerhalb der Ligand-Bindetasche vermittelt wird.¹¹⁰ Somit stellen Substanzen, wie z.B. UHC-1 (**12**), die an den Rezeptor binden, dessen Genexpression aber nicht aktivieren, die neusten Hoffnungsträger unter den PPAR γ -Liganden dar.¹¹¹ Am Rande erwähnt sei hier die

strukturelle Ähnlichkeit zu den Sartanen, deren pleiotropen Effekte auf die Insulinsensitivität auf eine Aktivierung von PPAR γ zurückgeführt werden konnten.¹¹²

PPAR δ -Agonisten

Nachdem die umfassende physiologische Bedeutung von PPAR δ immer deutlicher wird, steigt das Interesse an PPAR δ -Agonisten enorm. Der erste potente, selektive PPAR δ -Agonist (GW501516, **13**) enthält die typischen strukturellen Voraussetzungen für eine selektive Aktivierung von PPAR δ : um in die deutlich schmalere Bindetasche von PPAR δ binden zu können, sind an der sauren Kopfgruppe schmale, α -unsubstituierte Verbindungen notwendig.²⁴ Auch in der klinischen Entwicklung war es der am weitesten entwickelte Kandidat, aufgrund des Verdachtes der Kanzerogenität wurde die klinische Entwicklung eingestellt.¹¹³ Basierend auf diesem Prototyp (**13**) wurden zahlreiche weitere PPAR δ -Liganden entwickelt.⁷² Eine häufig in in vitro-Testsystemen eingesetzte Modellschubstanz stellt das L165,401 (**14**) dar.

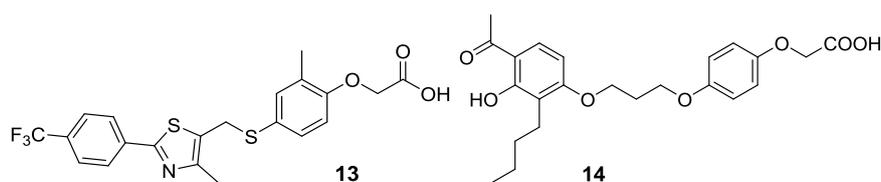


Abb. 7: selektive PPAR δ -Agonisten GW501516 (**13**) und L165,401 (**14**)

Duale und pan-PPAR-Agonisten

Da die PPARs über eine Vielzahl von Targetgenen regulatorischen Einfluss auf Lipid- und Glukose-Stoffwechsel ausüben, ist das Interesse an der Entwicklung von PPAR-Liganden weiterhin groß. Die Assoziation von Lipid- und Glukosestörungen im sog. metabolischen Syndrom und der steigenden Prävalenz damit vergesellschafteter Erkrankungen, wie kardiovaskulären Erkrankungen, nicht-alkoholischer Fettleber und Typ 2 Diabetes, verursachen einen großen Bedarf für neue Therapeutika. Diese Wirkstoffe sollten dabei mehr als ein Target adressieren, um eine polypharmazeutische Therapie zu vermeiden. Ein Ansatz ist die Verknüpfung der antidiabetischen Wirkung von PPAR γ -Agonisten mit den lipidsenkenden Effekten von PPAR α -Agonisten in den sog. Glitazaren. Die meisten der Substanzen (Muraglitazar (**15**), Aleglitazar (**16**), Tesaglitazar (**17**)) scheiterten jedoch in der klinischen Entwicklung aufgrund unerwünschter Wirkungen.^{114–118}

1. Einleitung
1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

Bisher wurde als einziger Vertreter Saroglitazar (**18**) in Indien zugelassen. In einer Phase III Studie bei Typ 2 Diabetikern, deren Dyslipidämie nicht mit Atorvastatin kontrolliert werden konnte, senkte Saroglitazar (**18**) den Serum-Triglyzerid-Level um ca. 45% und bewirkte eine Verminderung des LDL-Cholesterins und Plasmaglukose-Spiegels. Innerhalb der 12 Wochen dauernden Studie kam es zu keiner signifikanten Gewichtszunahme oder andern PPAR γ -typischen Nebenwirkungen.^{119,120} Strukturell gesehen besitzen die meisten Vertreter der Glitazare eine saure Kopfgruppe, die sich mit der α -substituierten Phenylpropionsäure von den Fibraten ableitet.¹²¹ Durch Einführung eines sterisch anspruchsvollen α -Substituenten wurde die Aktivität an PPAR γ erhöht und gleichzeitig eine Selektivität gegenüber PPAR δ erreicht.

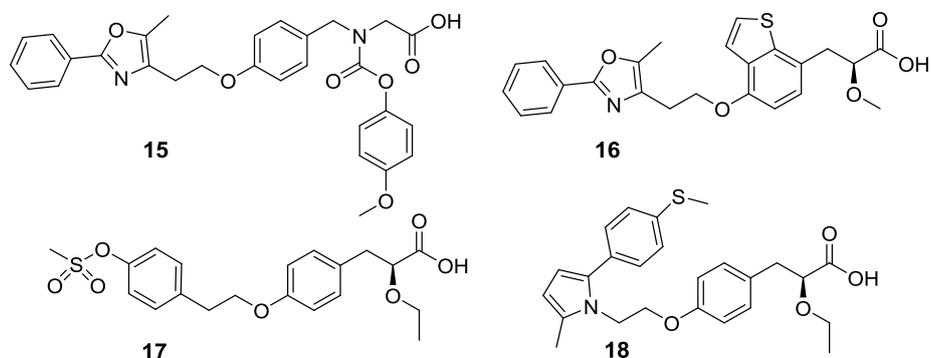


Abb. 8: Struktur dualer PPAR α/γ Liganden: Muraglitazar (**15**), Aleglitazar (**16**), Tesaglitazar (**17**), Saroglitazar (**18**)

Ein weiterer dualer Ansatz ist die Aktivierung von PPAR α und PPAR δ . Diese beiden nukleären Rezeptoren sind für die β -Oxidation in Leber und Skelettmuskulatur verantwortlich und senken somit die Spiegel an freien Fettsäuren (FFA). Durch geringere Konzentrationen an zirkulierenden FFA wird die Insulinsensitivität der Gewebe erhöht und eine Insulinresistenz vermindert. Der am weitesten entwickelte Vertreter GFT505 (**19**) bewirkte bei adipösen Patienten eine verminderte Insulinresistenz in Kombination mit einem guten Nebenwirkungsprofil und zeigte gute Wirksamkeit bei der *non-alcoholic steato hepatitis* (NASH).^{122,123} Für die Anwendung in dieser Indikation laufen aktuell Phase 2b-Studien, während die FDA im Februar 2014 die Möglichkeit zur Zulassung im Fast Track Verfahren zusagte.

Die Aktivierung aller drei PPAR-Subtypen durch eine Substanz ist seit Bezafibrat (**3**) bekannt. Ein Vertreter dieser so genannten pan-Agonisten ist das Indeglitazar (**20**), welches zusätzlich den partial-agonistischen Ansatz bei der Aktivierung von PPAR γ und PPAR δ verfolgt.¹²⁴ Doch auch hier wurde die klinische Entwicklung

1. Einleitung
1.2 Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

abgebrochen, aufgrund mangelnder Wirksamkeit in der Therapie des Typ 2 Diabetes.¹²⁵

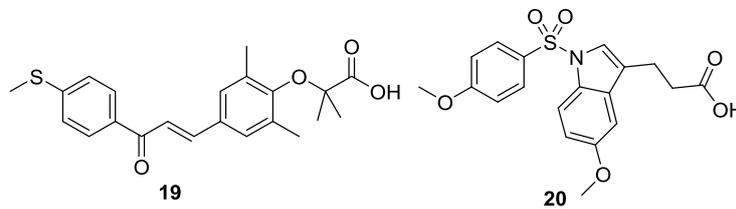


Abb. 9: Struktur dualer PPAR α / δ -Liganden GFT505 (19) und Indeglitazar (20)

1.2.4.3 Klinische Relevanz der PPAR-Agonisten

Die Fibrate (Clofibrat (1), Fenofibrat (2), Bezafibrat (3)) sind seit den 1960er Jahren Bestandteil der Therapie der Dyslipidämie in Deutschland. Dyslipidämien gelten als Risikofaktor für die Entwicklung von Arteriosklerose und kardiovaskuläre Ereignisse. Im Jahr 2010 kam jedoch die Pharmakovigilanz-Arbeitsgruppe des Ausschusses für Humanarzneimittel (CHMP) der europäischen Arzneimittelbehörde (EMA) nach Auswertung der verfügbaren Studien zu dem Schluss, dass die Langzeittherapie der Dyslipidämie mittels Fibraten nicht zu einer erniedrigten Mortalität führt.¹²⁶ Seither erfolgt die Verwendung der Fibrate nur noch eingeschränkt, z.B. bei Unverträglichkeit von Statinen. Im Falle der PPAR γ -agonistischen Thiazolidindione ist die Lage aufgrund der oben beschriebenen Nebenwirkungen ebenfalls kritisch zu bewerten. Die Substanzen zeigen zwar eine gute Wirksamkeit in der Therapie des Typ 2 Diabetes bezogen auf die Senkung des HbA_{1c}, doch ihre Relevanz ist aufgrund des problematischen Nebenwirkungsprofils inzwischen untergeordnet. In Deutschland ist, obwohl im Jahr 2000 die beiden TZDs Rosiglitazon (7) und Pioglitazon (8) zugelassen wurden, seit 2010 nur noch Pioglitazon (8) auf dem Markt. Rosiglitazon (7) verlor seine Marktzulassung in ganz Europa, nachdem ein erhöhtes Risiko für Herzinfarkte festgestellt worden war.⁹⁴ Das Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (IQWiG) beurteilte 2009 Pioglitazon (8) negativ, da sich kein Zusatznutzen im Hinblick auf Sterblichkeit und vaskuläre Folgekomplikationen des Diabetes nachweisen ließen. Weiterhin führte das erhöhte Blasenkrebsrisiko durch Pioglitazon (8) zur Aufhebung der Verordnungsfähigkeit durch den Gemeinsamen Bundesausschuss (GBA). Erwähnenswert ist, dass im Jahr 2013 die amerikanische Behörde FDA die Zulassungsbeschränkungen für Rosiglitazon (7) nach einer Neuauswertung der RECORD-Studie aufgehoben hat.^{127,95} Es bleibt also

abzuwarten, ob sich PPAR γ -Agonisten wieder in der Therapie des Typ 2 Diabetes etablieren können oder gänzlich an Bedeutung verlieren. Eine therapeutische Zukunft könnten daneben selektive Modulatoren der PPARs haben.

1.3 Farnesoid X Rezeptor

Der Farnesoid X Rezeptor (FXR) ist ein nukleärer Rezeptor, der primär Biosynthese und Transport der Gallensäuren kontrolliert. Bei der Entdeckung 1995 war der endogene Ligand nicht bekannt. Der Name leitet sich von der Beobachtung ab, dass Farnesol (**21**), ein Zwischenprodukt im Cholesteroll- und Gallensäuremetabolismus, FXR in supraphysiologischen Konzentrationen aktivieren kann.^{128,129} Dass Gallensäuren als die endogenen Liganden an FXR fungieren, wurde 1999 von drei unabhängigen Gruppen entdeckt und somit FXR vier Jahre nach seiner Entdeckung deorphanisiert.^{130–132} Zu dieser Zeit kristallisierte sich die wichtige Funktion in der Regulation der Gallensäuresynthese heraus. Seither wurden seine Funktion und Struktur, seine Liganden und Anwendungsgebiete intensiv beforscht.

1.3.1 Struktur und Funktion

Der Farnesoid X Rezeptor, auch als NR1H4 bezeichnet⁶, zeigt als Mitglied der Superfamilie der Ligand-aktivierten Transkriptionsfaktoren den typischen Aufbau der nukleären Rezeptoren (siehe 1.1.1). Er besteht aus insgesamt 488 Aminosäuren, die sich in die fünf Abschnitte A-E unterteilen (siehe Abb. 11).

Die N-terminale DNA-Bindedomäne bindet über die zwei Zink-„Finger“ an FXR-spezifischen Sequenzen der DNA, die so genannten *FXR response elements* (FXR-RE). Das häufigste FXR-RE stellt das *inverted repeat 1* (IR1) dar. Bei diesem Response Element wird die Basensequenz AGGTCA durch eine beliebige Base von einer invertierten Sequenzwiederholung getrennt. Im Falle von FXR sind weitere Response Elemente mit direkten Wiederholungen der Konsensussequenz (*direct repeat*, DR) oder Wiederholung mit Trennung (*everted repeat*, ER) bekannt.^{133,134}

FXR bindet als Monomer oder Heterodimer in Kombination mit RXR an die DNA, wobei das Heterodimer mit Aktivierung der Genexpression, das Monomer meist mit Repression assoziiert ist.

Die FXR-LBD besteht aus 12 α -Helices und entspricht mit ihren drei übereinander gelagerten Ebenen der allgemeinen Topologie der nukleären Rezeptoren (siehe

1. Einleitung
1.3 Farnesoid X Rezeptor

1.1.1). Die große, hydrophobe Ligand-Bindetasche von FXR wird vor allem durch die Helices 3, 5, 10 und 12 geformt. Durch die hohe Flexibilität der Helices 6 und 7 kann die FXR-LBD eine Vielzahl an strukturell verschiedener Liganden aufnehmen.^{134,135}

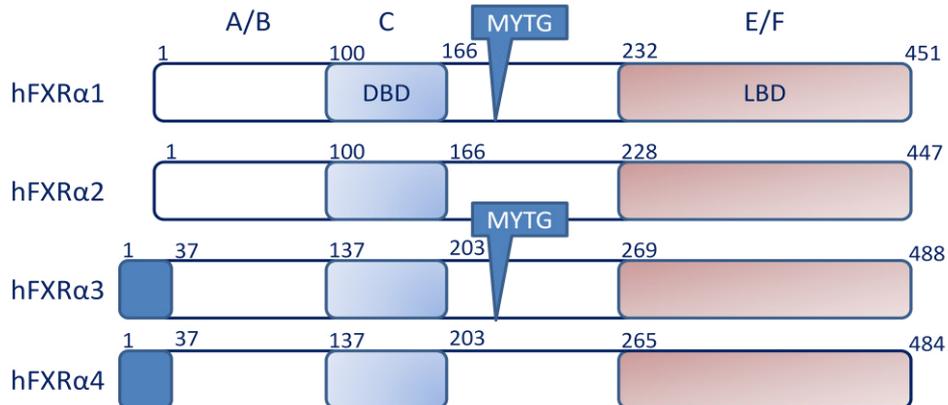


Abb. 10: schematischer Aufbau der vier FXR-Isoformen, unterteilt in die Domänen A-F. Die Zahlen geben die Aminosäure-Nummer an, bei FXRα1 und FXRα3 sind durch alternatives Splicen 4 Aminosäuren mehr enthalten.

Eine Ligand-induzierte Konformationsänderung formt im Falle von FXR eine hydrophobe Tasche, die aus den Helices 3, 4 und 5 gebildet wird. In dieser werden die Coaktivatoren gebunden und über die Aminosäuren Lys300 (Helix 3) und Glu464 (Helix 12) per *charge clamp* fixiert.^{134,136,135} Als Coaktivator-Peptide können unter anderem *steroid receptor coactivator 1* (SRC-1),¹³⁴ *coactivator-associated arginine methyltransferase 1* (CARM-1),¹³⁷ *Vitamin D receptor interacting protein* (DRIP)¹³⁸ und *peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1α* (PGC-1α)^{139,140} dienen.

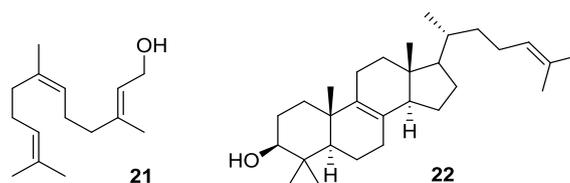


Abb. 11: Farnesol (21) und Lanosterol (22)

FXR wird im Menschen von einem Genlokus (12q23.1) codiert.¹⁴¹ Ein zweites Gen stellt in Primaten ein Pseudogen dar, da es kein funktionelles Protein codiert. In anderen Säugetieren stellt der daraus exprimierte FXRβ einen Rezeptor für Lanosterol (22), ein Intermediat des Cholesterol-Stoffwechselweges, dar.¹³³ Das humane FXR-Gen codiert vier Isoformen (FXRα1, α2, α3 und α4), die durch unterschiedlich lokalisierte Promotoren und alternatives Splicen entstehen.¹⁴² Die Promotoren befinden sich vor Exon 1 bzw. vor Exon 3, sodass bei allen vier

Isoformen die Exons 4-11 identisch sind. Somit sind keine Diskrepanzen in der Ligandenbindung zwischen den Isoformen zu erwarten.¹⁴² Ob die jeweiligen Isoformen spezifische Funktionen haben, ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Unterschiedlich starke Aktivierung von Promotoren durch die Isoformen wurde in der Maus gezeigt.¹⁴² FXR wird vor allem in Leber, Darm und Niere exprimiert. Eine deutlich geringere Expression von FXR α lässt sich im Fettgewebe, Herzmuskelzellen, der Milz, dem Thymus und in der glatten Gefäßmuskulatur finden.¹⁴³ Auffällig sind die gewebespezifischen Expressionsmuster der Isoformen: In der Niere und dem Colon finden sich ausschließlich die Isoformen FXR α 3/ α 4, hingegen werden in der Leber und den Nebennieren nur die Isoformen FXR α 1/ α 2 exprimiert.¹⁴⁴ Da unterschiedliche physiologische Funktionen der Isoformen nicht bekannt sind, werden im Folgenden zusammenfassend die Rezeptoren als FXR bezeichnet.

1.3.2 Physiologische Funktion

1.3.2.1 Gallensäure-Stoffwechsel

Gallensäuren sind amphiphile Moleküle mit steroidalem Grundgerüst. Sie dienen nicht nur zur Aufnahme von Fetten und fettlöslichen Vitaminen und als Abbauprodukt des Cholesterols, sondern fungieren auch als Signalmoleküle. Erste Hinweise darauf existieren seit 1957, als sich zeigte, dass Bestandteile der Gallenflüssigkeit die Synthese von Gallensäuren mittels negativem Feedback-Mechanismus zu hemmen vermögen.¹⁴⁵ Jahrzehnte später (1998) wurde die Inhibition der CYP7A1 Expression durch Gallensäuren als ein molekularer Mechanismus identifiziert.¹⁴⁶ Dieser negative Feedback-Mechanismus ist essentiell wichtig, da die Gallensäuren zytotoxisches Potential besitzen. Durch die Aktivierung von FXR durch supraphysiologische Konzentrationen der Gallensäuren wird der Akkumulation der Gallensäuren entgegengewirkt.

Die Größe und Zusammensetzung des Gallensäure-Pools wird durch mehrere Prozesse beeinflusst, in denen FXR einen regulatorischen Einfluss besitzt. Die Synthese der primären Gallensäuren erfolgt in Hepatozyten durch Hydroxylierung von Cholesterol in Position 7, welche durch das Enzym *Cytochrome p-450 cholesterol 7 α -hydroxylase* (CYP7A1) katalysiert wird. Dies stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt im klassischen (oder auch neutralen)

1. Einleitung

1.3 Farnesoid X Rezeptor

Syntheseweg der primären Gallensäuren (Chenodeoxycholsäure, CDCA (**23**) und Cholsäure, CA (**24**)) dar. Durch Aktivierung von FXR wird die Expression von CYP7A1 über einen SHP-vermittelten Weg reduziert.¹⁴⁷ FXR-Aktivierung führt zu erhöhter Expression des *small heterodimer partners* (SHP), einem atypischen nukleären Rezeptor ohne DNA-Bindedomäne. SHP verhindert durch autokrine Hemmung die Aktivierung des *Liver X Receptors* (LXR), welcher die Expression von CYP7A1 induziert.^{135,147} Über die Expression von FGF-19 nimmt FXR einen weiteren Einfluss auf die CYP7A1-Expression. FGF-19 aktiviert parakrin den *fibroblast growth factor receptor 4* (FGFR4) und daraus resultierend die *c-Jun N-terminale Kinase* (JNK)-Kaskade, welche ihrerseits die CYP7A1 Expression hemmt.^{148,135} Ebenfalls indirekt über die SHP-LXR-Achse wird das Enzym *sterol 12 α -hydroxylase* (CYP8B1) reguliert,^{148,149,147} welches essentiell an der Synthese der Gallensäuren CA (**24**) und Deoxycholsäure (DCA, **25**) beteiligt ist. Die Aktivität von CYP8B1 bestimmt die Zusammensetzung des Gallensäure-Pools.

Die Sekretion in die Gallengänge erfolgt als aktiver Transport über die *Bile Salt Export Pump* (BSEP), einem Mitglied der *ATP binding cassette* Familie (ABCB11). Die Expression des BSEP und anderen Transportern, wie MRP-2, wird durch FXR induziert.¹⁵⁰

Durch Cholecystkinin (CCK) wird die Kontraktion der Gallenblase bei Nahrungsaufnahme ausgelöst und die Gallenflüssigkeit in den Dünndarm entleert, um hier durch Emulgation die Aufnahme von Fetten und fettlöslichen Vitaminen zu ermöglichen. Durch den niedrigen pKs-Wert der Gallensäuren ist die passive Aufnahme im Dünndarm gering und die Rückabsorption erfolgt durch aktive Aufnahme im terminalen Ileum mittels *apical sodium-dependent BA transporter* (ASBT). Mithilfe des *intestinalen BA-binding protein* (IBABP) werden die Gallensäuren durch die Enterozyten transportiert, um dann an der basolateralen Seite durch den heterodimeren *organic solute transporter* (OST α/β) in die Pfortader transportiert zu werden. Auch ASBT, IBABP und OST α/β werden durch Aktivierung von FXR induziert.^{151,152} Von der Pfortader aus werden anschließend die Gallensäuren über die *Na⁺-taurocholate cotransporting polypeptide* (NTCP) und *organic anion transporting polypeptide* (OATP) in die Hepatozyten aufgenommen und somit der enterohepatische Kreislauf vervollständigt.¹⁵³ FXR-Aktivierung steigert die Expression von Gallensäure-Transportproteinen und induziert die Bildung von

1. Einleitung
1.3 Farnesoid X Rezeptor

SHP und FGF-19, wodurch die Gallensäuresynthese vermindert wird.^{154,155} Somit wird eine Akkumulation von Gallensäuren in der Leber verhindert.

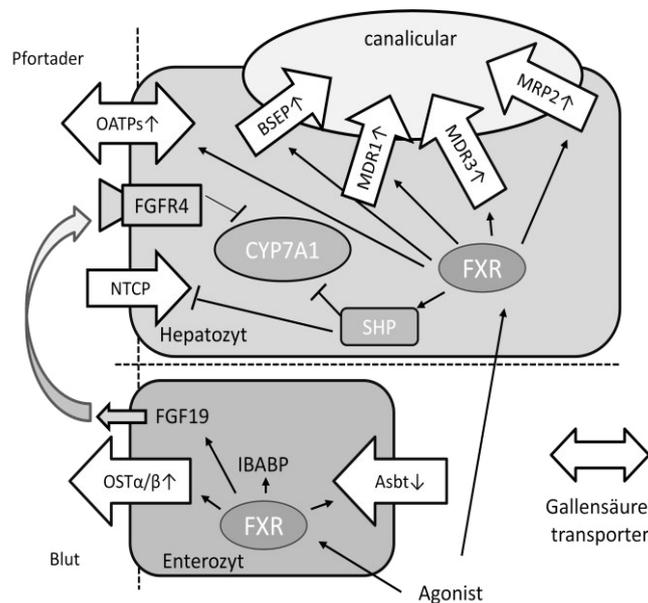


Abb. 12: Einfluss von FXR-Aktivierung auf den Gallensäurestoffwechsel

Der metabolische Abbau der Gallensäuren in der Leber über die Enzyme CYP3A4, CYP3A11, UDP-glucuronosyltransferase-2B (UGT2B) und der Sulfotransferase 2A1 (SLUT2A1) wird ebenfalls über Aktivierung von FXR beeinflusst.¹⁵³

1.3.2.2 Metabolische Regulation

Die offensichtliche und primäre physiologische Funktion von FXR ist der Schutz der Leber vor Akkumulation von zelltoxischen Gallensäuren. Doch auch in anderen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen nimmt FXR Einfluss. So spielt FXR eine Rolle im Lipidstoffwechsel, da die Hälfte des Cholesterols über die Gallensäuresynthese eliminiert wird.¹⁴⁷ Eine Aktivierung von FXR durch sowohl Chenodeoxycholsäure (CDCA, **23**) als auch GW4064 (**26**) bewirkt eine robuste Senkung der Plasmatriglyzeridspiegel, unter anderem durch die vermehrte Aufnahme von Lipoproteinen in die Leber. Dies wird über eine erhöhte Expression der LDL-, VLDL- und Syndecan-1 Rezeptoren vermittelt.^{133,153} Desweiteren reguliert FXR die Expression einiger Apolipoproteine (ApoAI, ApoAV, ApoCII, ApoCIII), des Phospholipid-Transferproteins (PLPT) und der *fatty acid synthase* (FAS) und besitzt somit einen Einfluss auf die Synthese, Zirkulation und Elimination von Lipoproteinen und Fettsäuren. Einen indirekten Einfluss auf die Lipidsynthese übt FXR über SHP aus. SHP reguliert das *sterol-regulatory-element-binding protein 1c* (SRBP-1c),

wodurch Gene, wie *acetyl-CoA carboxylase* (ACC) und *fatty acid synthase* (FAS), die in den Fettstoffwechsel eingebunden sind, vermindert exprimiert werden. Somit kommt es in Folge einer FXR-Aktivierung zu einer Reduktion der Lipidsynthese und – Freisetzung aus der Leber.^{156,157} Die Senkung des Triglyzeridspiegels ist auch auf die FXR-vermittelte Induktion von PPAR α zurückzuführen,¹⁵⁸ durch die es zu einer gesteigerten β -Oxidation kommt (siehe Kap. 1.2.3).

Der Einfluss von FXR auf den Glukosestoffwechsel ist komplex und anderen Mechanismen untergeordnet. Analog zu der Lipidhomöostase reguliert FXR indirekt über die Expression von SHP die Glukoneogenese, in dem die hierfür essentiellen Enzyme, *Phosphoenol-Pyruvate Carboxykinase* (PEPCK) und *Glukose-6-Phosphatase* (G6Pase), durch die Aktivierung von FXR gehemmt werden.¹⁵⁹ Als gegenläufiger Stoffwechselweg wird die Lagerung von Energie in der Leber in Form von Glykogen durch bisher nicht vollständig aufgeklärte Mechanismen gesteigert. Weiterhin wird durch eine induzierte Expression des Glukose-Transporters GLUT-4 die Aufnahme von Glukose in die Muskeln erhöht.^{160–162,141} Diese Prozesse führen zu einer Senkung des Glukosespiegels. Weiterhin konnte ein positiver Effekt von FXR-Agonisten auf die Glukose-abhängige Insulin-Freisetzung aus β -Zellen gezeigt werden.^{163,164}

Weitere Hinweise zu einem Einfluss von FXR auf den Glukosestoffwechsel lieferten Tiermodelle. In einem Diabetes-Mausmodell (db/db) zeigte die Aktivierung des FXR-Rezeptors durch GW4064 (**26**) eine Verbesserung der Insulinsensitivität.¹⁶⁵ Entsprechend bewirkte ein FXR-knockout in Mäusen einen gestörten Glukosestoffwechsel mit verschlechterter Glukosetoleranz und Insulinresistenz.^{166,162,167} Jedoch existieren auch dazu widersprüchliche Ergebnisse, in denen FXR-knockout Mäuse vor der Entwicklung eines diabetischen Phänotyps, induziert durch fettreiche Nahrung, geschützt waren.^{168,167} Die antiadipösen und antidiabetischen Effekte einer Magenverkleinerung lassen sich zum Teil ebenfalls auf eine Aktivierung von FXR zurückführen. Als Folge einer operativen Magenverkleinerung wurde ein vergrößerter Gallensäure-Pool beobachtet, der verstärkt FXR aktivieren kann. Eine Studie mit FXR-knockout Mäusen lässt einen Einfluss von FXR auf diese Effekte vermuten.¹⁶⁹ Die bislang jedoch insgesamt widersprüchlichen Ergebnisse zeigen die komplexe Regulation der

Glukosehomöostase, in der viele Faktoren Einfluss nehmen, unter denen FXR nur ein Vertreter darstellt.

1.3.3 FXR-Liganden

1.3.3.1 Endogene Liganden und Liganden natürlichen Ursprungs

Im Jahr 1999 wurden Gallensäuren als endogene Liganden für FXR identifiziert und der Rezeptor damit deorphanisiert.^{130,132,131} Zu den endogenen aktiven Gallensäuren gehören die primären Gallensäuren Chenodeoxycholsäure (CDCA, **23**) und Cholsäure (CA, **24**) sowie die sekundären Gallensäuren Deoxycholsäure (DCA, **25**) und Lithocholsäure (LCA, **27**). CDCA (**23**) stellt den potentesten agonistischen Liganden mit einem EC₅₀ Wert von etwa 8 µM dar.

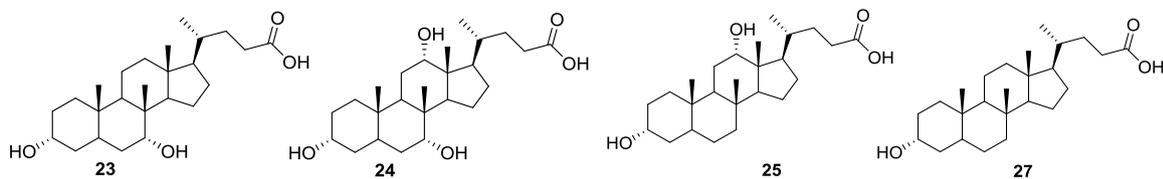


Abb. 13: Struktur der endogenen Gallensäuren, CDCA (**23**), CA (**24**), DCA (**25**) und LCA (**27**).

FXR zeigt eine hohe Selektivität zu Gallensäuren im Vergleich zu anderen Steroiden. Dies ist auf die spezifische Form der Gallensäuren zurückzuführen, die eine konvexe hydrophobe und eine konkave hydrophile Seite besitzen. Diese Form wird vor allem durch die Orientierung des Wasserstoffatoms an Position 5 verursacht, das bei Gallensäuren in β -Position und somit der Ring A cis zum Ring B steht.^{136,170,171}

Deutlich schwächere endogene Liganden sind mehrfach ungesättigte Fettsäuren (z.B. Arachidonsäure, **28**),¹⁷² Oxysterol (**29**)¹⁷³ und Androsteron (**30**).¹⁷⁴

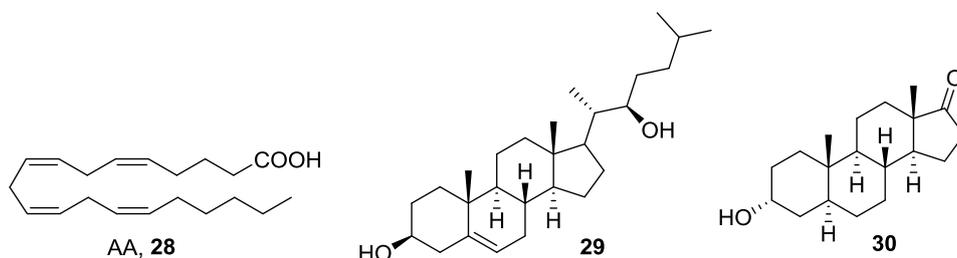


Abb. 14: endogene FXR Liganden: Arachidonsäure (**28**), Oxysterol (**29**) und Androsteron (**30**)

Viele Steroide natürlichen Ursprungs, wie murine Gallensäuren (α - und β -Muricholsäure, **31**), Ursodeoxycholsäure (UDCA, **32**), und vor allem marine Steroide

1. Einleitung

1.3 Farnesoid X Rezeptor

wurden als FXR-Liganden charakterisiert. Die Einteilung dieser Liganden in Agonisten oder Antagonisten wird teilweise kontrovers diskutiert. Das Pflanzensteroid Z-Guggulsteron (**33**) beispielsweise wurde 2002 zunächst als Antagonist an FXR charakterisiert,¹⁷⁵ stellt jedoch einen genselektiven Modulator dar.¹⁷⁶ Ebenso uneindeutig ist die Zuordnung von LCA (**27**), das in Reporter-Gen-Assays als Agonist charakterisiert worden ist, in einem SRC-1 Rekrutierungs-Assay inaktiv, in Konkurrenz mit CDCA jedoch antagonistisch aktiv ist.^{132,130,177,178} Die murinen α - und β -Muricholsäuren (**31**) wirken antagonistisch,^{148,149} ebenso wie Gallensäuren mit einer Hydroxygruppe in α -Position am C5 des Grundgerüsts, wie 5 α -Cyprinol (**34**) und 5 α -Biful (**35**), die antagonistisch in Konkurrenz mit CDCA (**23**) oder GW4064 (**26**) sind.¹⁷⁹

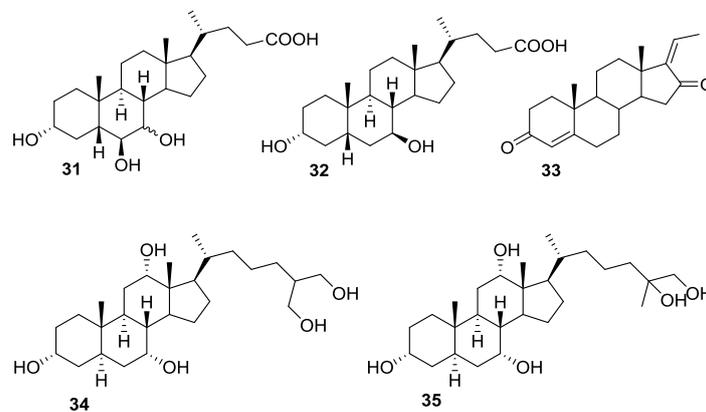


Abb. 15: Struktur der Gallensäuren Muricholsäure (**31**), UDCA (**32**) und des Pflanzensteroids Z-Guggulsteron (**33**) und der antagonistischen Gallensäuren 5 α -Cyprinol (**34**) und 5 α -Biful (**35**)

Unter den Steroiden aus marinen oder pflanzlichen Quellen finden sich viele weitere FXR-Liganden. Zu den Antagonisten zählen unter anderem 4-Methylensterole (**36**),^{180,181} sulfatierte Sterole (**37**),^{182,183} Sclerolan Sesterpene aus marinem Ursprung (**38**)^{184–186} und das soyabasierte Phytosterol Sigmasterol (**39**).¹⁸⁷

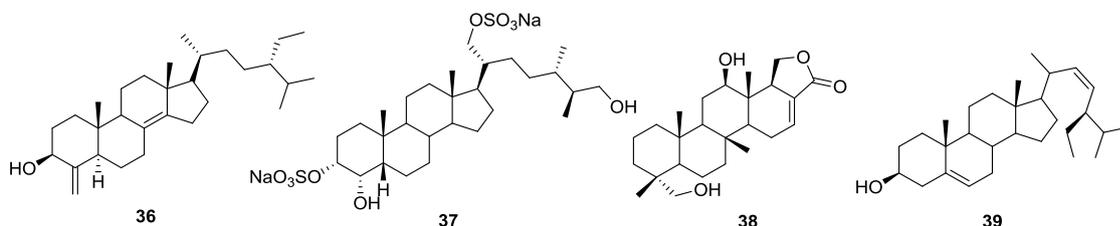


Abb. 16: FXR-Liganden aus pflanzlichen und marinen Quellen: 4-Methylensterole (**36**), sulfatierte Sterole (**37**), Sclerolan Sesterpene (**38**), Sigmasterol (**39**).

Auch nicht-steroidale Antagonisten natürlichen Ursprungs sind beschrieben, wobei 15-deoxy-Prostacyclin (15d-PGJ₂, **40**) die größte Relevanz als Metabolit der

Arachidonsäure-Kaskade hat. Ähnlich wie Guggulsteron (**33**) ist es als Modulator einzustufen, nachdem 15d-PGJ₂ in einem Coaktivator-Rekrutierungs-Assay im Vergleich zu CDCA antagonistisch wirkt, auf mRNA-Ebene aber die Expression von BSEP induziert und von CYP7A1 hemmt.¹⁸⁸

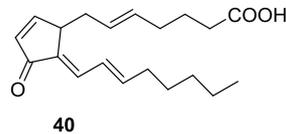
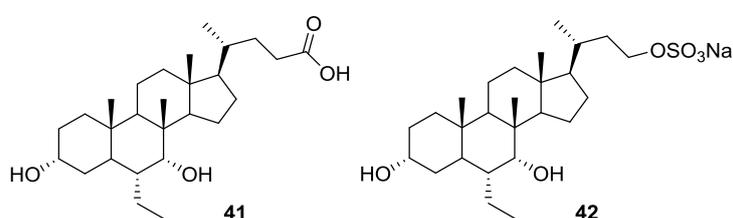


Abb. 17: endogener FXR-Antagonist 15d-PGJ₂ (**40**)

1.3.3.2 Synthetische Liganden

Es existiert eine Vielzahl synthetischer Liganden für FXR, die in steroidale oder nicht-steroidale Strukturen unterteilt werden können. Im Folgenden werden die wichtigsten Vertreter beschrieben, eine Zusammenfassung weiterer Liganden ist in Tabelle 3 zu finden. Eine in der klinischen Forschung am weitesten fortgeschrittene Substanz ist die semi-synthetische Gallensäure 6 α -Ethyl-CDCA (6-ECDCA, **41**). Diese Substanz erreicht durch die Einführung der Ethyl-Seitenkette eine Potenzsteigerung um den Faktor 100 im Vergleich zu der Muttersubstanz CDCA (**23**). Der Bindemodus wurde durch Kristallisation aufgeklärt und entspricht dem anderer co-kristallisierter Gallensäurederivate. So interagiert die Säuregruppe mit Arg 331 in Helix 5, wobei diese Wechselwirkung nicht für die Aktivierung des Rezeptors essentiell ist. Die Hydroxygruppe in Position 7 bildet Wasserstoffbrücken-Bindungen zu den Aminosäuren Ser332 und Tyr369 aus, die Hydroxygruppe in Position 3 zu den Aminosäuren Tyr361 und His447. Die Ethylgruppe an Position 6 füllt eine zusätzliche lipophile Nebentasche aus, die von den Aminosäuren Ile359, Phe363 und Tyr366 gebildet wird. Der Ring A stabilisiert die Helix 12 in der aktiven Position durch Wechselwirkungen mit den Aminosäuren Trp466, His444 und Tyr358.^{134–136,189} Das Sulfat-Analogon (**42**) zeigt eine weitere Potenzsteigerung an FXR, stellt aber auch gleichzeitig einen potenten Agonisten an dem membranständigen Gallensäuren-Rezeptor TGR5 dar.



1. Einleitung

1.3 Farnesoid X Rezeptor

Abb. 18: Struktur der steroidalen FXR Agonisten 6-ECDCA (**41**) und des Sulfat-Analogons (**42**)

Zu den bedeutendsten nicht-steroidalen FXR-Liganden zählt die Substanz GW4064 (**26**), die im Jahr 2000 durch GlaxoSmithKline publiziert wurde.¹⁹⁰ Das Isoxazolderivat zeigt mit einem EC₅₀-Wert im Bereich von 0,1 µM und einer Maximalaktivierung von 140% im Vergleich zu CDCA (**23**) eine hohe Potenz. GW4064 (**26**) ist eine häufig eingesetzte Modellschubstanz zur Erforschung des FXR-Agonismus, wobei sie an FXR selektiv im Bereich der nukleären Rezeptoren bindet,¹⁹⁰ jedoch über G-Protein gekoppelte Rezeptoren off-target Effekte auslösen kann.¹⁹¹ Das zentrale Stilben-Strukturelement ist ein potentiell toxisches Pharmakophor, welches zusammen mit einer schlechten Bioverfügbarkeit die klinische Entwicklung von GW4064 (**26**) verhinderte.^{192,193} Neben GW4064 (**26**) wurden viele Derivate erstellt und mit der FXR-LBD co-kristallisiert, sodass eine präzise Struktur-Wirkungs-Beziehung zu den Isoxazolen bekannt ist. Die aromatische Carbonsäure geht Wechselwirkungen mit den Aminosäuren Arg331, His294 und Met265 ein, wobei die meta-Stellung bevorzugt ist. Der Isopropyl-Substituent am Isoxazol füllt eine kleine lipophile Seitentasche und ist neben einer tert-Butylgruppe bevorzugt vor aromatischen Substituenten. Der an 3-Position des Isoxazolrings gebundene aromatische Substituent liegt durch seine 2,6-Dichlor-Substitution in einem 90° Winkel zum Isoxazol vor, wodurch π-Interaktionen zu der Aminosäure Phe329 ausgebildet werden können. Der Isoxazol-Ring geht außerdem polare Wechselwirkungen zur Aminosäure His447 ein. Die Stilbenstruktur kann ohne großen Aktivitätsverlust durch Biphenyl-, Naphthyl- und heteroaromatische Gruppen ausgetauscht werden. Ein ausgewähltes Naphthylderivat (**43**) reduziert Zeichen einer Leberschädigung (AAT, ALP) in einem Ratten-Modell chemisch induzierter Cholestase.¹⁹⁴ Weitere Derivate, wie N-Oxid Pyridine (**44**) und 2,6-Chlorbenzyl substituierte Isoxazole (**45**), wurden publiziert und patentiert.¹⁹⁵⁻¹⁹⁷ Erste synthetische Antagonisten wurden ebenfalls aus SAR-Studien von GW4064 (**26**) abgeleitet. Im Vergleich zu GW4064 (**26**) haben sie am Isoxazol einen sterisch unflexiblen, lipophilen Substituenten, wie Biphenyl (**46**) oder Naphthyl (**47**).¹⁶

1. Einleitung

1.3 Farnesoid X Rezeptor

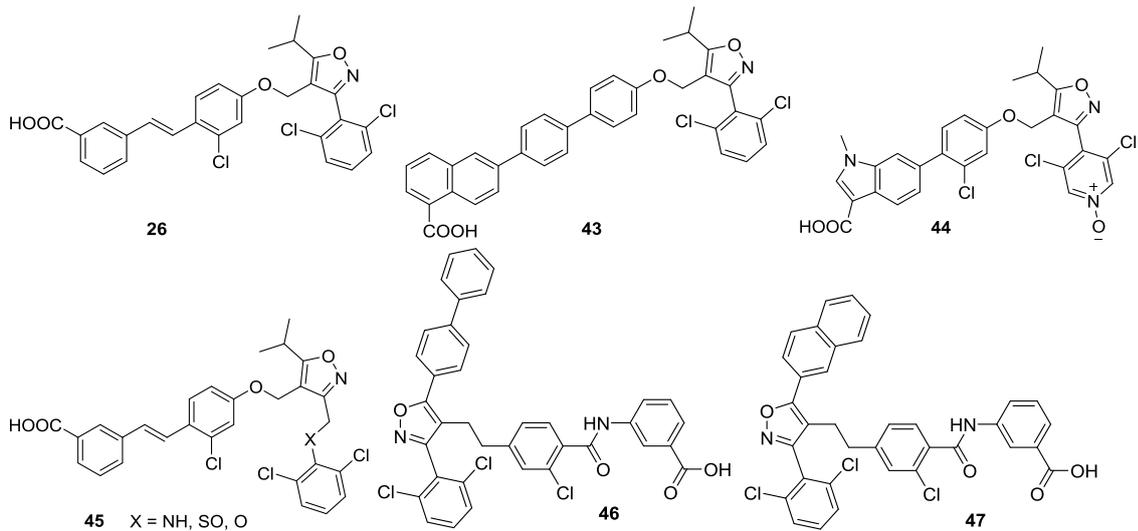


Abb. 19: Struktur von Isoxazol-basierten FXR-Liganden GW4064 (**26**), **43-45** und Antagonisten (**46-47**)

Die Optimierung einer Benzopyran-basierten Substanzbibliothek führte zur Entdeckung des FXR-Agonisten Fexamin (**48**) und dessen Derivaten Fexaren (**49**) und Fexarin (**50**).¹⁹⁸ Fexamin (**48**) zeigte in vitro eine nanomolare Potenz (25 nM), bei der Analyse seines Einflusses auf die Expression der FXR-Targetgene ergab sich jedoch ein von GW4064 (**26**) und 6-ECDCA (**41**) abweichendes Profil.¹³⁴

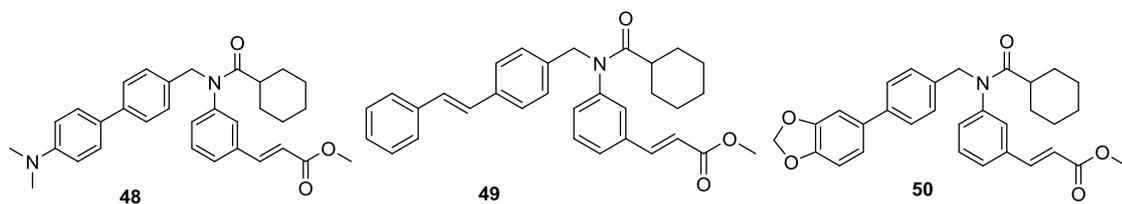


Abb. 20: Struktur der FXR Agonisten Fexamin (**48**), Fexaren (**49**) und Fexarin (**50**)

Diese unterschiedliche Aktivität auf FXR-Targetgene könnte auf unterschiedliche Bindemodi zurückzuführen sein, denn die Kristallstrukturen zeigten einen überlappenden, aber nicht identischen Bindemodus für **26**, **41** und **48**.¹³⁴ Die Interaktionen von Fexamin (**48**) mit der LBD sind vor allem lipophiler Natur, eine azide Funktion ist also nicht essentiell zur Aktivierung von FXR nötig. Ähnlich wie GW4064 (**26**) eignen sich Fexamin (**48**) und seine Derivate (**49-50**) nicht zur weiteren klinischen Entwicklung, da zum einen der Methylester in vivo schnell hydrolysiert, und zum anderen die Zimtsäurepartialstruktur durch Isomerisierung und Dimerisierung unbeständig sein dürfte.

Aus einem High-Throughput-Screening und der darauf folgenden Optimierung der Azepino-Indol-Leitstruktur entstand der FXR-Agonist FXR-450 (auch XL335 und

1. Einleitung

1.3 Farnesoid X Rezeptor

WAY-362450, **51**), der sowohl im Luciferase-Reportergen-Assay (EC_{50} 16 nM) als auch auf transkriptionaler Ebene charakterisiert wurde. Die Kristallstruktur von **51** zeigte vor allem lipophile Interaktionen neben einer π -Interaktion des Indolrings mit Trp454 und Phe461. Für **51** konnte neben einem Lipid-senkenden Effekt in Primaten auch ein anti-inflammatorischer und anti-fibrotischer Effekt in einem NASH-Mausmodell nachgewiesen werden.^{199–202} FXR-450 (**51**) wurde in zwei Phase I Studien untersucht, jedoch die weitere klinische Entwicklung aufgrund pharmakokinetischer Probleme eingestellt. Daraufhin wurde mit **52** ein deutlich löslicheres Morpholinopropyl-Derivat mit guter in vitro-Aktivität entwickelt, jedoch in der klinischen Prüfung nicht weiter verfolgt.^{203–205}

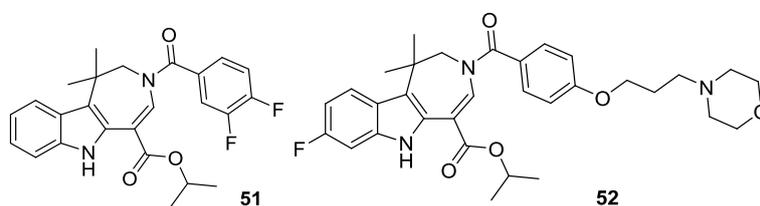


Abb. 21: Azepino-Indol basierte FXR-Agonisten, FXR450 (**51**) und Morpholino-Derivat (**52**)

In den letzten Jahren wurden viele strukturell unterschiedliche Substanzklassen entdeckt, die in vitro in verschiedenen Assay-Systemen charakterisiert worden sind. Sie stellen moderat potente FXR-Liganden dar, die aber einen guten Ausgangspunkt als Leitstruktur für weitere Entwicklung darstellen. Viele dieser neuen Leitstrukturen wurden mithilfe von High-Throughput-Screenings oder bioinformatischen Methoden identifiziert. Ihre Vielzahl und Diversität der FXR-aktiven Substanzen lässt auf eine hohe Flexibilität der FXR-LBD schließen.

1. Einleitung
1.3 Farnesoid X Rezeptor

#	Substanz- klasse	Struktur	in vitro- Aktivität	Assay- System	Literatur
			in vivo- Aktivität	Spezies	
53	steroidale Agonisten MFA-1		EC ₅₀ 0,017 μM	Coactivator Recruitment	206
54	nicht steroidale Agonisten Bsp. AGN29		EC ₅₀ ~2 μM	Trans- aktivierung	207
55	nicht steroidale Modulator AGN34		SHP ↔ CYP7A1 ↓ IBABP ↓	qPCR	
56	nicht steroidaler Agonist, Benzimidazol- Grundstruktur		EC ₅₀ 0,87 μM	Trans- aktivierung	208,209
57			EC ₅₀ 3,2 μM	Trans- aktivierung	210
58			EC ₅₀ 6,2 μM		
59	nicht steroidale Agonisten		EC ₅₀ 12,9 ± 1,4	HTFR	211
60			EC ₅₀ 1,4 μM	Coactivator Recruitment	212,213
61			IC ₅₀ 0,47 μM	Trans- aktivierung	214 215
61	nicht steroidale Antagonisten		IC ₅₀ 1,1 μM	HTFR	216

Tab. 3: Strukturen von FXR-Liganden 53-61 mit in vitro-/in vivo-Charakterisierung

1.3.4 klinische Rolle von FXR-Liganden

Die einzigen klinisch eingesetzten FXR-Liganden sind die Gallensäuren UDCA (**32**) und CDCA (**23**), wobei **23** zur Therapie von Cholesterin-haltigen Gallensteinen und **32** in der Indikation Primär biliäre Zirrhose (PBC) verwendet wird. Neben einer Verwendung im weitesten Umfeld des Gallensäurestoffwechsels kristallisieren sich zunehmend weitere therapeutische Anwendungsgebiete heraus, sowohl für FXR Agonisten als auch Antagonisten.

Drei FXR-Agonisten befinden sich in der klinischen Entwicklung zur Therapie diverser Lebererkrankungen, wie Cholestase, PBC, nicht-alkoholische Fettleber (NAFLD) und nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH). Das semi-synthetische Derivat **41** (6-ECDCA, Obeticholsäure) ist das in der Entwicklung am weitesten fortgeschrittene und befindet sich derzeit in Phase III.

Eine Akkumulation von Gallensäuren und Bilirubin führt bei dem Krankheitsbild der Cholestase zu einer Schädigung der Leber. Da eine Aktivierung von FXR die de-novo Synthese der Gallensäuren hemmt, den Abbau und Transport der Gallensäuren aus den Hepatozyten induziert, könnten FXR-Agonisten therapeutisch genutzt werden. Im Tiermodell zeigen die Agonisten GW4064 (**26**) und 6-ECDCA (**41**) entsprechend positive Effekte auf die Lebertoxizität.^{217,218} Die Primär biliäre Zirrhose (PBC) ist eine chronische, entzündliche Erkrankung der Leber bei der ausgehend von den Gallengängen das Lebergewebe fibrosiert. In der Folge kommt es zur Zerstörung der Leber, portaler Hypertension und anderen Sekundärmanifestationen. Als Auslöser gilt Alkohol, wobei ursächlich unter anderem eine Autoimmunreaktion eine Rolle spielen könnte. UDCA (**32**) stellt die bislang einzige Therapieoption dar, wobei sich 6-ECDCA (**41**) schon in der fortgeschrittenen klinischen Entwicklung befindet.²¹⁹ Die nicht-alkoholische Fettleber (NAFLD) hat ihre Ursache in einer Verfettung der Leber und tritt häufig verbunden mit metabolischen Erkrankungen, wie Typ 2 Diabetes und Adipositas auf. NAFLD zählt zu den häufigsten Lebererkrankungen weltweit, wobei bisher keine Therapie verfügbar ist. Die Pathogenese der NAFLD beruht auf einem Überangebot an Triglyzeriden, die in der Leber in Form von zytoplasmatischen Triglyzerid-Tropfen abgelagert werden¹⁵⁶ und hier zu Entzündungsreaktionen führen. Als Konsequenz des erhöhten Fettgehalts kann sich eine *non-alkoholic steatohepatitis* (NASH) entwickeln, die durch Balooning und Apoptose von Hepatozyten gekennzeichnet ist. Hinzu kommen Infiltration durch

inflammatorische Zellen und Kollagen-Abscheidung.¹⁵⁶ In der Folge entwickeln 15% der NASH-Patienten über einen Zeitraum von 10-15 Jahren Leberzirrhose und Lebertumoren.¹⁵⁶ Über die oben beschriebene Einflussnahme von FXR auf den Lipidstoffwechsel kann ein FXR-Agonist Einfluss auf die Pathogenese der NAFLD/NASH nehmen. Weiterhin werden profibrotische Faktoren, wie der *transforming growth factor β* (TGF β) vermindert exprimiert und die Leberfibrose reduziert.²²⁰⁻²²² Über Antagonisierung des *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B) Signalwegs wirkt eine FXR-Aktivierung zusätzlich anti-inflammatorisch,²²⁰ was sich positiv auf die Pathogenese der NAFLD/NASH auswirkt. Die Anwendung von FXR-Liganden in diesen Leberpathophysiologien wird untersucht und bisher scheint 6-ECDCA (**41**) ein aussichtsreicher Kandidat zu sein, um als erster FXR-Agonist zugelassen zu werden.

Hinweise auf weitere mögliche Therapiegebiete gaben in vitro-Untersuchungen und Tiermodelle, bei denen FXR-Liganden positiven Einfluss auf metabolische Erkrankungen, entzündliche Prozesse und Tumorwachstum zeigten.

Aufgrund der regulatorischen Funktion von FXR auf den Lipid- und Cholesterolfstoffwechsel wurde ein möglicher therapeutisch nutzbarer Effekt auf Arteriosklerose untersucht und auf molekularer Ebene sowohl proarteriogene als auch antiarteriogene Effekte beobachtet. So wird die Expression von *intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1) und *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1) durch FXR-Aktivierung induziert. Diese Proteine leiten die Entstehung von arteriosklerotischen Plaques durch Anlagerung von Makrophagen an die Endothelien ein.²²³ Andererseits wurde durch FXR-Aktivierung Endothelin-1 supprimiert.²²⁴ In Mausmodellen verursachte FXR-knockout ein proarteriogenes Lipidprofil, assoziiert mit erhöhten Plasmaspiegeln an Triglyzeriden, Cholesterolf und Gallensäuren.¹⁶⁷ Auch eine Akkumulation von Triglyzeriden und Gallensäuren in der Leber wurde beobachtet,²²⁵ doch die Untersuchung der arteriosklerotischen Plaques in einem Arteriosklerose-Modell (LDL-Rezeptor -/-) zeigte keine Verschlechterung durch FXR-knockout.²²⁶ Somit ist der Einfluss von FXR auf Arteriosklerose nicht abschließend geklärt.

Hinsichtlich Entzündungen zeigten in vitro und in vivo-Studien einen Einfluss von FXR auf den NF- κ B-Signalweg und andere anti-inflammatorische Mechanismen. In einem Mausmodell entzündlicher Darmerkrankungen reduzierte 6-ECDCA (**41**) die

Level pro-inflammatorischer Proteine, wie Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6), *tumor necrose factor α* (TNF α) und dem *macrophage attractant protein 1* (MAP-1).²²⁷ Weiterhin ist die Barrierefunktion des Darmepithels unter FXR-Aktivierung verbessert.²²⁷ Da andererseits die Expression von FXR durch pro-inflammatorische Cytokine gehemmt wird,²²⁸ bleibt die pharmakologische Relevanz von FXR in Entzündungsreaktionen fraglich.

FXR hatte in diversen Studien einen Einfluss auf die Proliferation, Migration und Invasion von Tumoren, wobei der Effekt je nach Tumorzelllinie protektiv oder tumorfördernd war. In Geweben, die normalerweise mit Gallensäuren in Kontakt kommen, scheint FXR eine protektive Wirkung zu besitzen. In diesen Tumorarten zeigt sich eine reduzierte Expression von FXR, die zum Teil mit einer höheren Malignität assoziiert war. Applikation von FXR-Agonisten konnte entsprechend die Proliferation und Migration von Tumoren wie Cholangiokarzinomen, hepatozellulären und gastrointestinalen Karzinomen hemmen.^{229–232} Pankreas- und Colonkarzinome, ebenso wie Zellen eines Barrett-Ösophagus und Brustkrebszellen zeigten dagegen eine FXR-Überexpression. Hier bewirken FXR-Agonisten eine gesteigerte Proliferation und Migration dieser Tumorzellen, welche durch FXR-Antagonisten gehemmt werden konnte.^{233–236} Diese je nach Karzinomtyp unterschiedliche Auswirkung einer FXR-Aktivierung birgt einen großen Nachteil für die therapeutische Applikation von FXR-Liganden. Aufgrund der vielfältigen regulatorischen Einflüsse von FXR auf Gallensäure-, Glukose- und Fettstoffwechsel ist eine abschließende Risikoeinschätzung der therapeutischen Nutzung bislang nur begrenzt möglich. Tierversuche mit FXR-Liganden und FXR knockout-Modelle müssten erst weitere Einblicke liefern.

1.4 In vitro-Charakterisierung von Liganden nukleärer Rezeptoren

Die in vitro-Charakterisierung von Liganden nukleärer Rezeptoren bildet die Grundlage für SAR-Studien. Ein hoher Durchsatz ist ebenso ein Kriterium für ein Testsystem wie ökonomische Gesichtspunkte. Typischerweise werden zur Charakterisierung von Liganden nukleärer Rezeptoren Reporteragen-Assays, Bindungs-Assays oder Coaktivator-Rekrutierungs-Assays verwendet.

Reporteragen-Assays werden in einem Zellsystem durchgeführt, in denen durch Transfektion von sog. Reporterplasmiden eine auslesbare Genexpression nach

1. Einleitung

1.4 In vitro-Charakterisierung von Liganden nukleärer Rezeptoren

Zugabe eines Liganden des Targets erzeugt wird. Das Reporterplasmid wird durch Klonierung eines Response Elements vor einem Reporter gen generiert, wobei das Response Element entscheidend für die Bindung des nukleären Rezeptors ist und daher je nach Target variiert. Als Reporter gen wird die Firefly-Luciferase oder die β -Galaktosidase verwendet, da beide Gene für Enzyme kodieren, die bei Anwesenheit des geeigneten Substrates ein messbares Signal erzeugen. Neben dem Reporter gen wird ein weiteres quantifizierbares Gen, ein sog. Kontrollgen, transfiziert, das zur Überprüfung der Transfektionseffizienz und Zellviabilität dient.

Der nukleäre Rezeptor, der das Target der zu testenden Substanzen ist, wird mithilfe eines meist viralen Promotors konstitutiv exprimiert. Das entsprechende Rezeptor-Plasmid kann für den Rezeptor als chimären oder Vollängen-Rezeptor kodieren. Ein vollständiger Rezeptor benötigt einen Heterodimerpartner, i.d.R. RXR, sodass zusätzlich ein RXR-Plasmid co-transfiziert werden muss. Ein Vollängen-Rezeptor-basierter Assay stellt ein weniger artifizielles Testsystem dar, liefert aber ein höheres Grundrauschen, da das Heterodimer endogen aktiviert werden kann. Ein chimärer Rezeptor enthält eine Gal4-DBD (aus Hefe), sodass eine endogene Aktivierung ausgeschlossen werden kann und somit ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis besteht.²³⁷ Daneben benötigt er keinen Heterodimerpartner, wobei hier aber der sehr artifizielle Aufbau nachteilig ist.

Als verwendete Zellen bieten sich schnell-teilende Tumorzelllinien an, wobei diese den zu untersuchenden nukleären Rezeptor nicht selber exprimieren sollten. Entweder wird eine Zelllinie entwickelt, die die benötigten Gene stabil exprimiert, oder die Zellen werden mit den Plasmiden für jeden Versuch erneut transient transfiziert.

Nach Inkubation der Zellen mit den Testsubstanzen wird die Aktivität des Reporter- und Kontrollgens vermessen und auf einen Vollagonisten sowie einen Nullwert normiert. Somit erhält man die relative Aktivität der Testsubstanz bei den eingesetzten Konzentrationen. Durch das Vermessen einer Testsubstanz bei mehreren Konzentrationen ergibt sich eine sigmoidale Konzentrations-Aktivitäts-Kurve, aus der die halbmaximale aktive Konzentration (EC_{50}) errechnet werden kann. Dies gilt für agonistisch aktive Liganden, wobei Antagonisten auf die gleiche Weise, nur mit Co-Inkubation einer festen Konzentration des Vollagonisten zu jeder Konzentration der Testsubstanz, vermessen werden können. Durch Auftragung der

1. Einleitung
1.4 In vitro-Charakterisierung von Liganden nukleärer Rezeptoren

Konzentrations-Aktivitäts-Kurve lässt sich hierbei der IC_{50} -Wert ermitteln. Der EC_{50}/IC_{50} -Wert kann als Affinität zum Rezeptor interpretiert werden, daneben lässt sich eine Maximalaktivierung bzw. –Inhibition aus den sigmoidalen Kurven ermitteln. Diese ist die maximal/minimal mögliche relative Aktivität im Vergleich zum Vollagonisten, die die Testsubstanz erreichen kann. Aus diesem Wert leitet sich die Charakterisierung als partieller Agonist ab, der durch eine verminderte Stabilisierung der LBD eine niedrigere Expressionsaktivität als ein Vollagonist zeigt.

Coaktivator-Rekrutierungs-Assays stellen eine Alternative zu den Reporteragen-Assays dar, bei denen die Rekrutierung eines Coaktivatorpeptidfragments (z.B. SRC-1) zum rekombinanten Rezeptor in Gegenwart der Testsubstanzen gemessen wird. Ausgelesen wird diese Rekrutierung durch *Fluoreszenz Resonanz Energie-Transfer* (FRET) oder alpha-Screen-Technik. Bei beiden Verfahren ist ein FRET- oder alpha-Screen-Donor am Target-Rezeptor gebunden, der nach Anregung Energie an einen entsprechenden Akzeptor übertragen kann. Dieser Akzeptor ist an den Co-Aktivator gebunden und infolge räumlicher Nähe, die durch die Ligand-induzierte Rekrutierung geschaffen wird, wird die Energie auf den Akzeptor übertragen, was als Fluoreszenz- bzw. Lumineszenzsignal ausgelesen werden kann.

Neben diesen funktionellen Assays existieren Bindungs-Assays, die eine kompetitive oder direkte Bindung an einen rekombinanten Rezeptor messen. Verwendete Technologien sind hierbei *scintillation proximity* (SPA) oder Fluoreszenz-Polarisation. Ob die Bindung an den Rezeptor eine funktionelle Wirkung hat, kann durch diese Assays nicht bestimmt werden.

Informationen zu einem möglichen in vivo-Effekt von identifizierten Liganden liefert die Quantifizierung der nach Inkubation mit der Testsubstanz erzeugten mRNA entsprechender Targetgene mithilfe der quantitativen *real time* Polymerase-Kettenreaktion (q-RT PCT). Zur Normierung wird die mRNA-Menge eines konstitutiven *housekeeping* Genes, wie der Glyzerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) oder β -Aktin, ermittelt.

2. Zielsetzung

Fettsäuren und Gallensäuren ähneln sich nicht nur in ihrer amphiphilen Struktur, sondern besitzen beide regulatorische Funktionen neben ihrer Assoziations zur Ernährung. Ihre Affinität zu G-Protein gekoppelten und nukleären Rezeptoren verdeutlicht ihre Rolle in der physiologischen Regulation metabolischer Prozesse. Der Einfluss der PPARs auf Fett- und Zuckerstoffwechsel ist seit Jahrzehnten bekannt und wird therapeutisch genutzt, wobei die synthetischen Substanzen eine strukturelle Ähnlichkeit zu den natürlichen Liganden aufweisen. Daher werden diese Wirkstoffe als „Fettsäure-Mimetika“ bezeichnet.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mittels medizinisch-chemischen Ansatzes mit Fettsäure-Mimetika, die Liganden für PPAR und FXR darstellen. Ausgangspunkt für die hier vorgestellten zwei Substanzklassen sind vorausgegangene Arbeiten in dem Arbeitskreis Prof. Schubert-Zsilavec.

MD78 (**62**) stellt einen hoch aktiven dualen PPAR α/γ Agonisten dar, der sich von der lipidsenkenden Pirinixinsäure (**4**) ableitet und im Rahmen der Promotionsarbeit von Michaela Dittrich synthetisiert wurde. Im Vergleich zu den Derivaten zeigte die Substanz eine deutlich höhere Potenz an PPAR α . Die genaue Untersuchung dieses Aktivitätsunterschiedes im Rahmen einer präzisierten Struktur-Wirkungs-Beziehung war eine Zielsetzung dieser Arbeit. Weiterführend sollte das entscheidende Strukturelement identifiziert und der mögliche Bindemodus ermittelt werden.

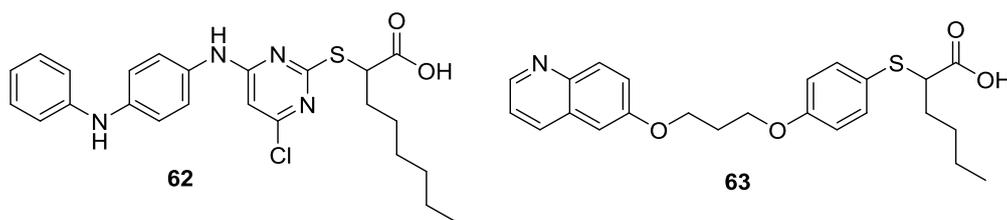


Abb. 22: Ausgangspunkte der Arbeit: MD78 (**62**) und HZ55 (**63**)

HZ55 (**63**) bildete die Leitstruktur zur Optimierung der Struktur-Wirkungs-Beziehung im Hinblick auf das Target FXR. Diese Substanz entstand im Rahmen der Dissertationsarbeit von Heiko Zettl über die Synthese von Fettsäure-Mimetika als PPAR α/γ Agonisten und duale mPEGES-1/5-LO-Inhibitoren. Als möglicher FXR-Ligand wurde **63** im Rahmen eines arbeitsgruppeninternen Substanzscreenings in einem FXR-Transaktivierungs-Assay identifiziert. Da FXR als neues metabolisches

2. Zielsetzung

Target in den letzten Jahren großes Interesse geweckt hat, war das Ziel ausgehend von **63** FXR selektive Liganden zu identifizieren und mittels Struktur-Wirkungs-Beziehung zu optimieren.

3. Ergebnisse und Diskussionen

3.1 Pirinixinsäure-Derivate als duale PPAR α / γ -Agonisten

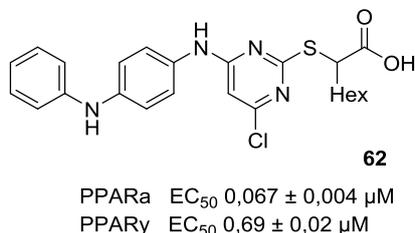


Abb. 23: Struktur und in vitro pharmakologische Charakterisierung an PPAR von MD78 (**62**)

Der Pirinixinsäure-Abkömmling MD78 (**62**) stellt mit submikromolaren PPAR α EC₅₀-Werten (Abb. 20) das bisher potenteste Derivat der Pirinixinsäure an PPAR α / γ dar, welches in dem Arbeitskreis Prof. Schubert-Zsilavecz synthetisiert und in einem Transaktivierungs-Assay charakterisiert worden ist.

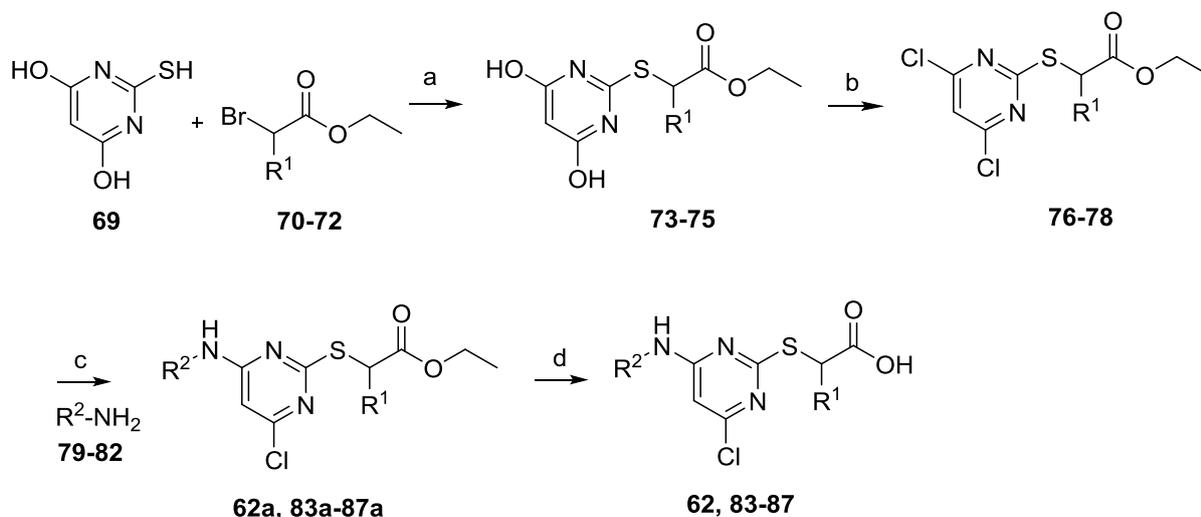
# (Substanzname)	Struktur	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen EC ₅₀ [μ M] (Max %)		
		PPAR α	PPAR δ	PPAR γ
4 (Pirinixinsäure)		39.8 ± 0.7 (100)	i.a.	53.7 ± 0.8 (79 ± 10)
64 (YS121)		1.0 ± 0.2 (146 ± 7)	i.a.	3.6 ± 0.2 (139 ± 35)
65 (HZ56)		0.19 ± 0.04 (155 ± 24)	i.a.	1.5 ± 0.1 (134 ± 2)
66 (MD77)		6.6 ± 0.9 (57 ± 9)	i.a.	6.4 ± 0.2 (90 ± 3)
67 (LP121)		2.2	i.a.	3.5
68 (YS124)		i.a.	i.a.	6.2 ± 0.3 (92)

Tab. 4: Strukturen und in vitro-Aktivität der Pirinixinsäure (**4**) und deren Derivate **64-68** an PPARs

Im Vergleich zu den in Tabelle 4 ausgewählten Derivaten zeigt sich eine deutlich höhere Potenz an beiden PPAR-Subtypen, die offensichtlich auf den lipophilen Substituenten am Pyrimidin-Kern zurückzuführen ist. Welches Strukturmerkmal dafür konkret verantwortlich ist, wurde in einer weiterführenden Struktur-Wirkungs-Beziehung durch Synthese und in vitro-Charakterisierung neuer Derivate untersucht. Desweiteren konnte mithilfe einer Docking-Studie ein Bindemodus für die Bindung an PPAR α postuliert und anschließend mithilfe einer Mutationsstudie bestätigt werden. Die Ergebnisse dieses Projektes werden im Folgenden zusammengefasst und wurden in Bioorg Med Chem Lett. publiziert.²³⁸

3.1.1 Chemische Synthesen

Die Synthese der Pirinixinsäure-Derivate erfolgt nach dem im Arbeitskreis etablierten Synthese-Schema, welches ursprünglich auf d'Atri et al. basiert²³⁹ und neben Verwendung einer bereits publizierten Variante²⁴⁰ weiter modifiziert worden ist (Schema 1).



Schema 1: Synthese der Pirinixinsäure Derivate.

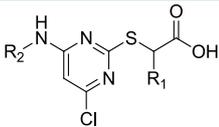
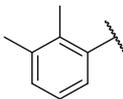
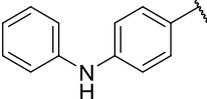
Reagenzien und Bedingungen: a) 2-Mercaptopyrimidin-4,6-diol (**69**, 1.0 eq), R_1 - α -bromethylester (**70-72**, 1.2 eq), Triethylamin (1.5 eq), DMF, 80 °C, 24h. b) **70-72** (1 eq), $POCl_3$ (18 eq), *N,N*-Diethylanilin (1 eq), 90°C, 5h. c) **76-78** (1 eq), R_2-NH_2 (**79-82**, 1.2 eq), *N*-Ethyl-diisopropylamin (3 eq), THF, 75 °C, 6h. oder **78** (1 eq), R_2-NH_2 (**82**, 1.2 eq), Na_2CO_3 (1.4 eq), Tris(dibenzylidenacetone)dipalladium(0) (0.02 eq), Xantphos (0.06 eq), Toluol/ H_2O 1:4, 85 °C, 6h d) **62a, 83a-87a** (1 eq.), LiOH (5-10 eq), THF/ H_2O 5:1, 80°C, 18 h.

Ausgangspunkt der Synthese ist die Reaktion der Thiobarbitursäure (**69**) mit einem α -Bromethylester (**70-72**) unter basischer Katalyse von Triethylamin in einer nukleophilen Substitution zu dem entsprechenden Thioether-Derivat (**73-75**).

Anschließend werden die beiden Hydroxy-Substituenten des Pyrimidinrings mithilfe von Thionylchlorid durch Chlor substituiert (**76-78**), um die darauffolgende aromatische nukleophile Substitution mit einem primären aromatischen Amin (**79-82**) zu erleichtern. Im Falle des (4-Aminophenyl)(4-aminophenyl)methanon-Derivates (**78**) wurde dieser Schritt in einer Buchwald-Hartwig-Aminierung mit Tris(dibenzylidenaceton)dipalladium(0) und Xanthphos erreicht. Mit Lithiumhydroxid als Base erfolgte im letzten Schritt die Hydrolyse zur Carbonsäure (**62, 83-87**), die anschließend in vitro charakterisiert wurde.

3.1.2 Struktur-Wirkungs-Beziehung der Pirinixinsäure-Derivate

Anhand vorausgegangener Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Pirinixinsäure-Derivaten ist bekannt, dass der Substituent in α -Position der Carbonsäure einen Einfluss sowohl auf Subtyp-Selektivität als auch auf Potenz hat.²⁴¹⁻²⁴⁵ Je sperriger und starrer dieser Substituent ist, desto höher ist die Selektivität in Richtung PPAR γ , wie beispielhaft an den von Thieme et al. publizierten α -Naphthyl-Pirinixinsäure-Derivate als selektive PPAR γ Modulatoren (**68**, Tab. 4) zu sehen.²⁴³ Ein α -Hexyl-Substituent zeigt sowohl für die Aktivität an PPAR α als auch an PPAR γ die höchste in vitro-Aktivität (**64**). Um dies auch im Falle von MD78 (**62**) zu bestätigen, wurden die entsprechenden unsubstituierten und butyl-substituierten Derivate synthetisiert und in vitro-charakterisiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Substanz #	Struktur		In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen EC ₅₀ [μ M] (Max %)		
			PPAR α	PPAR δ	PPAR γ
4	-H		39.8 \pm 0.7 (100)	i.a.	53.7 \pm 0.8 (79 \pm 10)
88			1.2 \pm 0.2 (132 \pm 7)	i.a.	3.0 \pm 0.1 (120 \pm 35)
64			1.0 \pm 0.2 (146 \pm 13)	i.a.	3.6 \pm 0.2 (139 \pm 35)
83	-H		12.0 \pm 0.9 (133 \pm 8)	i.a.	12.4 \pm 0.2 (143 \pm 2)
84			0.35 \pm 0.06 (137 \pm 7)	i.a.	1.06 \pm 0.09 (135 \pm 5)
62			0.067 \pm 0.004 (95 \pm 3)	i.a.	0.69 \pm 0.02 (126 \pm 2)

Tab. 5: Einfluss der α -Alkylkette auf die Aktivität der Pirinixinsäure (**4**) und Derivate **62, 64, 83-84, 88**; i.a. = inaktiv bei 10 μ M

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.1 Pirinixinsäure-Derivate als duale PPAR α / γ -Agonisten

Dabei zeigte sich, dass die Pirinixinsäure (**4**) durch Einführung einer α -Hexylkette drastisch an Potenz gewinnt. Wird die Alkylkette um 2 C-Atome von Hexyl- auf Butyl-Kette (**88**) verkürzt, nimmt die Aktivität ab. Analog verhält es sich mit den 4-Phenylaminophenyl-Derivaten, wobei hier die Unterschiede zwischen unsubstituiertem, Butyl- und Hexyl-Derivat deutlich ausgeprägter sind (**62**, **83-84**). Die Variation im lipophilen Substituenten des Pyrimidin-Restes wurde vor allem auf die Verknüpfung der zwei Phenylreste fokussiert, um die Rolle des sekundären Amins in MD78 (**62**) zu determinieren. Dieses Vorgehen begründete sich in der Vielzahl der bereits synthetisierten Pirinixinsäure-Derivate, die sich hauptsächlich in ihrem lipophilen Substituenten unterscheiden (siehe Tab. 4), wobei keines der bisherigen Derivate dort eine hydrophile Partialstruktur aufweist. Dies könnte also das entscheidende Strukturelement sein, welches die höhere Potenz des MD78 (**62**) begründet. Die Ergebnisse zur Variation des lipophilen Substituenten sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Substanz #	Struktur	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen EC ₅₀ [μ M] (Max %)		
		PPAR α	PPAR δ	PPAR γ
62		0.067 \pm 0.004 (95 \pm 3)	i.a.	0.69 \pm 0.02 (126 \pm 2)
85		0.28 \pm 0.01 (134 \pm 17)	i.a.	1.20 \pm 0.22 (117 \pm 22)
86		0.28 \pm 0.03 (155 \pm 8)	i.a.	2.36 \pm 0.34 (146 \pm 12)
87		0.72 \pm 0.05 (127 \pm 6)	i.a.	0.49 \pm 0.05 (158 \pm 13)

Tab. 6: Variation des lipophilen Substituenten und Charakterisierung von **85-87** im Vergleich zu **62** an allen PPAR Subtypen, i.a. = inaktiv bei 10 μ M

Betrachtet man die in vitro-Aktivitäten, so zeichnete sich ab, dass eine funktionelle Gruppe, die in der Lage ist, Wasserstoffbrückenbindungen einzugehen, im Hinblick auf die PPAR α -Aktivität von Vorteil ist. Substanz **87**, die keinerlei solcher Wechselwirkungen eingehen kann, sondern anhand der durchgehend lipophilen Struktur nur zu Van-der-Waals-Wechselwirkungen fähig ist, zeigte den deutlichsten Verlust an Aktivität in Bezug auf PPAR α . Im Gegensatz dazu bewirkte dieser strukturelle Unterschied eine Zunahme der Aktivität an PPAR γ , welches mit der

deutlich lipophileren Ligand-Bindetasche von PPAR γ zu erklären ist (vergl. Kap. 1.2.4.3). Die Substanzen **85** und **86** erreichten an PPAR α eine äquipotente Aktivität, welche im Vergleich zur Aktivität der Substanz **62** eine Verschlechterung um den Faktor 4 darstellte. Beide Substanzen (**85** und **86**) sind zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen in der Lage, wobei sie beide als Wasserstoffbrücken-Akzeptoren fungieren. Substanz **62** hingegen agiert bei der Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung als ein Donator. Im Hinblick auf die Aktivität an PPAR γ zeigten beide Substanzen eine deutliche Verschlechterung der Aktivität, welches aufgrund der lipophilen Bindetasche zu erwarten war.

Zusammenfassend zeigte diese Struktur-Wirkungs-Beziehung den enormen Einfluss des lipophilen Substituenten am Pyrimidin-Ring auf die Aktivität von Pirinixinsäure-Derivate, gerade im Hinblick auf PPAR α . **62** stellte nach wie vor das potenteste Pirinixinsäure-Derivat an PPAR α dar. Die Einführung von Wasserstoffbrücken-Akzeptoren war ebenfalls ungünstig wie die Verwendung eines rein lipophilen Substituenten. Damit blieb weiterhin die These bestehen, dass das sekundäre Amin als Wasserstoffbrücken-Donator maßgeblich an der Potenz der Substanz **62** beteiligt ist. Somit stellte sich die Frage nach dem möglichen Bindemodus der Substanz und ob dieser die These untermauern könnte.

3.1.3 Bindungsmodus von MD78 (**62**)

Da die vorausgehende Studie zur Struktur-Wirkungs-Beziehung einen deutlichen Einfluss des lipophilen Substituenten am Pyrimidin-Ring gezeigt hat, wurde eine Docking-Studie von Juniorprofessor Dr. Ewgenij Proschak durchgeführt. Das Ziel der Docking-Studie von **62** an PPAR α war, mithilfe eines Bindemodus den Einfluss des sekundärenamins an der Aktivität an PPAR α zu erklären. Hierzu wurde **62** mithilfe von GOLD v4.0 in die Kristallstruktur der PPAR α -LBD in Co-Kristallisation mit Tesaglitazar (**17**) (PDB: 1I7G⁸⁹) gedockt. Diese Kristallstruktur wurde aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit des α -Carboxyl-Substituenten ausgewählt, obwohl zunächst naheliegender die kürzlich publizierte Kristallstruktur in Co-Kristallisation mit der Pirinixinsäure (**4**) erscheint.⁹² Diese erwies sich für das Docking-Modell von **62** als unpassend, da zum einen in der linken proximalen Tasche (Arm I) zu wenig Platz für den α -Alkylsubstituenten und zum anderen in der linken distalen Tasche (Arm II) für den deutlich längeren lipophilen Substituenten des MD78 (**62**) bestand. Neben den

typischen Wechselwirkungen der Aminosäuren Ser280, Tyr314, His440 und Tyr464 mit der Carboxylgruppe, die zur Stabilisierung der Helix 12 beitragen, zeigte das Docking auch die typische Orientierung der α -Alkylkette in die proximale Tasche des Arm I (Abbildung 24). Das sekundäre Amin des lipophilen Substituenten interagiert laut Docking-Modell mit einem konservierten Cluster von Wassermolekülen innerhalb der Ligand-Bindetasche von PPAR α und nimmt somit eine zentrale Bedeutung in dem Bindemodus ein. Dieser Wasserkcluster wird über Wasserstoff-Brückenbindungen zur Aminosäure Thr279 in der Ligand-Bindedomäne fixiert. Durch die vom sekundären Amin ausgehende, zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung vervollständigt sich das Wasserstoffbrückennetzwerk zwischen Ligand, Wasserkcluster und der Aminosäure Thr279.

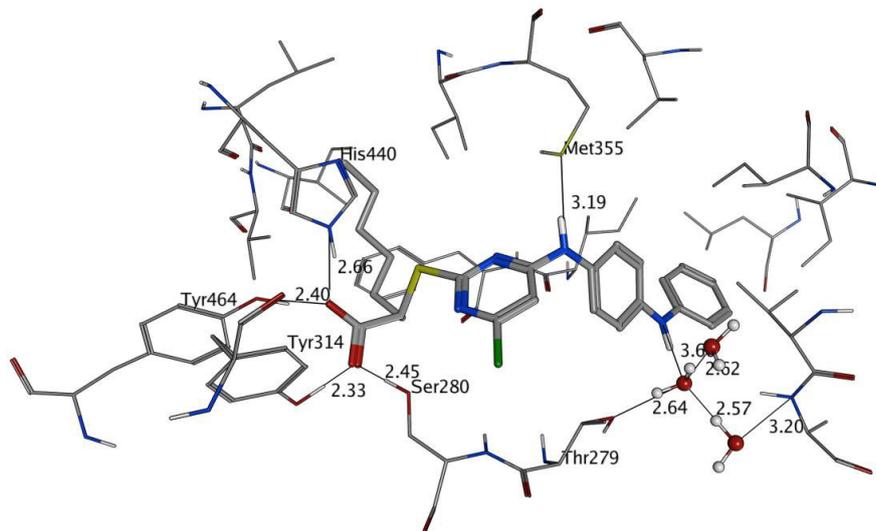


Abb. 24: Docking-Modell (PDB 117G): postulierter Bindemodus des MD78 (**62**) in PPAR α

Begutachtungen weiterer publizierter Kristallstrukturen zeigte, dass der Wasserkcluster konserviert in der Ligand-Bindedomäne von PPAR α auftritt (Tab. 7).

Dieser postulierte Bindemodus begründet auch die geringe Aktivität der Substanzen **85** und **86**. Sie können zwar durch polare Wechselwirkungen mit dem Wasserkcluster interagieren, dienen aber nicht als Wasserstoffbrücken-Donatoren und vervollständigen somit nicht das Wasserstoffbrückennetzwerk. Der rein lipophile Substituent der Substanz **87** kann keinerlei hydrophile Wechselwirkungen in dem Bereich der Ligand-Bindedomäne eingehen, sodass diese die geringste Aktivität zeigte. Weiterhin lag der Torsionswinkel der Methylen-Gruppe in Substanz **87** im Energieminimum mit 73° deutlich ungünstiger vor, als bei den hydrophileren

Substanzen **62** (32°), Substanz **85** (33°) und Substanz **86** (37°). Zusammengefasst unterstützte der aus der Docking-Studie hervorgegangene Bindemodus der Bindung des MD78 (**62**) an PPAR α die aus den Struktur-Wirkungs-Beziehungen entwickelte These. Durch den postulierten Bindemodus wurde die Aminosäure Thr279 als wichtige Domäne für die Bindung der **62** an PPAR α identifiziert.

PDB Kennung	Wasser 1	Wasser 2	Wasser 3
1I7G	x	x	x
1K7L	-	x	x
1KKQ	-	x	x
2NPA	-	x	x
2P54	x	x	x
2REW	x	x	x
2ZNN	x	x	x
3ET1	x	-	x
3FEI	x	-	x
3G8I	x	x	x
3KDT	-	-	-

Tab. 7: Vorhandensein des Wasserkusters in weiteren Kristallstrukturen. (x = vorhanden, - = nicht vorhanden)

Eine kürzlich veröffentlichte Studie zeigte ebenfalls einen wichtigen Einfluss der Aminosäure Thr279, vor allem auf die Subtyp-Selektivität der PPARs.²⁴⁶ In PPAR γ befindet sich an der entsprechenden Stelle der LBD die Aminosäure Arg288, welche unter anderem Charge-Transfer-Wechselwirkungen mit Liganden eingeht, wohingegen in PPAR α der Ligand-Rezeptor-Komplex hauptsächlich durch polare Interaktionen wie Wasserstoff-Brückenbindungen stabilisiert wird. Diese Studie steht im Einklang mit den Ergebnissen der oben dargestellten Struktur-Wirkungs-Beziehungen.

3.1.4 Mutationsstudie an der PPAR α -LBD

Das Ergebnis aus der Docking-Studie unterstreicht die durch die Struktur-Wirkungs-Beziehung vermutete tragende Rolle des sekundären Amins. Dies scheint in Wechselwirkung mit einem von Thr279 in der PPAR α -Bindetasche fixierten

3. Ergebnisse und Diskussionen

3.1 Pirinixinsäure-Derivate als duale PPAR α / γ -Agonisten

Wasserkluster zu stehen. Um diese These zu untermauern, wurde eine Mutationsstudie durchgeführt, bei der die zur Ausbildung einer Wasserstoffbrücke befähigte Aminosäure Thr279 durch eine unpolare Aminosäure ersetzt wurde, um das Wasserstoffbrückennetzwerk zwischen Ligand und Aminosäure in der Ligand-Bindetasche zu stören. Nach anschließender erneuter in vitro-Charakterisierung des Substanzsets dürften die unterschiedlichen Derivate weniger unterschiedliche Aktivitäten an PPAR α aufweisen.

Ausgehend von dem ursprünglich verwendeten PPAR α -Plasmid wurde mittels *polymerase chain reaction* (PCR) eine Punktmutation an Stelle 279 eingeführt. Primer, die 11 Basenpaare vor und nach der Stelle, die der Aminosäure 279 entspricht, sequenzhomolog zu der nativen Sequenz waren, wurden designt und in der PCR zur Erstellung des mutierten Plasmids eingesetzt. So wurde nur eine Base des entsprechenden Tripletcodons ausgetauscht, um ein Alanin anstelle des Threonin einführen zu können. Die verwendeten Primer haben folgende Sequenz:

Forward: CTGCCAGTGC**G**CGTCAGTGGAGA;

Reverse: TCTCCACTGA**C**GCGCACTGGCAG.

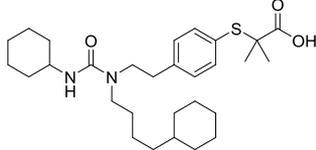
Nach Transformation in *Sure-Colis*, Selektion auf Antibiotika-haltigen Aggar-Platten und Maxi-Präparation der anschließend vermehrten Bakterienkolonien wurden Plasmid-Proben erhalten, deren Sequenz überprüft und die gewünschte Mutation bestätigt wurde.

Um den Einfluss dieser Mutation auf den in unserem Assay verwendeten Vollagonisten GW7647 (**5**) zu verifizieren, wurde der EC₅₀-Wert aus dem Wildtyp-Plasmid mit dem EC₅₀-Wert resultierend aus dem mutierten Plasmid (PPAR α Thr279Ala) verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Die beiden EC₅₀-Werte können als identisch angesehen werden, womit gezeigt werden konnte, dass der Austausch des Threonins durch ein Alanin weder die Faltung des Rezeptors, die Aktivierung durch Liganden noch die Coaktivator-Bindung entscheidend beeinflusst hat.

Die Derivate **62**, **85-87** wurden nach der erfolgreichen Etablierung des mutierten Plasmids erneut im Transaktivierungs-Assay charakterisiert. Die daraus ermittelten EC₅₀-Werte sind in Tabelle 8 zusammengefasst und unterstützen die These, dass die

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.1 Pirinixinsäure-Derivate als duale PPAR α / γ -Agonisten

deutlichen Aktivitätsunterschiede am Wildtyp zwischen den Derivaten auf eine durch das Thr279 vermittelte Interaktion zurückzuführen sind.

Substanz #	Struktur	In vitro-Aktivität PPAR EC ₅₀ [μ M] (Max %)	
		PPAR α WT	PPAR α Thr279Ala
			
5 (GW7647)		0.23 \pm 0.02 (122 \pm 5)	0.25 \pm 0.03 (90 \pm 3)
62		0.067 \pm 0.004 (95 \pm 3)	0.10 \pm 0.01 (115 \pm 4)
85		0.28 \pm 0.01 (134 \pm 17)	0.071 \pm 0.003 (105 \pm 2)
86		0.28 \pm 0.03 (155 \pm 8)	0.15 \pm 0.03 (87 \pm 5)
87		0.72 \pm 0.05 (127 \pm 6)	0.24 \pm 0.01 (83 \pm 1)

Tab. 8: in vitro-pharmakologische Charakterisierung des Vollagonisten GW7647 (**5**) und der Pirinixinsäure-Derivate **62**, **85-87** mit Wildtyp-Rezeptor-Plasmid und mutierten PPAR α -Plasmid

MD78 (**62**) zeigte eine geringe Abnahme der Aktivität im Transaktivierungs-Assay bei Verwendung der Mutante, was durch eine größere Freiheit des Wasserklusters zu erklären sein könnte. Die erhöhte Freiheit kommt zustande, da innerhalb der Mutante keine polare Aminosäure die Ausrichtung des Wasserstoffbrückennetzwerkes definiert. Die Substanzen **85-87** hingegen zeigten eine Zunahme der Aktivität im mutierten Rezeptor im Vergleich zum Wildtyp. Bei Substanz **87** wird dies auf die erhöhte Lipophile der Bindetasche zurückzuführen sein, wobei die Substanzen **85** und **86** offensichtlich von der erhöhten Entropie des Wasserklusters profitieren, eben weil sie mit ihren hydrophilen funktionellen Gruppen auch Wasserstoffbrückenbindungen eingehen können. Zu diesem Erklärungsansatz passte auch die Abnahme der Maximalaktivierung im Falle der Substanzen **85-87**, welche zu beobachten ist, wenn die Helices einer LBD nicht durch Interaktionen mit dem Ligand adäquat stabilisiert werden können.

3.1.5 Kritische Zusammenfassung und Ausblick

Die vorausgegangenen Arbeiten im Arbeitskreis Prof. Schubert-Zsilavec haben eine große Substanzbibliothek an Pirinixinsäure-Derivaten erzeugt, die unterschiedliche

3. Ergebnisse und Diskussionen

3.1 Pirinixinsäure-Derivate als duale PPAR α / γ -Agonisten

Aktivitäten und Selektivitätsprofile an den PPARs zeigen. Aufgrund ihrer regulatorischen Funktionen in metabolischen Prozessen, wie Fettsäurestoffwechsel und Glukosemetabolismus, und wegen ihres Einflusses auf Inflammation und Proliferation sind die PPARs seit ihrer Entdeckung im Fokus der Arzneimittelforschung. Die Fibrate als Liganden von PPAR α werden in der Therapie der Dyslipidämie eingesetzt, die Thiazolidindione (PPAR γ -Agonisten) nur noch eingeschränkt in der Therapie des Typ 2 Diabetes. Beide metabolischen Entgleisungen treten kombiniert im metabolischen Syndrom auf, wodurch die Hoffnung entstand, mittels dualen oder PPAR-panAgonisten das metabolische Syndrom mit einem einzelnen Wirkstoff zu therapieren und damit einen enormen Umsatzmarkt zu erschließen. Nach der anfänglichen Euphorie kam bald die Ernüchterung. Nicht nur in klinischen Entwicklungsprogrammen, sondern auch bei den bereits zugelassenen Thiazolidindionen, zwangen Sicherheitsbedenken zum Entwicklungsstopp oder Marktrücknahme. Daher erreichte trotz der anfänglich vielen dualen PPAR α / γ -Agonisten in der Entwicklung bisher nur Saroglitazar in Japan den Markt. Ein Teil der Sicherheitsbedenken ist direkt mit der Aktivierung von PPAR γ verknüpft, so kommt es zur Wasserretention, Ödembildung und daraus resultierend einem erhöhtem Risiko für Herz-Kreislauf-Zwischenfälle. Desweiteren fördert die Aktivierung von PPAR γ durch Verschiebung des Osteoblasten/Adipozyten-Signalweges das Osteoporose-Risiko. So scheint es also, als seien hier die Nebenwirkungen untrennbar von dem therapeutischen Potential und damit der Fall PPAR-Agonisten hoffnungslos. Doch das Bild ändert sich nicht nur, weil in den USA nach erneuter Auswertung der RECORD Studiendaten eine positive Bewertung des Risikoprofil von Rosiglitazon erfolgte und es damit einer Rücknahme der Verordnungsrestriktionen kam, sondern auch weil inzwischen mehr über die komplexe Aktivierung von nukleären Rezeptoren verstanden ist. Zum einen ist die gewebespezifische Aktivierung durch Modulatoren aufgrund gewebespezifischer Coaktivatoren und Corepressoren möglich. Desweiteren können nukleäre Rezeptoren partiell durch Substanzen aktiviert werden, die strukturell in der Ligand-Bindungsdomäne binden, aber in unterschiedlichem Maße diese stabilisieren. Auch durch posttranslationale Modifikationen kann die Regulation der Genexpression moduliert werden. Aus diesen Ansätzen ergibt sich die Hoffnung, therapeutische Effekte zu erzielen ohne unerwünschte Wirkungen auszulösen. Das bisherige Forschungsbestreben, den in vitro-Systemen potentesten und aktivsten Kandidaten

weiterzuentwickeln, war nicht der Weg zur Weisheit. Die Zukunft scheint bei den Modulatoren nukleärer Rezeptoren zu liegen, die in ihrem pharmakokinetischen und nicht pharmakologischen Profil optimiert wurden.

Die Pirinixinsäure (**4**) ist seit ihrer Entdeckung und Charakterisierung ein wertvolles Werkzeug, um die physiologische Rolle und therapeutische Potenz der PPAR α -Aktivierung zu untersuchen. Die Vielzahl der Derivate zeigte eine mikromolare Aktivität an den PPARs von der sich die Substanz MD78 (**62**) deutlich abhebt. Die Konkretisierung der Struktur-Wirkungs-Beziehung im Rahmen dieser Arbeit konnte dies auf den lipophilen Substituenten, und im Speziellen, auf das sekundäre Amin zurückführen. Der postulierte Bindemodus zeigte die typischen Interaktionen mit der Carboxylat-Funktion neben einer hydrophilen Wechselwirkung mit dem sekundären Amin. Hierbei handelt es sich um die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zu einem konserviert vorliegendem Wasserkcluster, der innerhalb der Ligand-Bindetasche über die Aminosäure Thr279 fixiert ist. Durch die zusätzliche Wasserstoffbrückenbindung, die das sekundäre Amin der **62** bereitstellt, ist das Wasserkcluster zur energetisch günstigsten Form vervollständigt. Durch eine Mutationsstudie konnte dieser postulierte Bindemodus bestätigt werden. Einen Beweis für diesen Bindemodus kann dennoch nur eine Kristallstruktur von PPAR α in Co-Kristallisation mit MD78 (**62**) liefern.

3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

Neben den PPARs spielen viele andere nukleäre Rezeptoren als Sensoren für Fettsäuren und Fettsäure-Mimetika eine Rolle, unter anderem FXR kann durch Fettsäuren aktiviert werden¹⁷² und kontrolliert als Gallensäurerezeptor diverse metabolische Gene. Deshalb wurde die Substanzbibliothek der Fettsäure-Mimetika im Arbeitskreis Schubert-Zsilavec in einem Gal4-FXR-Transaktivierungs-Assay von Ramona Steri in den Konzentrationen 10 μ M und 30 μ M gescreent, wobei die Pirinixinsäure-Derivate weder agonistische noch antagonistische Aktivität zeigten. Unter den ausgewählten Phenylthiohexansäuren besaßen HZ51 (**89**) und die entsprechende Säure HZ55 (**63**) schwache FXR-antagonistische Aktivitäten mit einer maximalen Inhibition von 55% (HZ51, **89**) und 63% (HZ55, **63**) bei 10 μ M.²⁴⁷

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

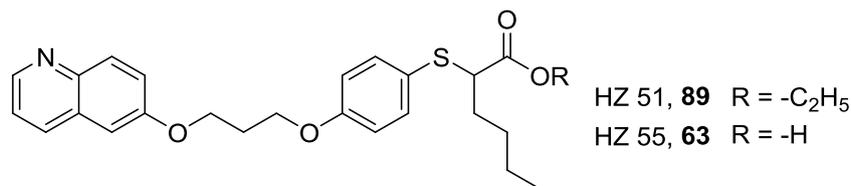


Abb. 25: Screening-Hits HZ51 (**89**) und HZ55 (**63**)

Bei der genaueren Charakterisierung ergaben sich die IC₅₀-Werte von 3,1 ± 0,4 µM (**89**) und 1,1 ± 0,2 µM (**51**) (Tabelle 9). Das Assaysystem wurde später jedoch von dem anfänglichen Gal4-Assay auf einen Vollängen-Rezeptor-Assay umgestellt, sodass die in dieser Arbeit beschriebenen Substanzen ausschließlich in dem Vollängen-Rezeptor-Assay charakterisiert worden sind. Zur Gewährleistung der Vergleichbarkeit wurden die IC₅₀-Werte der Substanzen **89** und **63** erneut ermittelt, wobei sich jedoch deutliche Abweichungen von den Ergebnissen aus dem Gal4-Assay ergaben, da **89** als inaktiv und **63** um eine Zehnerpotenz schwächer charakterisiert wurde.

Substanz #	In vitro-Aktivität FXR IC ₅₀ [µM] (Min %)	
	Gal4-FXR-Assay	Vollängen-FXR-Assay
89 (HZ51)	3.1 ± 0.4 (43 ± 4)	i.a.
63 (HZ55)	1.1 ± 0.2 (63 ± 3)	11.5 ± 0.9 (15 ± 5)

Tab. 9: in vitro-Aktivität von HZ51 (**89**) und HZ55 (**63**) an FXR, bestimmt im Gal4-Assay und Vollängen-Rezeptor-Assay, i.a. = inaktiv.

Die Phenylthiohexansäuren entstanden aus einer Weiterentwicklung der Pirinixinsäure (**4**) und sind für die Aktivität an den PPAR-Subtypen und Inhibition von mPGES-1 und 5-LO optimiert worden. In Tabelle 10 ist das von **89** und **63** bekannte pharmakologische Profil zusammengefasst.^{248,245}

Substanz #	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen EC ₅₀ [µM] (Max %)			mPGES-1 Restaktivität bei 10 µM	5-LO IC ₅₀ [µM] od. Restaktivität bei 10 µM	
	PPAR _α	PPAR _δ	PPAR _γ		zellbasiert	zellfrei
89 (HZ51)	n.b.	n.b.	n.b.	83.9 ± 3.9%	0.8 µM	68.3 ± 12.8%
63 (HZ55)	0.22 ± 0.04 (95 ± 5)	i.a.	1.30 ± 0.9 (49 ± 3)	i.a.	92.2 ± 3.4%	59.0 ± 12.7%

Tab. 10: in vitro-Aktivität von HZ51 (**89**) und HZ55 (**63**) an PPAR, mPGES-1 und 5-LO; n.b. = nicht bestimmt, i.a. = inaktiv

3. Ergebnisse und Diskussionen

3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

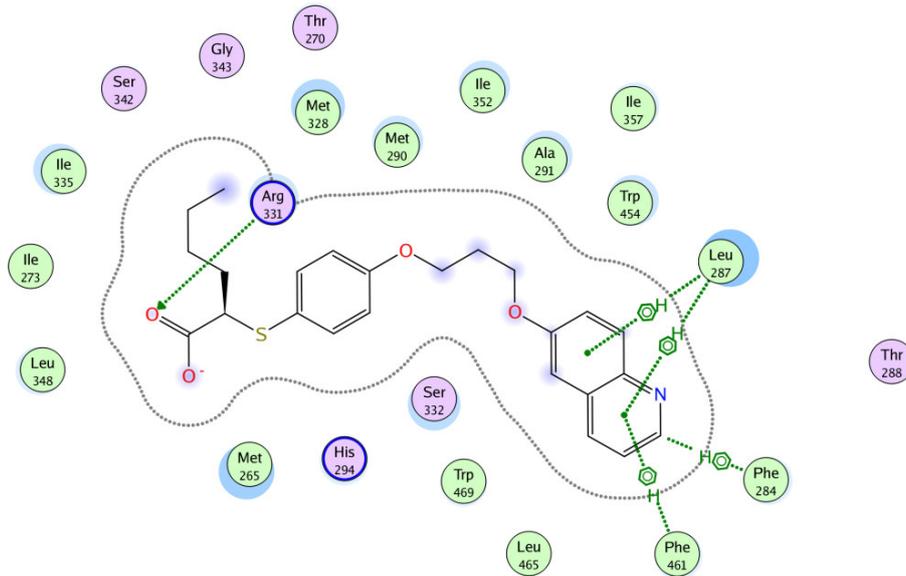


Abb. 26: A Docking Pose von HZ55 (**63**) in FXR.

Nach der Identifikation von **63** als Leitstruktur für die Entwicklung von FXR-Liganden, wurde der mögliche Bindemodus der Substanz an FXR mithilfe einer Docking-Studie (PDB: 3DCT) untersucht. Die Orientierung von **63** innerhalb der Bindetasche ähnelt der des FXR-Agonisten GW4064 (**26**) dahingehend, dass die Säurefunktion über eine vergleichbare neutralisierende Interaktion mit Arg331 fixiert wird und sich der lipophile Teil in Richtung Helix 12 erstreckt. Dennoch fiel eine nicht optimale Positionierung der Carboxylat-Gruppe mit zu großem Abstand zwischen Carboxylgruppe und Chinolin-Ring auf. Die Verkürzung der 2-Phenylmercaptoessigsäure zu einer Benzoesäure erschien vorteilhafter (Abb. 26).

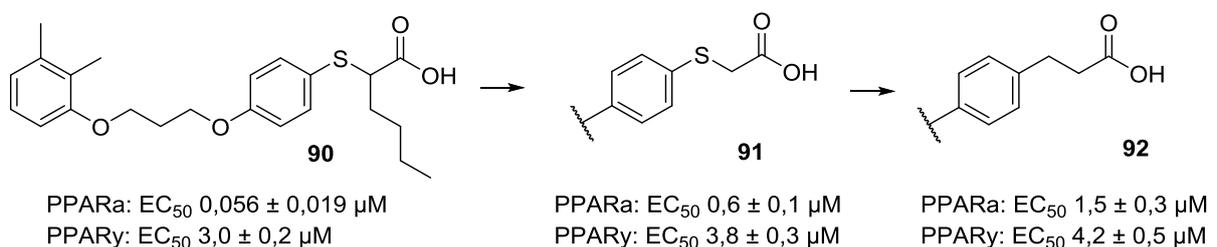
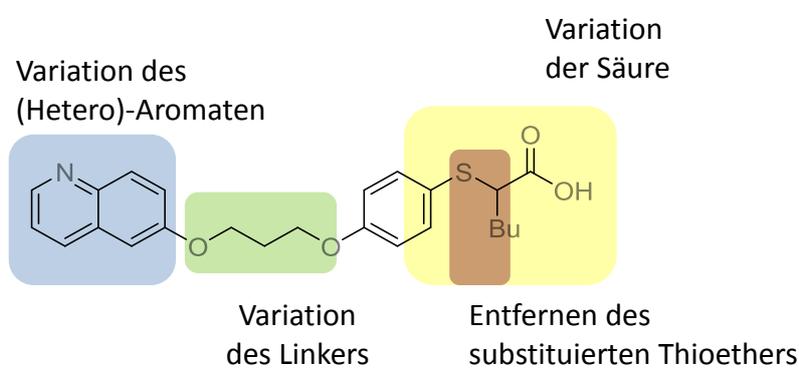


Abb. 27: SAR zum Einfluss des α-Alkyl-Substituenten und Thioethers an PPARs am Beispiel **90-92**

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde die SAR des HZ55 (**63**) zur Entwicklung selektiver FXR-Liganden untersucht. Um im ersten Schritt eine Selektivität für FXR zu erreichen, wurden vorausgegangene Struktur-Wirkungs-Beziehungen genutzt, aus denen bekannt ist, dass sowohl der Thioether als auch der Alkyl-Substituent in α-Position zur Carboxylgruppe einen deutlichen Einfluss auf die Aktivität an den PPAR-

Subtypen haben. So verliert das unsubstituierte Derivat (**91**) im Vergleich zum Butyl-Derivat (**90**) ca. einen Faktor 10 an Aktivität an PPAR α , was durch Ersetzen des Thioethers mit einer Methylen-Gruppe (**92**) noch verstärkt wird (auf Faktor 20, Abb 27).²⁴⁵

Weiterhin ist die Bindetasche der PPAR-Rezeptoren mit $>1300 \text{ \AA}^3$ sehr groß, sodass eine Verkleinerung des Liganden zu weiterer Verringerung der Aktivität an den PPARs beitragen kann. Da auch der Bindemodus aus der Docking-Studie eine Verkürzung vorschlägt, wurde eine Optimierungsstrategie entwickelt, die in Abb. 28 zusammengefasst ist.



- Variation der Säure in der Substitutionsposition, sowie Ersatz der Säure durch nicht azide Funktionen
- Variation des Propyl-Linkers in der Länge
- Variation des lipophilen, aromatische Substituenten durch Austausch gegen verschiedene aromatische Systeme unterschiedlicher Größe und Substitutionsmuster

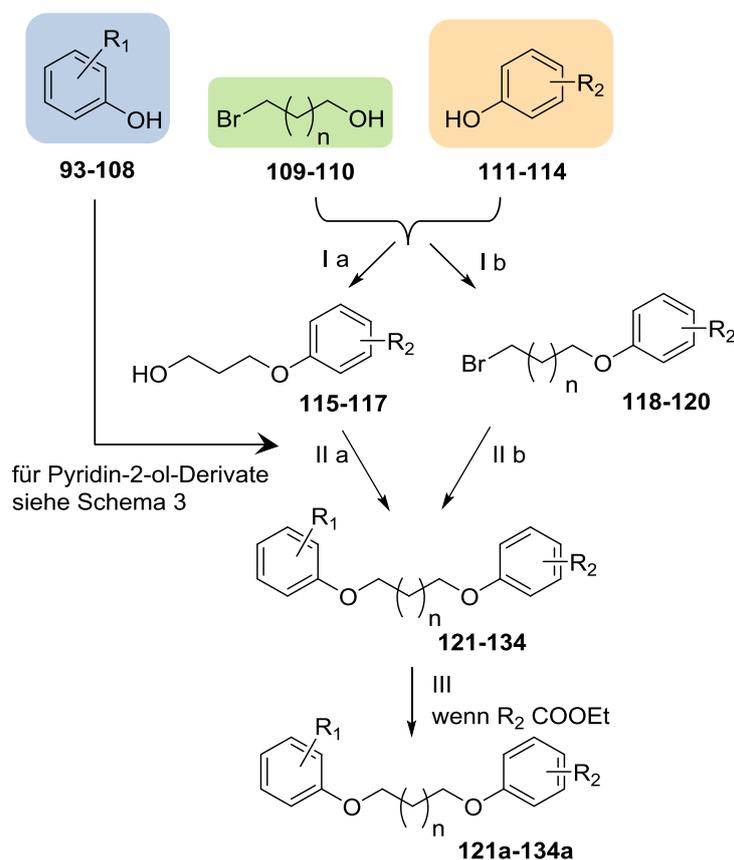
Abb. 28: Leitstruktur HZ55 (**63**) und mögliche Optimierungspunkte

3.2.1 Chemische Synthesen

Die Darstellung der (hetero-)aromatischen Derivate **121-127** und **131-134** sowie der Substanzen mit variiertem Linker und Säurefunktion **115-117** und **128-130** erfolgte in einer linearen Synthesestrategie, wobei zunächst die beiden Etherbindungen geknüpft und als letztes deren Säurefunktion entschützt wurde (Schema 2, Route a und b). Die 2-Pyridin- bzw. Pyrimidinderivate **140-146** wurden analog synthetisiert (Schema 3, Route b), und anschließend zu den Verbindungen mit größeren aromatischen Substituenten (**164-172**) weiter umgesetzt. Für die Synthese der zur SAR-Untersuchung notwendigen 2-Pyridinonderivate **135-139** und **156-163** wurde

außerdem die N-Alkylierung des 2-Pyridinontautomers etabliert und optimiert (Schema 3 Route a).

In der ersten Synthesestrategie (Schema 2, Route a) zur Darstellung der Verbindungen **121/a-134/a** mit zwei Etherfunktionen wurde zuerst in einer *Williamson*-ähnlichen nukleophilen Substitution aus einem Phenol-Derivat (**111-114**) und einem Hydroxyalkylbromid (**109**) in Acetonitril (ACN) und in Gegenwart von Kaliumcarbonat der erste Ether gebildet (Ia, **115-117**). Durch Deprotonierung der phenolischen Hydroxyfunktion in **111-114** entstand dabei ein gutes Nukleophil zur Reaktion mit dem Hydroxyalkylbromid (**109**). Um eine Mehrfachsubstitution zu vermeiden, wurde ein Hydroxyalkylbromid anstelle eines Diols eingesetzt.



Schema 2: Ia) **93-108** (1.0 eq), **109** (1.5 eq), K_2CO_3 (1.5 eq), ACN, 70 °C, 18h. Ib) **93-108** (1.5 eq), **93-108** (1 eq), TPP (1.2 eq), DIAD (1.2 eq), THF, 0°C -> RT, 18-36 h. IIa) **115-117** (1 eq), **93-108** (1.5 eq), TPP (1.2 eq), DEAD/DIAD (1.2 eq), THF, 0°C -> RT, 18-36 h. IIb) **118-120** (1 eq), **93-108** (1.5 eq), K_2CO_3 (1.5 eq), ACN, 70 °C, 18 h. III) **121-134** (1 eq), LiOH (10 eq), THF/H₂O/MeOH 10/5/1, 75°C, 18-72 h. $n=0-1$.

Die zweite Etherbildung (IIa) erfolgte anschließend mittels einer Mitsunobu-Reaktion. Hierzu wurde das Ethyl-4-(3-hydroxypropyloxy)benzoat (**115**) bzw. analoge Derivate

(**116-117**) mit dem zu verknüpfenden Alkohol (**93-98, 101**) und Triphenylphosphin (TPP) in THF gelöst und Diethylazodicarboxylat (DEAD) bzw. Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) hinzugefügt. Während der Zugabe von DEAD/DIAD wurde die Reaktion im Eisbad gekühlt und rührte anschließend bei Raumtemperatur für 18 Stunden. Abschließende Behandlung der Ester in THF mit wässriger Lithiumhydroxid-Lösung setzte die Carbonsäure frei (**121a-134a**).

Die Mitsunobu-Reaktion erlaubt grundsätzlich die Umsetzung von Alkoholen zu Ethern, Estern und vielen weiteren funktionellen Gruppen.²⁴⁹ Nebenprodukt-Bildung wird dabei vermindert, wenn das eingesetzte Nukleophil ein Protonendonator ist, damit das DEAD/DIAD im Laufe der Reaktion protoniert werden kann. Initialschritt der Reaktion ist die Bildung einer Phosphonium-Verbindung aus Triphenylphosphin und DEAD/DIAD, die anschließend mit dem eingesetzten Alkohol reagiert, wobei reduziertes DEAD/DIAD die Verbindung verlässt und der Alkohol als Abgangsgruppe aktiviert wird. Je nach eingesetztem Nukleophil entsteht nun ein Ether, Ester etc. unter Inversion der Stereochemie. Zurück bleiben Diisopropylhydrazinodicarboxylat und oxidiertes TPP neben weiteren anfallenden Nebenprodukten.

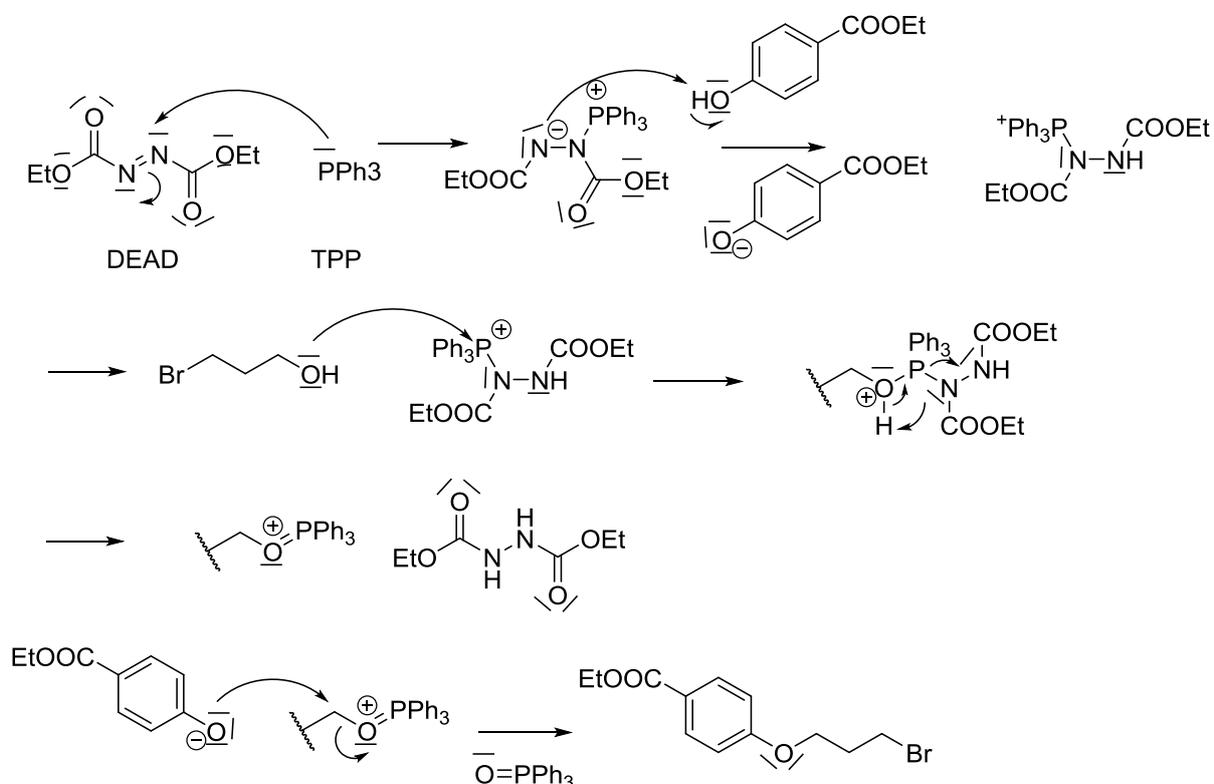
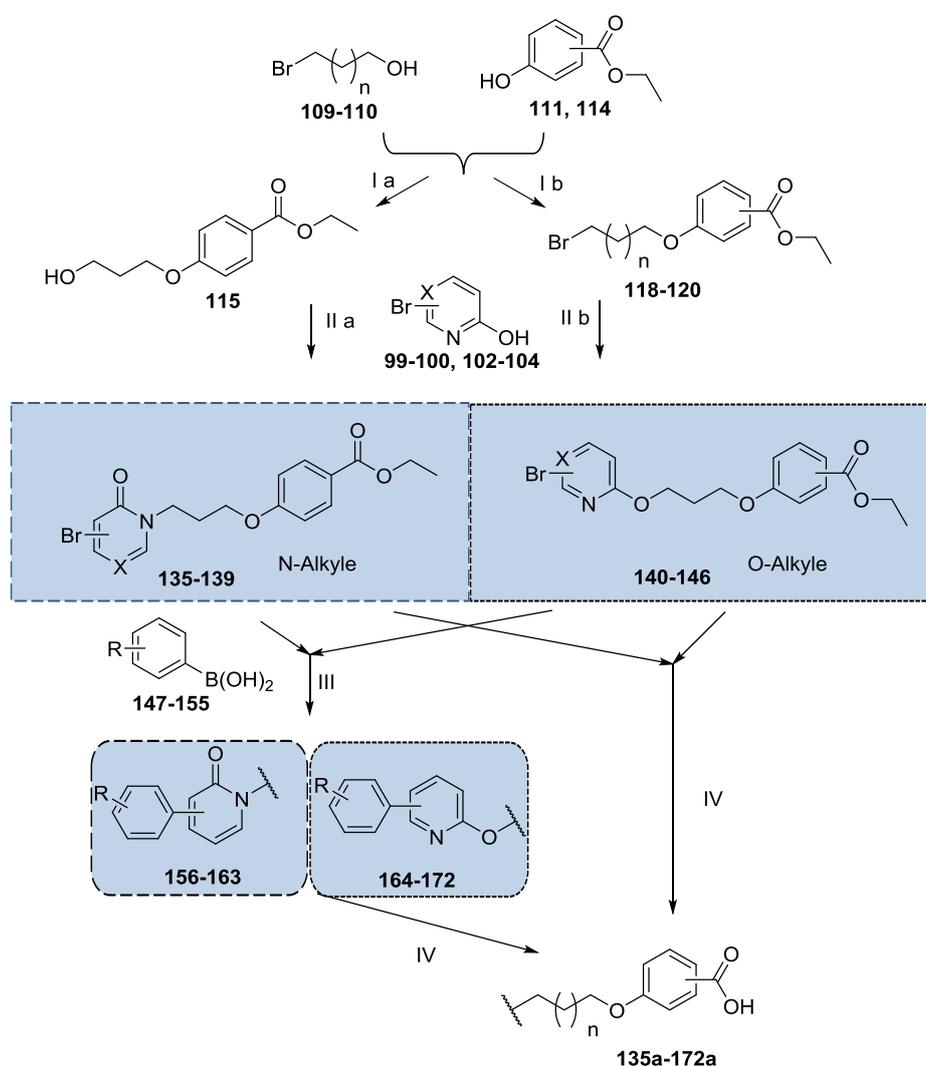


Abb. 29: Reaktionsmechanismus Mitsunobu Reaktion

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

Die Synthese nach Route a) brachte zwei Nachteile mit sich, da zum einen die Mitsunobu-Reaktion eine höhere Menge an Nebenprodukten generierte und in dieser Synthese-Reihenfolge jede Substanz einzeln aufgereinigt werden musste.

Um die aufwendigere Aufreinigung der Mitsunobu-Reaktion zu minimieren, wurde in einer zweiten Synthesestrategie (Schema 2, Route b)) die Reihenfolge der gewählten Reaktionen umgekehrt, sodass im ersten Schritt die Mitsunobu-Reaktion verwendet wurde, um große Mengen der Vorstufe zu gewinnen, mit der dann im zweiten Schritt mittels *Williamson*-ähnlicher nukleophiler Substitution der zweite Ether gebildet wurde. Im Anschluss daran erfolgte die Verseifung der Ester wie oben beschrieben.



Schema 3: Ia) **111/114** (1.0 eq), **109-110** (1.5 eq), K_2CO_3 (1.5 eq), ACN, 70 °C, 18h. Ib) **111/114** (1.5 eq), **109-110** (1 eq), TPP (1.2 eq), DIAD/DEAD (1.2 eq), THF, 0°C -> RT, 18-36h. IIa) **115** (1 eq), **99-100, 102-104** (1.5 eq), TPP (1.2 eq), DEAD/DIAD (1.2 eq), THF, 0°C -> RT, 18-36h. IIb) **118-120** (1 eq), **99-100, 102-104** (1.5 eq), K_2CO_3 (1.5 eq), ACN, 70 °C, 18h. III) **135-146** (1.0 eq), **147-155** (1 eq.), Cs_2CO_3 (2.5 eq), Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) (0.1 eq), Toluol/EtOH, RF, 18-36h. IV) **135-146, 156-172** (1 eq), LiOH (10 eq), THF/H₂O/MeOH 10/5/1, 75°C, 18-72h.

Die Mitsunobu-Reaktion toleriert außerdem eine Vielzahl an Nukleophilen, was dann relevant wird, wenn das verwendete Edukt mehrere nukleophile Strukturelemente enthält. So führte der Einsatz von substituierten Pyridin-2-ol-Derivaten nicht nur zur beabsichtigten Ether-Bildung, sondern durch die vorliegende Pyridin-2-ol/2-Pyridinon-Tautomerie auch zu einer N-Alkylierung (Schema 3).

Verwendet man in der *Williamson*-ähnlichen Reaktion Pyridin-2-ol-Derivate als Edukte, muss ebenfalls die Tautomerie beachtet werden, da sowohl der deprotonierte Alkohol, als auch das Amin gute Nukleophile sind. Somit ist die Entstehung des O-Alkyls und des N-Alkyls möglich, wobei die O-Alkylierung kinetisch und die N-Alkylierung thermodynamisch begünstigt ist.²⁵⁰ Das Tautomerengleichgewicht lässt sich durch die Wahl der Reaktionsbedingungen, wie Lösungsmittel und Gegenion der Base, verschieben (siehe Tab. 11).

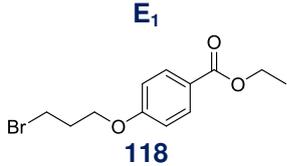
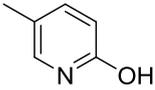
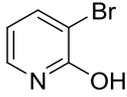
	O-Alkylierung	N-Alkylierung	Literatur
Lösungsmittel	apolare, schlecht solvatisierend (Hexan, Pentan, Benzen)	polare (ACN, DMF, Aceton)	251
Gegenion	Ag ⁺	K ⁺ , Na ⁺ , Li ⁺	252,250
Halogen-Alkyl-Komponente	tertiäre Alkylreste	primäre Alkylreste	252
Substituenten des Pyridinol/Pyridinon	elektronenschiebend in 5-Position	elektronenziehende in 3- oder 5-Position	251
Base	starke Base	schwache Base	253

Tab. 11: Einfluss verschiedener Reaktionsbedingungen auf das Tautomerengleichgewicht N-Alkylierung/O-Alkylierung

Daneben übt auch das Substitutionsmuster des Pyridinols/Pyridinons einen deutlichen Einfluss, sowohl durch sterische Hinderung, als auch durch induktive und mesomere Effekte, auf die Produktzusammensetzung aus.

Für die hier dargestellten Verbindungen gelang eine N-Alkylierung in guten Ausbeuten jedoch nur durch die Verwendung der Mitsunobu-Reaktion. Im Falle der *Williamson*-ähnlichen Substitution kam es fast immer bevorzugt zur O-Alkylierung, trotz Variation der Reaktionsbedingungen, die in Tabelle 12 zusammengefasst sind. Dies scheint im Widerspruch zu den bisher veröffentlichten Untersuchungen der Pyridinol/Pyridinon-Tautomerie zu stehen (siehe Tabelle 11).^{251,252,250}

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

 E₁ 118	LM	Gegenion	Temperatur °C	Reaktions- dauer	O-R/N-R /118 Verhältnis*
+ E₂					
	ACN	K ⁺	75	22h	0/1/2
	Toluol	Ag ⁺	RT	24h	0/0/1
	Toluol	Ag ⁺	75	24h	0/0/1
	DMF	K ⁺	RT	5h	14/4/3
	DMF	Na ⁺	RT	5h	4/1/2
	DMF	Na ⁺	75	2h	2/1/0
	DMF	Li ⁺	75	2h	0/0/1
	DMF	Ag ⁺	RT	5h	0/0/1
	EtOH	K ⁺	RT	5h	1/0/2
	EtOH	Na ⁺	RT	5h	1/0/2

Tab. 12: Optimierung der Reaktionsbedingungen mit den in dieser Arbeit eingesetzten Edukten und entstandenes Tautomeren-Verhältnis, *über Integration der CH₂-N/CH₂-O-Signale im NMR ausgewertet, RT = Raumtemperatur

Somit ließ sich in den meisten Fällen das N-Alkyl zuverlässig durch die Synthese mittels *Mitsunobu*-Reaktion erreichen, das O-Alkyl hingegen durch die *Williamson*-ähnliche Reaktion. Entsprechend wurden die Pyridinolderivate nach Syntheseroute IIb nach Williamson aus dem entsprechenden Alkylbromid und die 2-Pyridinonderivate gemäß Syntheseroute IIa nach Mitsunobu aus dem geeigneten aliphatischen Alkohol dargestellt (Schema 3).

Nach der Synthese der Pyridinol- (**140-146**) und Pyridinonderivate (**135-139**) wurden die erhaltenen Substanzen zur Erweiterung der SAR um zusätzliche Substituenten vergrößert. Dazu wurde auf Stufe der Ester der bromsubstituierten Pyridinol/Pyridinon-Derivate (**144**, **137**) eine Suzuki-Kopplung durchgeführt (III in Schema 3) und die Carbonsäuren danach durch alkalische Hydrolyse wie oben beschrieben freigesetzt.

Die Suzuki-Reaktion ermöglicht eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung von Arylbromiden und Arylboronsäuren durch die Biphenyl-Derivate zugänglich sind. Im ersten Schritt des Reaktionszyklus inseriert Palladium(0) oxidativ in die Aryl-

Halogen-Bindung. Aufgrund der basischen Reaktionsbedingungen entsteht anschließend ein elektrophiles Organopalladium(II)-Hydroxid welches mit einem aromatischen Boronsäuresalz in einer Transmetallierung reagiert. Dadurch entsteht ein neuer Palladium(II)Komplex, der nun zwei aromatische Liganden trägt. Im letzten Schritt des Zyklus wird durch reduktive Eliminierung der Katalysator rückgewonnen und die C-C-Bindung zwischen den aromatischen Liganden gebildet.

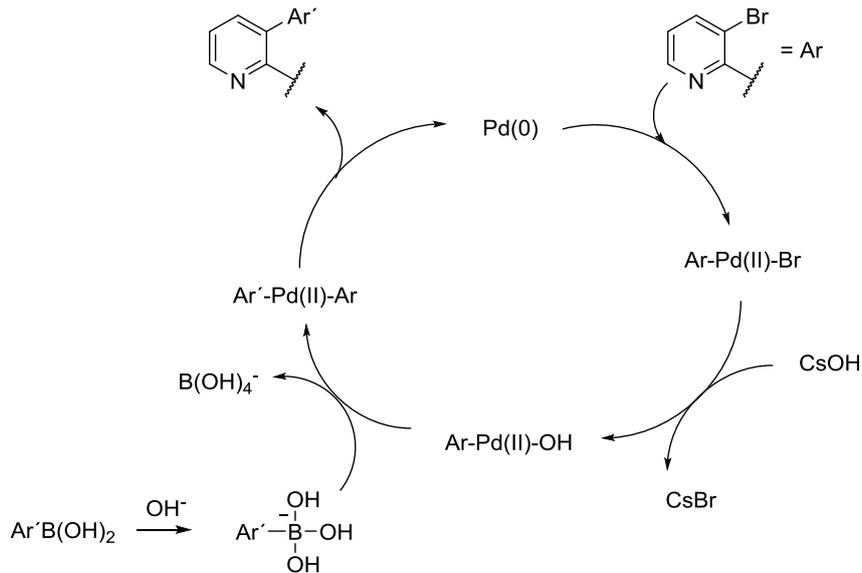


Abb. 30: Reaktionsmechanismus der Suzuki-Kupplung

3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen der FXR-Liganden

Entsprechend der in Kap 3.2 präsentierten geplanten SAR-Untersuchungen wurde in der ersten SAR-Studie zunächst der aromatische Substituent variiert. Die Ergebnisse dieser Studie sind in der Tabelle 13 aufgeführt. Im Screening-Hit HZ55 (**63**) bildete ein 6-Hydroxy-Chinolin den aromatischen Substituenten, weshalb zunächst die Chinolin-Derivate **121-122a** sowie analoge Indole **123/a** und Benzimidazole **124/a** untersucht wurden. Basierend auf den virtuellen Ergebnissen und den oben diskutierten Erkenntnissen aus SAR-Studien an PPAR enthielten **121-124a** sowie alle folgenden Substanzen eine Benzoesäure-Partialstruktur als Kopfgruppe. Alle mit einem N-haltigen anillierten Heterozyklus substituierten Derivate stellten sich jedoch als inaktiv an FXR heraus.

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂			R ₁	R ₂	
121		-C ₂ H ₅	i.a.	125		-C ₂ H ₅	13.9 ± 2.3 (37 ± 2)
121a		-H	i.a.	125a		-H	i.a.
122		-C ₂ H ₅	i.a.	126		-C ₂ H ₅	12.2 ± 3.3 (13.7 ± 1.7)
122a		-H	i.a.	126a		-H	i.a.
123		-C ₂ H ₅	i.a.	140		-C ₂ H ₅	3.9 ± 0.3 (30 ± 1)
123a		-H	n.b.	140a		-H	i.a.
124		-C ₂ H ₅	i.a.	141		-C ₂ H ₅	4.0 ± 0.6 (14.5 ± 0.5)
124a		-H	n.b.	141a		-H	n.b.
115	H-	-C ₂ H ₅	3.8 ± 0.6 (10.3 ± 0.3)	127		-C ₂ H ₅	13.9 ± 1.9 (21.0 ± 0.9)
115a	H-	-H	i.a.	127a		-H	6.7 ± 1.3 (12.6 ± 0.5)

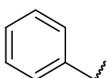
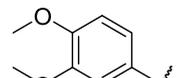
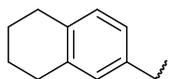
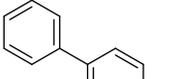
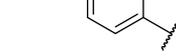
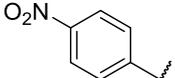
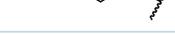
Tab. 13: Variation des (Hetero-)Aromaten: in vitro-Aktivität der Verbindungen **115/a**, **121-127a**, **140-141a** an FXR; i.a. = inaktiv bei 30 μM, n.b. = nicht bestimmt.

Durch Verkleinerung des lipophilen Substituenten zu monozyklischen Aromaten in den Pyridin-Derivaten **125-126a**, **140/a** und dem Pyrimidin-Derivat **141/a** führte zu agonistischer Aktivität an FXR, wobei jeweils nur der Ester Aktivität zeigte. Der Vergleich der Substanzen **125**, **126** und **140** zeigte einen deutlichen Einfluss der Position des Stickstoffs im Heteroaromaten auf den EC₅₀-Wert und die maximale Aktivierung. Die Substanzen **125** und **140**, deren Pyridin-Stickstoff die ortho- bzw. para-Position einnahm, besaßen mit einer Maximalaktivierung von 37% (**125**) bzw. 30% (**140**) eine höhere Aktivität an FXR, als das Derivat mit Stickstoff in meta-Stellung (**126**, 17%). Die höchste Affinität zeigte **140** mit einem EC₅₀-Wert von 3,9 ± 0,3 μM. Durch Kombination des Stickstoff-Substitutionsmusters der Derivate **125** und **140** in 1,3-Pyrimidin-Derivat **141** erreichte eine mit **140** vergleichbare Affinität (EC₅₀ 4,0 ± 0,6 μM), aber eine geringere Maximalaktivierung (14,5 ± 0,5%), sodass die Kombination nicht überlegen war. Durch die Verwendung eines Phenyl-Strukturelementes erhielt man erstmals Derivate, bei denen sowohl der Ester (**127**) als auch die Säure (**127a**) agonistische Aktivität an FXR zeigten, was die Vermutung nahelegte, dass sich der Bindemodus des Säure-Derivates (**127a**) von dem der Ester unterscheidet. Außerdem zeigte die Aktivität von **127**, dass der heteroaromatische

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

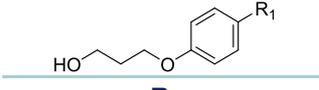
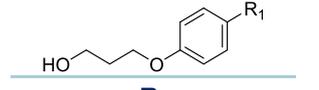
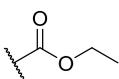
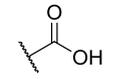
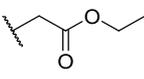
Substituent nicht essentiell für eine Aktivität an FXR ist. Das Fragment **115** belegte vielmehr, dass der lipophile Substituent für agonistische Aktivität an FXR gänzlich verzichtbar ist. Trotz seiner geringen Größe zeigte dieses Derivat eine zu Substanz **140** vergleichbaren EC_{50} -Wert ($3,8 \pm 0,6 \mu\text{M}$), mit geringerer Maximalaktivierung ($10,3 \pm 0,3 \%$). Zusammenfassend deutete die erste SAR-Studie an, dass ein (hetero)aromatischer Substituent zur Stabilisierung der Ligand-Bindedomäne, die sich an der Maximalaktivierung zeigt, beiträgt, die Bindungsaffinität aber vor allem von den restlichen Strukturelementen abhängt (vergl. **115**). Obwohl Antagonist Ausgangspunkt der Struktur-Wirkungs-Beziehung war, ist keine antagonistische Substanz im ersten Substanzset erhalten worden. Die Verbindung **140** zeigte das interessanteste Profil mit der höchsten Affinität ($EC_{50} 3,9 \pm 0,3 \mu\text{M}$) und Maximalaktivierung ($30 \pm 1\%$).

Anschließend wurde die SAR von **127** näher untersucht, da der Phenyl-Substituent im Vergleich zu den Heteroaromaten eine neue Charakteristik zeigte, indem auch die Säure an FXR aktiv war. Eine Vergrößerung des lipophilen Substituenten durch Verwendung eines anillierten Cyclohexyl-Substituenten oder die Einführung eines Elektronen-ziehenden Substituenten in para-Position bewirkte einen Aktivitätsverlust (**131-132a**). Dagegen erhielt man eine potente, FXR-agonistisch aktive Säure (**134a**) im Falle eines Biphenyl-Substituenten, die als Ausgangspunkt vertiefender SAR-Studien genutzt werden könnte. Jedoch wurde aufgrund des PPAR-Profiles von **134a** (siehe unten) die SAR an dieser Stelle nicht weiter verfolgt.

#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC_{50} [μM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC_{50} [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂			R ₁	R ₂	
127		-C ₂ H ₅	13.9 ± 1.9 (21.0 ± 0.9)	133		-C ₂ H ₅	i.a.
127a		-H	6.7 ± 1.3 (12.6 ± 0.5)	133a		-H	16.8 ± 3.5 (11.0 ± 0.3)
131		-C ₂ H ₅	i.a.	134		-C ₂ H ₅	i.a.
131a		-H	i.a.	134a		-H	1.42 ± 0.46 (14.3 ± 0.5)
132		-C ₂ H ₅	i.a.				
132a		-H	i.a.				

Tab. 14: in vitro-Aktivität der Substanzen **127/a**, **131-134a** an FXR; i.a. = inaktiv bei 30 μM

Da das erste Substanzset eine Aktivität der Ester, nicht aber der Säuren gezeigt hatte, wurde nun ausgehend vom verkürzten Fragment **115** untersucht, welchen Einfluss Änderungen im Bereich der Kopfgruppe auf die Aktivität haben (siehe Tab. 15). Es zeigte sich, dass ein Methylketon (**116**) als Carbonyl-Derivat deutlich an Aktivität verliert, ebenso bei Verwendung eines Phenyllessigsäureesters (**117**), sodass die Ermittlung eines EC₅₀-Wertes in diesem Falle nicht möglich war.

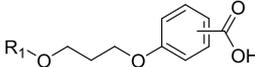
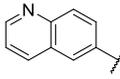
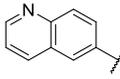
#	Struktur  R ₁	In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)	#	Struktur  R ₁	In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)
115		3.8 ± 0.6 (10.3 ± 0.3)	116		17.0 ± 1.1 (12.5 ± 0.2)
115a		i.a.	117		RA: 8.8 ± 0.6 % @ 30 μM

Tab. 15: Variation der Carbonylfunktion: in vitro-Aktivität der Verbindungen **115-117** an FXR. RA = Restaktivität, i.a. = inaktiv bei 30μM

Bei der Variation der Kopfgruppe stellte sich Benzoesäureethylester **115** als aktivstes Derivat heraus, sodass im nächsten Schritt die Substitutionsposition des Esters untersucht und der meta- mit dem para-Hydroxy-Benzoesäure-Ester verglichen wurden (siehe Tab. 16). Durch Verschiebung des Esters von der para- (**140**) zur meta-Position (**142**) kam es zu einer Zunahme der Affinität (von 3,9 μM auf knapp 1 μM) bei einer gleichzeitigen Abnahme der Maximalaktivierung von 30% auf 19%. Für Strukturoptimierung ist die Maximalaktivierung jedoch ein nicht zu vernachlässigender Parameter, denn je niedriger die Maximalaktivierung durch die Substanzen ausfällt, desto geringer ist der Unterschied zu dem Nullwert des Reporter-gen-Assays, der im Falle von zellbasierten Testsystemen im Bereich von 5-10% liegt. Somit ist ein signifikantes Ergebnis bei niedriger Maximalaktivierung schwer zu erreichen. Weiterhin kann eine niedrige Maximalaktivierung (10 – 15%) als Ausgangspunkt einer Strukturoptimierung durch minimale Variationen zu einem vollständigen Verlust der Aktivität führen. Eine Maximalaktivierung von 19% ist tolerabel, aber nicht optimal als Ausgangspunkt weiterer Strukturoptimierungen.

Daher wurde der Effekt einer Verschiebung des Benzoesäureesters auch an der Substanz mit der bisher größten Maximalaktivierung (**125**, 37% max) untersucht und auch hier führte die meta-Substitution zu einer dramatischen Abnahme der

Maximalaktivierung von 37% auf 10% (**128**) (Tab. 16). Betrachtet man dagegen die Benzoessäure-Derivate **142a** und **129a**, deren para-substituierte Derivate (**140a** und **121a**) inaktiv waren, resultierte die meta-Substitution in aktiven Substanzen. Dies deutet auf einen veränderten Bindemodus hin, der zu einer geringeren Stabilisierung der LBD führt, denn auch hier fällt die geringe Maximalaktivierung auf.

#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)
	R ₁	Substitution			R ₁	Substitution	
140		para	3.9 ± 0.3 (30 ± 1)	125		para	13.9 ± 2.3 (37 ± 2)
142		meta	1.1 ± 0.2 (19.3 ± 0.5)	128		meta	10.1 ± 0.8 (10.2 ± 0.3)
							
140a		para	i.a.	121a		para	i.a.
142a		meta	7.2 ± 0.8 (10.2 ± 0.3)	129a		meta	IC ₅₀ 7.2 ± 0.1 (44.0 ± 0.3)

Tab. 16: Variation des Substitutionsmusters des Benzoessäureesters; i.a. = inaktiv bei 30 μM.

Innerhalb der ersten SAR-Untersuchungen war **142** die affinste Verbindung, das beste Gesamtprofil mit höherer Maximalaktivierung fand sich jedoch in Derivat **140**, weshalb es als Ausgangspunkt für die folgende Optimierung diene.

Im nächsten Schritt wurde der Einfluss des Linkers auf die Aktivität an FXR untersucht und hierzu die heteroaromatischen Substituenten der bisher aktivsten Verbindung (**140**) sowie der ursprünglichen Leitstruktur (**63**) mit einem Butyl-Linker kombiniert. Durch die Verlängerung des Linkers nahm die Maximalaktivierung im Fall des 2-Pyridin-Substituenten (**143**) auf 9% bei vergleichbarer Affinität ab. Beim 6-Hydroxychinolin-Derivat (**130**) führte die Verlängerung zu einem Butyl-Linker dagegen von einer inaktiven Verbindung (**121**) zu einer antagonistisch aktiven Substanz. Im Vergleich zur Leitstruktur **63** und der meta-substituierten Verbindung **129a** zeigte **130** allerdings einen schlechteren IC₅₀-Wert mit geringerer Maximalinhibition.

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [µM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [µM] (Max %)
	n	R ₁			n	R ₂	
140	1	-C ₂ H ₅	3.9 ± 0.3 (30 ± 1)	121	1	-C ₂ H ₅	i.a.
140a		-H	i.a.	121a		-H	i.a.
143	2	-C ₂ H ₅	5.6 ± 1.0 (9.3 ± 0.4)	130	2	-C ₂ H ₅	IC ₅₀ 18.6 ± 2.8 (63.6 ± 4.9)
143a		-H	n.b.	130a		-H	n.b.

Tab. 17: Variation des Linkers; i.a. = inaktiv bei 30 µM, n.b. = nicht bestimmt.

Für die agonistische Aktivität der Pyridin-Derivate **140** und **143** erwies sich eine Propylkette als günstigster Linker. Bei den Chinolinderivaten führte die Kettenverlängerung zu einem Butyl-Linker dagegen von den inaktiven Derivaten **121/a** zum moderat potenten Antagonisten **130**, der trotz seiner geringeren Größe annähernd die antagonistische Aktivität der Leitstruktur **63** erreichte. Fasst man an dieser Stelle jedoch die bisherigen Struktur-Wirkungs-Beziehungen zusammen, haben der p-Benzoesäureethylester als Kopfgruppe, der Propyl-Linker und das 2-Pyridin als lipophiler Substituent die beste Kombination aus Affinität und Maximalaktivierung gezeigt. Ausgehend von diesen Ergebnissen wurde anschließend die Einführung zusätzlicher Substituenten am Pyridin-Ring untersucht und dabei zunächst ein Bromsubstituent an den Positionen 3, 4 und 5 addiert. Ein zusätzliches Bromatom in 4- (**145**) oder 5-Position (**146**) wurde nicht toleriert, an Position 3 (**144**) bewirkte der zusätzliche Substituent dagegen keine Abnahme der Aktivität. Für weitere Derivatisierungen bot sich also insbesondere die 3-Position an.

Die bisher vorgestellten Substanzen hatten mit einem Molekulargewicht von maximal 380 g/mol noch Spielraum zur Vergrößerung der Struktur, bevor sie das in der *Lipinski's rule of five* als *druglike* angenommene Molekulargewicht von 500 g/mol erreichen.²⁵⁴ Bisher publizierte FXR-Liganden (siehe Kap. 1.3.3) weisen eine große lipophile und gewinkelte Struktur auf, sodass durch eine Vergrößerung des Pharmakophors versucht wurde, eine Steigerung der Aktivität zu erreichen. Hierfür bot sich vor allem die 3-Position des Pyridin-Rings an, da nur an dieser Stelle ein Bromsubstituent toleriert worden war, sodass anstelle des Bromatoms diverse andere lipophile Gruppen eingeführt wurden.

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

Substanz #	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂	
144		-C ₂ H ₅	3.2 ± 0.9 (18.5 ± 0.5)
144a		-H	i.a.
145		-C ₂ H ₅	i.a.
145a		-H	n.b.
146		-C ₂ H ₅	i.a.
146a		-H	n.b.

Tab. 18: Variation des Substitutionsmusters am Pyridin: in vitro Aktivität der Verbindungen **144-146a** an FXR; i.a. = inaktiv bei 30 μM, n.b. = nicht bestimmt.

Ein Phenyl-Substituent an 3-Position (**164**, Tab. 19) führte zu Inaktivität, während **165** mit einem 3,5-Bis(Trifluormethyl)phenyl-Substituenten einen ähnlichen EC₅₀-Wert wie **144** zeigte.

#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂			R ₁	R ₂	
144		-C ₂ H ₅	3.2 ± 0.9 (18.5 ± 0.5)	168		-C ₂ H ₅	i.a.
144a	-Br	-H	i.a.	168a		-H	n.b.
164		-C ₂ H ₅	i.a.	169		-C ₂ H ₅	IC ₅₀ 3.7 ± 0.9 (28 ± 8)
164a		-H	i.a.	169a		-H	i.a.
165		-C ₂ H ₅	3.2 ± 0.3 (11.6 ± 0.3)	170		-C ₂ H ₅	i.a.
165a		-H	i.a.	170a		-H	i.a.
166		-C ₂ H ₅	i.a.	171		-C ₂ H ₅	i.a.
166a		-H	i.a.	171a		-H	i.a.
167		-C ₂ H ₅	i.a.	172		-C ₂ H ₅	1.5 ± 0.3 (10.2 ± 0.2)
167a		-H	n.b.	172a		-H	11.3 ± 1.1 (12.7 ± 0.1)

Tab. 19: Variation des Substitutionsmusters am Pyridin: in vitro-Aktivität der Verbindungen **144/a, 164-172a** an FXR; i.a. = inaktiv bei 30 μM, n.b. = nicht bestimmt.

Durch Austausch des 3,5-Bis(Trifluormethyl)phenyl-Substituenten gegen einen 3,5-Dichlorphenyl-Substituenten wurde ebenso eine inaktive Substanz (**166**) erhalten, wie durch Chlor-Substitution in 3,4-Position des Phenylrings (**167**). Interessanterweise führte dagegen ein Chlor-Substituent in 4-Position (**169**) zu antagonistischer Aktivität, die mit einem IC_{50} -Wert von $3,7 \pm 0,9 \mu\text{M}$ der Leitstruktur **63** (IC_{50} $11,5 \pm 0,9 \mu\text{M}$) überlegen war. Sowohl ein Methyl- (**170**) als auch ein 4-Dimethylamino-Substituent (**171**) in 4-Position führten jedoch zu Inaktivität. Wurde dagegen ein tert-Butyl-Substituent in 4-Position (**172**) eingeführt, gewann die Verbindung **172** potentere agonistische Aktivität als **144** (EC_{50} $1,5 \pm 0,3 \mu\text{M}$ im Vergleich zu $3,2 \pm 0,9 \mu\text{M}$) und resultierte in der einzig aktiven Säure (**172a**) aus diesem Substanzset.

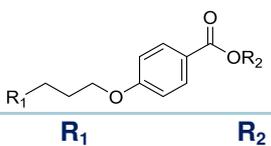
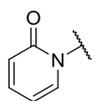
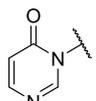
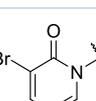
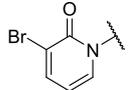
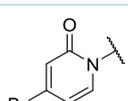
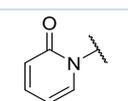
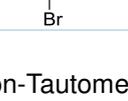
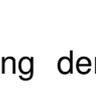
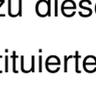
In den SAR-Studien zu Kopfgruppe, Linker und lipophilem Substituenten und entsprechende Strukturoptimierungen wurde ausgehend von **63** über **140** (EC_{50} $3,9 \pm 0,9 \mu\text{M}$, $30 \pm 1\%$) die Verbindung **142** (EC_{50} $1,5 \pm 0,3 \mu\text{M}$, $10,2 \pm 0,2\%$) als aktivste Verbindung identifiziert. Die Untersuchungen zeigten allerdings auch, dass sich die SAR sehr schmal darstellte und minimale strukturelle Veränderungen, insbesondere im Bereich des Substituenten am Pyridin, aber auch beim Vergleich von Säure und Ester, zu Inaktivität führten. Dies könnte allerdings auch durch zu geringe Maximalaktivierungen zu erklären sein, sodass die Substanzen zwar möglicherweise an die FXR-LBD banden, aufgrund zu geringer Stabilisierung der LBD aber keine messbare Aktivierung erzeugten. Die Tatsache, dass in weiten Teilen der SAR nur die Ester Aktivität zeigten, während die Säuren inaktiv waren, spricht für einen untypischen Bindemodus an FXR, da fast alle bekannten FXR-Liganden eine freie Carbonsäure aufweisen.

Wie in Kapitel 3.1.1 dargelegt, besteht bei dem als Edukt eingesetzten Pyridin-2-ol eine Tautomerie mit dem 2-Pyridinon, sodass in einigen Synthesen auch zwei isomere Produkte erhalten wurden. Da sich ein ausgewähltes dieser Isomere (**135**) als aktiv an FXR erwies, wurde analog zu der oben beschriebenen SAR-Studie der Pyridinol-Derivate auch die SAR der entsprechenden Pyridinon-Isomere untersucht (siehe Tab. 20).

Der Ester des unsubstituierten Pyridinons (**135**) war an FXR mit einem EC_{50} -Wert von $4,7 \pm 1,0 \mu\text{M}$ bei $17,5 \pm 0,6 \%$ Maximalaktivierung agonistisch aktiv. Ähnlich wie

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

bei der SAR der Pyridinol-Derivate verbesserte die Einführung eines weiteren Stickstoffs (**136**) in den Ring die Aktivität an FXR nicht, sodass im nächsten Schritt das Substitutionsmuster am Pyridinon-Ring modifiziert wurde. Brom-Substituenten in Position 4 und 5 führten jedoch zu inaktiven Verbindungen (**138**, **139**), lediglich ein Bromatom in Position 3 (**137**) erzeugte ein ähnlich potentes Derivat wie die Ausgangssubstanz **135** (EC_{50} $4,1 \pm 1,1 \mu\text{M}$ bei $12,0 \pm 0,3 \%$), sodass auch bei den Pyridinon-Derivaten die 3-Position für weitere Derivatisierungen am vielversprechendsten war.

Substanz #	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC_{50} [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂	
135		-C ₂ H ₅	4.7 ± 1.0 (17.5 ± 0.6)
135a		-H	i.a.
136		-C ₂ H ₅	8.0 ± 1.3 (14.5 ± 0.3)
136a		-H	n.b.
137		-C ₂ H ₅	4.1 ± 1.1 (12.0 ± 0.3)
137a		-H	i.a.
138		-C ₂ H ₅	i.a.
138a		-H	i.a.
139		-C ₂ H ₅	i.a.
139a		-H	i.a.

Tab. 20: In vitro-Aktivität der Pyridinon-Tautomere **135-139a**, i.a. = inaktiv bei 30 μM , n.b.=nicht bestimmt.

In der direkten Gegenüberstellung der jeweils isomeren Substanzen und ihrer Aktivität an FXR zeigten sich bis zu diesem Punkt Analogien in der SAR (siehe Tab. 21). So stellt jeweils das unsubstituierte Derivat eine potente Ausgangsverbindung dar, deren Aktivität durch einen Bromsubstituent in 3-Position leicht gesteigert werden konnte. Übereinstimmend zu den Pyridinol-Derivaten zeigten auch die Säuren der Pyridinon-Isomere keine Aktivität.

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

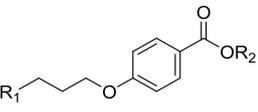
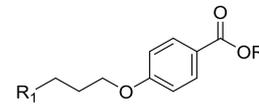
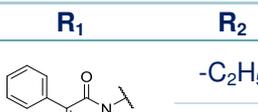
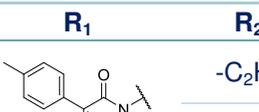
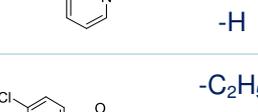
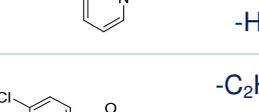
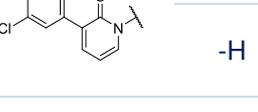
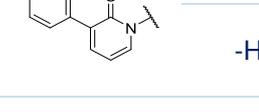
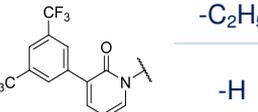
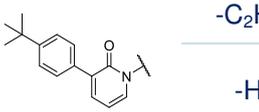
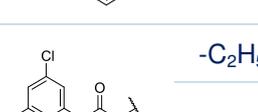
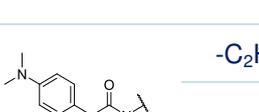
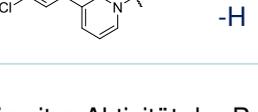
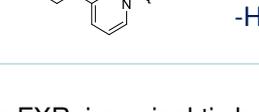
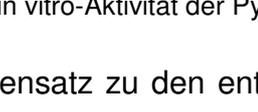
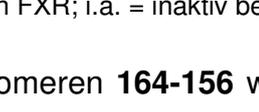
#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC ₅₀ [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂			R ₁	R ₂	
140		-C ₂ H ₅	3.9 ± 0.3 (30 ± 1)	135		-C ₂ H ₅	4.7 ± 1.0 (17.5 ± 0.6)
140a		-H	i.a.	135a		-H	i.a.
141		-C ₂ H ₅	4.0 ± 0.6 (14.5 ± 0.5)	136		-C ₂ H ₅	8.0 ± 1.3 (14.5 ± 0.3)
141a		-H	i.a.	136a		-H	i.a.
144		-C ₂ H ₅	3.2 ± 0.9 (18.5 ± 0.5)	137		-C ₂ H ₅	4.1 ± 1.1 (12.0 ± 0.3)
144a		-H	i.a.	137a		-H	i.a.
145		-C ₂ H ₅	i.a.	138		-C ₂ H ₅	i.a.
145a		-H	n.b.	138a		-H	n.b.
146		-C ₂ H ₅	i.a.	139		-C ₂ H ₅	i.a.
146a		-H	n.b.	139a		-H	n.b.

Tab. 21: Vergleich der in vitro-Aktivität der Pyridinol/Pyridinon-Tautomere **140-146a**, **135-139a**; i.a. = inaktiv bei 30 μM, n.b. = nicht bestimmt

Folglich wurde auch in Analogie zu den Pyridinol-Derivaten der Einfluss größerer, lipophiler Substituenten untersucht. Hierzu wurden ausgehend von Verbindung **137** substituierte Phenyl-Derivate eingesetzt, die über Suzuki-Kupplung einer Boronsäure mit Verbindung **137** zugänglich waren. Je nach Substituenten am Phenylring wiesen diese Derivate unterschiedliche in vitro-pharmakologische Eigenschaften auf (Tab. 22). Das unsubstituierte Derivat **156** zeigte entgegen der bisher beobachteten SAR keine Aktivität als Ester, wohl aber die entsprechende Säure (**156a**). Dieser Trend traf auf einen Großteil dieses Substanzsets zu, nur die zwei para-substituierten Derivate **160** und **161** waren als Ester agonistisch aktiv. Dabei zeigte das 4-Chlorphenyl-Derivat **161** einen deutlich schlechteren EC₅₀-Wert im Vergleich zum 4-Tolyl-Derivat **140** (EC₅₀ 29,6 ± 1,6 μM zu 5,6 ± 1,4 μM). Die daraus abzulesende Tendenz, dass in der 4-Position ein kleiner, lipophiler Substituent bevorzugt ist, zeigte sich auch bei den Verbindungen **162** und **163**, bei denen ein 4-tert-Butyl-Substituent bzw. 4-*N,N*-Dimethylamino-Substituent zu einem vollständigen Aktivitätsverlust führte.

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

Die Einführung von Chlor-, oder dazu bioisosteren Trifluormethyl-Substituenten in verschiedenen Positionen des Phenyl-Rings führt zu antagonistischer Aktivität der freien Carbonsäuren. 3,5-Dichlorphenyl-Derivat **159a** zeigte im Vergleich zum 3,5-Di(trifluormethyl)phenyl-Derivat **158a** eine geringfügig höhere Aktivität. Durch Verändern des Substitutionsmusters zum 3,4-Dichlorphenylderivat **157a** verminderte sich die antagonistische Aktivität dramatisch. Das 4-Chlorphenyl-Derivat **161a** stellte dagegen mit einem IC_{50} -Wert von $4,6 \pm 1,2 \mu\text{M}$ die potenteste antagonistisch aktive Säure dar, jedoch mit einer geringeren relativen Inhibition. Besonders erwähnenswert ist, dass hingegen ein 4-Methyl-Substituent zur agonistisch aktiven Säure **160a** führte.

#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC_{50} [μM] (Max %)	#	Struktur		In vitro-Aktivität FXR EC_{50} [μM] (Max %)
	R ₁	R ₂			R ₁	R ₂	
156		-C ₂ H ₅	i.a.	160		-C ₂ H ₅	5.6 ± 1.4 (13.1 ± 0.3)
156a		-H	15.2 ± 2.8 (14.2 ± 0.6)	160a		-H	8.7 ± 0.1 (14.7 ± 0.1)
157		-C ₂ H ₅	i.a.	161		-C ₂ H ₅	29.6 ± 1.6 (13.1 ± 0.7)
157a		-H	IC_{50} 21.0 ± 1.6 (14 ± 12)	161a		-H	IC_{50} 4.6 ± 1.1 (38 ± 6)
158		-C ₂ H ₅	i.a.	162		-C ₂ H ₅	i.a.
158a		-H	IC_{50} 9.6 ± 1.0 (34 ± 6)	162a		-H	i.a.
159		-C ₂ H ₅	i.a.	163		-C ₂ H ₅	i.a.
159a		-H	IC_{50} 8.2 ± 0.5 (16.2 ± 3.8)	163a		-H	6.1 ± 0.1 (20.7 ± 0.7)

Tab. 22: in vitro-Aktivität der Pyridinon-Derivate **156-163a** an FXR; i.a. = inaktiv bei 30 μM .

Im Gegensatz zu den entsprechenden Pyridin-Isomeren **164-156** waren bei diesem Substanzset die meisten Ester-Derivate inaktiv, während die Säuren Aktivität zeigten. Weiterhin handelte es sich im Falle des letzten Substanzsets vor allem um antagonistisch aktive FXR-Liganden, welche die von GW4064 (**26**) als Referenzsubstanz hervorgerufene FXR-Aktivierung im Reporter-gen-Assay kompetitiv zu hemmen vermochten. Auf Basis der Ergebnisse aus dem Transaktivierungs-Assay war jedoch nicht eindeutig klar, ob es sich bei **157a-159a**, **161a** um

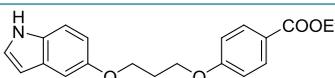
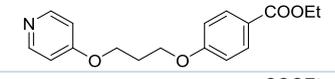
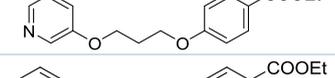
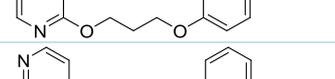
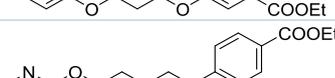
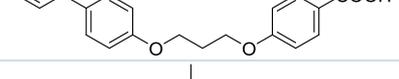
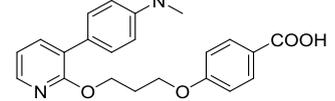
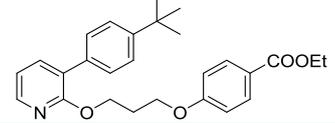
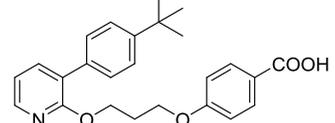
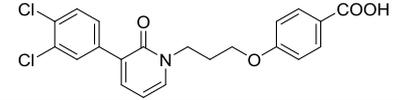
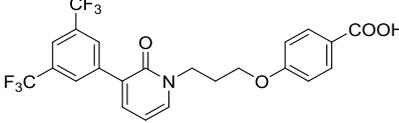
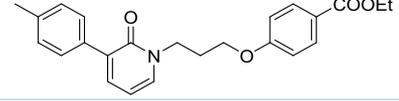
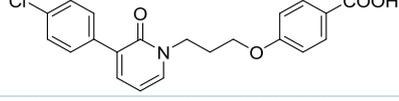
Antagonisten oder inverse Agonisten handelte oder die Ergebnisse durch Absorptionsvorgänge während der Lumineszenzmessung zustande gekommen waren. Falsch positive Resultate konnten durch Überprüfung der Absorption der potentesten antagonistisch aktiven Substanz **159a** ausgeschlossen werden.

Selektivitätsprofil der FXR-Liganden

Die Ausgangsverbindung HZ55 (**63**) hatten ein sehr breites pharmakologisches Profil an diversen Targets gezeigt, welches neben der Inhibition der in der Arachidonsäure-Kaskade involvierten Enzyme *microsomal prostaglandin synthase-1* (mPGES-1) und *5-lipoxygenase* (5-LO), auch eine Aktivität an den PPAR-Subtypen PPAR α und PPAR γ umfasste. Ziel dieser Arbeit war jedoch die Entwicklung potenter und selektiver FXR-Liganden, sodass die in den vorliegenden SAR-Studien dargestellten Substanzen auch an den Targets der Leitstrukturen charakterisiert wurden. Diese Untersuchung der off-target-Aktivität umfasste einerseits die Testung aller Verbindungen **115-172a** bei 10 μ M im PPAR-Reporter-Gen-Assay und andererseits die Charakterisierung inhibitorischer Aktivität ausgewählter Vertreter an den Enzymen mPGES-1 und 5-LO. Neben den in der FXR-SAR herausragenden Substanzen **125** (und **125a**) des ersten Substanzsets zeigten **121/a** weder Aktivität an mPGES-1 noch an 5-LO, sodass über diese off-targets Selektivität besteht.

Die Aktivität der Verbindungen **115-172a** an den PPAR-Subtypen sind in den Tabellen 23 und 37-39 (im Anhang) aufgeführt, wobei die Werte jeweils die relative Aktivierung der Substanzen bei 10 μ M im Vergleich zu den jeweiligen Vollagonisten (PPAR α : GW7647 (**5**), PPAR γ : Pioglitazon (**8**), PPAR δ : L165,041 (**14**), jeweils bei 1 μ M) repräsentieren. Ein Großteil der Substanzen zeigte Aktivierungen im einstelligen Prozentbereich und konnte somit als inaktiv an den jeweiligen Subtypen angesehen werden. Lediglich einzelne Vertreter (**123**, **126** und **140**, **134a**, Tabelle 23) erreichten eine Aktivierung von größer als 20% an PPAR γ und waren damit schwach aktiv, wobei ihr EC₅₀-Wert über 10 μ M erwartet werden muss. Das Derivat **125** zeigte eine relative Aktivierung von 50% an PPAR γ . Entgegen der üblichen SAR der PPARs handelt es sich dabei um einen Ester, während die entsprechende Säure keine Aktivität zeigte. Auch in der Literatur sind nicht-saure PPAR-Aktivatoren beschrieben.^{255,256,83}

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

#	Struktur	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10µM		
		α	γ	δ
123		3.2 ± 1.7	31.3 ± 2.3	7.7 ± 4.0
125		15.0 ± 11.9	50.2 ± 6.9	9.3 ± 2.7
126		2.5 ± 0.3	35.9 ± 12.2	4.4 ± 1.8
140		10.1 ± 7.3	20.2 ± 8.4	8.5 ± 5.0
128		4.0 ± 2.5	18.8 ± 8.7	9.2 ± 1.4
143		1.9 ± 0.3	5.1 ± 0.3	4.4 ± 2.9
134a		49.9 ± 7.2	35.3 ± 2.0	8.8 ± 3.6
171a		2.8 ± 0.2	55.2 ± 5.2	4.2 ± 4.0
172		1.2 ± 0.2	54.2 ± 12.8	19.8 ± 4.9
172a		3.5 ± 0.0	190.5 ± 4.4	10.8 ± 1.3
157a		36.7 ± 0.3	83.9 ± 13.8	34.9 ± 33.7
158a		6.1 ± 0.1	79.1 ± 3.3	6.2 ± 6.5
160		7.5 ± 6.0	79.1 ± 3.3	9.4 ± 8.0
161a		18.0 ± 6.7	62.8 ± 5.2	26.2 ± 10.7

Tab. 23: Aktivität ausgewählter FXR-Liganden an PPARs, rot eingefärbt = Restaktivität signifikant über Nullwert

Wie aufgrund ihrer Größe zu erwarten war, zeigten die Carbonyl-Derivate **115/a-117** keine Aktivität an den PPARs (Tabelle 37 Anhang). Für die Selektivität über die PPARs wirkte sich eine meta-Substitution positiv aus, was am Beispiel der Substanz

128 besonders deutlich wurde, da ihre relative Aktivität an PPAR γ von 50% (**125**) auf 19% (**128**) abnahm (Tabelle 23). Bei der Variation des Linkers stellte sich ein Propyl-Linker auch in Bezug auf PPAR-Aktivität als bevorzugt heraus (Tab. 37 Anhang). Die Selektivität gegenüber PPARs nahm deutlich ab, sobald die Substanzen im lipophilen Substituenten vergrößert wurden (Tab. 39 Anhang). Hier zeigten einzelne Vertreter sowohl der N-alkylierten-, als auch der O-alkylierten Isomere insbesondere an PPAR γ hohe relative Aktivierungen bei 10 μ M, sodass bei einzelnen Substanzen (**171a**, **172**, **157a**, **158a**, **160a** und **161a**) ein EC₅₀-Wert unter 10 μ M zu erwarten ist. Besonders **172a** stach mit 190% relativer Aktivierung bezogen auf Pioglitazon (**8**) heraus und ist somit als FXR-Partialagonist und PPAR γ -Superagonist zu charakterisieren.

Vollständige Charakterisierung der Substanzen 140 und 159a

Aus den SAR-Studien und Strukturoptimierungen an FXR ergab sich sowohl für agonistische als auch für antagonistische Aktivität jeweils eine herausragende Verbindung. Das Pyridinolderivat **140** stellte den potentesten Vertreter der agonistisch-aktiven Derivate dar und auf Seiten der antagonistischen Pyridinon-Derivate wurde **159a** zur näheren Charakterisierung ausgewählt.

Als resultierende Verbindungen der vorliegenden Arbeit und als potente FXR-Liganden wurden **140** und **159a** intensiv in vitro charakterisiert. Dazu wurde zunächst ihr Effekt auf ausgewählte FXR-Targetgene auf mRNA-Ebene mithilfe quantitativer real-time *Polymerase chain reaction* (qRT-PCR) charakterisiert. Für die Targetgenquantifizierung wurden Leber- (HepG) und Darmepithelzellen (HAT-29) herangezogen, da FXR in diesen Geweben eine wichtige physiologische Rolle spielt und daher konstitutiv exprimiert wird.

Im FXR-Transaktivierungs-Assay zeigte **140** partialagonistische Aktivität mit einer Maximalaktivierung von etwa 30%. Dieses partialagonistische Profil spiegelte sich auch auf mRNA-Ebene wider, besonders hinsichtlich des Targetgens BSEP (Abb. 31). Dabei erreichte **140** im Vergleich zu CDCA (**23**, 50 μ M) etwa ein Drittel der mRNA-Expression, was gut mit den Ergebnissen aus dem Transaktivierungs-Assay, bei dem eine Maximalaktivierung von 30% erreicht wurde, korreliert. Auf die Targetgene SHP und OST α bewirkte **140** relativ zu CDCA eine vollagonistische Aktivität mit 80% mRNA-Expression bei SHP und 100% bei OST α . Diese Targetgen-

3. Ergebnisse und Diskussionen 3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

spezifische Aktivität lässt sich durch eine unzureichende Stabilisierung der Helix 12 durch den Liganden erklären, sodass die Bindungsaffinität der verschiedenen Coaktivatoren variiert und verschiedene Targetgene daher unterschiedlich stark exprimiert werden können.

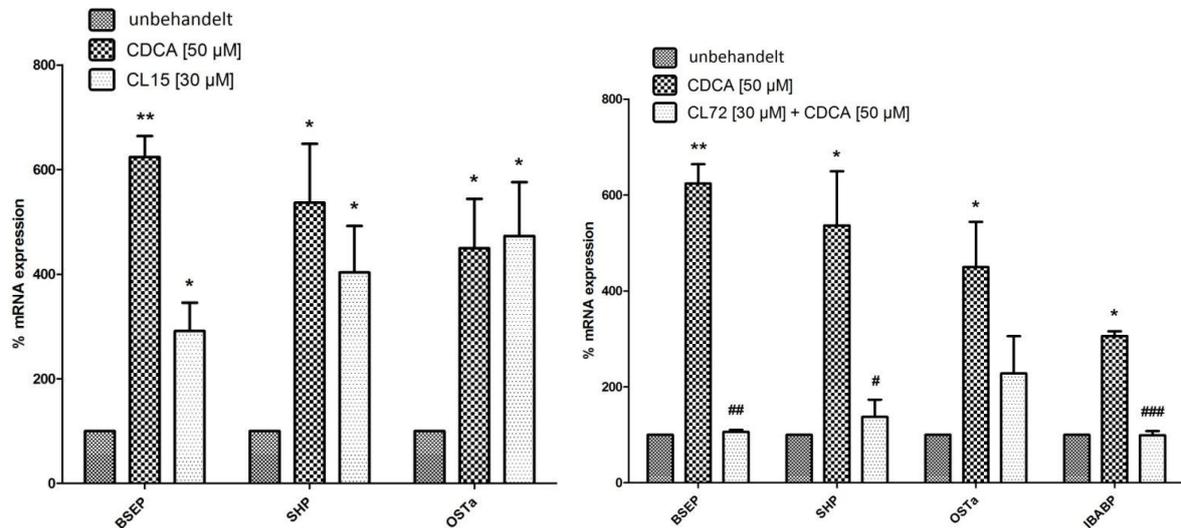


Abb. 31: Effekt von **140** (CL15) und **154a** (CL72) auf Expression der FXR Targetgene BSEP, SHP, OST α und IBABP

Auch für **159a** bestätigte die Quantifizierung der FXR-Targetgen-mRNA das im FXR-Transaktivierungs-Assay beobachtete antagonistische Profil. **159a** war in der Lage, den Effekt von CDCA (**23**, 50 μ M) auf die Gene BSEP, SHP und IBABP vollständig aufzuheben (Abb. 31). Der mRNA-Spiegel des Targetgens OST α wurde in Gegenwart von **159a** ebenfalls deutlich reduziert (ca. 40%), aufgrund hoher Standardabweichungen war dieser Effekt jedoch nicht statistisch signifikant. **159a** ist dennoch als potenter FXR-Antagonist zu charakterisieren.

Über die Charakterisierung der Effekte auf FXR-Targetgene hinaus wurde **159a** auch an TGR5, dem G-Protein-gekoppelten Rezeptor der Gallensäuren, charakterisiert, wobei die Testung von der Firma TES Pharma in Perugia, Italien, durchgeführt wurde. TGR5 stellt für FXR-aktive Substanzen ein entscheidendes Target dar, da der Rezeptor seine physiologischen Liganden mit FXR teilt. **159a** zeigte eine dem endogenen TGR5-Agonisten LCA (**27**) vergleichbare agonistische Aktivität an TGR5 und bietet damit ein interessantes pharmakologisches Profil, da die Substanz erstmals FXR-antagonistische und TGR5-agonistische Aktivität in synthetischen Liganden kombiniert.

3. Ergebnisse und Diskussionen

3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

Um das in vitro-Profil der Substanzen **140** und **159a** zu vervollständigen, wurden die Verbindungen außerdem in Toxizitäts- und Zellviabilitäts-Assays untersucht und für **159a** die Löslichkeit bestimmt und Versuche zur Metabolisierung durchgeführt (siehe Tab. 24). **140** und **159a** zeigten bis 60 µM keine Toxizität in vitro und **159a** wies eine akzeptable Wasserlöslichkeit von 0,48 mg/L auf. Lediglich die moderate metabolische Stabilität in Lebermikrosomen stellt eine weiter zu optimierende in vitro-pharmakologische Eigenschaft dar.

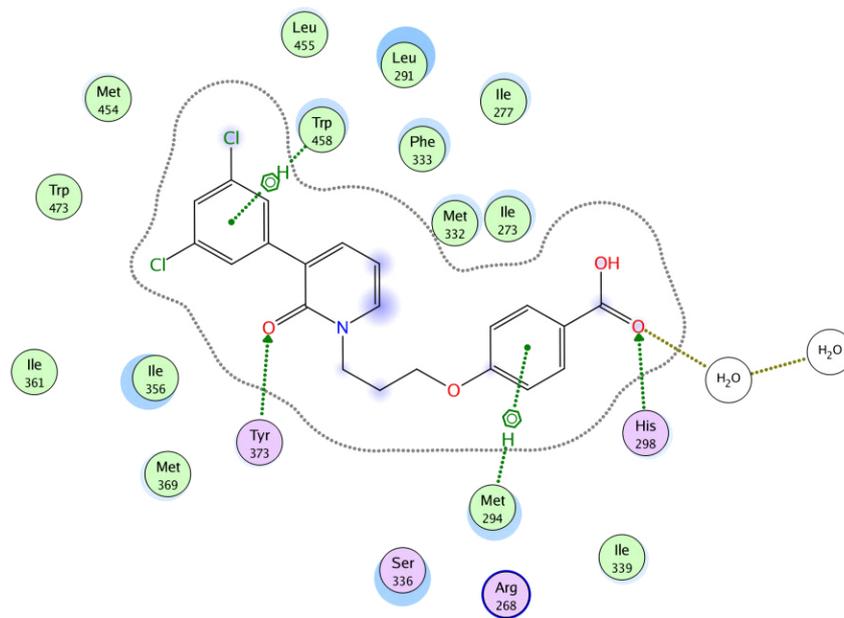
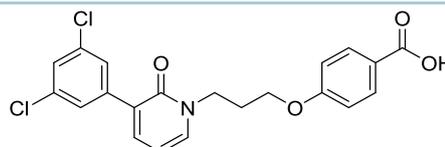
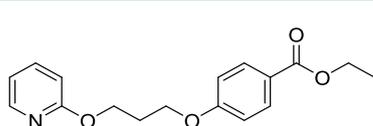


Abb. 32: Postulierter Bindemodus: Interaktionen der Substanz **159a** mit der FXR-Ligand-Bindungsdomäne.

Für Einblicke in die Bindemodi wurde in beiden Fällen eine Co-Kristallisation mit humanem FXR-Protein in Kooperation mit dem Arbeitskreis Schwalbe versucht, wobei die Kristallisation des Antagonisten **159a** scheiterte. Daher wurde auf ein Docking-Modell zurückgegriffen, welches von Roberto Carrasco Gomes erstellt wurde. Der Kristall des Agonisten **140** war bis zum Abgabezeitpunkt dieser Dissertation noch nicht aufgelöst. Die Dockingpose von **159a** zeigt vier maßgebliche Interaktionen mit den Aminosäuren Trp458, Tyr373, Met294 und His298. Insbesondere die Wechselwirkung mit Tyr373 in Helix 7 (H7) kann zum Verständnis der antagonistischen Aktivität von **159a** beitragen, da vergleichbare Wechselwirkungen mit H7 ebenfalls für den FXR-Antagonisten Suvanin beschrieben wurden.²⁵⁷ Allerdings fällt auf, dass die Säurefunktion nicht die für FXR-Liganden typische Interaktion zur Aminosäure Arg331 eingeht.

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden



#	140	159a
In vitro Aktivität FXR	EC₅₀ 3.9 ± 0.3 μM 30 ± 1 % Max.	IC₅₀ 8.2 ± 0.5 μM 16.2 ± 3.8 % Min.
Selektivität	PPARα: 10.1 ± 7.3 % @ 10 μM PPARγ: 20.2 ± 8.4 % @ 10 μM PPARδ: 8.5 ± 5.0 % @ 10 μM	PPARα: 24.4 ± 13.9 % @ 10 μM PPARγ: 28.8 ± 5.9 % @ 3 μM PPARδ: 3.0 ± 0.8 % @ 10 μM
TGR5*	n.b.	EC₅₀ 6.0 ± 0.4 μM 94 ± 5 % Max.
Toxizität (HepG2)	103 % @ 60 μM in WST-Assay	83 % @ 60 μM in LDH-Assay 98 % @ 60 μM in WST-Assay
Metabolische Stabilität	n.b.	50 % nach 15 Min. 10 % nach 60 Min.
Löslichkeit	n.b.	480 ng/mL
cLogP	4,4	5,8
LipE	1,0	0,7
SILE	2,14	1,87
tPSA	57,1	66,8

Tab. 24: in vitro-pharmakologische, pharmakokinetische Charakterisierung von **140** und **159a**. n.b.= nicht bestimmt, *Referenz: 10μM LCA = 100%, LCA (**27**) (EC₅₀ 6 ± 2 μM)

3.2.3 Zusammenfassung, Bewertung und Ausblick

In einem von Dr. Ramona Steri durchgeführten Screening in einem Gal4-FXR-Reporter-Gen-Assay wurden zwei Phenylthiohexansäure-Derivate **89** und **63** als Antagonisten an FXR identifiziert. Nach genauerer Charakterisierung der Substanzen in einem FXR-Volllängen-Transaktivierungs-Assay bildete **63** die Grundlage für die Entwicklung der hier vorgestellten FXR-Liganden. Ausführliche Studien zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen untersuchten die Einflüsse von Variationen der Strukturelemente im Bereich der sauren Kopfgruppe, des Propyl-Linkers und dem heteroaromatischen lipophilen Substituenten. Neben dem Austausch des Chinolin-Rings durch ein Pyridin, brachte vor allem die Vergrößerung des lipophilen, aromatischen Strukturelements eine Verbesserung der Aktivität, wobei diese nur in 3-Position toleriert wurde. Interessanterweise unterschied vor allem die Isomerie

3. Ergebnisse und Diskussionen 3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

zwischen Pyridinol- und Pyridinon-Substituenten zwischen agonistisch oder antagonistisch aktiven Liganden. Die Positionierung des Benzoessäureethylesters bzw. der Benzoessäure in meta-Position zeigte das Potential auf erhöhte Affinität, jedoch kombiniert mit einem Verlust der Maximalaktivierung. Die Ergebnisse der SAR ausgehend von **63** sind in Abbildung 33 zusammengefasst.

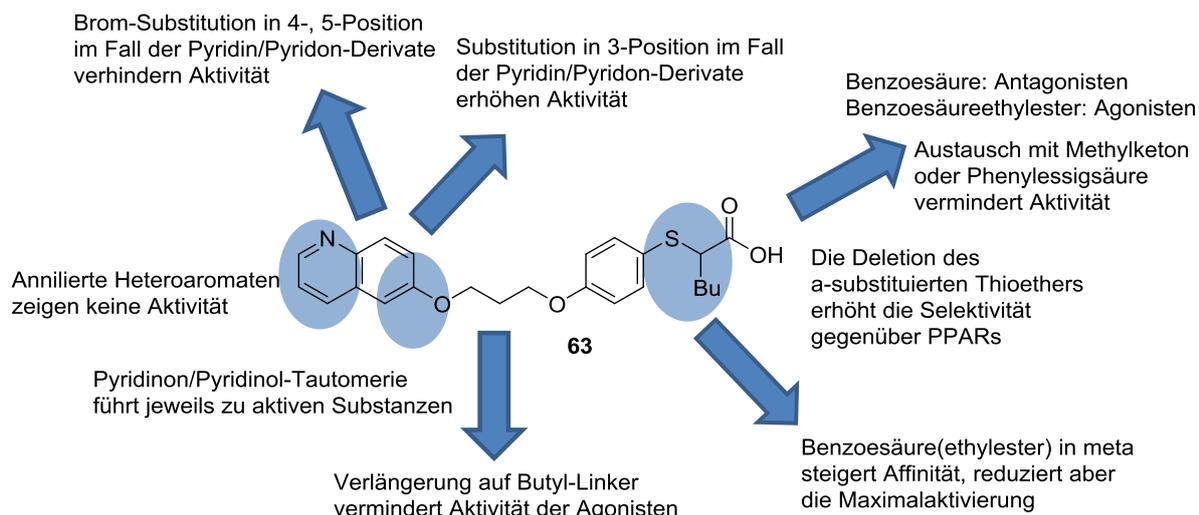


Abb. 33: Zusammenfassung der SAR ausgehend von der Leitstruktur **63**

Die Substanzen **140** und **159a** stellten neben **134a** die interessantesten Ergebnisse aus den Struktur-Optimierungsstudien dar, wobei **134a** aufgrund des schlechteren Selektivitätsprofils nicht näher pharmakokinetisch und in vitro-pharmakologisch charakterisiert worden ist, aber den Startpunkt für eine neue SAR bilden kann. Bei **140** handelt es sich um den interessantesten Vertreter der hier entwickelten FXR-Agonisten, wobei es sich dabei allerdings um Ester handelt, sodass **140** leider nur Potential als in vitro-pharmakologische Modellsubstanz und als Leitstruktur zur weiteren Optimierung, aber nicht als mögliches Therapeutikum bietet. Umso vielversprechender ist das pharmakologische Profil von **159a**, das neben seiner FXR-antagonistischen Wirkung eine agonistische Aktivität an TGR5 aufweist und somit den ersten (synthetischen) Vertreter mit diesem dualen Profil darstellt. **159a** kann somit als Prototyp einer neuen dualen Substanzklasse angesehen werden. Das pharmakodynamische Profil aus FXR-Antagonismus und TGR5-Agonismus könnte großes therapeutisches Potential in der Therapie des metabolischen Syndroms besitzen, da ein FXR-knockout in Studien an einem Mausmodell des Diabetes (db/db) positiven Einfluss auf die Insulinsensitivität zeigte und die Aktivierung von TGR5 eine Freisetzung von *glucagon like peptide 1* (GLP-1) mit entsprechenden

3. Ergebnisse und Diskussionen
3.2 Fettsäure-Mimetika als FXR-Liganden

Blutzuckerspiegel-senkenden Eigenschaften bewirkt. Zusätzlich wird durch TGR5-Aktivierung der Energieverbrauch in Muskulatur und braunem Fettgewebe erhöht.^{141,258}

Optimierungsbedarf besteht jedoch noch in der mäßigen Löslichkeit und schlechten metabolischen Stabilität von **159a**. Somit stellt sie einen interessanten Ausgangspunkt für folgende SAR-Untersuchungen für duale FXR/TGR5-Liganden dar. Die hier präsentierte SAR zeigte z.B. großes Potential bei Verwendung einer Säurefunktion in meta-Stellung. Weiterhin kann das Substitutionsmuster des lipophilen Strukturelementes im Hinblick auf die duale Aktivität optimiert werden und daneben eine Rigidisierung des Linkers und Derivatisierung der Ketofunktion in Betracht gezogen werden. Außerdem sollte bei diesen Optimierungen ein Fokus auf die pharmakokinetischen Parameter gelegt werden, sodass metabolisch-inerte Gruppen, wie Fluor, auf ihre Aktivität überprüft werden sollten.

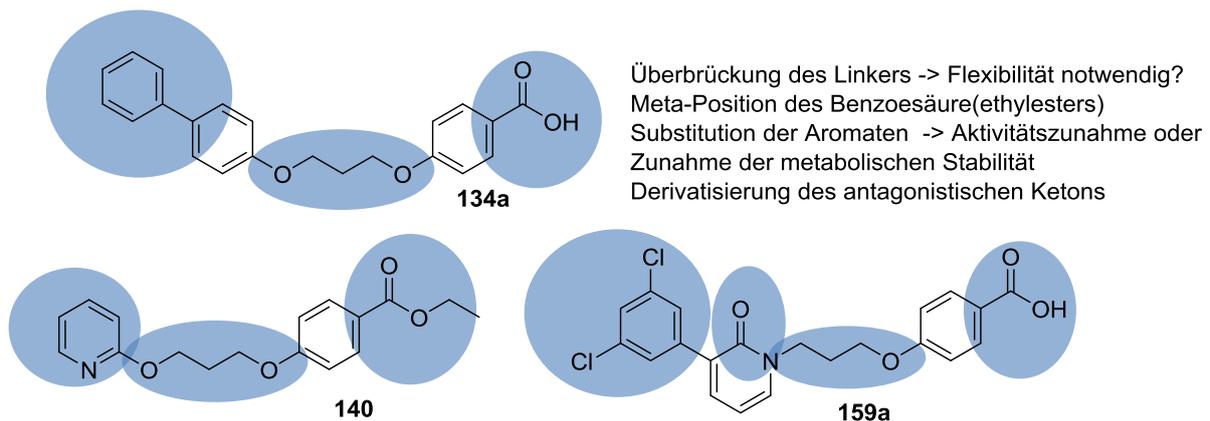


Abb. 34: Bereiche einer möglichen weiteren Optimierung der interessantesten Strukturen **163**, **140** und **147**

4. Zusammenfassung

Fettsäuren sind ebenso wie Gallensäuren nicht nur an der Nahrungsaufnahme beteiligt sondern nehmen als Signalmoleküle Einfluss auf die Regulation des Lipid- und Cholesterolfstoffwechsels und der Glukosehomöostase. Diese sind komplex regulierte Systeme, deren Störung zu ernsthaften metabolischen Erkrankungen führen. Ein Überangebot an Energieträgern, wie Fettsäuren und Glukose, führt zu Adipositas, Typ 2 Diabetes, Arteriosklerose und Lebererkrankungen, wie der NAFLD, die aufgrund ihrer gemeinsamen Ursache auch vergesellschaftet auftreten können. Somit bilden die Sensoren der Fettsäuren und Gallensäuren, nukleäre und G-Protein gekoppelte Rezeptoren, interessante therapeutische Targets, wobei in dieser Arbeit die nukleären Rezeptoren PPARs und FXR im Fokus standen.

PPARs stellen ein intensiv beforschtes Target zur Therapie von Dyslipidämien und Typ 2 Diabetes dar, wobei Agonisten des PPAR α - und PPAR γ -Rezeptors die Marktzulassung erreicht haben, inzwischen in diesen Indikationen aber nur noch eine untergeordnete Rolle spielen. PPAR α -Aktivierung reduziert den Lipidspiegel durch erhöhte Aufnahme freier Fettsäuren in die Leber und β -Oxidation dieser, wohin gegen PPAR γ eine vermehrte Aufnahme von Glukose in periphere Gewebe bewirkt. Vor allem im Falle der PPAR γ -Agonisten haben unerwünschte Arzneimittelwirkungen, wie Flüssigkeitsretention, Gewichtszunahme und Abnahme der Knochendichte, die Bedeutung geschmälert. Auch die Entwicklung dualer PPAR α/γ -Agonisten ist aufgrund dieser PPAR γ -vermittelten Nebenwirkungen weitestgehend gescheitert, nur ein Vertreter der sog. Glitazare hat bisher den Markt erreicht. Neuere Ansätze verfolgen die genselektive oder partielle Aktivierung des PPAR γ , jedoch auch hier führten die Entwicklungen bisher zu keiner Zulassung.

Die Pirinixinsäure ist ein schwacher Agonist der PPAR-Subtypen PPAR α und PPAR γ , deren Aktivität und Selektivität im Rahmen vieler dieser Arbeit vorausgegangener SAR-Studien gesteigert werden konnte. Ein dabei herausstechendes Derivat stellt MD78 (**62**) dar, das das potenteste dual wirksame Pirinixinsäure-Derivat an PPAR α/γ darstellt. Die genauere Untersuchung dieser Aktivität mittels eines medizinisch-chemischen Ansatzes und durch Mutationsstudien stellte eine Zielsetzung dieser Arbeit dar. Die konkretisierte SAR der MD78 (**62**) Derivate zeigte einen entscheidenden Einfluss des sekundären Amins im lipophilen

4. Zusammenfassung

Substituenten des MD78 (**62**), der in einer Dockingstudie untermauert wurde. Über ein konserviert vorliegendes Wasserkcluster bildet MD78 (**62**) mittels dem sekundären Amin ein Wasserstoffbrückennetzwerk zu Thr279 aus, dass nur durch Wasserstoffbrücken-Donoren optimal stabilisiert werden kann. Durch die Verwendung eines mutierten Reporter-Plasmids in dem PPAR-Transaktivierungs-Assay konnte diese These bestätigt werden.

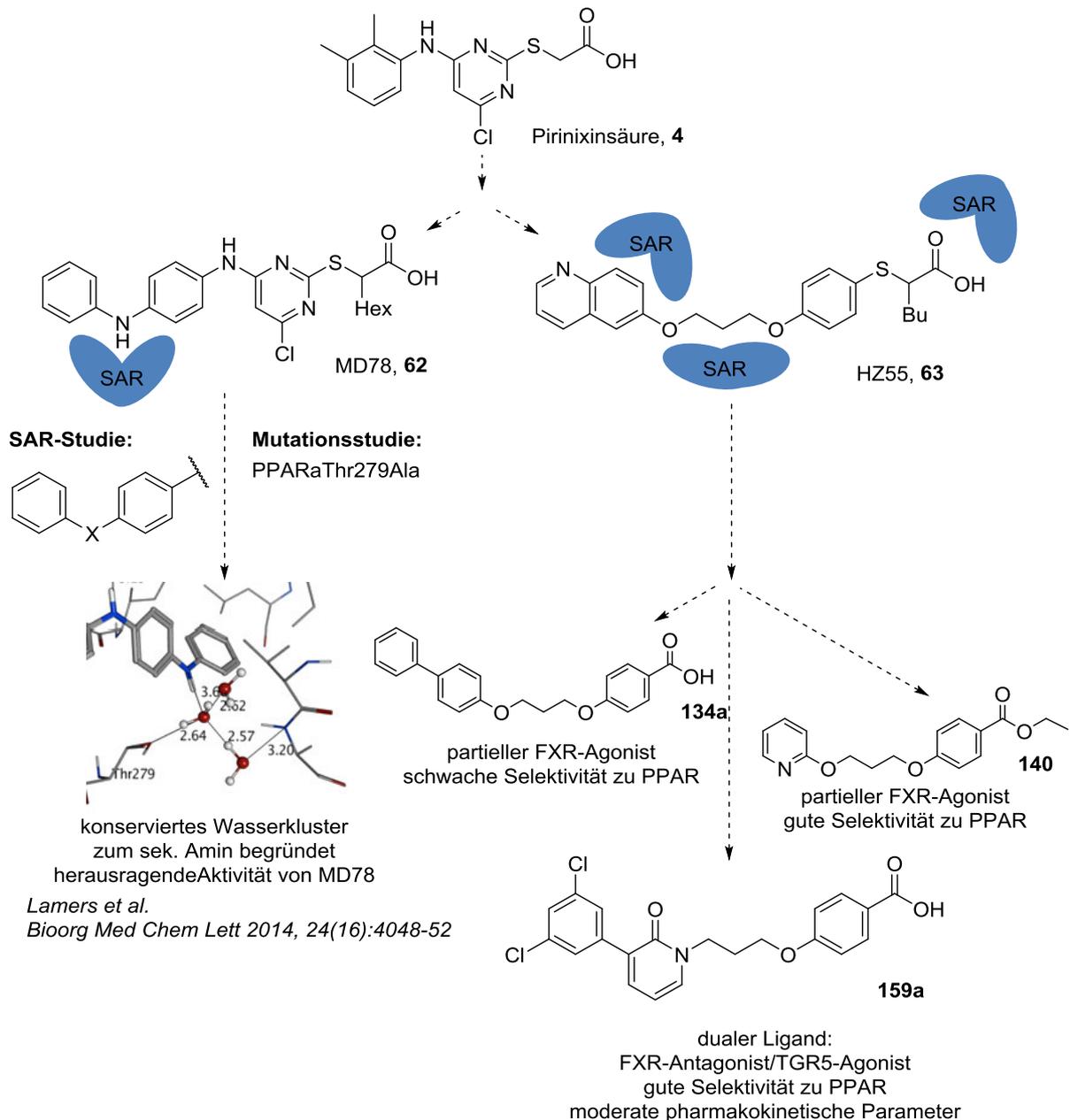


Abb. 35: Pirinixinsäure-basierte Fettsäure-Mimetika als Liganden der nukleären Rezeptoren PPAR α und FXR: Aufklärung des Bindemodus von MD78 (**62**) and PPAR α (links) und Weiterentwicklung der Pirinixinsäurederivate zu ersten potenten FXR-aktiven Verbindungen (rechts).

4. Zusammenfassung

Die Weiterentwicklung der Pirinixinsäure-Derivate zu Phenylthiohexansäuren bildete die Grundlage für eine SAR-Studie am nukleären Gallensäurerezeptor FXR, nachdem Vertreter dieser Stoffklasse (HZ51 (**89**), HZ55 (**63**)) im Gegensatz zu den Pyrimidin-haltigen Pirinixinsäure-Derivaten Aktivität in einem FXR-Screening gezeigt hatten. Mit HZ55 (**63**) als Leitstruktur bestand ein Ziel in der Entwicklung selektiver FXR-Liganden, nachdem **63** zusätzlich Aktivität an den PPARs und den Enzymen 5-LO und mPGES-1 zeigte. Aus der Bearbeitung der SAR im Bereich der Carboxylgruppe, des Linkers und dem heteroaromatischen Substituenten resultierten drei neue Substanzklassen, die Ausgangspunkt vertiefender SAR-Studien bilden können. **140** bildet damit die Grundlage einer selektiven FXR-partialagonistischen Substanzklasse von Pyridin-Derivaten, die jedoch als Ester nur Modellcharakter besitzen, solange deren entsprechenden Säuren inaktiv sind. Dennoch bietet **140** aufgrund des geringen Molekulargewichts großes Potential zur weiteren Optimierung. Das Phenyl-substituierte Pyridinon-Derivat **159a** stellt den ersten synthetischen Vertreter einer dual aktiven Substanzklasse dar, die FXR antagonistisch und TGR5 agonistisch wirkt. Dieses kombinierte Wirkprofil könnte eine neue Therapieoption zur Behandlung des Typ 2 Diabetes darstellen und verspricht großes Potential zur weiteren Entwicklung.

5. Experimenteller Teil

1.1 5.1 In vitro-pharmakologische und pharmakokinetische Charakterisierung

Die in vitro-pharmakologischen Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit umfassten die Ermittlung der Aktivität der Zielverbindungen an den nukleären Rezeptoren FXR und PPAR sowie für ausgewählte Substanzen an den Enzymen mPGES-1 und 5-LO. Weiterführend wurde für die Substanzen **140** und **159a** der Effekt auf mRNA-Level ausgewählter FXR-Targetgene bestimmt und Zellviabilitätstests durchgeführt. Im Falle von **159a** erfolgte außerdem eine Charakterisierung der TGR5-Aktivität und die Erhebung pharmakokinetischer Parameter.

5.1.1 PPAR Transaktivierungs-Assay

Der PPAR-Reportergen-Assay wurde in Cos-7 Zellen durchgeführt und verwendete chimäre Rezeptoren, die aus einer Gal4-DNA-Bindedomäne und der humanen *hinge*-Region und LBD des PPARs bestehen.²⁵⁹

Zellkultur

Die COS-7 Zellen wurden in DMEM mit hohem Glukoseanteil bei 37° C und 5% CO₂-Gehalt in Zellkultur gehalten. Das DMEM wurde mit 10% fetalem Rinderserum (*fetal calf serum*, FCS), 1% Natriumpyruvat (*sodium pyruvate*, SP) und 1% Penicillin/Streptomycin-Mischung (PS) supplementiert.

Plasmide des PPAR Transaktivierungs-Assays

Die PPAR-Rezeptor-Plasmide sind Gal4-Fusionsplasmide, die jeweils die *hinge*-Region und Ligand-Bindungsdomäne des jeweiligen PPAR-Subtyps enthalten, wobei als DNA-Bindedomäne Gal4 dient. Für die Plasmide wurden pFA-CMV Vektoren (Stratagene, La Jolla, CA, USA) verwendet, in die an der SmaI/XbaI Schnittstelle die folgenden Basenpaare-enthaltenden cDNA-Fragmente cloniert wurden: PPAR α : 499-1407 (NM_005036), PPAR δ : 412-1323 (NM_006238) und PPAR γ : 610-1518 (NM_015869).²⁵⁹ Als Reporterplasmid wurde pFR-Luc (Stratagene) und als Kontrollplasmid pRL-SV40 (Stratagene) verwendet, die jeweils für die Firefly- bzw. Renilla-Luciferase codieren.

Durchführung des PPAR Transaktivierungs-Assays

Die COS-7 Zellen wurden in einer Dichte von 30000 Zellen pro Well in 96-Wellplatten ausgesät. Am darauffolgenden Tag (ca. 20 h später) wurden mithilfe von Lipofectamin LTX die Plasmide in die Zellen transfiziert und fünf Stunden später die Zellen mit den Testsubstanzen, gelöst in DMEM mit maximal 0,1% DMSO, inkubiert. Jede Testkonzentration wurde in Triplikaten aufgetragen, als Nullwert diente DMEM mit 0,1% DMSO und als Positivkontrollen Pioglitazon (PPAR γ), GW7647 (PPAR α) und L165,041 (PPAR δ) jeweils in der Konzentration von 1 μ M. Nach 12-14 Stunden Inkubation wurden die Zellen mittels des Dual-glo Systems (Promega) lysiert und die Expression der Luciferasen durch eine Chemilumineszenz quantifiziert, die mit einem Tecan Infinite M200 bestimmt wurde. Dazu enthält das Dual-glo Reagenz Substrat der Firefly-Luciferase (Luciferin), das zu Oxyluciferin umgesetzt wird, wobei Lumineszenz entsteht. Zur Normalisierung über die Renilla-Luciferase wird anschließend Coelenterazin zugegeben und ebenfalls die Lumineszenz quantifiziert. Der Quotient aus der Lumineszenz der Firefly-Luciferase zur Lumineszenz der Renilla-Luciferase wird als relative Light Units (rLU) bezeichnet. Bezog man nun die Werte der einzelnen Testkonzentrationen auf den Nullwert und die Positivkontrolle als 100%, erhielt man relative Aktivitätswerte. Aus mindestens drei unabhängigen Bestimmungen mehrerer Konzentrationen einer Testsubstanz ließ sich aus der erhaltenden sigmoidalen Aktivitätskurve mittels Sigmaplot 10.0 in einer nicht-linearen Regression die halbmaximale effektive Konzentration (EC₅₀) berechnen.

5.1.2 FXR Transaktivierungs-Assay

In dem in HeLa Zellen durchgeführten FXR-Reporter-gen-Assay wurde der gesamte humane FXR-Rezeptor verwendet, der mit co-transfiziertem RXR-Rezeptor ein Heterodimer bildet und FXR-Responseelemente erkennt.

Zellkultur

Die für den Assay verwendeten HeLa Zellen wurden in DMEM mit hohem Glukoseanteil bei 37° C und 5% CO₂-Gehalt kultiviert. Das DMEM wurde mit 10% FCS, 1% SP und 1% PS supplementiert.

Plasmide des Vollängen-FXR Transaktivierungs-Assays

Das FXR-Plasmid (pcDNA3-hFXR) war ein Vollängen-Plasmid und wurde schon an früherer Stelle publiziert.²⁶⁰ Als Reporterplasmid wurde pGL3basic (Promega) verwendet, welches um eine verkürzte Erkennungssequenz (Sequenz aus ¹⁵⁰) des Promotors der *bile salt export pump* (BSEP) erweitert wurde. Die Sequenz wurde in eine SacI/NheI Schnittstelle vor das Luciferase Gen kloniert. Zur Kontrolle der Transfektion und des Zellwachstums diente pRL-SV40 (Stratagene). Das Plasmid für den RXR-Rezeptor (pSG5-hRXR) wurde ebenfalls an anderer Stelle publiziert.²⁶¹

Durchführung des FXR Transaktivierungs-Assays

Der FXR Transaktivierungs-Assay verlief nach dem gleichen Prinzip wie der PPAR Transaktivierungs-Assay, wobei sich aber die Zelllinie und damit die Transfektionsmethode unterschieden. Zusätzlich zum FXR-Plasmid wurde ein konstitutives RXR-Plasmid transfiziert und das Reporterplasmid enthält diesmal einen BSEP-Promotor. Der Ablauf erfolgt wie beim PPAR-Assay beschrieben, Unterschiede sind in Tabelle 31 aufgeführt.

	PPAR Transaktivierungs-Assay	FXR Transaktivierungs-Assay
Zelllinie	COS-7	HeLa
Zellzahl pro Well	30 000	8 000
Transfektionsmethode	Lipofectamin LTX	Calciumphosphat
Wachstumsmedium	DMEM rot 10% FCS, 1% SP, 1% PS	DMEM rot 10% FCS, 1% SP, 1% PS
Mediumswechsel	keiner	3,5 h vor Transfektion DMEM rot 0.5% charcoal-stripped FCS
Transfektionsmedium	Optimem	DMEM rot 0.5% charcoal-stripped FCS
Inkubationsmedium	DMEM ohne Phenolrot 0.5% charcoal-stripped FCS, 1% SP, 1% PS, 1% L-Glutamin	DMEM ohne Phenolrot 0.5% charcoal-stripped FCS, 1% SP, 1% PS, 1% L-Glutamin
Zeit bis zur Transfektion	20 h	24 h
Zeit bis zur Inkubation	5 h	24 h
Zeit bis zur Lyse und Quantifizierung	12-14 h	24 h

Tab. 25: Gegenüberstellung der PPAR- und FXR-Transaktivierungs-Assays

5.1.3 TGR5-Assay

Die Aktivität von **159a** an TGR5, dem G-Protein gekoppelten Rezeptor der Gallensäuren, wurde von Prof. Dr. Pellicciari und Dr. Passeri (Department of Chemistry and Drug Technologies of the University of *Perugia*, Italien) durchgeführt. Hierfür wurde der cAMP-Spiegel von NCI-H716 Zellen mittels HTR-FRET Assay bestimmt. Die in DMEM (mit 10% FBS) kultivierten Zellen wurden in 96-Well Platten ausgesät, die mit Matigrel (BD Bioscience) überzogenen waren, und nach 24 Stunden mit der Testsubstanz **159a** stimuliert. Dazu wurde diese in steigender Konzentration in OptiMEM mit 1mM IBMX (Sigma) für 60 Minuten bei 37°C auf die Zellen gegeben. Der intrazelluläre cAMP-Level wurde mithilfe des Lance Kit (Perkin Elmer) nach Vorschrift des Herstellers bestimmt.

5.1.4 FXR Targetgen Quantifizierung mittels quantitativer *real time polymerase chain reaction* (qRT-PCR)

Der Effekt ausgewählter FXR-Liganden auf die Expression von FXR-Targetgenen wurde mittels qPCR in Zusammenarbeit mit Daniel Merk im Arbeitskreis Prof. Schubert-Zsilavec bestimmt. Hierfür wurden HepG2-Zellen, die als hepatozelluläre Karzinomzellen ausdifferenzierten Leberzellen ähneln, sowie HT-29-Darmkrebszellen verwendet.

Zellkultur

Die HepG2 Zellen wurden in DMEM (10% FCS, 1% SP, 1% PS) bei 37°C und 5% CO₂ in 6-Well-Platten ausgesät ($2 \cdot 10^6$ pro Well). HT-29 wurden in McCoys 5A Medium (10% FCS, 1% PS) ebenfalls bei 37°C und 5% CO₂ in 6-Well-Platten ausgesät ($2 \cdot 10^6$ pro Well). 24 h nach dem Aussäen wurde das Medium zu MEM (1% CS-FCS, 1% PS, 2 mM L-Glutamin) gewechselt. Weitere 24 h später wurden die Zellen mit den Testsubstanzen (oder 0,1% DMSO als Nullwert) gelöst in MEM mit 0,1% DMSO inkubiert. 6, 18 oder 24 Stunden nach Inkubation werden die Zellen mit Trypsin EDTA (TE) geerntet, mit kaltem PBS gewaschen und entweder direkt zur RNA-Extraktion verwendet oder bei -80° gelagert.

RNA-Extraktion und cDNA Synthese

Die RNA-Extraktion wurde mittels Total RNA Mini Kit von Omega (R6834-02) durchgeführt und anschließend 2 µg der RNA zur reversen Transkription in cDNA

verwendet, die nach Beschreibung des Hersteller-Protokolls mit dem cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies: 4368814) durchgeführt wurde.

q-RT PCR

Die Quantifizierung der FXR-Targetgen-Expression erfolgte per quantitativer real-time-PCR Analyse mit einem StepOnePlus™ System (Life Technologies) unter der Verwendung von PowerSYBRGreen (Life Technologies; 12,5 µL pro Well) und den folgenden Primern (jeweils 300 nM): SHP: 5`-GCTGTCTGGAGTCCTTCTGG (forward) und 5`-CCAATGATAGGGCGAAAGAAGAG (reverse); BSEP: 5`-CATGGTGCAAGAAGTGCTGAGT (forward) und 5`-AAGCGATGAGCAACTGAAATGAT (reverse); OSTα: 5`-TGCTGCTCACCAGGAAGAAG (forward) und 5`-ATAGAGCTGTGCTCCCCTCA (reverse); IBABP: 5`-TCAAGGCCACTGTGCAGATG (forward) und 5`-CAGCTTGTACCCACGATCTC (reverse). Die Ct-Werte wurden auf die GAPDH Ct-Werte (Primer: 5`- ATATGATTCCACCCATGGCA (forward) und 5`-GATGATGACCCTTTTGGCTC (reverse)) normalisiert. Jede Probe wurde in Duplikaten erstellt und mindestens in vier unabhängigen Experimenten wiederholt. Die Expression wurde mittels vergleichender $\Delta\Delta\text{Ct}$ Methode quantifiziert.

5.1.5 Zelltoxizitäts-Assays

Die Zytotoxizität ausgewählter FXR-Liganden wurde an HepG2-Zellen mittels WST-1- und LDH-Tests untersucht. Die Zellkultur der HepG2-Zellen wurde von mir durchgeführt, die Durchführung der Tests von Daniel Merk im Arbeitskreis Schubert-Zsilavec. Dafür wurden die HepG2-Zellen in 96-Well-Platten in einer Dichte von 30.000 Zellen pro Well in DMEM (10 % FCS, 1 % SP, 1 % PS) ausgesät.

WST-1

Der WST-1 Assay (Roche) wurde nach Anleitung des Hersteller-Protokolls durchgeführt. Dafür wurden 24 h nach dem Aussäen die Zellen mit den Testsubstanzen (Testkonzentrationen: 10 µM, 30 µM, 60 µM, 100 µM) in DMEM (1% PS, 1% FCS) inkubiert. Als Positiv-Kontrolle diente Revlotron (100 µM) und als Negativ-Kontrolle Zileuton (100 µM) und DMEM mit 0,1% DMSO. 48 h nach der Inkubation wurde in jedes Well WST-Reagenz (Roche) hinzugefügt und nach 45 Minuten die Absorption (450 nm/ Referenz: 620 nm) mittels eines Tecan Infinite

M200 bestimmt. Jedes Experiment wurde in Triplikaten mindestens vier Mal wiederholt.

LDH

Die Durchführung des LDH-Assays erfolgte nach dem Protokoll des Herstellers (Roche). 24 h nach dem Aussäen wurden HepG2-Zellen mit den Testsubstanzen für 48 h inkubiert. Als Positiv-Kontrolle wurde eine Stunde vor der Messung TRITON X-100 (2 %) hinzugegeben. Zur Messung wurde der Überstand jedes Wells in eine neue Platte überführt und nach 20 Minuten Inkubationszeit mit LDH-Substrat wurde die Absorption (490 nM, Referenz: 690 nM) mit einem Tecan Infinite M200 bestimmt. Alle Experimente wurden in Triplikaten und mindestens in vier unabhängigen Versuchen durchgeführt.

5.1.6 Metabolische Stabilität

Die Metabolische Stabilität von **159a** wurde mittels HPLC-Analyse nach Inkubation mit Lebermikrosomen bestimmt. Dazu wurde die in DMSO gelöste Testsubstanz (**159a**, 5 µL, finale Konzentration: 10 µM) bei 37°C zusammen mit 50 µL eines NADPH-Regenerationssystem (30 mM Glukose-6-phosphat, 4 U/mL Glukose-6-phosphat Dehydrogenase, 10 mM NADP, 30 mM MgCl₂) in 432 µL Phosphatpuffer (0,1 M, pH 7,4) vorinkubiert. Nach 5 Minuten wurde die Reaktion durch hinzugeben des Mikrosomen-Mixes (13 µL, aus Sprague-Dawley Ratten, Invitrogen, 20 mg Protein/mL in 0,1 M Phosphatpuffer) gestartet. Die Reaktion wurde nach 0, 15, 30 und 60 Minuten durch Zugabe von 250 µL eiskaltem Methanol gestoppt und mit 250 µL weiter verdünnt bevor die Proben bei 4°C für 5 Minuten zentrifugiert wurden (10000 g). Der Überstand wurde mittels HPLC analysiert und die Menge der Testsubstanz quantifiziert. (Mobile Phase: MeOH 83%/H₂O 17%/Ameisensäure 0,1%; Flussrate 1 mL/Min.; Stationäre Phase: MultoHigh Phenylphase, 5 µm, 250 x 4 Vorsäulen; Detektionswellenlängen: 254 und 330 nm, Injektionsvolumen 50 µL). Kontrollproben zur Überprüfung der Stabilität von 147 in den Reaktionsgemischen enthielten entweder kein NADPH oder inaktivierte Mikrosomen. Die Basislinie wurde durch Aufarbeitung einer Probe ohne Testsubstanz erhalten. Die Quantifizierung erfolgte mittels einer externen Kalibriergeraden.

5.2 Allgemeine Angaben zur Synthese

Dünnschichtchromatographie: DC-Alufolien Kieselgel 60 F254 (Firma Merck KGaA), Schichtdicke 0,2 mm. Die Chromatogramme wurden über Fluoreszenzlöschung bei 254nm oder durch Fluoreszenz bei 366nm visualisiert.

Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (Firma Machery-Nagel), Korngröße 0,04-0,063 mm.

Kernresonanzspektroskopie (NMR): Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren wurden an den Spektrometern Bruker DPX 250, AV 300, AV 400 und AV 500 aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen der ^1H - und ^{13}C -Spektren werden in *parts per million* (ppm) angegeben bezogen auf Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard. Kopplungskonstanten werden in der Einheit Hertz (Hz) angegeben.

Massenspektrometrie (MS): Die Massenspektrometrie wurde am Institut für organische Chemie der Goethe-Universität Frankfurt an einem Fisons Instruments VG Platform II durchgeführt. Zur Ionisierung wurde die Elektrosprayionisation (ESI) im negativem (ESI-) oder positiven (ESI+) Modus verwendet.

Elementaranalysen (EA): Die Elementarzusammensetzung der Substanzen wurde im Mikroanalytischen Labor des Instituts für organische Chemie der Goethe-Universität Frankfurt an einem Elementar Vario Micro Cube bestimmt. Alle biologisch getesteten Substanzen hatten eine Reinheit $\geq 95\%$.

Lösungsmittel und Chemikalien: Der Großteil der Lösungsmittel wurde in p.a. Qualität eingesetzt, wobei absolute Lösungsmittel sowie weitere Chemikalien von den Firmen Sigma Aldrich Chemie GmbH, Alfa Aesar GmbH und CoKG, Merck Chemicals oder Acros Organics bezogen wurden.

5.3 Synthese und Charakterisierung der Pirinixinsäure-Derivate

5.3.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Darstellung der Thioether-Vorstufe 73-75

2-Thiobarbitursäure (**69**, 1,0 eq.) wurde bei Raumtemperatur in DMF (abs., 10 mL) suspendiert, Triethylamin (abs., 1,5 eq.) zugetropft und die Mischung auf 80°C erhitzt. Wenn sich eine klare Lösung gebildet hatte wurde der jeweilige α -Brom-Ethylester (**70-72**, 1,2 eq.) in DMF (abs., 5 mL) gelöst hinzugegeben und der Reaktionsansatz bei 80°C gerührt bis eine DC-Kontrolle die vollständige Umsetzung

anzeigte (5-18h). Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Reaktion mit dem 5-fachen Volumen Wasser gequench und die resultierende wässrige Lösung dreimal mit Ethylacetat (EE) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat (MgSO_4) getrocknet und das Rohprodukt durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten. Die weitere Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus n-Hexan/Ethylacetat oder Säulenchromatographie (mobile Phase: n-Hexan/ Ethylacetat, Gradient).

#	E ₁	E ₂	TEA	DMF	Reaktions- dauer	Ausbeute	Beschreibung
	Menge in g (mmol)			in mL	in h	in g (%)	
74 (MD94)	2.5 (17.3)	4.26 (19.1)	2.63 (26)	15	5.5	4.02 (81)	gelb-oranger Feststoff
75	3.5 (24)	7.32 (29)	3.69 (36)	15	12	2.69 (35)	schmutzig weiß- gelblicher Feststoff

Tab. 26: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen **74-75**, (Vorstufe **73** war schon vorhanden). Feststoff bezeichnet einen amorphen Feststoff

5.3.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Chlorierung der Hydroxygruppen, 76-78

Die Vorstufen **73-75** (1 eq) wurden bei Raumtemperatur in Thionylchlorid (POCl_3 , 18 eq) gelöst, *N,N*-Diethylanilin (1 eq) hinzu getropft und die Reaktion unter Rückfluss bei 90°C gerührt. Wenn DC-Kontrolle (1,5 – 5h) die vollständige Umsetzung von **73-75** zeigte, wurde die Reaktion durch Entfernen von POCl_3 mittels Destillation abgebrochen. Das zurückbleibende Gemisch wurde mit Eis gequench und anschließend die resultierende wässrige Phase dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit NaHCO_3 -Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Rohprodukt durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten. Die weitere Aufreinigung erfolgte durch Säulenchromatographie (mobile Phase: n-Hexan/Ethylacetat, Gradient).

#	73-75	POCl_3	<i>N,N</i> - Diethylanilin	Reaktions- dauer	Ausbeute	Beschreibung
	Menge in g (mmol)			in h	in g (%)	
76 (MD02)	10 (43.4)	70 (790)	6.5 (43.4)	4.5	10 (86)	weiße Kristalle
77 (MD90)	5.5 (19.2)	30.6 (350)	2.9 (19.2)	5.5	5.86 (94)	gelbes Öl
78	2.6 (8.2)	22.6 (148)	1.2 (8.2)	5	2.35 (82)	hellbraunes Öl

Tab. 27: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen **76-78**

5.3.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur aromatischen nukleophilen Substitution

Methode A:

76-78 (E_1 , 1 eq) wurden zusammen mit einem primären Amin (**79-82**, E_2 , 1,2 eq) in Tetrahydrofuran (THF, abs., 5 mL/mmol E_1) gelöst und nach Zugabe von *N*-Ethyl-diisopropylamin (E_3 , 3 eq) wurde das Reaktionsgemisch auf 60°C erhitzt. Nach beendeter Reaktion (DC Kontrolle) wurde das Rohprodukt durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten und mittels Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat als mobile Phase) und anschließende Umkristallisation aus Ethanol aufgereinigt.

#	E_1	E_2			E_3	Zeit in h	Ausbeute in g (%)	Beschreibung
		Menge in g (mmol)						
83a	76	0.37 (1.38)	Phenylbenzen- 1,4-diamin (79)	0.31 (1.66)	0.54 (4.15)	28	0.45 (78)	grün-braunes Öl
84a (MD110)	77	1.00 (3.09)		0.65 (3.71)	1.20 (9.28)	8	1.35 (92)	gelb-grünes Öl
62a (MD60)	78	1.00 (2.85)		0.63 (3.42)	1.10 (8.54)	6	1.26 (88)	grünes Öl
85a	78	0.40 (1.14)	4- Phenoxyanilin (80)	0.25 (1.37)	0.44 (3.42)	24	0.38 (66)	hellbraunes Öl
86a	78	0.40 (1.14)	4-Benzylanilin (81)	0.25 (1.37)	0.44 (3.42)	23	0.49 (87)	hellbraunes Öl
87a	78	1.03 (2.93)	4-Aminophenyl (phenyl)metha- non (82)	0.69 (3.52)	1.14 (8.79)	48	0.24 (16)	schmutzig weißer Feststoff

Tab. 28: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen **62a**, **83a-87a**.

Im Falle von Substanz **87a** wurden schlechte Ausbeuten erreicht, sodass eine andere Arbeitsvorschrift gewählt wurde:

Methode B (mittels Buchwald-Hartwig-Aminierung) 87a

Vorstufe **78** (E_1 , 1 eq) wurde mit 4-Aminophenyl(phenyl)methanon (**82**, E_2 , 1.2 eq), Xantphos (0.06 eq) und Natriumcarbonat (1.4 eq) in Toluol/Wasser (10/40 mL) in einem Dreihalskolben gelöst und der Katalysator Tris(Dibenzylidenaceton)dipalladium(0) (0.02 eq) im Argon-Gegenstrom hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 6h auf 85°C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit Toluol verdünnt, die Phasen getrennt, die organische Phase über Celite gefiltert und über $MgSO_4$ getrocknet. Das Rohprodukt wurde durch Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhalten und

durch Säulenchromatographie (mobile Phase: n-Hexan/ Ethylacetat) und anschließende Umkristallisation aus Ethanol aufgereinigt.

#	E ₁	E ₂	Pd ₂ (dba) ₃	Xantphos	Na ₂ CO ₃	Zeit	Ausbeute	Beschreibung	
							Menge in g (mmol)		(in h)
87a	78	0.74 (2.12)	0.5 (2.53)	0.04 (0.04)	0.07 (0.13)	0.31 (2.95)	6	0.48 (44)	schmutzig weißer Feststoff

Tab. 29: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen **87a**

5.3.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Verseifung der Estergruppen

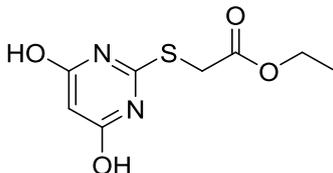
62a, 83a-87a (E₁, 1 eq) wurden in THF (15 mL/mmol) vorgelegt, eine Lösung aus Lithiumhydroxid (5-10 eq, in Wasser 3 mL/mmol) zugegeben und die beiden Phasen durch Zugabe weniger Tropfen Methanol durchmischt. Für 20-48 Stunden wurde bei 70-80°C gerührt und nach vollständigem Umsatz des Esters **62a, 83a-87a** (DC-Kontrolle) das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser, mit gegebenenfalls etwas Methanol, gelöst und durch tropfenweise Zugabe von 2N HCl die freie Säure gefällt. Die weitere Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisation aus n-Hexan/ Ethylacetat.

#	E ₁	LiOH	Reaktions-	Ausbeute*	Beschreibung	
			dauer	in g (%)		
		Menge in g (mmol)	in h	in g (%)		
83	83a	0.23 (0.56)	0.07 (2.78)	21	0.1 (45)	gelb-brauner Feststoff
84	84a	0.43 (0.95)	0.07 (2.85)	28	0.18 (43)	grüner Feststoff
62	62a	0.55 (1.12)	0.08 (3.32)	20	0.27 (51)	brauner Feststoff
85	85a	0.30 (0.60)	0.07 (3.00)	24	0.19 (69)	hellbrauner Feststoff
66	86a	0.30 (0.60)	0.07 (3.01)	28	0.24 (84)	gelb-brauner Feststoff
87	87a	0.11 (0.22)	0.05 (2.15)	48	0.07 (63)	gelblich-weißer Feststoff

Tab. 30: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Substanzen **62, 83-87**

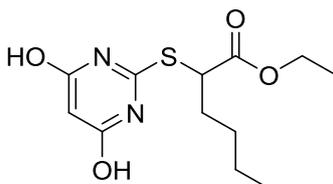
5.3.5 Charakterisierung Substanzen 62, 73-87

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4,6-dihydroxypyrimidin-2-yl)thio]acetat (73)



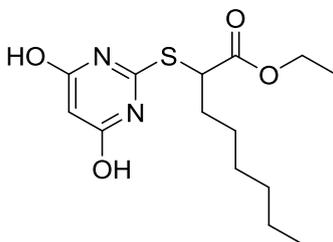
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.17 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 3.99 (s, 2H, SCH₂), 4.10 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 5.19 (s, 1H, Pyr-*H*), 11.78 (s, 2H, OH).

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4,6-dihydroxypyrimidin-2-yl)thio]hexanoat (74, MD94)



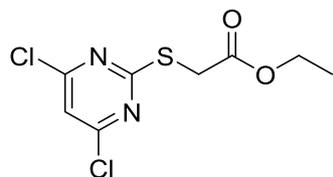
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.96 (t, 3H, CH₃-Bu, *J* = 7.1 Hz), 1.29 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 1.41-1.43 (m, 4H, Bu-CH₂), 1.84-2.06 (m, 2H, Bu-CH₂), 4.24 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.62 (t, 1H, SCH, *J* = 7.1 Hz), 5.35 (s, 1H, Pyr-*H*), 11.91 (s, 2H, OH). **¹³C-NMR (50 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.61 (CH₃-Bu), 13.89 (CH₃-CH₂-O), 21.59 (Bu-CH₂), 28.49 (Bu-CH₂), 31.28 (Bu-CH₂), 46.42 (SCH), 61.05 (O-CH₂-CH₃), 85.63 (Pyr-C₅), 162.70 (Pyr-C₂), 167.78 (Pyr-C_{4/6}), 170.85 (COOEt). **MS (ESI-):** *m/z* = 284.9 [M-H].

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4,6-dihydroxypyrimidin-2-yl)thio]octanoat (75)



¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, CH₃-Hex, *J* = 7.1 Hz), 1.17 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 1.23-1.30 (m, 8H, Hex-CH₂), 1.76-1.88 (m, 2H, Hex-CH₂), 4.11 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.50 (t, 1H, SCH, *J* = 7.1 Hz), 5.22 (s, 1H, Pyr-*H*), 11.79 (s, 2H, OH). **¹³C-NMR (50 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (CH₃-Hex), 13.91 (CH₃-CH₂-O), 21.89 (Hex-CH₂), 26.28 (Hex-CH₂), 28.07 (Hex-CH₂), 30.92 (Hex-CH₂), 31.59 (Hex-CH₂), 46.46 (SCH), 61.07 (O-CH₂-CH₃), 85.65 (Pyr-C₅), 162.69 (Pyr-C₂), 167.80 (Pyr-C_{4/6}), 170.87 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 315.1 [M+H]⁺.

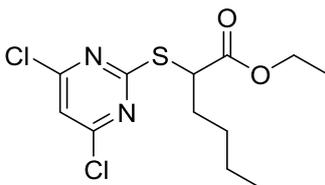
Charakterisierung von Ethyl 2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)thio]acetat (76, MD02)



¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 3.90 (s, 2H, SCH₂), 4.23 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 7.06 (s, 1H, Pyr-*H*). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.80 (CH₃-CH₂-O), 33.34 (SCH), 61.21 (O-CH₂-CH₃), 117.06 (Pyr-C₅), 160.97 (Pyr-C_{4/6}), 168.08 (Pyr-C₂), 171.54 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 267.0 [M+H]⁺.

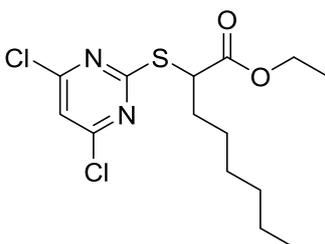
5. Experimenteller Teil

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)thio]hexanoat (77)



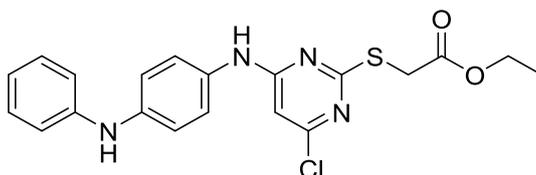
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.88 (t, 3H, CH₃-Bu, *J* = 7.2 Hz), 1.26 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 1.30-1.45 (m, 4H, Bu-CH₂), 1.87-1.96 (m, 2H, Bu-CH₂), 4.19 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.35 (t, 1H, SCH, *J* = 7.2 Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-*H*). **¹³C-NMR (50 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.75 (CH₃-Bu), 14.15 (Bu-CH₂), 22.17 (Bu-CH₂), 29.14 (Bu-CH₂), 30.95 (Bu-CH₂), 48.55 (SCH), 61.58 (O-CH₂-CH₃), 116.31 (Pyr-C₅), 161.40 (Pyr-C_{4/6}), 171.43 (Pyr-C₂), 172.79 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 322.9 [M+H]⁺.

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)thio]octanoat (78)



¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84-0.87 (t, 3H, CH₃-Hex, *J* = 6.8 Hz), 1.17-1.28 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 1.26-1.36 (m, 6H, CH₂-Hex), 1.43-1.49 (m, 2H, CH₂-Hex), 1.86-1.98 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.11-4.20 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.35-4.40 (t, 1H, SCH, *J* = 7.2 Hz), 7.76 (s, 1H, Pyr-*H*). **¹³C-NMR (50 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.98 (CH₃-Hex), 14.16 (CH₃-CH₂-O), 22.47 (Hex-CH₂), 26.97 (Hex-CH₂), 28.70 (Hex-CH₂), 31.03 (Hex-CH₂), 31.24 (Hex-CH₂), 48.55 (SCH), 61.56 (O-CH₂-CH₃), 116.31 (Pyr-C₅), 161.39 (Pyr-C_{4/6}), 171.38 (Pyr-C₂), 172.80 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 350.9 [M+H]⁺.

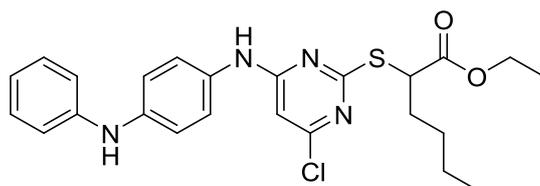
Charakterisierung von Ethyl 2-[(4-chlor-6-((4-(phenylamino)phenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]acetat (83a)



¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.10-1.16 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 3.96 (s, 2H, SCH₂), 4.00-4.09 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 6.93 (s, 1H, Pyr-*H*), 6.76-6.82 (t, 1H, Ph'-C₄, *J* = 7.5 Hz), 7.02-7.07 (q, 4H, Ph-C_{2/6} + Ph-C_{3/5}, *J* = 7.1 Hz), 7.18-7.24 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 7.5 Hz), 7.33-7.37 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 10 Hz), 8.13 (s, 1H, Ph-NH-Pyr), 9.74 (s, 1H, Ph'-NH-Ph). **¹³C-NMR (52 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.95 (CH₃-CH₂-O), 32.74 (SCH₂), 60.97 (O-CH₂-CH₃), 100.27 (Pyr-C₅), 116.33 (Ph'-C_{2/6}), 117.30 (Ph-C_{2/6}), 119.40 (Ph'-C₄), 122.53 (Ph-C_{3/5}), 129.12 (Ph'-C_{3/5}), 130.52 (Ph-C₁), 139.76 (Ph-C₄), 143.64 (Ph'-C₁), 157.12 (Pyr-C₄), 160.65 (Pyr-C₂), 168.65 (Pyr-C₆), 169.78 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 415.3 [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (gefunden) [Abweichung]:** C 58.09 (57.90) [0.19]; H 4.81 (4.62) [0.19]; N 13.44 (13.50) [0.06]; S 7.57 (7.73) [0.16].

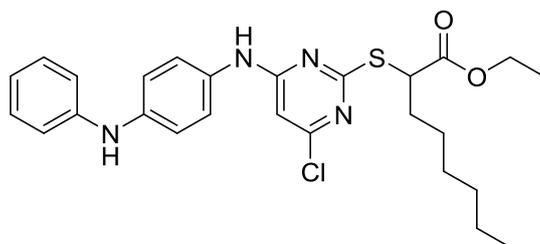
5. Experimenteller Teil

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4-chlor-6-((4-(phenylamino)phenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]hexanoat (84a, MD110)



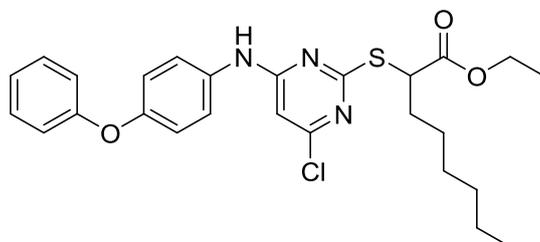
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.79-0.84 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.7 Hz), 1.12-1.16 (t, 3H, CH₃-Bu, *J* = 6.7 Hz), 1.28-1.30 (m, 4H, Bu-*H*), 1.78-1.97 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.02-4.12 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.37-4.41 (t, 1H, SCH, *J* = 6.7 Hz), 6.39 (s, 1H, Pyr-*H*), 6.76-6.81 (t, 1H, Ph'-C₄, *J* = 6.7 Hz), 7.02-7.07 (m, 4H, Ph-C_{3/5} + Ph'-C_{2/6}), 7.18-7.23 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 7.5 Hz), 7.35 (d, 2H, Ph-C_{2/6}), 8.16 (s, 1H, Ph'-NH-Ph), 9.77 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (62 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.61 (Bu-CH₃), 13.93 (CH₃-CH₂-O), 21.56 (Bu-CH₂), 28.69 (Bu-CH₂), 31.22 (Bu-CH₂), 46.72 (SCH), 60.94 (O-CH₂-CH₃), 116.28 (Pyr-C₅ + Ph-C_{2/6}), 117.30 (Ph'-C_{2/6} + Ph'-C₄), 119.39 (Ph-C_{3/5}), 129.11 (Ph'-C_{3/5} + Ph-C₁ + Ph-C₄), 143.63 (Ph'-C₁), 169.40 (Pyr-C₆), 171.19 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 471.8 [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (gefunden) [Abweichung]:** C 61.05 (61.20) [0.15]; H 5.93 (5.78) [0.15]; N 11.70 (11.89) [0.19].

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4-chlor-6-((4-(phenylamino)phenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]octanoat (62a, MD60)



¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.79-0.84 (t, 3H, CH₃-Hex, *J* = 6.7 Hz), 1.11-1.15 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 1.17-1.44 (m, Hex-*H*, 8H), 1.68-1.95 (m, 2H, CH₂-Hex), 3.95-4.20 (m, 2H, O-CH₂-CH₃), 4.39 (t, 1H, SCH, *J* = 7.2 Hz), 6.39 (s, 1H, Pyr-*H*), 6.78 (t, 1H, Ph'-C₄, *J* = 7.2 Hz), 6.94-7.13 (m, 4H, Ph-C_{3/5} + Ph'-C_{2/6}), 7.13-7.26 (m, 2H, Ph'-C_{3/5}), 7.26-7.53 (m, 2H, Ph-C_{2/6}), 8.14 (s, 1H, Ph'-NH-Ph), 9.77 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** 13.77 (Hex-CH₃), 13.91 (CH₃-CH₂-O), 21.86 (Hex-CH₂), 26.43 (Hex-CH₂), 28.00 (Hex-CH₂), 30.86 (Hex-CH₂), 31.51 (Hex-CH₂), 46.71 (SCH), 60.91 (O-CH₂-CH₃), 100.34 (Pyr-C₅), 116.12 (Ph-C_{2/6}), 117.31 (Ph-C_{3/5}), 119.36 (Ph'-C₄), 122.54 (Ph'-C_{2/6}), 129.06 (Ph'-C_{3/5}), 130.44 (Ph-C₁), 139.80 (Ph-C₄), 143.64 (Ph'-C₁), 157.13 (Py-C₄), 160.65 (Pyr-C₂), 169.40 (Pyr-C₆), 171.17 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 499.3 [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (gefunden) [Abweichung]:** C 62.75 (62.57) [0.18]; H 6.51 (6.26) [0.25]; N 11.21 (11.23) [0.02].

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4-chlor-6-((4-phenoxyphenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]octanoat (85a)

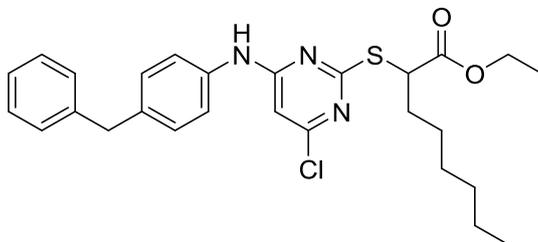


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.80-0.83 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.6 Hz); 1.12-1.15 (m, Hex-*H*, 11H), 1.80-1.91 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.03-4.15 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.6 Hz), 4.37-4.43 (t, 1H, SCH, *J* = 6.1), 6.49 (s, 1H, Pyr-*H*), 7.00-7.03 (m, 4H, Ph C_{3/5} + Ph'-C_{2/6}), 7.11-7.17 (t, 1H, Ph'-C₄, *J* = 7.6), 7.37-7.43 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 7.6), 7.55-7.58 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 7.6), 9.97 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** 13.82 (Hex-CH₃), 13.90 (CH₃-CH₂-O), 21.86 (Hex-CH₂), 26.40 (Hex-CH₂), 26.83 (Hex-CH₂), 30.85 (Hex-CH₂), 31.35 (Hex-CH₂), 46.71 (SCH), 60.94 (O-CH₂-CH₃), 100.75 (Pyr-C₅),

5. Experimenteller Teil

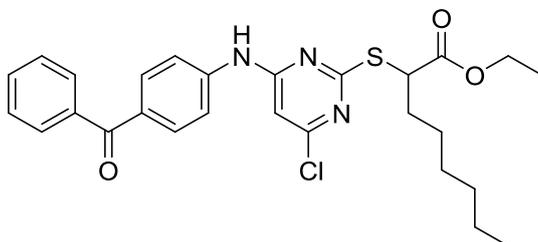
118.11 (Ph- $C_{2/6}$), 119.24 (Ph'- C_4), 122.71 (Ph'- $C_{2/6}$), 123.50 (Ph- $C_{3/5}$), 129.96 (Ph'- $C_{3/5}$), 130.06 (Ph- C_1), 135.42 (Ph- C_4), 143.06 (Ph'- C_1), 157.02 (Pyr- C_4), 157.26 (Pyr- C_2), 169.48 (Pyr- C_6), 171.15 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 500.7$ [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (gefunden)** **[Abweichung]:** C 62.81 (62.45) [0.36]; H 6.24 (6.05) [0.19]; N 8.42 (8.40) [0.02]; S 6.21 (6.41) [0.20].

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4-((4-benzylphenyl)amino)-6-chlorpyrimidin-2-yl)thio]octanoat (86a)



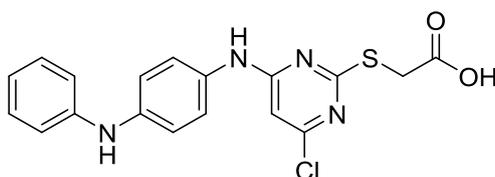
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.81-0.86 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.1$ Hz), 1.11-1.22 (m, 11H, Hex-H), 1.75-1.91 (m, 2H, CH₂-SCH), 3.93 (s, 2H, Ph'-CH₂-Ph), 4.03-4.14 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.1$ Hz), 4.38-4.44 (t, 1H, SCH, $J = 7.5$), 6.48 (s, 1H, Pyr-H), 7.10-7.33 (m, 7H, Ph + Ph'), 7.46-7.49 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 7.6$), 9.91 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** 13.84 (CH₃-Hex), 13.90 (CH₃-CH₂-O), 21.88 (Hex-CH₂), 26.40 (Hex-CH₂), 30.85 (Hex-CH₂), 31.35 (Hex-CH₂), 31.50 (Hex-CH₂), 46.70 (SCHex), 60.94 (O-CH₂-CH₃), 125.91 (Ph- C_4 + Ph'- C_1), 128.37 (Ph'- $C_{3/5}$), 128.59 (Ph- $C_{3/5}$ + Ph'- $C_{2/6}$), 129.02 (Ph'- C_4), 141.26 (Ph- $C_{2/6}$), 141.97 (Ph- C_1), 157.15 (Pyr- C_4), 160.67 (Pyr- C_2), 169.47 (Pyr- C_6), 171.14 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 498.7$ [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (gefunden)** **[Abweichung]:** C 65.12 (65.11) [0.01]; H 6.51 (6.48) [0.03]; N 8.27 (8.44) [0.17]; S 6.43 (6.44) [0.01].

Charakterisierung von Ethyl 2-[(4-((4-benzoylphenyl)amino)-6-chlorpyrimidin-2-yl)thio]octanoat (87a)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.78-0.83 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.1$ Hz); 1.11-1.35 (m, 11H, Hex-H), 1.78-1.97 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.03-4.17 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.1$ Hz), 4.43-4.49 (t, 1H, SCH, $J = 7.5$), 6.65 (s, 1H, Pyr-H), 7.54-7.80 (m, 9H, Ph + Ph'), 10.37 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.77 (CH₃-Hex), 13.88 (CH₃-CH₂-O), 21.84 (Hex-CH₂), 26.42 (Hex-CH₂), 27.93 (Hex-CH₂), 30.84 (Hex-CH₂), 31.27 (Hex-CH₂), 48.87 (SCHex), 61.03 (O-CH₂-CH₃), 102.21 (Pyr- C_5), 119.33 (Ph'- $C_{3/5}$), 128.45 (Ph'- $C_{2/6}$), 129.24 (Ph- $C_{3/5}$), 131.06 (Ph'- $C_{2/6}$), 131.17 (Ph'- C_4), 132.21 (Ph- C_1), 137.55 (Ph- C_4), 142.91 (Ph'- C_1), 157.74 (Pyr- C_4), 160.31 (Pyr- C_2), 169.76 (Pyr- C_6), 171.09 (COOEt), 194.40 (Ph'-CO-Ph). **MS (ESI-):** $m/z = 511.1$ [M+H]⁻. **Elementaranalyse: gemessen (gefunden)** **[Abweichung]:** C 63.41 (63.33) [0.08]; H 5.93 (5.91) [0.02]; N 8.18 (8.21) [0.03]; S 6.15 (6.26) [0.11].

Charakterisierung von 2-[(4-chlor-6-((4-(phenylamino)phenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]essigsäure (83)

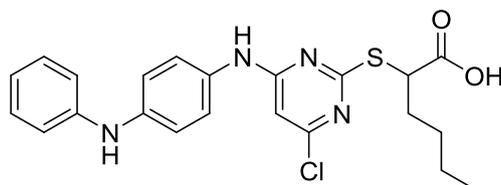


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.92 (s, 2H, SCH₂), 6.41 (s, 1H, Ph'-NH-Ph), 6.77-6.83 (t, 1H, Ph'- C_4 , $J = 7.2$ Hz), 7.04-7.10 (q, 4H, N-Ph-N), 7.20-7.26 (t, 2H, Ph'- $C_{3/5}$, $J = 7.6$ Hz), 7.38-7.41 (d, 2H,

5. Experimenteller Teil

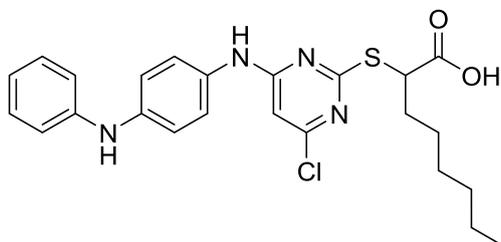
Ph'-C_{2/6}, $J = 8.3$ Hz), 8.14 (s, 1H, Pyr-H), 9.76 (s, 1H, Ph-NH-Pyr), 12.75 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (62 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 60.97 (SCH₂), 100.27 (Pyr-C₅), 116.14 (Ph-C_{2/6}), 117.54 (Ph-C_{2/6}), 119.22 (Ph'-C₄), 122.21 (Ph-C_{3/5}), 129.11 (Ph'-C_{3/5}), 130.50 (Ph-C₁), 139.94 (Ph-C₄), 143.64 (Ph'-C₁), 154.00 (Pyr-C₄), 159.31 (Pyr-C₂), 169.78 (Pyr-C₆), 172.50 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 387.3$ [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 56.10 (55.88) [0.22]; H 4.12 (3.91) [0.21]; N 14.49 (14.48) [0.01]; S 8.30 (8.29) [0.01].

Charakterisierung von 2-[(4-chlor-6-((4-(phenylamino)phenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]hexansäure (84)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.79-0.84 (t, 3H, CH₃-Bu, $J = 6.5$ Hz), 1.29-1.30 (m, 4H, Bu-CH₂), 1.76-1.89 (m, 2H, Bu-CH₂), 4.30-4.36 (t, 1H, SCH, $J = 7.1$ Hz), 6.39 (s, 1H, Pyr-H), 6.75-6.81 (t, 1H, Ph'-C₄, $J = 6.5$ Hz), 7.01-7.07 (t, 4H, N-Ph-N, $J = 7.4$ Hz), 7.17-7.23 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, $J = 7.0$ Hz), 7.36-7.39 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, $J = 8.0$ Hz), 8.13 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH), 12.92 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.66 (CH₃-Bu), 21.66 (Bu-CH₂), 28.79 (Bu-CH₂), 31.57 (Bu-CH₂), 46.98 (SCH), 116.26 (Ph'-C_{2/6}), 117.37 (Ph-C_{2/6}), 119.37 (Ph'-C₄), 122.53 (Ph-C_{3/5}), 129.11 (Ph'-C_{3/5}), 130.54 (Ph-C₁), 139.71 (Ph-C₄), 143.66 (Ph'-C₁), 157.15 (Pyr-C₄), 160.67 (Pyr-C₂), 169.77 (Pyr-C₆), 172.51 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 443.5$ [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 59.90 (59.65) [0.25]; H 5.46 (5.23) [0.23]; N 12.61 (12.65) [0.04]; S 7.10 (7.24) [0.14].

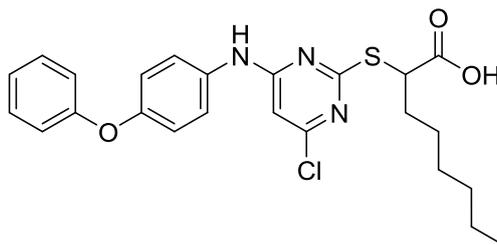
Charakterisierung von 2-[(4-chlor-6-((4-(phenylamino)phenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]octansäure (62)



¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.79-0.84 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 6.5$ Hz), 1.06-1.44 (m, 8H, Hex-H), 1.66-1.96 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.30-4.36 (t, 1H, SCH, $J = 7.1$ Hz), 6.39 (s, 1H, Pyr-H), 6.78 (t, 1H, Ph'-C₄, $J = 7.3$ Hz), 6.98-7.13 (m, 4H, Ph-C_{3/5} + Ph'-C_{2/6}), 7.13-7.26 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, $J = 6.5$ Hz), 7.26-7.51 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.0$ Hz), 8.13 (s, 1H, Ph'-NH-Ph), 9.76 (s, 1H, NH), 12.90 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.80 (Hex-CH₃), 21.89 (Hex-CH₂), 26.52 (Hex-CH₂), 28.12 (Hex-CH₂), 30.91 (Hex-CH₂), 31.87 (Hex-CH₂), 47.03 (SCH), 100.34 (Pyr-C₅), 116.20 (Ph-C_{2/6}), 117.34 (Ph'-C₄), 119.31 (Ph'-C_{2/6}), 123.02 (Ph-C_{3/5}), 129.08 (Ph'-C_{3/5}), 130.53 (Ph-C₁), 139.69 (Ph-C₄), 143.64 (Ph'-C₁), 157.05 (Pyr-C₄), 160.60 (Pyr-C₂), 169.80 (Pyr-C₆), 172.52 (COOH). **MS (ESI-):** $m/z = 469.3$ (M-H)⁻. **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 61.35 (61.20) [0.15]; H 5.68 (5.78) [0.10]; N 11.87 (11.89) [0.02]; S 6.69 (6.81) [0.12].

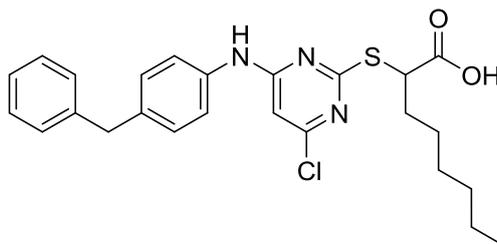
5. Experimenteller Teil

Charakterisierung von 2-[(4-chlor-6-((4-phenoxyphenyl)amino)pyrimidin-2-yl)thio]octansäure (85)



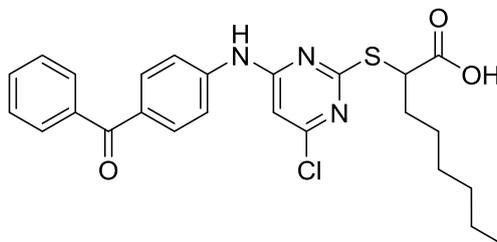
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.14-1.34 (m, 11H, Hex-*H*), 1.71-1.78 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.30-4.35 (t, 1H, SCH, *J* = 7.5), 6.47 (s, 1H, Pyr-*H*), 6.97-7.02 (m, 4H, Ph-C_{3/5} + Ph'-C_{2/6}), 7.11-7.17 (t, 1H, Ph'-C₄, *J* = 6.8), 7.37-7.43 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 7.4), 7.58-7.58 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9), 9.95 (s, 1H, NH), 12.91 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (CH₃-Hex), 20.72 (Hex-CH₂), 26.49 (Hex-CH₂), 28.06 (Hex-CH₂), 30.90 (Hex-CH₂), 31.61 (Hex-CH₂), 47.02 (SCHex), 100.75 (Pyr-C₅), 118.06 (Ph-C_{2/6}), 119.28 (Ph'-C₁), 122.8 (Ph'-C_{2/6}), 123.15 (Ph-C_{3/5}), 129.95 (Ph'-C_{3/5}), 134.06 (Ph-C₄), 143.64 (Ph-C₁), 157.05 (Pyr-C_{2/4}), 159.87 (Pyr-C₆), 172.47 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 472.6 [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 61.17 (61.07) [0.10]; H 5.88 (5.55) [0.33]; N 8.57 (8.90) [0.33]; S 6.66 (6.79) [0.13].

Charakterisierung von 2-[(4-((4-benzylphenyl)amino)-6-chlorpyrimidin-2-yl)thio]octansäure (86)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.15-1.19 (m, 11H, Hex-*H*), 1.76-1.98 (m, 2H, CH₂-SCH), 3.80 (s, 2H, Ph'-CH₂-Ph), 4.31-4.36 (t, 1H, SCH, *J* = 7.2), 6.46 (s, 1H, Pyr-*H*), 7.15-7.28 (m, 7H, Ph'), 7.45-7.48 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9), 9.89 (s, 1H, NH), 12.90 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.75 (CH₃-Hex), 21.64 (Hex-CH₂), 27.41 (Hex-CH₂), 28.99 (Hex-CH₂), 31.82 (Hex-CH₂), 32.65 (Hex-CH₂), 47.91 (SCHex), 60.64 (Ph'-CH₂-Ph), 121.68 (Ph-C₄ + Ph'-C₁), 126.83 (Ph'-C_{3/5}), 129.29 (Ph'-C_{2/6}), 129.50 (Ph-C_{3/5}), 129.96 (Ph'-C₄), 137.32 (Ph-C₁), 142.19 (Ph-C_{2/6}), 161.43 (Pyr-C₄), 170.76 (Pyr-C₂), 171.24 (Pyr-C₆), 173.39 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 470.7 [M+H]⁺. **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 63.99 (63.88) [0.11]; H 5.99 (6.00) [0.01]; N 8.94 (8.94) [0.00]; S 6.87 (6.82) [0.05].

Charakterisierung von 2-[(4-((4-benzoylphenyl)amino)-6-chlorpyrimidin-2-yl)thio]octansäure (87)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.78-0.84 (t, 3H, CH₃-Hex, *J* = 6.4), 1.20-1.42 (m, 8H, Hex-CH₂), 1.79-1.98 (m, 2H, CH₂-SCH), 4.43-4.49 (t, 1H, SCH, *J* = 7.4), 6.65 (s, 1H, Pyr-*H*), 7.57-7.80 (m, 9H, Ph + Ph'), 10.36 (s, 1H, NH), 12.93 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.78 (CH₃-Hex), 21.86 (Hex-CH₂), 26.52 (Hex-CH₂), 28.04 (Hex-CH₂), 30.88 (Hex-CH₂), 31.54 (Hex-CH₂), 47.14 (SCHex), 102.10 (Pyr-C₅), 119.25 (Ph'-C_{3/5}), 128.44 (Ph-C_{2/6}), 129.27 (Ph-C_{3/5}), 131.07 (Ph'-C_{2/6}), 131.11 (Ph'-C₄), 132.19 (Ph-C₁), 137.53 (Ph-C₄), 142.94 (Ph'-C₁), 157.71 (Pyr-C₄), 160.31 (Pyr-C₂),

5. Experimenteller Teil

170.13 (Pyr-C₆), 172.38 (COOH), 194.37 (Ph'-CO-Ph). **MS (ESI-):** $m/z = 482.2$ [M-H]⁻. **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 62.01 (62.04) [0.03]; H 5.45 (5.41) [0.04]; N 8.64 (8.68) [0.04]; S 6.44 (6.62) [0.18].

5.4 Synthese und Charakterisierung der FXR-Liganden

5.4.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes Ia: Darstellung des Ethers mittels *Williamson*-ähnlicher nukleophiler Substitution, 115-117

111-113 (E_1 , 1 eq) wurde mit Kaliumcarbonat (2 eq) in wasserfreiem Acetonitril (ACN, abs., 2 mL/mmol) für 30 Minuten bei 70°C gerührt. Anschließend wurde 3-Brompropanol (**109**, 1,5 eq) in ACN (abs., 5 mL/mmol) hinzu gegeben und das Reaktionsgemisch unter Rückfluss für 8 Stunden gerührt. Nach vollständigem Verbrauch von **111-113** (DC-Kontrolle) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde mit 2N HCl, NaHCO₃-Lösung und NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Rohprodukt anschließend säulenchromatographisch, mit n-Hexan/Ethylacetat als mobiler Phase, aufgereinigt.

#	E_1	E_2	K ₂ CO ₃	Zeit	Ausbeute	Beschreibung	
	Edukt						Menge in g (mmol)
115	Ethyl-4-Hydroxybenzoat (111)	0.75 (4.5)	0.5 (2.53)	0.94 (6.77)	8	0.82 (81)	wachsartiger, weißer Feststoff
116	1-(4-Hydroxyphenyl)-ethanon (112)	1.05 (7.7)	0.7 (5.15)	1.42 (10.3)	18	0.83 (83)	wachsartiger, weißer Feststoff
117	Ethyl-2-(4-hydroxyphenyl)-acetat (113)	1.70 (9.4)	1.09 (7.9)	2.17 (15.72)	16	1.35 (72)	hellgelbes Öl

Tab. 31: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen **115-117**

5.4.2 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes Ib: Darstellung des Ethers mittels Mitsunobu-Reaktion, 118-120

111/114 (E_1 , 1,5 eq) wurden in THF (abs., 3 mL/mmol) zusammen mit einem Hydroxyalkylbromid (**109/110**, E_2 , 1 eq) und Triphenylphosphin (TPP, 1,2 eq) suspendiert. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch unter Argon-Atmosphäre und auf einem Eisbad gerührt, und DIAD (1,2 eq) in THF (abs., 3 mL/mmol) mittels Spritze über ein Septum tropfenweise hinzu gegeben. Nach Abschluss der Reaktion (DC-Kontrolle, mind. 20h) wurde der Kolben vorsichtig belüftet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (n-Hexan/Ethylacetat als mobile Phase) aufgereinigt.

5. Experimenteller Teil

#	E ₁	E ₂		TPP	DIAD/ DEAD	Zeit	Ausbeute	Beschreibung
		Menge in g (mmol)						
118	Ethyl-4-Hydroxybenzoat (111)	0.75 (4.5)	3-Brompropanol (109) 0.42 (3.01)	0.95 (3.61)	0.73 (3.61)	36	0.69 (80)	weißer Feststoff
119		0.83 (5.0)	4-Brombutanol (110) 0.51 (3.32)	1.05 (3.98)	0.81 (3.98)	20	0.23 (23)	weißer Feststoff
120	Ethyl-3-Hydroxybenzoat (114)	1.74 (10.5)	3-Brompropanol (109) 0.97 (6.97)	2.19 (8.36)	1.69 (8.36)	72	1.73 (87)	farbloses Öl

Tab. 32: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen 118-120

5.4.3 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes IIa: Veretherung der Vorstufen 115-117

Die Vorstufen 115-117 wurden analog zu der Arbeitsvorschrift 5.4.2 in einer Mitsunobu-Reaktion umgesetzt und anschließend aufgereinigt.

#	E ₁	E ₂		TPP	DIAD	Zeit	Ausbeute	Beschreibung
		Menge in g (mmol)						
121	115	0.56 (2.48)	6-Hydroxychinolin 0.54 (3.71)	0.78 (2.97)	0.58 (2.97)	27	0.59 (69)	weißer Feststoff
123	115	0.5 (2.23)	5-Hydroxyindol 0.45 (3.34)	0.70 (2.68)	0.54 (2.68)	24	0.44 (58)	violette Nadeln
124	115	0.4 (1.78)	5-Hydroxyindazol 0.36 (2.68)	0.56 (2.14)	0.43 (2.14)	28	0.21 (34)	weißer Feststoff
125	115	0.5 (2.23)	4-Hydroxypyridin 0.25 (2.68)	0.70 (2.68)	0.54 (2.68)	21	0.31 (46)	weiße Nadeln
127	115	0.50 (2.23)	Phenol 0.32 (3.34)	0.70 (2.68)	0.54 (2.68)	53	0.21 (31)	weißer Feststoff
137	115	0.43 (1.92)	3-Brompyridin-2-ol 0.50 (2.88)	0.60 (2.30)	0.47 (2.30)	60	0.22 (30)	weißer Feststoff
138	115	0.23 (1.01)	4-Brompyridin-2-ol 0.26 (1.52)	0.32 (1.21)	0.25 (1.21)	19	0.10 (26)	weißer Feststoff
139	115	0.43 (1.92)	5-Brompyridin-2-ol 0.50 (2.88)	0.60 (2.30)	0.47 (2.30)	18	0.41 (55)	weißer Feststoff
140	115	0.5 (2.23)	2-Hydroxypyridin 0.32 (3.34)	0.70 (2.68)	0.54 (2.68)	22.5	0.19 (28)	weiße Nadeln

Tab. 33: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen 121-140

5.4.4 Allgemeine Arbeitsvorschrift des Syntheseschrittes IIb: Veretherung der Vorstufen 118-120 mittels *Williamson*-ähnliche nukleophile Substitution

Auch hier erfolgte die Umsetzung der Vorstufen **118-120** analog zu der Arbeitsvorschrift 5.4.1.

#	E ₁	K ₂ CO ₃		E ₂	ACN	Zeit	Ausbeute	Beschreibung	
		Menge in g (mmol)							in mL
122	4-Hydroxychinolinol	0.18 (1.25)	0.29 (2.09)	118	0.30 (1.05)	9	25	0.17 (47)	weißer Feststoff
126	3-Hydroxypyridin	0.28 (2.99)	0.55 (3.98)	118	0.57 (1.99)	8	27	0.20 (33)	weißer, kristalliner Feststoff
131	2-Hydroxy(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen)	0.13 (0.87)	0.24 (1.74)	118	0.30 (1.05)	10	31	0.10 (33)	farblose Nadeln
132	4-Nitrophenol	0.21 (0.87)	0.24 (1.74)	118	0.30 (1.05)	8	22	0.15 (51)	weiße Nadeln
133	3,4-Dimethoxyphenol	0.26 (1.17)	0.31 (2.22)	118	0.32 (1.11)	10	72	0.13 (33)	weißer Feststoff
134	4-Phenylphenol	0.15 (0.87)	0.24 (1.74)	118	0.30 (1.05)	8	25	0.22 (66)	weiße Nadeln
136/ 141	Pyrimidin-4-ol	0.17 (1.74)	0.32 (2.32)	118	0.32 (1.16)	10	20	136: 0.06 (17) 141: 0.05 (14)	jeweils weißer Feststoff
144	3-Brompyridin-2-ol	1.18 (6.78)	1.87 (13.56)	118	2.24 (8.14)	35	96	1.84 (71)	weißer Feststoff
145	4-Brompyridin-2-ol	0.23 (1.32)	0.36 (2.63)	118	0.45 (1.58)	13	17	0.19 (38)	weiße Nadeln
146	5-Brompyridin-2-ol	0.14 (0.79)	0.22 (1.58)	118	0.27 (0.95)	10		0.18 (61)	gelbl. Feststoff
130	6-Hydroxychinolin	0.09 (0.59)	0.11 (0.79)	119	0.12 (0.39)	9	36	0.09 (62)	weiße Kristalle
143	Pyridin-2-ol	0.05 (0.49)	0.09 (0.66)	119	0.10 (0.33)	6	140	0.05 (44)	gelbl. Feststoff
142	Pyridin-2-ol	0.19 (1.99)	0.37 (2.65)	120	0.38 (1.33)	6	18	0.35 (88)	weißes Öl
128	Pyridin-4-ol	0.19 (1.99)	0.37 (2.65)	120	0.38 (1.33)	6	18	0.16 (39)	hellgelbes Öl

Tab. 34: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung

5.4.5 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Suzuki-Kupplung

Die Verbindungen **137** bzw. **144** (E₁, 1 eq) wurden jeweils mit Caesiumcarbonat (2,5 eq) und einer Boronsäure (**147-155**, E₂, 1 eq) in Toluol (abs., 10 mL/mmol) und

5. Experimenteller Teil

EtOH (1 mL/mmol) vorgelegt. Die resultierende Suspension wurde 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt bevor Tetrakistriphenylphosphinpalladium(0) im Argon-Gegenstrom über einen Pulvertrichter hinzugegeben wurde. Das Reaktionsgemisch wurde langsam auf 80°C erhitzt und der Reaktionsverlauf per DC verfolgt. Nach vollständigem Verbrauch der Edukte (DC-Kontrolle) wurde die Reaktion mit Wasser und Ethylacetat gequench, die organische Phase separiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Rohprodukt wurde nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum durch Säulenchromatographie (Hexan/Ethylacetat) und Umkristallisation (n-Hexan/Ethylacetat oder EtOH) aufgereinigt.

#	E ₁	Cs ₂ CO ₃	E ₂	Tolu en/Et OH	Tetrakistri- phenylphos- phin- Palladium	Zeit	Aus- beute	Beschrei- bung	
									in g (mmol)
164	0.40 (1.06)	0.86 (2.65)	Phenyl- Boronsäure	0.13 (1.09)	8/1	122 (0.106)	18	0.26 (64)	gelbes Öl
165	0.22 (0.28)	0.23 (0.69)	3,5-bis- trifluormethyl- phenylboron- säure	0.15 (0.58)	15/2	68 (0.058)	18	0.27 (91)	weiße Nadeln
166	0.11 (0.28)	0.22 (0.69)	3,5-Dichlor- phenylboron- säure	0.05 (0.28)	10/1	31 (0.028)	70	0.03 (25)	weiße Nadeln
167	0.43 (1.12)	0.91 (2.80)	(3,4 – Dichlor- phenyl)- Boronsäure	0.21 (1.12)	10/2	129 (0.112)	18	0.41 (82)	farblose Kristalle
168	144 0.30 (0.79)	0.64 (1.97)	3-Trifluor- methylphenyl- boronsäure	0.15 (0.79)	10/1	79 (0.079)	16	0.17 (47)	gelbl. Öl
169	0.22 (0.58)	0.48 (1.47)	4- Chlorphenyl- boronsäure	0.09 (0.59)	8/1	68 (0.059)	18	0.16 (67)	farbloses Öl
170	0.34 (0.89)	0.73 (2.24)	p-Tolyl- Boronsäure	0.12 (0.89)	10/2	103 (0.089)	20	0.27 (76)	farbloses Öl
171	0.36 (0.95)	0.78 (2.38)	4-Dimethyl- amino- phenylboron- säure	0.16 (0.95)	15/2	110 (0.095)	18	0.17 (43)	cremefarbene Nadeln
172	0.35 (0.92)	0.75 (2.31)	4-tert- Butylphenyl- boronsäure	0.16 (0.92)	15/2	107 (0.092)	22	0.29 (72)	farblose Kristalle
135	137 0.15 (0.39)	0.32 (0.99)	2,6- Dichlorphenyl- boronsäure	0.08 (0.39)	11/2	46 (0.04)	18	0.98 (83)	weißer Feststoff

5. Experimenteller Teil

156	0.15 (0.39)	0.32 (0.99)	Phenylboron säure	0.05 (0.39)	11/2	46 (0.04)	15	0.13 (71)	gelbl. Feststoff
157	0.20 (0.53)	0.43 (1.32)	3,4-Dichlor- phenylboron säure	0.10 (0.53)	10/2	61 (0.05)	13	0.14 (60)	weißer Feststoff
158	0.20 (0.53)	0.43 (1.32)	3,5- Bi(trifluor- methyl)- phenyl- boronsäure	0.14 (0.53)	10/2	61 (0.05)	19	0.18 (67)	weiße Watte
159	0.11 (0.28)	0.23 (0.69)	3,5- Dichlorboron säure	0.05 (0.28)	10/1	32 (0.03)	70	0.03 (25)	weißer Feststoff
160	0.25 (0.66)	0.54 (1.64)	p- Tolylboron- säure	0.09 (0.66)	10/2	76 (0.07)	17	0.23 (90)	farblose Nadeln
161	0.15 (0.39)	0.32 (0.99)	4- Chlorphenyl boronsäure	0.06 (0.39)	10/2	46 (0.04)	17	0.14 (85)	weißer Feststoff
162	0.20 (0.53)	0.43 (1.32)	4-tert- Butylphenyl- boronsäure	0.09 (0.53)	11/2	61 (0.05)	16	0.20 (88)	weißer Feststoff
163	0.23 (0.61)	0.49 (1.51)	4-(Dimethyl- amino)- phenylboron säure	0.10 (0.61)	11/2	70 (0.06)	19	0.18 (71)	weißer Feststoff

Tab. 35: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Vorstufen **135, 156-172**

5.4.6 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Verseifung der Estergruppen

Hier erfolgte die Umsetzung der Vorstufen **115, 121-172** analog zu der Arbeitsvorschrift 5.3.4.

#	E ₁		LiOH	THF/ H ₂ O	Reaktions- dauer	Ausbeute	Beschreibung
	#	Menge in g (mmol)					
115a	115	0.25 (1.15)	0.27 (11.5)	10/2	21	0.19 (90)	weißer Feststoff
121a	121	0.17 (0.48)	0.06 (2.39)	10/5	48	0.05 (34)	weißer Feststoff
122a	122	0.10 (0.29)	0.07 (2.85)	8/4	18	0.08 (84)	weißer Feststoff
123a	123	0.20 (0.59)	0.07 (2.95)	10/5	23	0.04 (23)	hellbrauner Feststoff
124a	124	0.11 (0.32)	0.08 (3.23)	5/2	24	0.08 (69)	hellbrauner Feststoff

5. Experimenteller Teil

125a	125	0.18 (0.58)	0.07 (2.92)	10/5	40	0.22 (66)	weiße Nadeln
126a	126	0.09 (0.29)	0.07 (2.99)	10/3	22	0.06 (73)	weißer Feststoff
127a	127	0.10 (0.33)	0.08 (3.33)	8/4	26	0.08 (85)	weißer Feststoff
128a	128	0.05 (0.17)	0.04 (1.66)	5/2	18	0.01* (22)	weißer Feststoff
130a	130	0.07 (0.19)	0.05 (1.92)	10/2	72	0.03 (38)	weißer Feststoff
131a	131	0.10 (0.28)	0.07 (2.82)	5/3	20	0.07 (66)	weißer Feststoff
132a	132	0.10 (0.29)	0.07 (2.90)	4/2	90	0.07 (71)	weißer Feststoff
133a	133	0.19 (0.54)	0.13 (5.43)	6/2	24	0.07 (36)	weißer Feststoff
134a	134	0.09 (0.24)	0.03 (1.20)	5/2	17	0.08 (90)	weiße Kristalle
135a	135	0.13 (0.43)	0.10 (4.31)	7/2	15	0.09 (80)	weißer Feststoff
136a				nicht durchgeführt			
137a	137	0.10 (0.26)	0.06 (2.63)	4/3	21	0.03 (32)	weißer Feststoff
138a	138	0.08 (0.19)	0.09 (3.55)	10/5	18	0.03 (43)	weißer Feststoff
139a	139	0.09 (0.23)	0.06 (2.31)	5/2	20	0.14 (87)	weißer Feststoff
140a	140	0.09 (0.30)	0.04 (1.49)	5/2.5	19	0.05 (61)	weißer Feststoff
141a				nicht durchgeführt			
142a	142	0.30 (0.99)	0.24 (9.96)	12/5	18	0.23 (85)	hellgelber Feststoff
143a	143	0.03 (0.09)	0.02 (0.95)	5/3	72	0.01* (37)	weißer Feststoff
144a	144	0.15 (0.39)	0.11 (3.94)	8/2	14	0.08 (59)	weißer Feststoff
145a				nicht durchgeführt			
146				nicht durchgeführt			
156a	163	0.07 (0.19)	0.04 (1.85)	5/2	18	0.04 (63)	weißer Feststoff
157a	181	0.07 (0.16)	0.04 (1.57)	5/2	18	0.05 (69)	weißer Feststoff
158a	180	0.09 (0.18)	0.04 (1.75)	5/2	18	0.07 (82)	weißer Feststoff
159a	57	0.10 (0.22)	0.05 (2.24)	5/3	18	0.06 (67)	weißer Feststoff
160a	179	0.15 (0.38)	0.09 (3.83)	5/2	14	0.07 (50)	weißer Feststoff
161a	164	0.12 (0.29)	0.07 (2.91)	10/2	18	0.09 (79)	weißer Feststoff
162a	183	0.09 (0.21)	0.05 (2.07)	5/2	15	0.08 (94)	weißer Feststoff
163a	184	0.07 (0.17)	0.04 (1.71)	5/1	13	0.04 (51)	weißer Feststoff
164a	164	0.21 (0.55)	0.13 (5.46)	10/5	18	0.13 (69)	hellgelber Feststoff
165a	165	0.16 (0.30)	0.07 (3.04)	8/4	24	0.09 (60)	weiße Nadeln
166a	166	0.03	0.01	4/2	24	0.02 (64)	weiße Nadeln

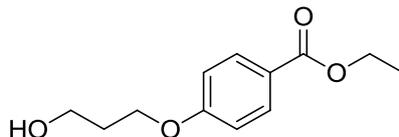
5. Experimenteller Teil

		(0.06)	(0.56)				
167a	118(110	0.31 (0.69)	0.17 (6.95)	10/5	18	0.15 (50)	perlmutter-farbener Feststoff
168a	nicht durchgeführt						
169a	122(106	0.14 (0.33)	0.08 (3.30)	9/4	20	0.11 (84)	gelbl. Feststoff
170a	124(107	0.21 (0.54)	0.13 (5.44)	10/5	16	0.11 (56)	hellgelbe Nadeln
171a	126(122	0.12 (0.29)	0.07 (2.85)	6/2	18	0.03 (22)	rötl. Öl
172a	128(123	0.12 (0.28)	0.07 (2.81)	8/2	18	0.08 (72)	schmutzig weißer Feststoff

Tab. 36: Einwaagen, Ausbeute und Beschreibung der Substanzen **115a, 121a-172a**, * zu wenig für Analytik

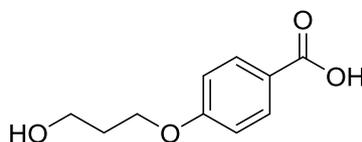
5.4.7 Charakterisierung der FXR-Liganden und ihrer Vorstufen

Charakterisierung von Ethyl-4-(3-hydroxypropoxy)benzoat (115)



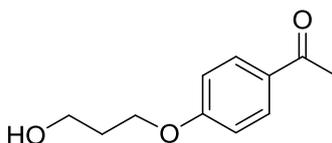
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.7 Hz), 1.84-1.94 (quin, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂-, *J* = 6.3 Hz), 3.54-3.61 (q, 2H, CH₂-OH, *J* = 5.4 Hz), 4.10-4.15 (t, 2H, CH₂-O-Ph, *J* = 6.3 Hz), 4.24-4.30 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.56-4.61 (t, 1H, OH, *J* = 5.4 Hz), 7.03-7.06 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.16 (CH₃-CH₂-O), 31.89 (CH₂-CH₂-CH₂), 57.09 (CH₂-O-Ph), 60.21 (O-CH₂-CH₃), 64.95 (CH₂-OH), 114.33 (Ph-C_{2/6}), 121.92 (Ph-C_{3/5}), 131.11 (Ph-C₁), 162.51 (Ph-C₄), 165.35 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 224.7 [M+H]⁺. **C₁₂H₁₆O₄, [224.25 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 64.05 (64.27) [0.22]; H 6.99 (7.19) [0.20].

Charakterisierung von 4-(3-hydroxypropoxy)benzoat (115a)



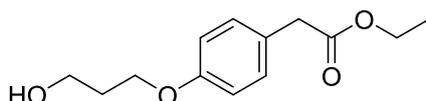
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.81-1.91 (quin, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂-, *J* = 6.1 Hz), 3.54-3.61 (q, 2H, CH₂-OH, *J* = 5.4 Hz), 4.06-4.11 (t, 2H, CH₂-O-Ph, *J* = 6.1 Hz), 4.56-4.61 (t, 1H, OH, *J* = 5.4 Hz), 6.96-7.01 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.83-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (62 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 31.38 (CH₂-CH₂-CH₂), 57.64 (CH₂-O-Ph), 65.36 (CH₂-OH), 114.68 (Ph-C_{2/6}), 123.27 (Ph-C₁), 131.82 (Ph-C_{3/5}), 162.78 (Ph-C₄), 167.52 (COOH). **MS (ESI+):** *m/z* = 194.7 [M+H]⁺. **C₁₀H₁₂O₄, [196.07 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 61.27 (61.22) [0.05]; H 6.07 (6.16) [0.09].

Charakterisierung von 1-(4-(3-hydroxypropoxy)phenyl)ethan-1-on (116)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.81-1.91 (quin, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂-, *J* = 6.1 Hz), 3.48-3.57 (m, 5H, CH₂-OH + COCH₃), 4.08-4.13 (t, 2H, CH₂-O-Ph, *J* = 6.6 Hz), 4.56-4.60 (t, 1H, OH, *J* = 5.6 Hz), 6.99-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.88-7.91 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (125 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 26.86 (CH₂-CH₂-CH₂), 32.39 (CH₃C=O), 57.59 (CH₂-O-Ph), 65.45 (CH₂-OH), 114.69 (Ph-C_{2/6}), 130.20 (Ph-C₁), 130.96 (Ph-C_{3/5}), 163.06 (Ph-C₄), 196.75 (COCH₃). **MS (ESI+):** *m/z* = 195.05 [M+H]⁺. **C₁₁H₁₄O₃, [194.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 67.89 (68.02) [0.13]; H 7.14 (7.27) [0.13].

Charakterisierung von Ethyl 2-(4-(3-hydroxypropoxy)phenyl)acetat (117)

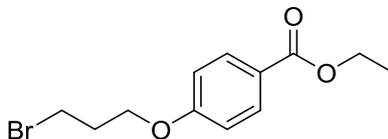


¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.14-1.19 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 1.79-1.88 (quin, 2H, -CH₂-CH₂-CH₂-, *J* = 6.3 Hz), 3.51-3.57 (m, 4H, CH₂-O + CH₂-Ph), 3.97-4.09 (m, 2H, CH₂-OH + O-CH₂-CH₃), 4.50-4.54 (t, 1H, OH, *J* = 5.3 Hz), 6.83-6.88 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.6 Hz), 7.12-7.17 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.6 Hz). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 32.12 (CH₂-CH₂-CH₂), 57.30 (CH₂-O-Ph), 60.11 (CH₂-OH), 64.48 (O-CH₂-CH₃), 113.77 (Ph-C_{2/6}), 126.17 (Ph-C_{3/5}), 130.35 (Ph-C₁), 157.57 (Ph-C₄), 171.39

5. Experimenteller Teil

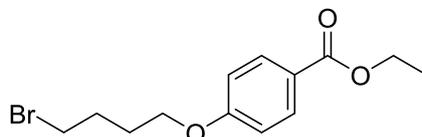
(COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 239.00$ $[M+H]^+$. **C₁₃H₁₈O₄**, [238.28 g/mol], **Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 64.96 (65.53) [0.47]; H 7.60 (7.61) [0.01].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-brompropoxy)benzoat (118)



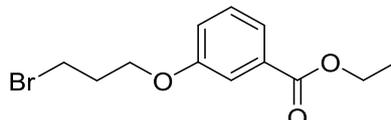
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.1$ Hz), 2.23-2.33 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.3$ Hz), 3.66-3.71 (t, 2H, O-CH₂-CH₂, $J = 6.6$ Hz), 4.15-4.20 (t, 2H, CH₂-Br, $J = 6.0$ Hz), 4.24-4.33 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.1$ Hz), 7.0-7.09 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.9$ Hz), 7.90-7.94 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.9$ Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 30.99 (CH₂-CH₂-CH₂), 31.66 (CH₂-O), 60.29 (O-CH₂-CH₃), 65.68 (CH₂-Br), 114.43 (Ph-C_{2/6}), 122.29 (Ph-C₁), 131.17 (Ph-C_{3/5}), 162.16 (Ph-C₄), 165.34 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 288.9$ $[M+H]^+$. **C₁₂H₁₅BrO₃**, [287.15 g/mol].

Charakterisierung von Ethyl 4-(4-brombutoxy)benzoat (119)



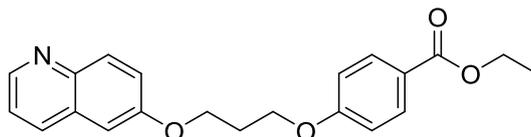
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.1$ Hz), 1.87-1.98 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₂), 3.60-3.65 (t, 2H, O-CH₂-CH₂, $J = 6.6$ Hz), 4.08-4.13 (t, 2H, CH₂-Br, $J = 6.0$ Hz), 4.24-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.1$ Hz), 7.02-7.08 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.9$ Hz), 7.88-7.94 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.9$ Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 27.22 (CH₂-CH₂-CH₂), 28.97 (CH₂-CH₂-CH₂), 34.69 (CH₂-O), 60.25 (O-CH₂-CH₃), 66.99 (CH₂-Br), 114.41 (Ph-C_{2/6}), 122.09 (Ph-C₁), 131.13 (Ph-C_{3/5}), 162.37 (Ph-C₄), 165.36 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 303.3$ $[M+H]^+$. **C₁₃H₁₇BrO₃**, [301.18 g/mol].

Charakterisierung von Ethyl 3-(3-brompropoxy)benzoat (120)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.24-1.27 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.1$ Hz), 2.20-2.30 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.6$ Hz), 3.64-3.69 (t, 2H, O-CH₂-CH₂, $J = 6.6$ Hz), 4.10-4.14 (t, 2H, CH₂-Br, $J = 6.0$ Hz), 4.25-4.34 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.1$ Hz), 7.21-7.25 (d, 1H, Ph-C₅, $J = 8.9$ Hz), 7.40-7.46 (m, 2H, Ph-C_{4/6}), 7.52-7.56 (d, 1H, Ph-C₂, $J = 8.9$ Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.61 (CH₃-CH₂-O), 31.66 (CH₂-CH₂-CH₂), 32.19 (CH₂-O), 61.32 (O-CH₂-CH₃), 66.03 (CH₂-Br), 114.94 (Ph-C_{2/6}), 120.08 (Ph-C₄), 122.01 (Ph-C₆), 130.48 (Ph-C_{3/5}), 131.75 (Ph-C₂), 158.88 (Ph-C₁), 165.97 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 236.00$ $[M-COOEt+Na]^+$. **C₁₂H₁₅BrO₃**, [287.15 g/mol].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(chinolin-6-yloxy)propoxy)benzoat (121)

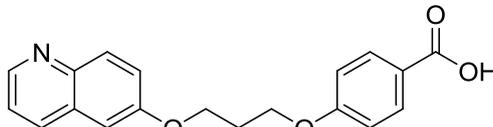


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.4$ Hz), 2.25-2.35 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.6$ Hz), 4.24-4.32 (m, 6H, O-CH₂ + CH₂-O + O-CH₂-CH₃), 7.08-7.11 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 9.0$ Hz), 7.41-7.45 (m, 3H, Chin-C_{3/5/7}), 7.90-7.95 (m, 3H, Chin-C₈ + Ph-C_{3/5}), 8.23-8.26 (dd, 1H, Chin-C₄, $J = 1.0, 8.4$ Hz), 8.73-8.75 (dd, 1H, Chin-C₂, $J = 1.6, 4.3$ Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.18 (CH₃-CH₂-O), 28.42 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.27 (CH₂-O), 60.43 (O-CH₂-CH₃), 64.59 (CH₂-O), 106.52 (Chin-C₅), 114.43 (Ph-C_{2/6}), 121.60 (Chin-C₃), 122.10 (Chin-C₇), 129.00 (Chin-C₄), 130.36 (Chin-C₈),

5. Experimenteller Teil

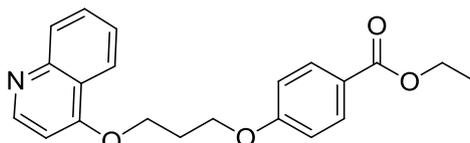
131.16 (Ph- C_4), 134.74 (Chin- C_4), 143.78 (Chin- C_{8a}), 147.92 (Chin- C_2), 156.31 (Ph- $C_{3/5}$), 162.30 (Ph- C_1), 165.35 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 352.2$ $[M+H]^+$. **$C_{21}H_{21}NO_4$, [351.39 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.80 (71.78) [0.02]; H 5.93 (6.02) [0.09]; N 3.91 (3.99) [0.08].

Charakterisierung von 4-(3-(chinolin-6-yloxy)propoxy)benzoesäure (121a)



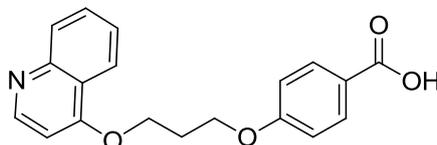
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.27-2.37 (q, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.0$ Hz), 4.26-4.31 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.0$ Hz), 4.34-4.39 (t, 2H, CH_2-O , $J = 6.0$ Hz), 7.05-7.08 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.5$ Hz), 7.74-7.78 (m, 2H, Chin- $C_{3/5}$), 7.87-7.97 (m, 3H, Chin- C_7 + Ph- $C_{3/5}$), 8.27-8.31 (d, 1H, Chin- C_8 , $J = 10$ Hz), 8.88-8.91 (d, 1H, Chin- C_4 , $J = 8.5$ Hz), 9.05-9.07 (d, 1H, Chin- C_2 , $J = 4.5$ Hz), 12.66 (s, 1H, COOH). **^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 28.27 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 64.50 (CH_2-O), 65.23 (CH_2-O), 107.20 (Chin- C_5), 114.26 (Ph- $C_{2/6}$), 122.20 (Chin- C_3), 123.70 (Chin- C_7), 126.22 (Chin- C_4), 130.14 (Chin- C_8), 131.33 (Ph- C_4), 135.75 (Chin- C_4), 142.40 (Chin- C_{8a}), 143.16 (Chin- C_2), 157.95 (Ph- $C_{3/5}$), 162.90 (Ph- C_1), 166.90 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 324.2$ $[M+H]^+$. **$C_{19}H_{17}NO_4$, [323.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 70.33 (70.58) [0.25]; H 5.22 (5.30) [0.08]; N 4.21 (4.33) [0.12].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(isochinolin-1-yloxy)propoxy)benzoat (122)



1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.28-1.33 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 7.0$ Hz), 2.33-2.43 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.23-4.37 (m, 4H, CH_2-O + $O-CH_2-CH_3$), 4.41-4.46 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 7.06-7.11 (m, 3H, Ph- $C_{2/6}$ + Isochin- C_5), 7.53-7.56 (t, 1H, Isochin- C_6 , $J = 7.3$ Hz), 7.71-7.78 (t, 1H, Isochin- C_7 , $J = 7.3$ Hz), 7.89-7.97 (m, 3H, Isochin- C_8 + Ph- $C_{3/5}$), 8.18-8.21 (d, 1H, Isochin- C_4 , $J = 8.1$ Hz), 8.72-8.74 (d, 1H, Isochin- C_2 , $J = 5.6$ Hz). **^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 14.18 (CH_3-CH_2-O), 28.23 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 60.26 ($O-CH_2-CH_3$), 64.74 (CH_2-O), 65.13 (CH_2-O), 101.52 (Isochin- C_5), 114.44 (Ph- $C_{2/6}$), 120.71 (Isochin- C_6), 121.55 (Isochin- C_7), 122.20 (Isochin- C_8), 125.64 (Isochin- C_{8a}), 128.59 (Isochin- C_{4a}), 129.66 (Isochin- C_4), 131.16 (Ph- C_4), 148.69 (Isochin- C_3), 151.56 (Isochin- C_2), 160.63 (Ph- $C_{3/5}$), 162.29 (Ph- C_1), 165.34 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 352.7$ $[M+H]^+$. **$C_{21}H_{21}NO_4$, [351.40 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.45 (71.78) [0.33]; H 5.93 (6.02) [0.09]; N 4.03 (3.99) [0.04].

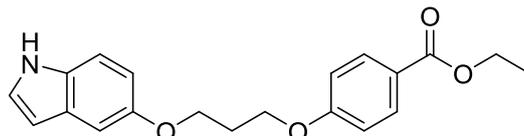
Charakterisierung von 4-(3-(isochinolin-1-yloxy)propoxy)benzoesäure (122a)



1H -NMR (400 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.42-2.48 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.1$ Hz), 4.35-4.38 (t, 2H, CH_2-O , $J = 6.1$ Hz), 4.70-4.73 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.1$ Hz), 7.05-7.08 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz), 7.56-7.57 (d, 1H, Isochin- C_5 , $J = 6.1$ Hz), 7.86-7.91 (m, 3H, Isochin- C_6 + Ph- $C_{3/5}$), 8.09-8.11 (t, 1H, Isochin- C_7 , $J = 7.9$ Hz), 8.20-8.22 (d, 1H, Isochin- C_3 , $J = 8.6$ Hz), 8.41-8.43 (d, 1H, Isochin- C_8 , $J = 8.6$ Hz), 9.14-9.15 (d, 1H, Isochin- C_2 , $J = 6.2$ Hz). **^{13}C -NMR (101 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 28.53 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 64.67 (CH_2-O), 100.83 (Isochin- C_5), 111.13 (Isochin- $C_{6/7}$), 114.27 (Ph- $C_{2/6}$), 118.25 (Isochin- C_8), 119.73 (Isochin- C_{8a}), 122.94 (Isochin- C_{4a}), 131.36 (Ph- $C_{3/5}$), 132.52 (Ph- C_4 + Isochin- C_4), 152.89 (Isochin- $C_{2/3}$), 162.10 (Ph- C_1), 166.98 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 324.2$ $[M+H]^+$. **$C_{19}H_{17}NO_4$, [323.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 70.21 (70.58) [0.37]; H 5.32 (5.30) [0.02]; N 4.10 (4.33) [0.23].

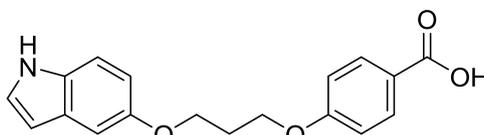
5. Experimenteller Teil

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((1H-indol-5-yl)oxy)propoxy)benzoat (123)



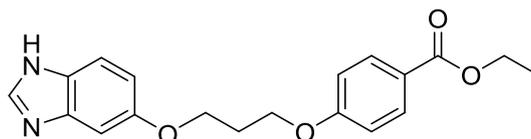
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.19-1.31 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 2.16-2.26 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.11-4.15 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.2 Hz), 4.23-4.32 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 6.32 (s, 1H, Ind-C₅), 6.73-6.76 (dd, 1H, Ind-C₄, *J* = 2.5, 8.7 Hz), 7.06-7.10 (m, 3H, Ph-C_{2/6} + Ind-C₅), 7.26-7.29 (m, 2H, Ind-C_{2/6}), 7.90-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 10.89 (s, 1H, Ind-NH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 28.71 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.27 (O-CH₂-CH₃), 64.52 (CH₂-O), 64.84 (CH₂-O), 100.77 (Ind-C_{3a/7}), 102.94 (Ind-C₃), 111.56 (Ind-C₆), 111.90 (Ind-C₄), 114.42 (Ph-C_{2/6}), 122.10 (Ind-C_{7a}), 125.74 (Ind-C₂), 129.97 (Ind-C₅), 131.16 (Ph-C₄), 152.28 (Ph-C_{3/5}), 162.37 (Ph-C₁), 165.36 (COOEt). **MS (ESI⁻):** *m/z* = 338.2 [M-H]. **C₂₀H₂₁NO₄, [339.39 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.03 (70.78) [0.25]; H 6.18 (6.24) [0.06]; N 3.96 (4.13) [0.17].

Charakterisierung von 4-(3-((1H-indol-5-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (123a)



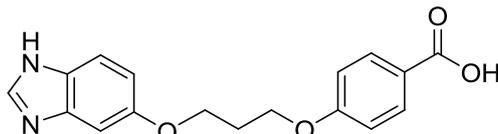
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.15-2.32 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.10-4.15 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.22-4.27 (t, 2H, CH₂-O, *J* = 6.2 Hz), 6.32 (s, 1H, Ind-C₅), 6.73-6.76 (dd, 1H, Ind-C₄, *J* = 1.6, 9.2 Hz), 7.04-7.07 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Ind-C₅), 7.26-7.29 (m, 2H, Ind-C_{2/6}), 7.89-7.91 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9.2 Hz), 10.90 (s, 1H, Ind-NH), 12.52 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.71 (CH₂-CH₂-CH₂), 64.56 (CH₂-O), 64.75 (CH₂-O), 100.75 (Ind-C_{3a/7}), 102.98 (Ind-C₃), 111.55 (Ind-C₆), 111.87 (Ind-C₄), 114.23 (Ph-C_{2/6}), 123.00 (Ind-C_{7a}), 125.70 (Ind-C₂), 127.96 (Ind-C₅), 131.29 (Ph-C₄), 152.27 (Ph-C_{3/5}), 162.09 (Ph-C₁), 166.92 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 324.2 [M+H]⁺. **C₁₈H₁₇NO₄, [311.34 g/mol].**

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((1H-benzo[d]imidazol-5-yl)oxy)propoxy)benzoat (124)



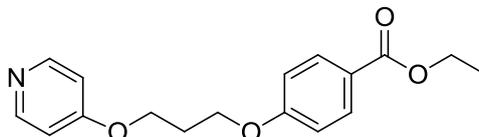
¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.9 Hz), 2.18-2.28 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 5.9 Hz), 4.14-4.19 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 5.9 Hz), 4.24-4.32 (m, 4H, O-CH₂CH₃ + CH₂-O), 7.00-7.10 (m, 3H, Ph-C_{2/6} + Inda-C₆), 7.22 (s, 1H, Inda-C₄), 7.42-7.46 (d, 1H, Inda-C₇, *J* = 9.2 Hz), 7.90-7.93 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Inda-C₂), 12.90 (s, 1H, Inda-NH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.16 (CH₃-CH₂-O), 28.53 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.24 (O-CH₂-CH₃), 64.49 (CH₂-O), 64.71 (CH₂-O), 100.91 (Inda-C₆), 110.95 (Inda-C₄), 114.41 (Ph-C_{2/6}), 118.14 (Inda-C₇), 122.12 (Inda-C_{7a}), 123.07 (Inda-C_{3a}), 131.13 (Ph-C₄), 132.76 (Inda-C₅), 135.74 (Inda-C₂), 152.86 (Ph-C_{3/5}), 162.32 (Ph-C₁), 165.33 (COOEt) **MS (ESI⁺):** *m/z* = 341.1 [M+H]⁺. **C₁₉H₂₀N₂O₄, [340.37 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 66.84 (67.05) [0.21]; H 6.10 (5.92) [0.18]; N 8.15 (8.23) [0.08].

Charakterisierung von 4-(3-((1H-benzo[d]imidazol-5-yl)oxy)propoxy)benzoat (124a)



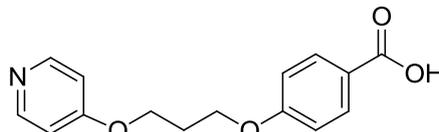
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.23-2.33 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 5.6 Hz), 4.19-4.24 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.0 Hz), 4.28-4.32 (t, 2H, CH₂-O, *J* = 6.0 Hz), 7.06-7.13 (m, 3H, Ph-C_{2/6} + Inda-C₆), 7.26 (s, 1H, Inda-C₄), 7.48-7.51 (d, 1H, Inda-C₇, *J* = 9.0 Hz), 7.93-7.99 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Inda-C₂), 12.82 (s, 2H, COOH + Inda-NH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.52 (CH₂-CH₂-CH₂), 64.44 (CH₂-O), 64.65 (CH₂-O), 100.80 (Inda-C₆), 111.10 (Inda-C₄), 114.24 (Ph-C_{2/6}), 118.20 (Inda-C₇), 122.95 (Inda-C_{7a}), 123.03 (Inda-C_{3a}), 131.32 (Ph-C₄), 132.60 (Inda-C₅), 135.84 (Inda-C₂), 152.80 (Ph-C_{3/5}), 162.07 (Ph-C₁), 166.93 (COOH) **MS (ESI):** *m/z* = 311.1 [M-H]. **C₁₇H₁₆N₂O₄, [312.32 g/mol].**

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(pyridin-4-yloxy)propoxy)benzoat (125)



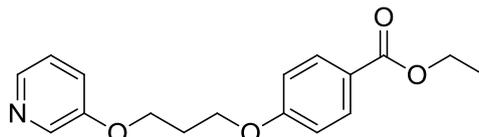
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.26-1.31 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.4 Hz), 2.18-2.28 (q, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.20-4.27 (m, 6H, O-CH₂ + CH₂-O + O-CH₂-CH₃), 6.98-7.01 (dd, 2H, Pyr-C_{3/5}, *J* = 1.5, 4.8 Hz), 7.04-7.10 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.88-7.94 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 8.37-8.40 (d, 2H, Pyr-C_{2/6}, *J* = 1.5, 4.8 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.16 (CH₃-CH₂-O), 28.13 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.26 (O-CH₂-CH₃), 64.24 (CH₂-O), 64.47 (CH₂-O), 110.35 (Pyr-C₄), 114.40 (Ph-C_{2/6}), 122.16 (Ph-C_{3/5}), 131.13 (Ph-C₄), 150.88 (Pyr-C_{3/5}), 162.22 (Ph-C₁), 164.22 (Pyr-C_{2/6}), 165.33 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 302.0 [M+H]⁺. **C₁₇H₁₉NO₄, [301.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 67.48 (67.78) [0.28]; H 6.28 (6.36) [0.08]; N 4.57 (4.64) [0.08].

Charakterisierung von 4-(3-(pyridin-4-yloxy)propoxy)benzoesäure (125a)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.18-2.27 (q, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.6 Hz), 4.19-4.26 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 6.98-7.06 (m, 4H, Pyr-C_{3/5} + Ph-C_{2/6}), 7.87-7.91 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 8.38-8.39 (d, 2H, Pyr-C_{2/6}, *J* = 4.0 Hz), 12.49 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.17 (CH₂-CH₂-CH₂), 64.28 (CH₂-O), 64.41 (CH₂-O), 110.37 (Pyr-C₄), 114.24 (Ph-C_{2/6}), 123.13 (Ph-C_{3/5}), 131.32 (Ph-C₄), 150.90 (Pyr-C_{3/5}), 161.97 (Ph-C₁), 164.25 (Pyr-C_{2/6}), 166.94 (COOH). **MS (ESI):** *m/z* = 272.0 [M-H] **C₁₅H₁₅NO₄, [273.28 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.75 (65.92) [0.17]; H 5.45 (5.53) [0.08]; N 5.03 (5.13) [0.10].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(pyridin-3-yloxy)propoxy)benzoat (126)

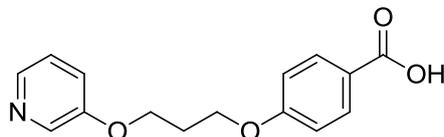


¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.30-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.0 Hz), 2.10-2.26 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.5 Hz), 4.22-4.31 (m, 6H, O-CH₂ + CH₂-O + O-CH₂-CH₃), 7.06-7.09 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.34-7.35 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.5, 8.3 Hz), 7.41-7.42 (ddd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.3, 3.1, 8.3 Hz), 7.91-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 8.17-8.18 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.3, 4.5 Hz), 8.32-8.33 (ds, 1H, Pyr-C₂, *J* = 3.1 Hz). **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.20 (CH₃-CH₂-O), 28.38 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.30 (CH₂-O), 64.54 (O-CH₂-CH₃), 114.43 (Ph-C_{2/6}), 120.96 (Pyr-C₅), 122.15 (Pyr-C₄), 124.13 (Pyr-

5. Experimenteller Teil

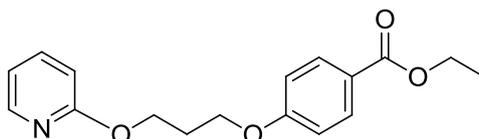
C_4), 131.17 (Ph- C_4), 137.84 (Pyr- C_6), 141.77 (Pyr- C_2), 154.65 (Ph- $C_{3/5}$), 162.28 (Ph- C_1), 165.36 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 302.4$ $[M+H]^+$. **$C_{17}H_{19}NO_4$, [301.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 68.10 (67.76) [0.34]; H 6.10 (6.36) [0.26]; N 4.68 (4.65) [0.03].

Charakterisierung von 4-(3-(pyridin-3-yloxy)propoxy)benzoesäure (126a)



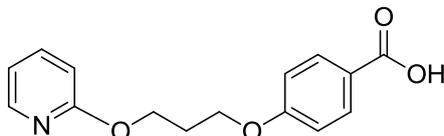
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.15-2.24 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.3$ Hz), 4.18-4.22 (m, 4H, $O-CH_2 + CH_2-O$), 7.00-7.04 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz), 7.28-7.42 (m, 2H, Pyr- $C_5 + Pyr-C_4$), 7.85-7.88 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.9$ Hz), 8.13-8.16 (d, 1H, Pyr- C_6 , $J = 4.15$ Hz), 8.28-8.29 (ds, 1H, Pyr- C_2 , $J = 2.1$ Hz), 12.59 (s, 1H, COOH). **^{13}C -NMR (75 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 28.88 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 64.94 (CH_2-O), 65.03 (CH_2-O), 114.76 (Ph- $C_{2/6}$), 121.45 (Pyr- C_5), 123.50 (Pyr- C_4), 124.64 (Pyr- C_4), 131.84 (Ph- C_4), 138.32 (Pyr- C_6), 142.25 (Pyr- C_2), 155.16 (Ph- $C_{3/5}$), 162.53 (Ph- C_1), 167.46 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 274.5$ $[M+H]^+$. **$C_{15}H_{15}NO_4$, [273.28 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.53 (65.92) [0.39]; H 5.54 (5.53) [0.01]; N 4.76 (5.13) [0.37].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(pyridin-2-yloxy)propoxy)benzoat (140)



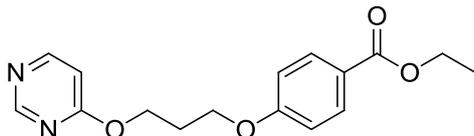
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.26-1.32 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 6.6$ Hz), 2.05-2.15 (q, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.6$ Hz), 4.03-4.10 (m, 4H, $O-CH_2 + CH_2-O$), 4.24-4.32 (q, 2H, $O-CH_2-CH_3$, $J = 7.0$), 6.18-6.22 (t, 1H, Pyr- C_4 , $J = 6.4$), 6.37-6.40 (d, 1H, Pyr- C_3 , $J = 9.0$ Hz), 7.00-7.04 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.5$ Hz), 7.38-7.41 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 7.9$ Hz), 7.64-7.68 (d, 1H, Pyr- C_6 , $J = 6.7$ Hz), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.5$ Hz). **^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 14.19 (CH_3-CH_2-O), 28.01 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 60.27 ($CH_2-O + O-CH_2-CH_3$), 65.40 (CH_2-O), 105.18 (Pyr- C_4), 114.39 (Ph- $C_{2/6}$), 119.59 (Pyr- C_5), 122.18 (Ph- $C_{3/5}$), 131.12 (Ph- C_4), 139.15 (Pyr- C_3), 139.84 (Pyr- C_6), 161.47 (Pyr- C_2), 162.20 (Ph- C_1), 165.36 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 302.02$ $[M+H]^+$. **$C_{17}H_{19}NO_4$, [301.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 67.82 (67.76) [0.06]; H 6.24 (6.36) [0.12]; N 4.55 (4.65) [0.10].

Charakterisierung von 4-(3-(pyridin-2-yloxy)propoxy)benzoesäure (140a)



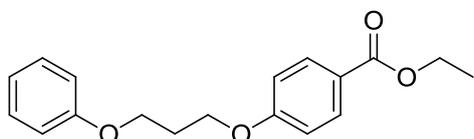
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.05-2.15 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.00-4.07 (m, 4H, $O-CH_2 + CH_2-O$), 6.15-6.20 (t, 1H, Pyr- C_4 , $J = 6.4$ Hz), 6.34-6.38 (d, 1H, Pyr- C_3 , $J = 9.0$ Hz), 6.95-6.98 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 9.0$ Hz), 7.35-7.42 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 7.5$ Hz), 7.62-7.66 (d, 1H, Pyr- C_6 , $J = 6.4$ Hz), 7.84-7.88 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 9.0$ Hz), 12.60 (s, 1H, COOH). **^{13}C -NMR (75 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 27.99 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 46.18 (CH_2-O), 65.29 (CH_2-O), 105.17 (Pyr- C_4), 114.19 (Ph- $C_{2/6}$), 119.57 (Pyr- C_5), 122.98 (Ph- $C_{3/5}$), 131.28 (Ph- C_4), 139.18 (Pyr- C_3), 139.85 (Pyr- C_6), 161.45 (Pyr- C_2), 161.94 (Ph- C_1), 166.93 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 274.0$ $[M+H]^+$. **$C_{15}H_{15}NO_4$, [273.28 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.89 (65.92) [0.03]; H 5.54 (5.01) [0.12]; N 4.98 (5.13) [0.15].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(pyridin-2-yloxy)propoxy)benzoat (141)



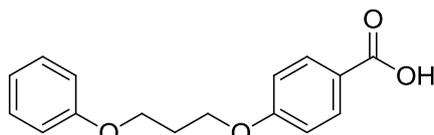
¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.30-1.33 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.3 Hz), 2.13-2.19 (q, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.07-4.13 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 4.26-4.31 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.0 Hz), 6.39-6.41 (d, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.4 Hz), 6.98-7.01 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9.0 Hz), 7.89-7.92 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Pyr-C₆), 8.46 (s, 1H, Pyr-C₂). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.47 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.80 (O-CH₂-CH₃), 63.47 (CH₂-O), 65.12 (CH₂-O), 108.98 (Pyr-C₅), 114.89 (Ph-C_{2/6}), 122.62 (Pyr-C₆), 131.66 (Ph-C_{3/5}), 158.18 (Ph-C₄), 158.70 (Pyr-C₂), 162.75 (Ph-C₁), 165.85, 168.83 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 302.95 [M+H]⁺. **C₁₆H₁₈N₂O₄, [302.33 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 63.45 (63.56) [0.11]; H 6.02 (6.00) [0.02]; N 9.20 (9.27) [0.07].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-phenoxypropoxy)benzoat (127)



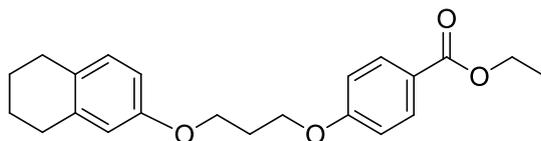
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.26-1.31 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.13-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.02-4.13 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.1 Hz), 4.18-4.29 (m, 4H, CH₂-O + O-CH₂-CH₃), 6.89-6.94 (m, 3H, Ph'-C_{2/4/6}), 7.03-7.06 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.24-7.27 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 7.6 Hz), 7.87-7.90 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.14 (CH₃-CH₂-O), 28.44 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.34 (O-CH₂-CH₃), 63.91 (CH₂-O), 64.63 (CH₂-O), 114.41 (Ph-C_{2/6}), 114.43 (Ph'-C_{3/5}), 120.60 (Ph'-C₄), 122.12 (Ph'-C₁), 129.48 (Ph-C₄), 131.18 (Ph'-C_{2/6}), 158.36 (Ph-C_{3/5}), 162.31 (Ph-C₁), 165.48 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 301.4 [M+H]⁺. **C₁₈H₂₀O₄, [300.35 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.93 (71.98) [0.05]; H 6.78 (6.71) [0.07].

Charakterisierung von 4-(3-phenoxypropoxy)benzoesäure (127a)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.15-2.52 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.11-4.16 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.20-4.25 (t, 2H, CH₂-O, *J* = 6.2 Hz), 6.90-6.97 (m, 3H, Ph'-C_{2/4/6}), 7.03-7.07 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.5 Hz), 7.26-7.32 (t, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 7.5 Hz), 7.87-7.91 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.5 Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.98 (CH₂-CH₂-CH₂), 64.38 (CH₂-O), 65.05 (CH₂-O), 114.73 (Ph-C_{2/6}), 114.90 (Ph'-C_{3/5}), 121.05 (Ph'-C₄), 123.47 (Ph'-C₁), 129.98 (Ph'-C_{2/6}), 131.83 (Ph-C_{3/5}), 158.89 (Ph-C₄), 162.55 (Ph-C₁), 167.45 (COOH). **MS (ESI⁻):** *m/z* = 271.14 [M-H]⁻. **C₁₆H₁₆O₄, [272.29 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 70.41 (70.57) [0.16]; H 6.12 (5.92) [0.21].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (131)

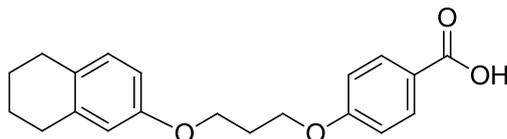


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 1.66-1.73 (m, 4H, Cyclohex-CH₂), 2.14-2.25 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 2.59-2.63 (m, 4H, Cyclohex-CH₂), 4.06-4.14 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 4.18-4.32 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 6.64-6.69 (m, 2H, Ph'-C_{2/6}), 6.92-6.96 (d, 1H, Ph'-C₅, *J* = 8.4 Hz), 7.05-7.08 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.90-7.93 (d, 2H,

5. Experimenteller Teil

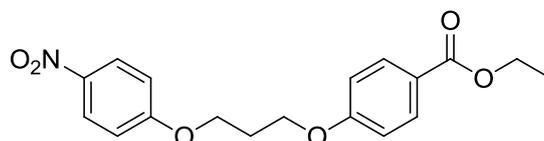
Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 14.70 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$), 23.16 (Cyclohex- CH_2), 23.44 (Cyclohex- CH_2), 28.42 (Cyclohex- CH_2), 29.01 (Cyclohex- CH_2), 29.50 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 60.79 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 64.34 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 65.13 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 112.82 (Ph'- C_3), 114.59 (Ph'- C_4), 114.90 (Ph- $C_{2/6}$), 122.58 (Ph'- C_5), 129.05 (Ph- C_4), 130.19 (Ph'- C_5), 131.66 (Ph- $C_{3/5}$), 138.06 (Ph'- $C_{2/6}$), 156.65 (Ph'- C_1), 162.81 (Ph- C_1), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 355.63$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. **$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_4$, [354.44 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 74.43 (74.55) [0.12]; H 7.20 (7.39) [0.19].

Charakterisierung von 4-(3-((5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (131a)



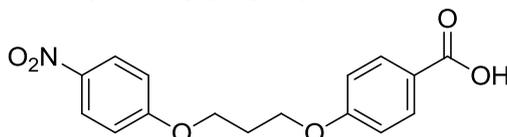
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 1.70 (s, 4H, Cyclohex- CH_2), 2.14-2.19 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $J = 6.4$ Hz), 2.59-2.70 (m, 4H, Cyclohex- CH_2), 4.05-4.10 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-O}$, $J = 6.2$ Hz), 4.17-4.22 (t, 2H, O-CH_2 , $J = 6.2$ Hz), 6.64-6.69 (m, 2H, Ph'- $C_{2/6}$), 6.92-6.96 (d, 1H, Ph'- C_5 , $J = 8.2$ Hz), 7.02-7.06 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.87-7.91 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 12.50 (s, 1H, COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 22.65 (Cyclohex- CH_2), 22.94 (Cyclohex- CH_2), 27.92 (Cyclohex- CH_2), 28.56 (Cyclohex- CH_2), 28.99 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 63.94 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 64.60 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 112.34 (Ph'- C_3), 114.17 (Ph'- C_4), 114.24 (Ph- $C_{2/6}$), 122.98 (Ph'- C_5), 128.61 (Ph- C_4), 129.66 (Ph'- C_5), 131.32 (Ph- $C_{3/5}$), 137.59 (Ph'- $C_{2/6}$), 156.19 (Ph'- C_1), 162.28 (Ph- C_1), 166.94 (COOH). **MS (ESI-):** $m/z = 325.22$ $[\text{M}-\text{H}]^-$. **$\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_4$, [326.38 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 73.32 (73.60) [0.28]; H 6.79 (6.79) [0.00].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(4-nitrophenoxy)propoxy)benzoat (132)

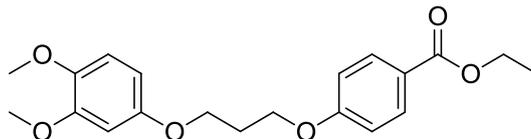


$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 1.28-1.33 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$, $J = 7.2$ Hz), 2.20-2.30 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.21-4.33 (m, 6H, $\text{O-CH}_2 + \text{CH}_2\text{-O} + \text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 7.06-7.09 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.17-7.20 (d, 2H, Ph'- $C_{3/5}$, $J = 9.3$ Hz), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 8.18-8.23 (d, 2H, Ph'- $C_{2/6}$, $J = 9.3$ Hz). $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 14.18 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.23 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 60.28 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 64.49 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 65.38 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.44 (Ph- $C_{2/6}$), 115.03 (Ph'- $C_{2/6}$), 122.21 (Ph'- $C_{3/5}$), 125.85 (Ph'- C_1), 131.15 (Ph- C_4), 140.86 (Ph- $C_{3/5}$), 162.24 (Ph- C_1), 163.76 (Ph'- C_4), 165.35 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 300.1$ $[\text{M}+\text{H}-\text{NO}_2]^+$. **$\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_6$, [345.35 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 62.35 (62.60) [0.25]; H 5.38 (5.55) [0.17]; N 3.96 (4.06) [0.10].

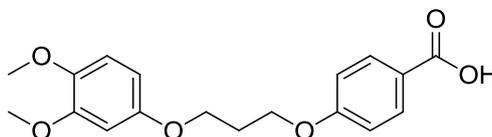
Charakterisierung von 4-(3-(4-nitrophenoxy)propoxy)benzoesäure (132a)



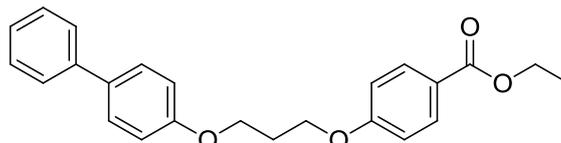
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 2.21-2.30 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $J = 7.2$ Hz), 4.21-4.34 (m, 4H, $\text{O-CH}_2 + \text{CH}_2\text{-O}$), 7.03-7.07 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.17-7.21 (d, 2H, Ph'- $C_{3/5}$, $J = 9.3$ Hz), 7.87-7.91 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 8.20-8.24 (d, 2H, Ph'- $C_{2/6}$, $J = 9.3$ Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 28.22 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 64.39 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 65.38 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 114.25 (Ph- $C_{2/6}$), 115.02 (Ph'- $C_{2/6}$), 123.04 (Ph'- $C_{3/5}$), 125.83 (Ph'- C_1), 131.29 (Ph- C_4), 140.84 (Ph- $C_{3/5}$), 161.97 (Ph- C_1), 163.75 (Ph'- C_4), 166.88 (COOH). **MS (ESI-):** $m/z = 315.8$ $[\text{M}-\text{H}]^-$. **$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_6$, [317.29 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 60.57 (60.19) [0.38]; H 5.02 (4.77) [0.25]; N 4.07 (4.41) [0.36].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3,4-dimethoxyphenoxy)propoxy)benzoat (133)

¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.12-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 3.68 (s, 3H, CH₃-O-Ph'), 3.73 (s, 3H, CH₃-O-Ph'), 4.05-4.10 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.19-4.32 (m, 4H, O-CH₂-CH₃ + CH₂-O), 6.43-6.47 (dd, 1H, Ph'-C₆, *J* = 2.8, 8.6 Hz), 6.57 (ds, 1H, Ph'-C₂, *J* = 2.8 Hz), 6.82-6.86 (d, 1H, Ph'-C₅, *J* = 8.6 Hz), 7.05-7.09 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.69 (CH₃-CH₂-O), 29.05 (CH₂-CH₂-CH₂), 55.90 (CH₃-O-Ph'), 56.55 (CH₃-O-Ph'), 60.80 (O-CH₂-CH₃), 64.86 (CH₂-O), 65.16 (CH₂-O), 101.35 (Ph'-C₅), 104.55 (Ph'-C₆), 113.21 (Ph'-C₂), 114.91 (Ph-C_{2/6}), 122.58 (Ph'-C₄), 131.67 (Ph-C_{3/5}), 143.60 (Ph-C₄), 150.15 (Ph'-C₃), 153.46 (Ph'-C₁), 162.82 (Ph-C₁), 165.86 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 384.0 [M+Na]⁺. **C₂₀H₂₄O₆, [360.40 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 66.78 (66.65) [0.13]; H 6.76 (6.71) [0.05].

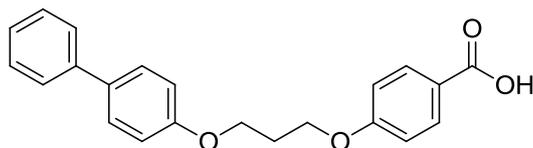
Charakterisierung von 4-(3-(3,4-dimethoxyphenoxy)propoxy)benzoesäure (133a)

¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.10-2.20 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 7.2 Hz), 3.66 (s, 3H, CH₃-O-Ph'), 3.70 (s, 3H, CH₃-O-Ph'), 4.03-4.08 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.16-4.21 (t, 2H, CH₂-O, *J* = 6.4 Hz), 6.40-6.45 (dd, 1H, Ph'-C₆, *J* = 2.7, 9.2 Hz), 6.55 (ds, 1H, Ph'-C₂, *J* = 2.7 Hz), 7.00-7.04 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.85-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 12.53 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 29.07 (CH₂-CH₂-CH₂), 55.91 (CH₃-O-Ph'), 56.55 (CH₃-O-Ph'), 64.88 (CH₂-O), 65.09 (CH₂-O), 101.37 (Ph'-C₅), 104.56 (Ph'-C₆), 113.22 (Ph'-C₂), 114.74 (Ph-C_{2/6}), 123.46 (Ph'-C₄), 131.84 (Ph-C_{3/5}), 143.61 (Ph-C₄), 150.16 (Ph'-C₃), 153.47 (Ph'-C₁), 162.57 (Ph-C₁), 167.46 (COOEt). **MS (ESI⁻):** *m/z* = 330.8 [M-H]⁻. **C₁₈H₂₀O₆, [332.35 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.09 (65.05) [0.04]; H 6.10 (6.07) [0.03].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-([1,1'-biphenyl]-4-yloxy)propoxy)benzoat (134)

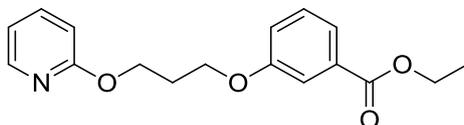
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.17-2.28 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.17-4.32 (m, 6H, O-CH₂ + CH₂-O + O-CH₂-CH₃), 7.04-7.10 (m, 4H, Ph-C_{2/6}, BiPh'-C_{2/6}), 7.28-7.34 (m, 1H, BiPh'-C₄), 7.40-7.46 (t, 2H, BiPh'-C_{3/5}, *J* = 7.5 Hz), 7.58-7.68 (m, 4H, BiPh-C_{2/6} + Ph-C_{3/5}, *J* = 10 Hz), 7.90-7.94 (d, 2H, BiPh-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.18 (CH₃-CH₂-O), 28.49 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.27 (O-CH₂-CH₃), 64.19 (CH₂-O), 64.66 (CH₂-O), 114.43 (Ph-C_{2/6}), 114.93 (BiPh'-C_{2/6}), 122.16 (BiPh'-C₄), 126.13 (BiPh'-C_{3/5}), 126.68 (BiPh'-C₁), 127.73 (BiPh-C₄), 128.81 (BiPh-C₁), 131.17 (Ph-C₄), 132.63 (BiPh-C_{3/5}), 139.78 (BiPh-C_{2/6}), 158.07 (Ph-C_{3/5}), 162.32 (Ph-C₁), 165.36 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 377.5 [M+H]⁺. **C₂₄H₂₄O₄, [376.45 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 76.47 (76.57) [0.10]; H 6.36 (6.43) [0.07].

Charakterisierung von 4-(3-([1,1'-biphenyl]-4-yloxy)propoxy)benzoesäure (134a)



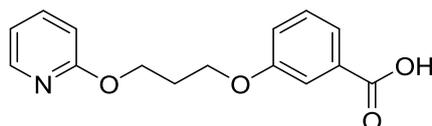
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.18-2.28 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 7.2 Hz), 4.17-4.27 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 7.04-7.08 (m, 4H, Ph-C_{2/6}, BiPh'-C_{2/6}), 7.28-7.34 (m, 1H, BiPh'-C₄), 7.41-7.47 (t, 2H, BiPh'-C_{3/5}, *J* = 7.5 Hz), 7.59-7.63 (m, 4H, BiPh-C_{2/6} + Ph-C_{3/5}), 7.88-7.92 (d, 2H, BiPh-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.51 (CH₂-CH₂-CH₂), 64.23 (CH₂-O), 64.59 (CH₂-O), 114.26 (Ph-C_{2/6}), 114.94 (BiPh'-C_{2/6}), 122.10 (BiPh'-C₄), 126.13 (BiPh'-C_{3/5}), 126.67 (BiPh'-C₁), 127.74 (BiPh-C₄), 128.81 (BiPh-C₁), 131.33 (Ph-C₄), 132.64 (BiPh-C_{3/5}), 139.79 (BiPh-C_{2/6}), 158.08 (Ph-C_{3/5}), 162.06 (Ph-C₁), 166.96 (COOH). **MS (ESI-):** *m/z* = 347.2 [M-H]⁻. **C₂₂H₂₀O₄, [348.39 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 75.57 (75.84) [0.27]; H 5.76 (5.79) [0.03].

Charakterisierung von Ethyl 3-(3-(pyridin-2-yloxy)propoxy)benzoat (142)



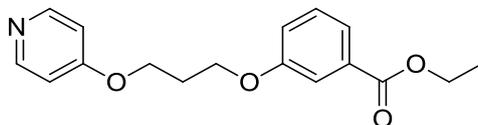
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.27-1.33 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 2.04-2.14 (q, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.00-4.06 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 4.24-4.33 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 6.14-6.20 (dt, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.6, 6.9 Hz), 6.34-6.37 (d, 1H, Pyr-C₃, *J* = 8.9 Hz), 7.15-7.19 (d, 1H, Ph-C₅, *J* = 8.2 Hz), 7.35-7.44 (m, 3H, Pyr-C₅ + Ph-C_{4/6}), 7.50-7.54 (d, 1H, Ph-C₂, *J* = 7.6 Hz), 7.62-7.66 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.6, 6.9 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.61 (CH₃-CH₂-O), 28.54 (CH₂-CH₂-CH₂), 46.75 (CH₂-O), 61.31 (O-CH₂-CH₃), 65.75 (CH₂-O), 105.72 (Pyr-C₄), 115.09 (Ph-C₅), 119.93 (Pyr-C₅), 120.08 (Ph-C₆), 121.90 (Ph-C₄), 130.41 (Ph-C₂), 131.70 (Ph-C₃), 139.73 (Pyr-C₃), 140.39 (Pyr-C₆), 158.91 (Pyr-C₂), 162.01 (Ph-C₁), 166.01 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 302.18 [M+H]⁺. **C₁₇H₁₉NO₄, [301.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 67.83 (67.76) [0.07]; H 6.49 (6.36) [0.13]; N 4.31 (4.65) [0.34].

Charakterisierung von 3-(3-(pyridin-2-yloxy)propoxy)benzoesäure (142a)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.04-2.14 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.99-4.06 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 6.15-6.20 (t, 1H, Pyr-C₄, *J* = 6.4 Hz), 6.34-6.38 (d, 1H, Pyr-C₃, *J* = 9.2 Hz), 7.12-7.15 (dd, 1H, Ph-C₅, *J* = 2.0, 8.4 Hz), 7.35-7.41 (m, 3H, Pyr-C₅ + Ph-C_{4/6}), 7.49-7.52 (d, 1H, Ph-C₂, *J* = 7.9 Hz), 7.63-7.65 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.0, 6.7 Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (125 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.55 (CH₂-CH₂-CH₂), 46.74 (CH₂-O), 65.63 (CH₂-O), 105.74 (Pyr-C₄), 115.06 (Ph-C₅), 119.74 (Pyr-C₅), 120.06 (Ph-C₆), 122.12 (Ph-C₄), 130.12 (Ph-C₂), 132.60 (Ph-C₃), 139.73 (Pyr-C₃), 140.40 (Pyr-C₆), 158.84 (Pyr-C₂), 162.01 (Ph-C₁), 167.59 (COOH). **MS (ESI+):** *m/z* = 273.99 [M+H]⁺. **C₁₅H₁₅NO₄, [273.28 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.78 (65.92) [0.14]; H 5.87 (5.53) [0.34]; N 4.77 (5.13) [0.36].

Charakterisierung von Ethyl 3-(3-(pyridin-4-yloxy)propoxy)benzoat (128)

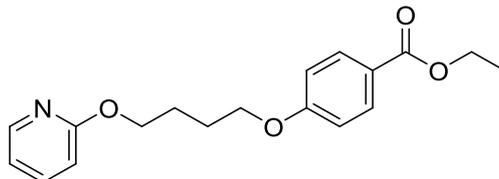


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.27-1.33 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.8 Hz), 2.14-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.1 Hz), 4.16-4.23 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 4.24-4.33 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.8 Hz),

5. Experimenteller Teil

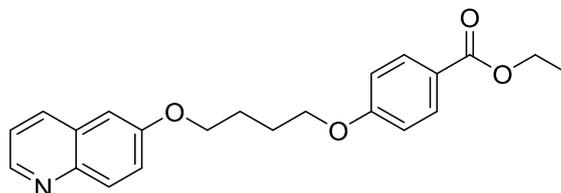
7.21-7.54 (m, 6H, Ph-C₅ + Ph-C₂ + Ph-C_{4/6} + Pyr-C_{3/5}), 8.13-8.16 (dd, 1H, Pyr-C₂, $J = 1.3, 4.7$ Hz), 8.29-8.30 (d, 1H, Pyr-C₆, $J = 2.7$ Hz). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.61 (CH₃-CH₂-O), 28.95 (CH₂-CH₂-CH₂), 61.31 (O-CH₂-CH₃), 64.90 (CH₂-O), 65.05 (CH₂-O), 114.96 (Ph-C₅), 120.10 (Ph-C₆), 121.42 (Pyr-C_{3/5}), 121.92 (Ph-C₄), 124.62 (Pyr-C_{3/5}), 130.45 (Ph-C₂), 131.75 (Ph-C₃), 138.34 (Pyr-C₄), 142.24 (Pyr-C₂), 155.17 (Pyr-C₆), 158.99 (Ph-C₁), 165.99 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 302.18$ [M+H]⁺. **C₁₇H₁₉NO₄, [301.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 67.83 (67.76) [0.07]; H 6.49 (6.36) [0.13]; N 4.31 (4.65) [0.34].

Charakterisierung von Ethyl 4-(4-(pyridin-2-yloxy)butoxy)benzoat (143)



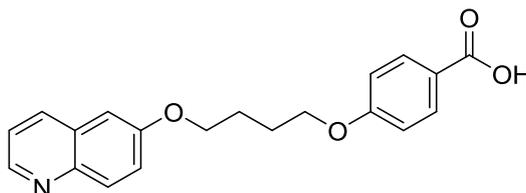
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 6.9$ Hz), 1.70-1.82 (m, 4H, CH₂-CH₂ + CH₂-CH₂), 3.92-3.97 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.6$ Hz), 4.06-4.11 (t, 2H, CH₂-O, $J = 6.3$ Hz), 4.24-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 6.9$ Hz), 6.19-6.24 (dt, 1H, Pyr-C₄, $J = 1.3, 6.7$ Hz), 6.36-6.40 (d, 1H, Pyr-C₃, $J = 9.5$ Hz), 7.02-7.05 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.8$ Hz), 7.38-7.41 (dd, 1H, Pyr-C₅, $J = 1.9, 6.7$ Hz), 7.69-7.72 (dd, 1H, Pyr-C₆, $J = 1.9, 6.7$ Hz), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.8$ Hz). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.69 (CH₃-CH₂-O), 25.88 (CH₂-CH₂-CH₂), 26.81 (CH₂-CH₂-CH₂), 48.58 (CH₂-O), 60.79 (O-CH₂-CH₃), 67.90 (CH₂-O), 105.82 (Pyr-C₄), 114.89 (Ph-C_{2/6}), 120.04 (Pyr-C₅), 122.48 (Ph-C_{3/5}), 131.64 (Ph-C₄), 139.52 (Pyr-C₃), 140.36 (Pyr-C₆), 161.97 (Pyr-C₂), 162.89 (Ph-C₁), 165.90 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 316.21$ [M+H]⁺. **C₁₈H₂₁NO₄, [315.36 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 68.27 (68.55) [0.28]; H 6.47 (6.71) [0.24]; N 4.42 (4.44) [0.02].

Charakterisierung von Ethyl 4-(4-(chinolin-6-yloxy)butoxy)benzoat (130)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.6$ Hz), 1.93-1.99 (m, 4H, CH₂-CH₂ + CH₂-CH₂), 4.16-4.19 (m, 4H, O-CH₂ + CH₂-O), 4.24-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.6$ Hz), 7.03-7.09 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.8$ Hz), 7.39-7.50 (m, 3H, Chin-C_{3/5/7}), 7.89-7.93 (m, 3H, Chin-C₈ + Ph-C_{3/5}), 8.22-8.26 (dd, 1H, Chin-C₄, $J = 1.1, 8.7$ Hz), 8.73-8.74 (d, 1H, Chin-C₂, $J = 3.8$ Hz). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 25.71 (CH₂-CH₂-CH₂), 25.77 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.79 (CH₂-O), 67.79 (O-CH₂-CH₃), 68.00 (CH₂-O), 106.91 (Chin-C₅), 114.90 (Ph-C_{2/6}), 122.13 (Chin-C₃), 122.48 (Chin-C₇), 129.54 (Chin-C₄), 130.81 (Chin-C₈), 131.66 (Ph-C₄), 135.23 (Chin-C₄), 144.21 (Chin-C_{8a}), 148.35 (Chin-C₂), 156.95 (Ph-C_{3/5}), 162.95 (Ph-C₁), 165.90 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 366.8$ [M+H]⁺. **C₁₆H₁₅NO₆, [365.42 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 72.26 (72.31) [0.05]; H 6.09 (6.34) [0.25]; N 3.77 (3.83) [0.06].

Charakterisierung von 4-(4-(chinolin-6-yloxy)butoxy)benzoesäure (130a)

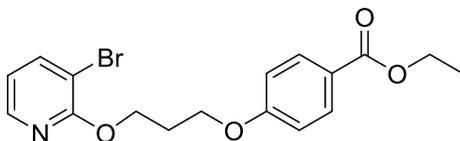


¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.92-1.98 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-CH₂), 4.15-4.18 (t, 2H, O-CH₂, $J =$), 4.26-4.28 (t, 2H, CH₂-O, $J =$), 7.03-7.05 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 7.5$ Hz), 7.71-7.73 (m, 3H, Chin-C_{3/5/7}), 7.88-7.92 (m, 3H, Chin-C₈ + Ph-C_{3/5}), 8.22-8.25 (d, 1H, Chin-C₄, $J = 7.5$ Hz), 9.03-9.04 (d, 1H, Chin-

5. Experimenteller Teil

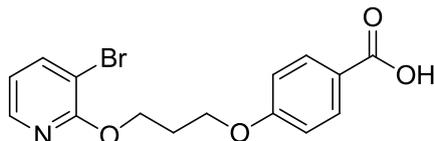
C_2 , $J = 5$ Hz), 12.54 (s, 1H, COOH). ^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 20.74 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 27.99 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 48.88 (CH_2-O), 65.41 (CH_2-O), 105.33 (Chin- C_5), 114.23 (Ph- $C_{2/6}$), 123.00 (Chin- C_3), 128.19 (Chin- C_7), 128.37 (Chin- C_4), 129.59 (Chin- C_8), 131.29 (Ph- C_4), 134.07 (Chin- C_4), 136.48 (Chin- C_{8a}), 137.30 (Chin- C_2), 138.21 (Ph- $C_{3/5}$), 160.45 (Ph- C_1), 166.94 (COOH). **MS (ESI-):** $m/z = 336.4$ [M-H]⁻. **$C_{14}H_{10}NO_6$, [337.37 g/mol]**.

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-brompyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (144)



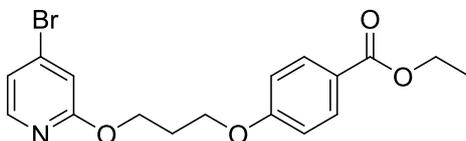
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.28-1.34 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 7.2$ Hz), 2.10-2.20 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.05-4.16 (m, 4H, O- $CH_2 + CH_2-O$), 4.24-4.32 (q, 2H, O- CH_2-CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 6.15-6.21 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.6$ Hz), 6.98-7.03 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.74-7.78 (dd, 1H, Pyr- C_6 , $J = 1.8, 7.1$ Hz), 7.88-7.93 (m, 3H, Pyr- $C_6 + Ph-C_{3/5}$). ^{13}C -NMR (75 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 14.70 (CH_3-CH_2-O), 28.21 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 48.29 (CH_2-O), 60.81 (O- CH_2-CH_3), 65.87 (CH_2-O), 106.09 (Pyr- C_5), 114.87 (Ph- $C_{2/6}$), 115.22 (Pyr- C_4), 131.63, (Ph- $C_{3/5}$), 139.68 (Ph- C_4), 142.60 (Pyr- C_6), 158.34 (Pyr- C_2), 162.64 (Ph- C_1), 165.88 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 381.85$ [M+H]⁺. **$C_{17}H_{18}BrNO_4$, [380.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 53.51 (53.70) [0.19]; H 4.94 (4.77) [0.17]; N 3.42 (3.68) [0.26].**

Charakterisierung von 4-(3-((3-brompyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (144a)



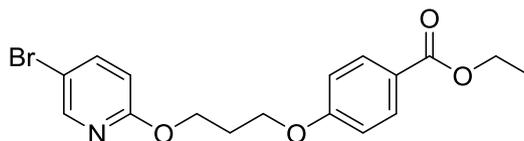
1H -NMR (500 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.12-2.27 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.6$ Hz), 4.06-4.09 (t, 2H, O- CH_2 , $J = 5.7$ Hz), 4.11-4.14 (t, 2H, CH_2-O , $J = 6.9$ Hz), 6.16-6.19 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 7.1$ Hz), 6.96-6.99 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.6$ Hz), 7.75-7.76 (dd, 1H, Pyr- C_4 , $J = 1.9, 6.6$ Hz), 7.88-7.89 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.6$ Hz), 7.90-7.92 (dd, 1H, Pyr- C_6 , 1.9, 7.1 Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). ^{13}C -NMR (125 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 28.22 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 48.29 (CH_2-O), 65.87 (CH_2-O), 106.05 (Pyr- C_5), 114.70 (Ph- $C_{2/6}$), 115.23 (Pyr- C_4), 123.50 (Pyr- C_6), 131.79, (Ph- $C_{3/5}$), 139.71 (Ph- C_4), 142.58 (Pyr- C_2), 158.32 (Pyr- C_3), 162.40 (Ph- C_1), 167.45 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 353.80$ [M+H]⁺. **$C_{15}H_{14}BrNO_4$, [352.18 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 51.15 (51.16) [0.01]; H 4.03 (4.01) [0.02]; N 3.78 (3.98) [0.20].**

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((4-brompyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (145)



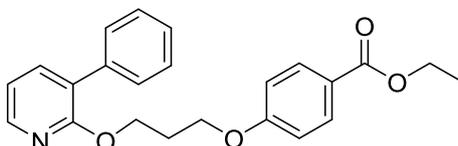
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.29-1.32 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 7.2$ Hz), 2.08-2.13 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.02-4.08 (m, 4H, O- $CH_2 + CH_2-O$), 4.25-4.29 (q, 2H, O- CH_2-CH_3 , $J = 7.2$ Hz), 6.44-6.46 (dd, 1H, Pyr- C_5 , $J = 2.2, 7.4$ Hz), 6.71 (ds, 1H, Pyr- C_3 , $J = 2.2$ Hz), 6.98-7.01 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.66-7.68 (d, 1H, Pyr- C_6 , $J = 7.4$ Hz), 7.88-7.91 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz). ^{13}C -NMR (126 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 14.70 (CH_3-CH_2-O), 28.25 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 46.70 (CH_2-O), 60.79 (O- CH_2-CH_3), 65.86 (CH_2-O), 109.53 (Pyr- C_5), 114.85 (Ph- $C_{2/6}$), 121.73 (Pyr- C_3), 122.64 (Pyr- C_6), 131.62 (Ph- C_4), 135.37 (Pyr- C_4), 148.37 (Ph- $C_{3/5}$), 160.87 (Pyr- C_2), 162.65 (Ph- C_1), 165.84 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 381.95$ [M+H]⁺. **$C_{17}H_{18}BrNO_4$, [380.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 53.85 (53.70) [0.15]; H 4.61 (4.77) [0.16]; N 3.62 (3.68) [0.06].**

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((5-bromopyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (146)



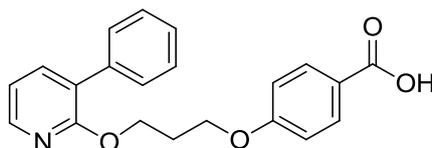
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.32 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.6 Hz), 2.09-2.15 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.03-4.06 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.7 Hz), 4.07-4.10 (t, 2H, CH₂-O, *J* = 6.4 Hz), 4.25-4.30 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.6 Hz), 6.36-6.38 (d, 1H, Pyr-C₄, *J* = 9.9 Hz), 6.98-7.00 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.51-7.53 (dd, 1H, Pyr-C₃, *J* = 2.9, 9.9 Hz), 7.89-7.91 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 8.01 (ds, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.9 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.29 (CH₂-CH₂-CH₂), 47.13 (CH₂-O), 60.79 (O-CH₂-CH₃), 66.10 (CH₂-O), 96.72 (Pyr-C₄), 114.85 (Ph-C_{2/6}), 121.54 (Pyr-C₃), 122.62 (Pyr-C₆), 131.62 (Ph-C_{3/5}), 139.75 (Ph-C₄), 142.60 (Pyr-C₅), 160.58 (Pyr-C₂), 162.64 (Ph-C₁), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 406.10 [M+H+ Na]⁺. **C₁₇H₁₈BrNO₄, [380.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 53.70 (53.70) [0.00]; H 4.67 (4.77) [0.10]; N 3.49 (3.68) [0.18].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-phenylpyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (164)

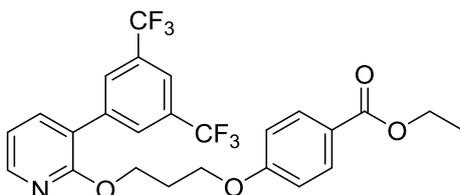


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.13-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.10-4.18 (m, 4H, O-CH₂), 4.24-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 6.30-6.36 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.9 Hz), 7.01-7.04 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.39-7.38 (m, 3H, Ph'-C_{3/5} + Ph'-C₄), 7.59-7.74 (m, 4H, Ph'-C_{2/6} + Pyr-C_{4/6}), 7.89-7.92 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 27.96 (CH₂-CH₂-CH₂), 46.89 (CH₂-O), 60.26 (O-CH₂-CH₃), 65.49 (CH₂-O), 105.34 (Pyr-C₅), 114.38 (Ph-C_{2/6}), 122.15 (Pyr-C₄), 127.21 (Pyr-C₃), 127.76 (Ph'-C₄), 128.34 (Ph'-C_{2/6}), 129.63 (Ph'-C₁), 131.12 (Ph'-C_{3/5}), 136.96 (Ph-C₄), 137.80 (Pyr-C₆), 138.54 (Pyr-C₂), 160.40 (Ph-C_{3/5}), 162.20 (Ph-C₁), 165.35 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* 379.0 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₃NO₄, [377.43 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 72.83 (73.19) [0.36]; H 6.05 (6.14) [0.09]; N 3.75 (3.71) [0.04].

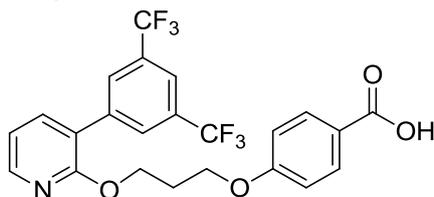
Charakterisierung von 4-(3-((3-phenylpyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (164a)



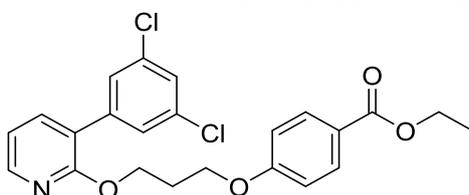
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.14-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.09-4.18 (m, 4H, O-CH₂), 6.31-6.36 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.9 Hz), 6.98-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.28-7.42 (m, 3H, Ph'-C_{3/5} + Ph'-C₄), 7.59-7.73 (m, 4H, Ph'-C_{2/6} + Pyr-C_{4/6}), 7.87-7.90 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 27.99 (CH₂-CH₂-CH₂), 46.91 (CH₂-O), 65.49 (CH₂-O), 105.35 (Pyr-C₅), 114.23 (Ph-C_{2/6}), 123.00 (Pyr-C₄), 127.78 (Ph'-C_{3/5}), (Ph'-C₄), 128.35 (Ph'-C_{2/6}), 129.64 (Ph'-C₁), 131.30 (Ph-C_{3/5}), 136.98 (Pyr-C₃), 137.82 (Pyr-C₆), 138.57 (Pyr-C₂), 160.42 (Ph-C₄), 161.97 (Ph-C₁), 166.94 (COOH). **MS (ESI-):** *m/z* 348.4 [M-H]⁻. **C₂₁H₁₉NO₄, [349.38 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 72.15 (72.19) [0.04]; H 5.37 (5.48) [0.11]; N 3.94 (4.01) [0.07].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (165)


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 1.29-1.32 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$, $J = 7.2$ Hz), 2.18-2.25 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.14-4.16 (t, 2H, O-CH_2 , $J = 5.7$ Hz), 4.19-4.23 (t, $\text{CH}_2\text{-O}$, $J = 6.6$ Hz), 4.25-4.30 (q, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$, $J = 7.2$ Hz), 6.42-6.45 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.2$ Hz), 6.97-6.99 (d, 2H, Ph- $\text{C}_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.87-7.89 (m, 3H, Ph- $\text{C}_{3/5}$ + Pyr- C_6), 7.95-7.97 (dd, 1H, Pyr- C_4 , $J = 2.4, 7.2$ Hz), 8.02 (s, 1H, Ph'- C_4), 8.37 (s, 2H, Ph'- $\text{C}_{2/6}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 14.66 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.42 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 60.74 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 66.17 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 106.11 (Pyr- C_5), 114.82 (Ph- $\text{C}_{2/6}$), 121.03 (Pyr- C_4), 122.09 (Pyr- C_3), 122.61 (Ph'- $\text{C}_{2/6}$), 125.70 ($-\text{CF}_3$), 126.20 ($-\text{CF}_3$), 129.15 (Ph'- C_1), 130.10 (Ph'- C_4), 130.53 (Ph- C_4), 131.57 (Ph'- $\text{C}_{3/5}$), 139.24 (Pyr- C_6), 140.17 (Pyr- C_2), 160.69 (Ph- $\text{C}_{3/5}$), 162.62 (Ph- C_1), 165.83 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 514.34$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. **$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{F}_6\text{NO}_4$, [513.43 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 58.09 (58.48) [0.39]; H 4.09 (4.12) [0.03]; N 2.65 (2.73) [0.08].

Charakterisierung von 4-(3-((3-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (165a)


$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 2.15-2.25 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.11-4.15 (t, 2H, O-CH_2 , $J = 5.9$ Hz), 4.18-4.23 (t, $\text{CH}_2\text{-O}$, $J = 6.8$ Hz), 6.40-6.46 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.9$ Hz), 6.95-6.99 (d, 2H, Ph- $\text{C}_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.85-7.90 (d, 2H, Ph- $\text{C}_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 7.95-7.98 (d, 2H, Pyr- $\text{C}_{4/6}$, $J = 2.1, 7.3$ Hz), 8.03 (s, 1H, Ph'- C_4), 8.39 (s, 2H, Ph'- $\text{C}_{2/6}$), 12.60 (s, 1H, COOH). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 27.93 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 47.18 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 65.55 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 105.59 (Pyr- C_5), 114.15 (Ph- $\text{C}_{2/6}$), 122.99 (Pyr- C_5), 125.70 (Ph'- $\text{C}_{2/6}$) ($-\text{CF}_3$), 128.64 (Ph'- $\text{C}_{3/5}$) ($-\text{CF}_3$), 129.61 (Ph'- C_1), 130.04 (Ph'- C_4), (Ph- C_4), 131.24 (Ph- $\text{C}_{3/5}$), 139.27 (Pyr- C_6), 139.67, 140.45 (Pyr- C_2), 160.17, 161.89 (Ph- C_1), 166.89 (COOH). **MS (ESI-):** $m/z = 484.6$ $[\text{M}-\text{H}]^-$. **$\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{NO}_4$, [485.38 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 56.61 (56.91) [0.30]; H 3.39 (3.53) [0.14]; N 2.69 (2.89) [0.20].

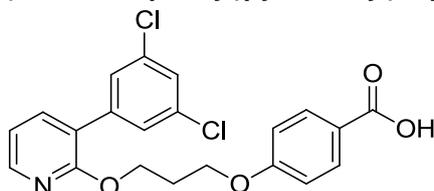
Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(3,5-dichlorphenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (166)


$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 1.35-1.40 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$, $J = 6.5$ Hz), 2.22-2.30 (quin, 2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$, $J = 6.5$ Hz), 4.18-4.26 (m, 4H, O-CH_2 + O-CH_2), 4.31-4.38 (q, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$, $J = 6.5$ Hz), 6.41-6.46 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.9$ Hz), 7.03-7.08 (d, 2H, Ph- $\text{C}_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz), 7.59-7.60 (t, 1H, Ph'- C_4 , $J = 2.0$ Hz), 7.80-7.81 (d, 2H, Ph'- $\text{C}_{2/6}$, $J = 2.0$ Hz), 7.85-7.90 (ddd, 2H, Pyr- $\text{C}_{4/6}$, $J = 2.0, 4.0, 6.2$ Hz), 7.93-7.98 (d, 2H, Ph- $\text{C}_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz). **$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 14.70 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O}$), 28.40 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 47.60 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 60.76 ($\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$), 66.08 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 105.96 (Pyr- C_5), 114.85 (Ph- $\text{C}_{2/6}$), 122.62 (Pyr- C_4), 126.60 (Pyr- C_3), 127.03 (Ph'- C_1), 127.26 (Ph'- $\text{C}_{2/6}$), 131.09 (Ph- $\text{C}_{3/5}$), 133.97 (Ph'- $\text{C}_{3/5}$), 139.62 (Ph'- C_4), 140.51 (Ph- C_4), 140.73 (Pyr- C_6), 160.53 (Pyr- C_2), 162.65 (Ph- C_1), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 448.3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. **$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{NO}_4$, [446.32 g/mol], Elementaranalyse:**

5. Experimenteller Teil

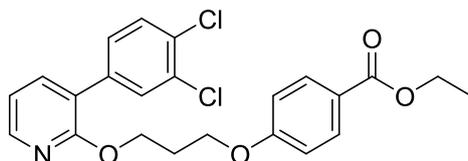
gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 61.89 (61.90) [0.01]; H 4.84 (4.74) [0.10]; N 2.93 (3.14) [0.21].

Charakterisierung von 4-(3-((3-(3,5-dichlorphenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (166a)



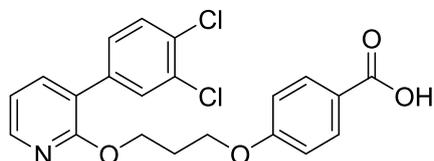
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.14-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 5.7 Hz), 4.10-4.20 (m, 4H, O-CH₂), 6.34-6.40 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.8 Hz), 6.95-7.00 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.53-7.55 (t, 1H, Ph'-C₄, *J* = 1.9 Hz), 7.75-7.76 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 1.9 Hz), 7.78-7.84 (m, 2H, Pyr-C_{4/6}), 7.85-7.90 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 12.63 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.42 (CH₂-CH₂-CH₂), 47.62 (CH₂-O), 65.98 (CH₂-O), 105.96 (Pyr-C₅), 114.67 (Ph-C_{2/6}), 123.49 (Pyr-C₄), 126.59 (Pyr-C₃), 127.04 (Ph'-C₁), 127.26 (Ph'-C₄), 131.79 (Ph-C₄), 133.98 (Ph'-C_{2/6}), 139.63 (Pyr-C₆), 140.53 (Ph'-C_{3/5}), 140.74 (Pyr-C₂), 162.53 (Ph-C_{3/5}), 160.42 (Ph-C₁), 167.45 (COOH). **MS (ESI):** *m/z* = 416.4 [M-H]⁻. **C₂₁H₁₇Cl₂NO₄, [418.27 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 60.37 (60.30) [0.07]; H 4.38 (4.10) [0.28]; N 3.19 (3.35) [0.16].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(3,4-dichlorphenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (167)

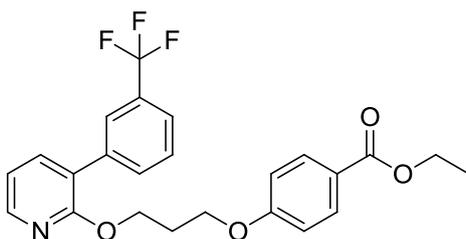


¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.27-1.32 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.5 Hz), 2.13-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.5 Hz), 4.09-4.18 (m, 4H, O-CH₂), 4.23-4.30 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.5 Hz), 6.33-6.37 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.9 Hz), 6.96-7.00 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.60-7.65 (m, 2H, Pyr-C₄ + Ph'-C₆), 7.73-7.78 (m, 2H, Pyr-C₆ + Ph'-C₅), 7.86-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 7.90 (s, 1H, Ph'-C₂). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.40 (CH₂-CH₂-CH₂), 45.57 (CH₂-O), 60.76 (O-CH₂-CH₃), 66.05 (CH₂-O), 105.96 (Pyr-C₅), 114.86 (Ph-C_{2/6}), 122.64 (Ph'-C₁), 127.00 (Pyr-C₄), 128.84 (Ph'-C₅), 130.11 (Ph-C₄), 130.45 (Ph'-C₄), 130.51 (Ph'-C₂), 130.95 (Pyr-C₃), 131.62 (Ph'-C₃), 137.91 (Ph'-C₄), 139.12 (Pyr-C₆), 140.15 (Pyr-C₂), 160.60 (Ph-C_{3/5}), 162.66 (Ph-C₁), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 446.8 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₁Cl₂NO₄, [446.32 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 61.83 (61.89) [0.06]; H 4.62 (4.74) [0.12]; N 2.89 (3.14) [0.25].

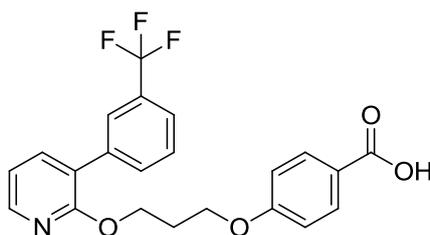
Charakterisierung von 4-(3-((3-(3,4-dichlorphenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (167a)



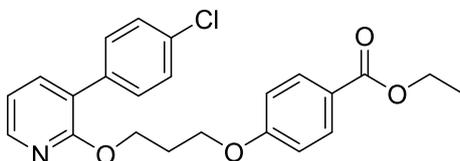
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.11-2.25 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.04-4.24 (m, 4H, O-CH₂), 6.34-6.40 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.8 Hz), 6.96-6.99 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.61-7.81 (m, 4H, Pyr-C_{4/6} + Ph'-C_{5/6}), 7.86-7.87 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 8.00 (s, 1H, Ph'-C₂), 12.61 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.42 (CH₂-CH₂-CH₂), 45.59 (CH₂-O), 65.97 (CH₂-O), 106.00 (Pyr-C₅), 114.70 (Ph-C_{2/6}), 123.48 (Ph'-C₁), 127.02 (Pyr-C₄), 128.85 (Ph'-C₅), 130.13 (Ph-C₄), 130.47 (Ph'-C₄), 130.51 (Ph'-C₂), 130.97 (Pyr-C₃), 131.80 (Ph'-C₃), 137.90 (Ph'-C₄), 139.16 (Pyr-C₆), 140.15 (Pyr-C₂), 160.62 (Ph-C_{3/5}), 162.43 (Ph-C₁), 167.46 (COOH). **MS (ESI):** *m/z* = 415.95 [M-H]⁻. **C₂₁H₁₇Cl₂NO₄, [418.27 g/mol].**

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(3-(trifluormethyl)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (168)


¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.33 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.2 Hz), 2.17-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.02-4.20 (m, 4H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.25-4.31 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.2 Hz), 6.37-6.40 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 7.2 Hz), 7.00-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.61-7.68 (m, 2H, Ph'-C_{5/6}), 7.76-7.79 (m, 2H, Pyr-C₆ + Pyr-C₄), 7.91-7.93 (m, 3H, Ph'-C₄ + Ph-C_{3/5}), 8.10 (s, 1H, Ph'-C₂). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.68 (CH₃-CH₂-O), 28.41 (CH₂-CH₂-CH₂), 47.56 (CH₂-O), 52.27 (CF₃), 60.76 (O-CH₂-CH₃), 66.07 (CH₂-O), 106.00 (Pyr-C₅), 114.90 (Ph-C_{2/6}), 122.34 (Ph'-C₅), 122.62 (Ph'-C₄), 124.31 (Ph'-C₁), 125.33 (Pyr-C₄), 129.49 (Ph'-C₆), 131.67 (Ph'-C₂), 132.62 (Ph-C₄), 138.31 (Pyr-C₃), 139.21 (Pyr-C₆), 140.05 (Pyr-C₂), 160.78 (Ph-C_{3/5}), 162.71 (Ph-C₁), 165.83 (Ph'-C₃), 166.34 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 446.8 [M+H]⁺. **C₂₄H₂₂F₃NO₄, [445.43 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 64.83 (64.71) [0.12]; H 5.06 (4.98) [0.08]; N 2.77 (3.14) [0.37].

Charakterisierung von 4-(3-((3-(3-(trifluormethyl)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (168a)


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.12-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.07-4.18 (m, 4H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 6.33-6.38 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 7.0 Hz), 6.94-6.97 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.59-7.63 (m, 2H, Ph'-C_{5/6}), 7.72-7.78 (m, 2H, Pyr-C₆ + Pyr-C₄), 7.83-7.87 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 7.90-7.93 (d, 1H, Ph'-C₄, *J* = 6.8 Hz), 8.08 (s, 1H, Ph'-C₂), 12.00 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.42 (CH₂-CH₂-CH₂), 47.59 (CH₂-O + CF₃), 65.97 (CH₂-O), 106.05 (Pyr-C₅), 114.68 (Ph-C_{2/6}), 121.31 (Ph'-C₅), 123.45 (Ph'-C₆), 124.32 (Ph'-C₁), 125.35 (Pyr-C₄), 129.51 (Ph'-C₂), 131.79 (Ph'-C₄), 132.62 (Ph-C₄), 138.30 (Pyr-C₃), 139.24 (Pyr-C₆), 141.98 (Pyr-C₂), 160.80 (Ph-C_{3/5}), 162.49 (Ph-C₁), 164.34 (Ph'-C₃), 167.48 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 418.05 [M+H]⁺. **C₂₂H₁₈F₃NO₄, [417.38 g/mol].**

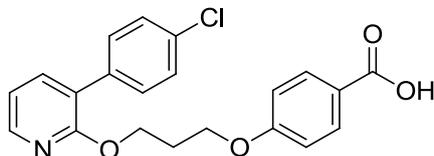
Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(4-chlorphenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (169)


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.14-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.09-4.18 (m, 4H, O-CH₂), 4.24-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 6.32-6.37 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.6 Hz), 7.00-7.03 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.41-7.45 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.3 Hz), 7.65-7.70 (dd, 2H, Pyr-C_{4/6}, *J* = 1.8, 7.0 Hz), 7.74-7.76 (m, 2H, Ph'-C_{3/5}), 7.88-7.92 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 27.92 (CH₂-CH₂-CH₂), 46.95 (CH₂-O), 60.26 (O-CH₂-CH₃), 65.49 (CH₂-O), 105.38 (Pyr-C₅), 114.38 (Ph-C_{2/6}), 122.15 (Ph'-C₁), 127.75 (Pyr-C₄), 128.12 (Ph'-C_{2/6}), 130.05 (Ph-C₄), 131.11 (Ph'-C_{3/5}), 131.82 (Pyr-C₃), 135.71 (Ph'-C₄), 138.02 (Pyr-C₆), 138.99 (Pyr-C₂), 160.24 (Ph-C_{3/5}), 162.18 (Ph-C₁), 165.34 (COOEt). **MS (ESI⁺):**

5. Experimenteller Teil

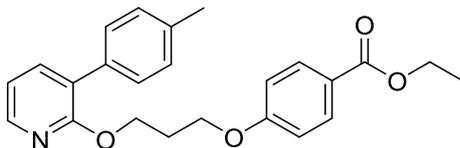
$m/z = 412.8$ $[M+H]^+$. $C_{23}H_{22}ClNO_4$, [411.88 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 67.32 (67.07) [0.25]; H 5.43 (5.38) [0.05]; N 3.34 (3.40) [0.06].

Charakterisierung von 4-(3-((3-(4-chlorphenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (169a)



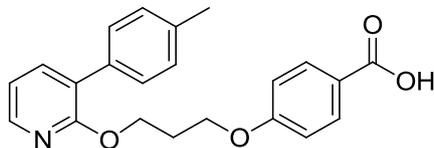
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.13-2.24 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 4.09-4.18 (m, 4H, O- CH_2), 6.32-6.37 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.8$ Hz), 6.98-7.01 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.41-7.46 (d, 2H, Ph'- $C_{2/6}$, $J = 8.3$ Hz), 7.64-7.76 (m, 4H, Pyr- $C_{4/6}$ + Ph'- $C_{3/5}$), 7.87-7.90 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 12.63 (s, 1H, COOH). ^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 27.95 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 46.98 (CH_2-O), 65.42 (CH_2-O), 105.39 (Pyr- C_5), 114.22 (Ph- $C_{2/6}$), 123.01 (Ph'- C_1), 127.77 (Pyr- C_4), 128.13 (Ph'- $C_{2/6}$), 130.07 (Ph- C_4), 131.29 (Ph'- $C_{3/5}$), 131.83 (Pyr- C_3), 135.73 (Ph'- C_4), 138.03 (Pyr- C_6), 139.01 (Pyr- C_2), 160.24 (Ph- $C_{3/5}$), 162.95 (Ph- C_1), 166.93 (COOH). MS (ESI⁻): $m/z = 382.4$ $[M-H]^-$. $C_{21}H_{18}ClNO_4$, [383.83 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 65.36 (65.71) [0.35]; H 7.78 (4.73) [0.05]; N 3.44 (3.65) [0.21].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(p-tolyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (170)



1H -NMR (300 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.27-1.32 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 6.5$ Hz), 2.12-2.21 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.5$ Hz), 2.31 (s, 3H, Ph'- CH_3), 4.08-4.15 (m, 4H, O- CH_2), 4.23-4.30 (q, 2H, O- CH_2-CH_3 , $J = 6.5$ Hz), 6.27-6.31 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.9$ Hz), 6.98-7.03 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz), 7.15-7.18 (d, 2H, Ph'- $C_{2/6}$, $J = 8.2$ Hz), 7.54-7.57 (m, 3H, Pyr- C_4 + Ph'- $C_{3/5}$), 7.65-7.68 (dd, 1H, Pyr- C_6 , $J = 2.0, 6.7$ Hz), 7.86-7.91 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.9$ Hz). ^{13}C -NMR (75 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 14.19 (CH_3-CH_2-O), 20.73 (Ph'- CH_3), 27.96 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 46.55 (CH_2-O), 60.25 (O- CH_2-CH_3), 65.48 (CH_2-O), 105.31 (Pyr- C_5), 114.38 (Ph- $C_{2/6}$), 122.15 (Ph'- C_1), 128.18 (Ph'- $C_{2/6}$), 128.35 (Ph'- $C_{3/5}$), 129.58 (Pyr- C_4), 131.11 (Ph'- C_4), 134.05 (Ph- C_4), 136.46 (Pyr- C_3), 137.27 (Pyr- C_6), 138.19 (Pyr- C_2), 160.44 (Ph- $C_{3/5}$), 162.20 (Ph- C_1), 165.34 (COOEt). MS (ESI⁺): $m/z = 393.0$ $[M+H]^+$. $C_{24}H_{25}NO_4$, [391.47 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 73.62 (73.64) [0.02]; H 6.35 (6.44) [0.09]; N 3.46 (3.58) [0.12].

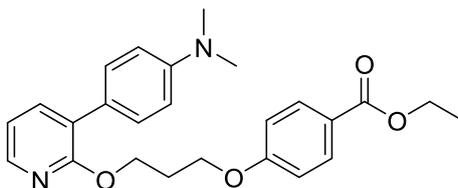
Charakterisierung von 4-(3-((3-(p-tolyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (170a)



1H -NMR (250.13 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.13-2.23 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.4$ Hz), 2.33 (s, 3H, Ph'- CH_3), 4.08-4.17 (m, 4H, O- CH_2), 6.28-6.34 (t, 1H, Pyr- C_5 , $J = 6.8$ Hz), 6.98-7.02 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.17-7.20 (d, 2H, Ph'- $C_{2/6}$, $J = 8.2$ Hz), 7.56-7.59 (m, 3H, Pyr- C_4 + Ph'- $C_{3/5}$), 7.67-7.70 (dd, 1H, Pyr- C_6 , $J = 2.0, 6.7$ Hz), 7.87-7.90 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). ^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 20.74 (Ph'- CH_3), 27.99 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 46.88 (CH_2-O), 65.41 (CH_2-O), 105.33 (Pyr- C_5), 114.23 (Ph- $C_{2/6}$), 123.00 (Ph'- C_1), 128.19 (Ph'- $C_{2/6}$), 128.37 (Ph'- $C_{3/5}$), 129.59 (Pyr- C_4), 131.29 (Ph'- C_4), 134.07 (Ph- C_4), 136.48 (Pyr- C_3), 137.30 (Pyr- C_6), 138.21 (Pyr- C_2), 160.45 (Ph- $C_{3/5}$), 161.98 (Ph- C_1), 166.94 (COOH). MS (ESI⁻): $m/z = 362.4$ $[M-H]^-$. $C_{22}H_{21}NO_4$, [363.41 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 72.49 (72.71) [0.22]; H 5.75 (5.82) [0.07]; N 3.77 (3.85) [0.07].

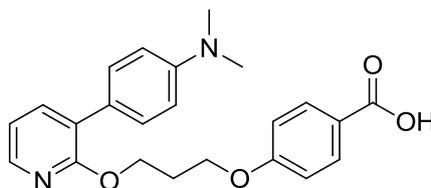
5. Experimenteller Teil

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(4-(dimethylamino)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (171)



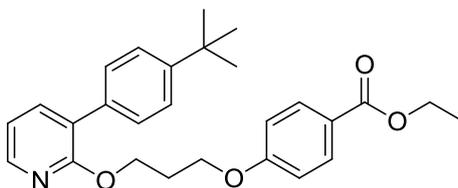
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.13-2.23 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 3.34 (s, 6H, Ph'-N(CH₃)₂), 4.05-4.16 (m, 4H, O-CH₂), 4.24-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 6.24-6.30 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.4 Hz), 6.70-6.74 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.6 Hz), 7.01-7.05 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.49-7.52 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 2.0, 6.9 Hz), 7.57-7.61 (m, 3H, Pyr-C₆ + Ph'-C_{3/5}), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.20 (CH₃-CH₂-O), 28.00 (CH₂-CH₂-CH₂), 47.76 (CH₂-O), 60.27 (O-CH₂-CH₃), 65.56 (CH₂-O), 105.41 (Pyr-C_{4/5}), 111.58 (Ph'-C_{2/6}), 114.39 (Ph-C_{2/6}), 122.14 (Ph'-C₁), 124.63 ((CH₃)₂N-), 128.94 (Ph'-C_{3/5}), 129.82 (Ph'-C₄), 131.13 (Ph-C_{3/5}), 135.41 (Pyr-C₃), 136.85 (Ph-C₄), 160.60 (Ph-C₁), 162.23 (Pyr-C_{2/6}), 165.35 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 422.1 [M+H]⁺. **C₂₅H₂₈N₂O₄, [345.35 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.38 (71.41) [0.03]; H 6.66 (6.71) [0.05]; N 6.60 (6.66) [0.06].

Charakterisierung von 4-(3-((3-(4-(dimethylamino)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoesäure (171a)



¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.15-2.21 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 7.2 Hz), 2.52 (s, 6H, Ph'-N(CH₃)₂), 4.09-4.15 (m, 4H, O-CH₂), 6.24-6.30 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.2 Hz), 6.71-6.74 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.8), 7.00-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.50-7.52 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 2.0, 7.1 Hz), 7.58-7.60 (m, 3H, Pyr-C₆ + Ph'-C_{3/5}), 7.89-7.90 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 12.64 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.04 (CH₂-CH₂-CH₂), 46.79 (CH₂-O), 65.40 (CH₂-O), 105.44 (Pyr-C_{4/5}), 111.57 (Ph'-C_{2/6}), 114.24 (Ph-C_{2/6}), 122.99 (Ph'-C₁), 124.60 ((CH₃)₂N-), 128.95 (Ph-C_{3/5}), 129.84 (Ph'-C₄), 131.13 (Ph'-C_{3/5}), 135.43 (Ph-C₄), 136.86 (Pyr-C₃), 149.66 (Pyr-C₆), 160.62 (Pyr-C₂), 162.00 (Ph-C₁), 166.96 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 393.8 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₄N₂O₄, [392.45 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 70.19 (70.39) [0.20]; H 6.32 (6.16) [0.16]; N 6.80 (7.14) [0.34].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-((3-(4-(tert-butyl)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoat (172)

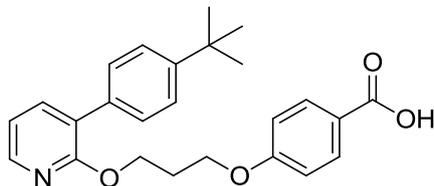


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.37-1.43 (m, 12H, tert-Butyl + CH₃-CH₂-O), 2.25-2.30 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.20-4.25 (m, 4H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.35-4.39 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.2 Hz), 6.39-6.42 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 7.2 Hz), 7.10-7.12 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.47-7.49 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.1 Hz), 7.65-7.69 (m, 3H, Ph'-C_{3/5} + Pyr-C₄), 7.77-7.79 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.0, 6.7 Hz), 7.99-8.00 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.48 (CH₂-CH₂-CH₂), 31.57 ((CH₃)₃-C), 34.72 ((CH₃)₃-C), 47.34 (CH₂-O), 60.27 (O-CH₂-CH₃), 65.97 (CH₂-O), 105.85 (Pyr-C₅), 114.88 (Ph-C_{2/6}), 122.61 (Ph'-C₁), 125.03 (Ph'-C_{2/6}), 128.56 (Ph'-C_{3/5}), 130.10 (Pyr-C₄), 131.64 (Ph'-C₄), 134.59 (Ph-C₄), 137.87 (Pyr-C₃), 138.75 (Pyr-C₆), 150.13, (Pyr-C₂), 160.98

5. Experimenteller Teil

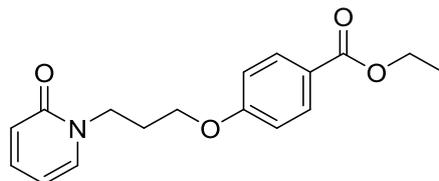
(Ph- $C_{3/5}$), 162.71 (Ph- C_1), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 434.15$ [M+H]⁺. **C₂₇H₃₁NO₄, [433.54 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 75.00 (74.80) [0.20]; H 7.12 (7.21) [0.09]; N 3.19 (3.23) [0.04].

Charakterisierung von 4-(3-((3-(4-(tert-butyl)phenyl)pyridin-2-yl)oxy)propoxy)benzoessäure (172a)



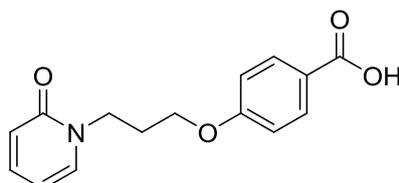
¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 1.30 (s, 9H, tert-Butyl), 2.15-2.20 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.4$ Hz), 4.09-4.11 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.4$ Hz), 4.12-4.15 (t, 2H, O-CH₂-, $J = 6.4$ Hz), 6.30-6.32 (t, 1H, Pyr-C₅, $J = 6.8$ Hz), 6.98-7.01 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.8$ Hz), 7.37-7.40 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, $J = 8.6$ Hz), 7.50-7.60 (m, 3H, Ph'-C_{3/5} + Pyr-C₄), 7.67-7.69 (dd, 1H, Pyr-C₆, $J = 2.1, 6.8$ Hz), 7.86-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.6$ Hz), 12.64 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ : 28.50 (CH₂-CH₂-CH₂), 31.58 ((CH₃)₃-C), 34.72 ((CH₃)₃-C), 47.36 (CH₂-O), 65.89 (CH₂-O), 105.86 (Pyr-C₅), 114.71 (Ph-C_{2/6}), 123.50 (Ph'-C₁), 125.04 (Ph'-C_{2/6}), 128.57 (Ph'-C_{3/5}), 130.11 (Pyr-C₄), 131.81 (Ph'-C₄), 134.60 (Ph-C₄), 137.89 (Pyr-C₃), 138.77 (Pyr-C₆), 150.15 (Pyr-C₂), 160.99 (Ph-C_{3/5}), 162.47 (Ph-C₁), 167.47 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 406.05$ [M+H]⁺. **C₂₅H₂₇NO₄, [405.79 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 73.69 (74.05) [0.36]; H 6.40 (6.71) [0.31]; N 3.38 (3.45) [0.07].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (135)



¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 1.39-1.42 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.3$ Hz), 2.27-2.32 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.2$ Hz), 4.29-4.32 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.2$ Hz), 4.35-4.39 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.3$ Hz), 4.50-4.52 (t, 2H, CH₂-N, $J = 6.2$ Hz), 6.91-6.93 (d, 1H, Pyr-C₃, $J = 8.3$ Hz), 7.06-7.08 (ddd, 1H, Pyr-C₅, $J = 0.7, 5.1, 7.2$ Hz), 7.15-7.18 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.8$ Hz), 7.78-7.82 (ddd, 1H, Pyr-C₄, $J = 2.1, 7.2, 8.3$ Hz), 7.99-8.02 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.8$ Hz), 8.25-8.26 (ddd, 1H, Pyr-C₆, $J = 0.7, 2.1, 5.1$ Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ : 14.69 (CH₃-CH₂-O), 28.78 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.78 (O-CH₂-CH₃), 62.50 (CH₂-N), 65.31 (CH₂-O), 111.23 (Pyr-C₃), 114.89 (Ph-C_{2/6}), 117.54 (Pyr-C₅), 122.57 (Pyr-C₄), 131.66 (Ph-C₄), 139.63 (Pyr-C₆), 147.34 (Ph-C_{3/5}), 162.28 (Pyr-C₂), 163.58 (Ph-C₁), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 302.8$ [M+H]⁺. **C₁₇H₁₉NO₄, [301.34 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 68.04 (67.76) [0.28]; H 6.57 (6.36) [0.21]; N 4.32 (4.65) [0.33].

Charakterisierung von 4-(3-(2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoessäure (135a)

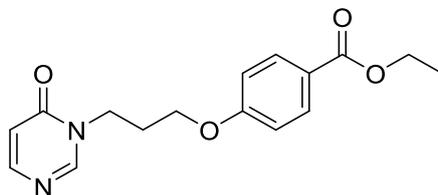


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 2.17-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.3$ Hz), 4.19-4.21 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.3$ Hz), 4.39-4.42 (t, 2H, CH₂-N, $J = 6.3$ Hz), 6.81-6.83 (d, 1H, Pyr-C₃, $J = 8.2$ Hz), 6.95-6.98 (ddd, 1H, Pyr-C₅, $J = 0.6, 5.1, 7.3$ Hz), 7.02-7.05 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.9$ Hz), 7.68-7.72 (ddd, 1H, Pyr-C₄, $J = 2.0, 7.3, 8.2$ Hz), 7.87-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.9$ Hz), 8.14-8.16 (ddd, 1H, Pyr-C₆, $J = 0.6, 2.0, 5.1$ Hz), 12.64 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ : 28.79 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.51 (CH₂-N), 65.23 (CH₂-O), 111.23 (Pyr-C₃), 114.72 (Ph-C_{2/6}), 117.54 (Pyr-C₅), 123.43 (Pyr-C₄), 131.83 (Ph-

5. Experimenteller Teil

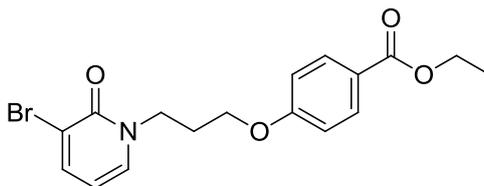
$C_{3/5}$), 139.64 (Ph- C_4), 147.34 (Pyr- C_6), 162.58 (Pyr- C_2), 163.58 (Ph- C_1), 167.46 (COOH). **MS (ESI+):** $m/z = 273.9$ $[M+H]^+$. **$C_{15}H_{15}NO_4$, [273.28 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.69 (65.92) [0.23]; H 5.51 (5.53) [0.02]; N 4.85 (5.13) [0.28].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(6-oxopyrimidin-1(6H)-yl)propoxy)benzoat (136)



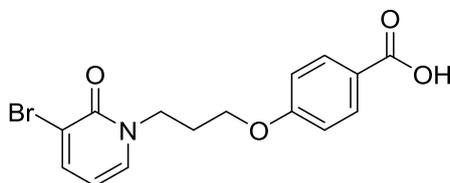
1H -NMR (500 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.29-1.32 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 7.4$ Hz), 2.20-2.37 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.3$ Hz), 4.19-4.22 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.3$ Hz), 4.25-4.29 (q, 2H, $O-CH_2-CH_3$, $J = 7.4$ Hz), 4.49-4.52 (t, 2H, CH_2-N , $J = 6.3$ Hz), 6.96-6.97 (dd, 1H, Pyr- C_5 , $J = 1.0, 5.8$ Hz), 7.04-7.07 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz), 7.89-7.92 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.9$ Hz), 8.51-8.51 (d, 1H, Pyr- C_6 , $J = 5.8$ Hz), 8.77 (s, 1H, Pyr- C_2). **^{13}C -NMR (126 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 14.70 (CH_3-CH_2-O), 28.47 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 60.80 ($O-CH_2-CH_3$), 63.46 (CH_2N), 65.12 (CH_2-O), 108.98 (Pyr- C_5), 114.89 (Ph- $C_{2/6}$), 122.62 (Ph- $C_{3/5}$), 131.66 (Ph- C_4), 158.19 (Pyr- C_4), 158.70 (Pyr- C_6), 162.75 (Ph- C_1), 165.36 (COOEt), 168.83 (Pyr- C_2). **MS (ESI+):** $m/z = 303.60$ $[M+H]^+$. **$C_{16}H_{18}N_2O_4$, [302.33 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 63.45 (63.30) [0.26]; H 5.99 (6.00) [0.01]; N 9.21 (9.27) [0.06].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-brom-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (137)



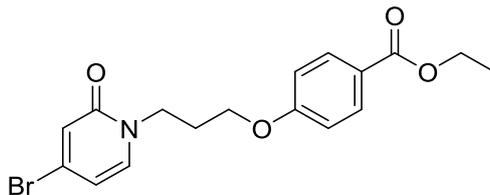
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 1.29-1.32 (t, 3H, CH_3-CH_2-O , $J = 6.4$ Hz), 2.20-2.25 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.3$ Hz), 4.22-4.29 (m, 4H, $O-CH_2-CH_3 + O-CH_2$), 4.47-4.50 (t, 2H, $N-CH_2$, $J = 5.6$ Hz), 6.92-6.97 (dd, 1H, Pyr- C_5 , $J = 4.9, 7.6$ Hz), 7.03-7.07 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.9$ Hz), 7.88-7.91 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.9$ Hz), 8.01-8.04 (dd, 1H, Pyr- C_4 , $J = 1.5, 7.6$ Hz), 8.14-8.15 (dd, 1H, Pyr- C_6 , $J = 1.5, 4.9$ Hz). **^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 14.16 (CH_3-CH_2-O), 28.12 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 60.24 ($O-CH_2-CH_3$), 63.28 (CH_2-N), 64.68 (CH_2-O), 106.20 (Pyr- C_5), 114.36 (Ph- $C_{2/6}$), 118.52 (Pyr- C_4), 122.13 (Ph- C_4), 131.13 (Ph- $C_{3/5}$), 142.08 (Pyr- C_6), 145.80 (Pyr- C_3), 158.82 (Pyr- C_2), 162.26 (Ph- C_1), 165.32 (COOEt). **MS (ESI+):** $m/z = 382.3$ $[M+H]^+$. **$C_{17}H_{18}BrNO_4$, [380.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 53.57 (53.70) [0.23]; H 4.71 (4.77) [0.06]; N 3.58 (3.68) [0.10].

Charakterisierung von 4-(3-(3-brom-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (137a)



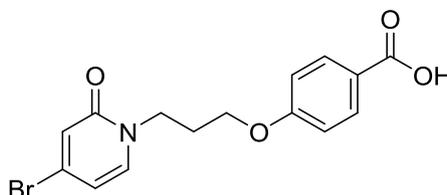
1H -NMR (250 MHz, $(CD_3)_2SO$) δ : 2.17-2.27 (quin, 2H, $CH_2-CH_2-CH_2$, $J = 6.2$ Hz), 4.20-4.25 (t, 2H, $O-CH_2$, $J = 6.0$ Hz), 4.46-4.51 (t, 2H, $N-CH_2$, $J = 6.2$ Hz), 6.93-6.98 (dd, 1H, Pyr- C_5 , $J = 4.8, 7.8$ Hz), 7.02-7.05 (d, 2H, Ph- $C_{2/6}$, $J = 8.8$ Hz), 7.87-7.90 (d, 2H, Ph- $C_{3/5}$, $J = 8.8$ Hz), 8.02-8.05 (dd, 1H, Pyr- C_4 , $J = 1.7, 7.8$ Hz), 8.14-8.17 (dd, 1H, Pyr- C_6 , $J = 1.7, 4.8$ Hz), 12.58 (s, 1H, COOH). **^{13}C -NMR (63 MHz, $(CD_3)_2SO$)** δ : 28.16 ($CH_2-CH_2-CH_2$), 63.32 (CH_2-N), 64.63 (CH_2-O), 106.23 (Pyr- C_5), 114.21 (Ph- $C_{2/6}$), 118.54 (Pyr- C_4), 123.03 (Ph- C_4), 131.32 (Ph- $C_{3/5}$), 142.10 (Pyr- C_6), 145.83 (Pyr- C_3), 158.86 (Pyr- C_2), 162.04 (Ph- C_1), 166.92 (COOH). **MS (ESI-):** $m/z = 350.5$ $[M-H]^-$. **$C_{15}H_{14}BrNO_4$, [352.18 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 50.84 (51.16) [0.32]; H 3.96 (4.01) [0.05]; N 3.82 (3.98) [0.16].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(4-brom-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (138)



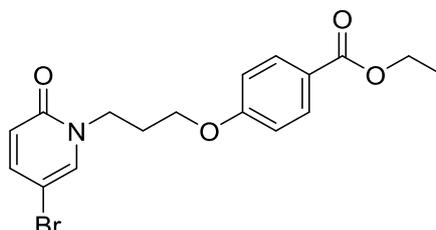
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.28-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 6.2 Hz), 2.15-2.25 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.18-4.32 (m, 4H, O-CH₂-CH₃ + O-CH₂), 4.41-4.46 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 7.04-7.08 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.14 (ds, 1H, Pyr-C₃, *J* = 1.4 Hz), 7.22-7.24 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 1.4, 5.6 Hz), 7.89-7.93 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 8.06-8.08 (d, 1H, Pyr-C₆, *J* = 5.6 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 28.18 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.27 (O-CH₂-CH₃), 62.86 (CH₂-N), 64.72 (CH₂-O), 113.55 (Pyr-C₅), 114.41 (Ph-C_{2/6}), 120.29 (Pyr-C₃), 122.15 (Ph-C₄), 131.14 (Ph-C_{3/5}), 133.44 (Pyr-C₆), 148.04 (Pyr-C₂), 162.30 (Ph-C₁), 163.90 (Pyr-C₄), 165.36 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 382.3 [M+H]⁺. **C₁₇H₁₈BrNO₄, [380.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 53.35 (53.70) [0.35]; H 4.75 (4.77) [0.02]; N 3.62 (3.68) [0.06].

Charakterisierung von 4-(3-(4-brom-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (138a)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.14-2.24 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.18-4.22 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.41-4.46 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 7.02-7.05 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.15 (ds, 1H, Pyr-C₃, *J* = 1.4 Hz), 7.22-7.25 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 1.4, 5.6 Hz), 7.87-7.91 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 8.06-8.09 (d, 1H, Pyr-C₆, *J* = 5.6 Hz), 12.58 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.16 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.85 (CH₂-N), 64.61 (CH₂-O), 113.53 (Pyr-C₅), 114.21 (Ph-C_{2/6}), 120.29 (Pyr-C₃), 122.96 (Ph-C₄), 131.28 (Ph-C_{3/5}), 133.42 (Pyr-C₆), 148.01 (Pyr-C₂), 162.03 (Ph-C₁), 163.88 (Pyr-C₄), 166.90 (COOH). **MS (ESI+):** *m/z* = 352.3 [M+H]⁺. **C₁₅H₁₄BrNO₄, [352.18 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 50.87 (51.16) [0.29]; H 3.73 (4.01) [0.28]; N 3.86 (3.98) [0.12].

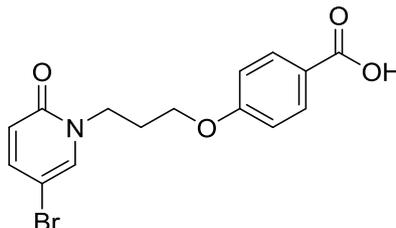
Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(5-brom-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (139)



¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.3 Hz), 2.16-2.25 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.19-4.23 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.25-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.3 Hz), 4.39-4.43 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 6.84-6.87 (d, 1H, Pyr-C₃, *J* = 8.9 Hz), 7.05-7.08 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.88-7.92 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Pyr-C₄), 8.27 (ds, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.3 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.18 (CH₃-CH₂-O), 28.18 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.26 (O-CH₂-CH₃), 62.75 (CH₂-N), 64.76 (CH₂-O), 111.40 (Pyr-C₃), 112.92 (Pyr-C₄), 114.40 (Ph-C_{2/6}), 122.15 (Ph-C₄), 131.14 (Ph-C_{3/5}), 141.60 (Pyr-C₅), 147.16 (Pyr-C₆), 162.18 (Ph-C₁), 162.29 (Pyr-C₂), 165.35 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 382.4 [M+H]⁺. **C₁₇H₁₈BrNO₄, [380.23 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 53.51 (53.70) [0.19]; H 4.65 (4.77) [0.07]; N 3.54 (3.68) [0.14].

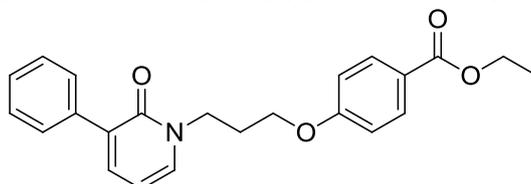
5. Experimenteller Teil

Charakterisierung von 4-(3-(5-brom-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (139a)



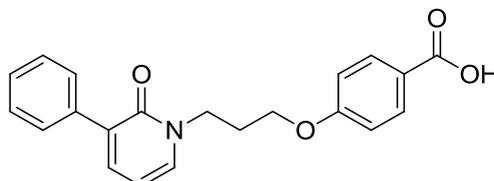
¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.26-2.34 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 7.3 Hz), 4.28-4.32 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.49-4.53 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 6.93-6.96 (d, 1H, Pyr-C₃, *J* = 8.9 Hz), 7.12-7.15 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.97-8.00 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Pyr-C₄), 8.38 (ds, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.3 Hz), 12.71 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.19 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.77 (CH₂-N), 64.68 (CH₂-O), 111.40 (Pyr-C₃), 112.92 (Pyr-C₄), 114.24 (Ph-C_{2/6}), 122.99 (Ph-C₄), 131.31 (Ph-C_{3/5}), 141.61 (Pyr-C₅), 147.17 (Pyr-C₆), 162.05 (Ph-C₁), 162.19 (Pyr-C₂), 166.90 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* = 352.3 [M+H]⁺. **C₁₅H₁₄BrNO₄, [352.18 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 50.87 (51.16) [0.29]; H 3.88 (4.01) [0.13]; N 3.90 (3.98) [0.08].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(2-oxo-3-phenylpyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (156)

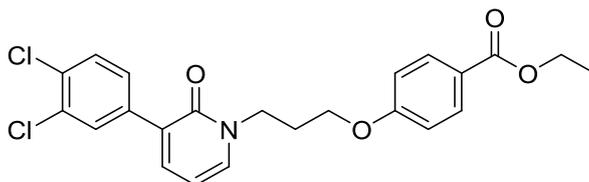


¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.30-1.33 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.0 Hz), 2.15-2.21 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.16-4.20 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.26-4.31 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.0), 4.47-4.50 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 7.00-7.04 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.09-7.12 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.9, 7.4 Hz), 7.34-7.43 (m, 3H, Ph'-C_{3/5} + Ph'-C₄), 7.55-7.58 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 7.8 Hz), 7.75-7.77 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.9, 7.4 Hz), 7.88-7.92 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.8 Hz), 8.16-8.18 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.9, 4.90 Hz). **¹³C-NMR (101 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.20 (CH₃-CH₂-O), 28.14 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.28 (O-CH₂-CH₃), 62.28 (CH₂-N), 64.94 (CH₂-O), 114.38 (Ph-C_{2/6}), 117.56 (Pyr-C₅), 122.10 (Pyr-C₄), 123.69 (Pyr-C₃), 127.44 (Ph'-C₄), 128.15 (Ph'-C_{2/6}), 128.94 (Ph'-C₁), 131.16 (Ph'-C_{3/5}), 136.21 (Ph-C₄), 138.88 (Pyr-C₂), 145.79 (Pyr-C₆), 159.68 (Ph-C_{3/5}), 162.32 (Ph-C₁), 165.36 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* 379.0 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₃NO₄, [377.43 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 73.37 (73.19) [0.18]; H 6.44 (6.14) [0.30]; N 3.47 (3.71) [0.24].

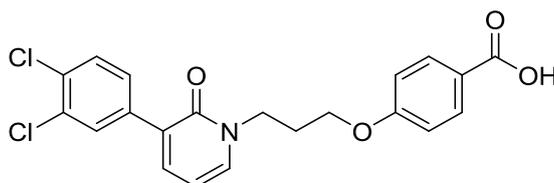
Charakterisierung von 4-(3-(2-oxo-3-phenylpyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (156a)



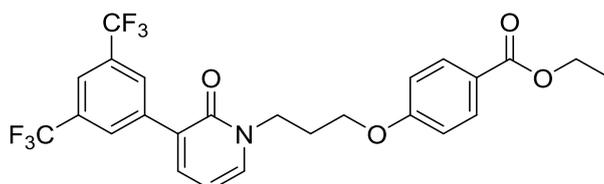
¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.10-2.20 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.6 Hz), 4.12-4.17 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.6 Hz), 4.42-4.47 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.6 Hz), 6.95-6.98 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9.1 Hz), 7.05-7.10 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.9, 7.4 Hz), 7.32-7.42 (m, 3H, Ph'-C_{3/5} + Ph'-C₄), 7.51-7.55 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 7.8 Hz), 7.71-7.75 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.7, 7.4 Hz), 7.83-7.87 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 9.1 Hz), 8.13-8.15 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.7, 4.9 Hz), 12.41 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.61 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.77 (CH₂-N), 65.33 (CH₂-O), 114.64 (Ph-C_{2/6}), 118.09 (Pyr-C₅), 123.39 (Pyr-C₄), 124.18 (Pyr-C₃), 127.96 (Ph'-C₄), 128.65 (Ph'-C_{2/6}), 129.44 (Ph'-C₁), 131.84 (Ph'-C_{3/5}), 136.69 (Ph-C₄), 139.40 (Pyr-C₂), 146.27 (Pyr-C₆), 160.16 (Ph-C_{3/5}), 162.57 (Ph-C₁), 167.46 (COOH). **MS (ESI⁺):** *m/z* 350.06 [M+H]⁺. **C₂₁H₁₉NO₄, [349.38 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.93 (72.19) [0.26]; H 5.37 (5.48) [0.11]; N 3.78 (4.01) [0.23].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-(3,4-dichlorphenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (157)


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.32 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.16-2.21 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.16-4.19 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.25-4.29 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.48-4.50 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 6.98-7.01 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.10-7.13 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.9, 7.4 Hz), 7.56-7.58 (d, 1H, Pyr-C₄, *J* = 2.2, 8.3 Hz), 7.65-7.66 (d, 1H, Ph'-C₆, *J* = 8.3 Hz), 7.83-7.85 (dd, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 2.2, 7.4 Hz), 7.87-7.90 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 8.20-8.21 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.2, 4.9 Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.58 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.78 (O-CH₂-CH₃), 63.06 (CH₂-N), 65.46 (CH₂-O), 114.82 (Ph-C_{2/6}), 118.13 (Pyr-C₅), 121.62 (Pyr-C₄), 122.58 (Ph'-C_{2/6}), 129.74 (Ph'-C₅), 130.65 (Ph'-C₁), 130.79 (Pyr-C₃), 131.29 (Ph'-C₄), 131.36 (Ph'-C₃), 137.25 (Ph-C₄), 139.58 (Pyr-C₂), 147.23 (Pyr-C₆), 159.95 (Ph-C_{3/5}), 162.77 (Ph-C₁), 165.84 (COOEt). **MS (ESI⁺):** *m/z* 445.95 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₁Cl₂NO₄, [446.32 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 61.94 (61.80) [0.05]; H 5.00 (4.74) [0.26]; N 2.85 (3.14) [0.29].

Charakterisierung von 4-(3-(3-(3,4-dichlorphenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (157a)


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.16-2.21 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.16-4.18 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.48-4.50 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 6.96-6.99 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9.0 Hz), 7.11-7.13 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.5, 7.5 Hz), 7.56-7.58 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 2.3, 8.3 Hz), 7.65-7.67 (d, 1H, Ph'-C₆, *J* = 8.3 Hz), 7.83-7.88 (m, 4H, Ph'-C_{3/5} + Ph-C_{3/5}), 8.20-8.21 (d, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.9, 4.5 Hz), 12.62 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.61 (CH₂-CH₂-CH₂), 63.09 (CH₂-N), 65.39 (CH₂-O), 114.67 (Ph-C_{2/6}), 118.14 (Pyr-C₅), 121.62 (Pyr-C₄), 123.43 (Ph'-C_{2/6}), 129.76 (Ph'-C₅), 130.66 (Ph'-C₁), 130.80 (Pyr-C₃), 131.30 (Ph'-C₄), 131.37 (Ph'-C₃), 137.27 (Ph-C₄), 139.59 (Pyr-C₂), 147.24 (Pyr-C₆), 159.96 (Ph-C_{3/5}), 162.54 (Ph-C₁), 167.45 (COOH). **MS (ESI⁻):** *m/z* 417.95 [M-H]⁻. **C₂₁H₁₇Cl₂NO₄, [418.27 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 60.28 (60.30) [0.02]; H 4.40 (4.10) [0.30]; N 3.01 (3.35) [0.34].

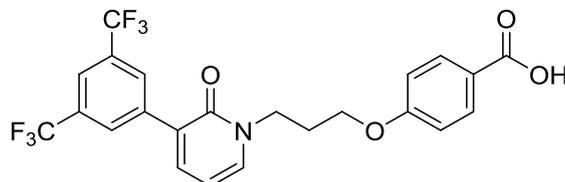
Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (158)


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29-1.32 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.1 Hz), 2.15-2.20 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.15-4.18 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 4.25-4.29 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.1 Hz), 4.49-4.52 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.2 Hz), 6.94-6.96 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.16-7.18 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.8, 7.5 Hz), 7.84-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 8.00-8.02 (d, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.9, 7.5 Hz), 8.09 (s, 1H, Ph'-C₄), 8.26-8.28 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.9, 4.8 Hz), 8.29 (s, 2H, Ph'-C_{2/6}). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.67 (CH₃-CH₂-O), 28.62 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.77 (O-CH₂-CH₃), 63.29 (CH₂-N), 65.40 (CH₂-O), 114.70 (Ph-C_{2/6}), 118.24 (Pyr-C₅), 120.98 (Pyr-C₄), 122.54 (Ph'-C_{2/6}), 130.26 (Ph'-C₄),

5. Experimenteller Teil

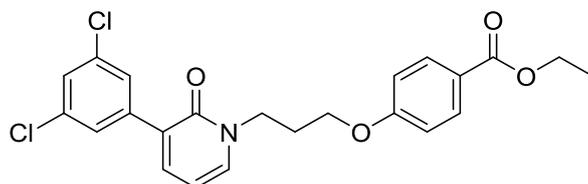
130.52 (Ph'-C₁), 130.79 (Pyr-C₃), 131.53 (Ph'-C_{3/5}), 139.14 (Ph-C₄), 140.10 (Pyr-C₂), 147.92 (Pyr-C₆), 160.00 (Ph-C_{3/5}), 162.71 (Ph-C₁), 165.82 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* 514.05 [M+H]⁺. **C₂₅H₂₁F₆NO₄, [513.43 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 58.37 (58.48) [0.11]; H 4.34 (4.12) [0.22]; N 2.36 (2.73) [0.37].

Charakterisierung von 4-(3-(3-(3,5-bis(trifluormethyl)phenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (158a)



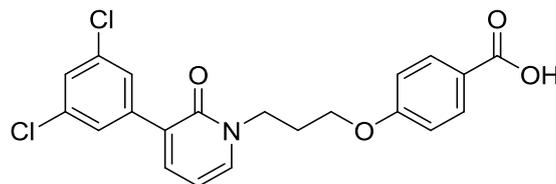
¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.15-2.19 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.14-4.17 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.49-4.52 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 6.91-6.94 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9.1 Hz), 7.16-7.18 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.2, 7.4 Hz), 7.82-7.85 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 9.1 Hz), 8.00-8.01 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.9, 7.4 Hz), 8.09 (s, 1H, Ph'-C₄), 8.26-8.27 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.9, 4.2 Hz), 8.29 (s, 2H, Ph'-C_{2/6}), 12.62 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.65 (CH₂-CH₂-CH₂), 63.31 (CH₂-N), 65.33 (CH₂-O), 114.54 (Ph-C_{2/6}), 118.24 (Pyr-C₅), 120.99 (Pyr-C₄), 121.58 (CF₃), 122.72 (CF₃), 123.43 (Ph'-C_{2/6}), 130.30 (Ph'-C₄), 130.54 (Ph'-C_{3/5}), 130.80 (Pyr-C₃), 131.72 (Ph-C_{3/5}), 139.15 (Ph-C₄), 140.11 (Ph'-C₁), 147.93 (Pyr-C₆), 160.01 (Pyr-C₂), 162.48 (Ph-C₁), 167.44 (COOH). **MS (ESI-):** *m/z* 484.9 [M-H]⁻. **C₂₃H₁₇F₆NO₄, [485.38 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 56.77 (56.91) [0.14]; H 3.74 (3.53) [0.21]; N 2.61 (2.89) [0.28].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-(3,5-dichlorphenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (159)



¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.27-1.33 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.2 Hz), 2.13-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.16-4.51 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.21-4.28 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 4.46-4.51 (t, 2H, CH₂-N, *J* = 6.4 Hz), 6.98-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.09-7.14 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.9, 7.4 Hz), 7.57-7.58 (s, 1H, Ph'-C₄), 7.59 (s, 2H, Ph'-C_{2/6}), 7.84-7.89 (m, 3H, Ph-C_{3/5} + Pyr-C₄), 8.20-8.23 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.7, 4.9 Hz). **¹³C-NMR (63 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (CH₃-CH₂-O), 28.15 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.26 (O-CH₂-CH₃), 62.61 (CH₂-N), 64.54 (CH₂-O), 114.34 (Ph-C_{2/6}), 117.61 (Pyr-C₅), 120.85 (Pyr-C₄), 122.14 (Pyr-C₃), 126.94 (Ph'-C₁), 127.65 (Ph'-C₄), 131.09 (Ph-C₄), 133.81 (Ph'-C_{2/6}), 139.24 (Pyr-C₆), 139.62 (Ph'-C_{3/5}), 147.01 (Pyr-C₂), 159.43 (Ph-C_{3/5}), 162.27 (Ph-C₁), 165.35 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* = 446.4 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₁Cl₂NO₄, [446.32 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 61.51 (61.89) [0.38]; H 4.74 (4.74) [0.00]; N 3.00 (3.14) [0.14].

Charakterisierung von 4-(3-(3-(3,5-dichlorphenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (159a)

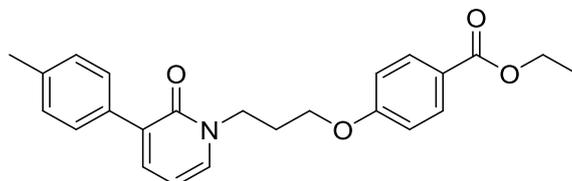


¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.15-2.19 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 7.3 Hz), 4.15-4.19 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.47-4.51 (t, 2H, CH₂-N, *J* = 6.3 Hz), 6.96-6.99 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.8 Hz), 7.09-7.13 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.8, 7.3 Hz), 7.57-7.63 (m, 3H, Ph'-C₄ + Ph'-C_{2/6}), 7.84-7.87 (m, 3H, Ph-C_{3/5} +

5. Experimenteller Teil

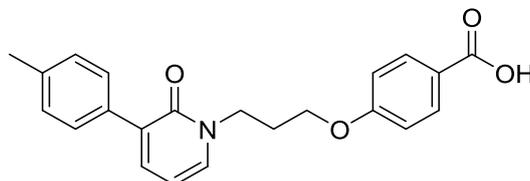
Pyr-C₄), 8.20-8.22 (dd, 1H, Pyr-C₆, $J = 1.6, 4.8$ Hz), 12.60 (s, 1H, COOH). ¹³C-NMR (75 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 28.13 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.60 (CH₂-N), 64.90 (CH₂-O), 114.14 (Ph-C_{2/6}), 117.59 (Pyr-C₅), 120.83 (Pyr-C₄), 122.95 (Pyr-C₃), 126.94 (Ph'-C₁), 127.64 (Ph'-C₄), 131.26 (Ph-C₄), 133.79 (Ph'-C_{2/6}), 139.23 (Pyr-C₆), 139.59 (Ph'-C_{3/5}), 146.99 (Pyr-C₂), 159.40 (Ph-C_{3/5}), 162.00 (Ph-C₁), 166.92 (COOH). MS (ESI-): $m/z = 416.1$ [M-H]⁻. C₂₁H₁₇Cl₂NO₄, [418.27 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 60.48 (60.30) [0.18]; H 4.10 (4.10) [0.00]; N 3.17 (3.35) [0.18].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(2-oxo-3-(p-tolyl)pyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (160)



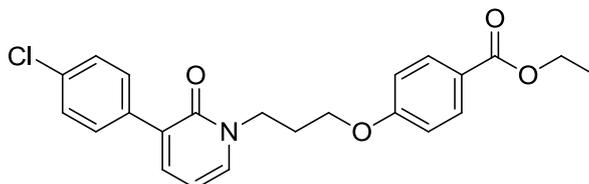
¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 1.30-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 7.6$ Hz), 2.15-2.21 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.1$ Hz), 2.34 (s, 3H, Ph'-CH₃), 4.17-4.20 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.1$ Hz), 4.26-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 7.6$ Hz), 4.46-4.49 (t, 2H, N-CH₂, $J = 6.1$ Hz), 7.01-7.03 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.5$ Hz), 7.07-7.10 (t, 1H, Pyr-C₅, $J = 6.1$ Hz), 7.21-7.23 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, $J = 7.8$ Hz), 7.45-7.47 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, $J = 7.8$ Hz), 7.72-7.74 (d, 1H, Pyr-C₄, $J = 6.9$ Hz), 7.89-7.91 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.5$ Hz), 8.14-8.15 (d, 1H, Pyr-C₅, $J = 5.0$ Hz). ¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 14.70 (CH₃-CH₂-O), 21.21 (Ph'-CH₃), 28.61 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.79 (O-CH₂-CH₃), 62.72 (CH₂-N), 65.43 (CH₂-O), 114.82 (Ph-C_{2/6} + Pyr-C₃), 118.02 (Pyr-C₅), 122.56 (Pyr-C₄), 124.16 (Ph'-C₄), 129.26 (Ph'-C_{2/6}), 130.16 (Ph'-C₁), 133.75 (Ph'-C_{3/5}), 137.24 (Ph-C₄), 139.13 (Pyr-C₂), 145.96 (Pyr-C₆), 160.17 (Ph-C_{3/5}), 162.80 (Ph-C₁), 165.84 (COOEt). MS (ESI+): m/z 392.05 [M+H]⁺. C₂₄H₂₅NO₄, [391.46 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 73.80 (73.64) [0.16]; H 6.81 (6.44) [0.37]; N 3.20 (3.58) [0.38].

Charakterisierung von 4-(3-(2-oxo-3-(p-tolyl)pyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (160a)



¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 2.14-2.19 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.5$ Hz), 2.33 (s, 3H, Ph'-CH₃), 4.15-4.18 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.5$ Hz), 4.44-4.47 (t, 2H, N-CH₂, $J = 6.2$ Hz), 6.97-7.00 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, $J = 8.9$ Hz), 7.06-7.09 (dd, 1H, Pyr-C₅, $J = 5.0, 7.4$ Hz), 7.20-7.21 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, $J = 8.0$ Hz), 7.44-7.45 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, $J = 8.0$ Hz), 7.71-7.73 (dd, 1H, Pyr-C₄, $J = 2.0, 7.4$ Hz), 7.86-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, $J = 8.9$ Hz), 8.13-8.14 (dd, 1H, Pyr-C₅, $J = 2.0, 5.0$ Hz), 12.64 (s, 1H, COOH). ¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 21.21 (Ph'-CH₃), 28.62 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.73 (CH₂-N), 65.35 (CH₂-O), 114.67 (Ph-C_{2/6}), 118.03 (Pyr-C₅), 123.41 (Pyr-C₄), 124.16 (Ph'-C₄), 129.26 (Ph'-C_{2/6}), 129.30 (Ph'-C_{3/5}), 131.82 (Ph-C_{3/5}), 133.74 (Ph'-C₁), 137.25 (Ph-C₄), 139.13 (Pyr-C₂), 145.98 (Pyr-C₃), 160.19 (Pyr-C₆), 162.57 (Ph-C₁), 167.46 (COOH). MS (ESI-): m/z 362.6 [M-H]⁻. C₂₂H₂₁NO₄, [363.41 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]: C 72.63 (72.71) [0.08]; H 5.94 (5.82) [0.12]; N 3.55 (3.85) [0.30].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-(4-chlorphenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (161)

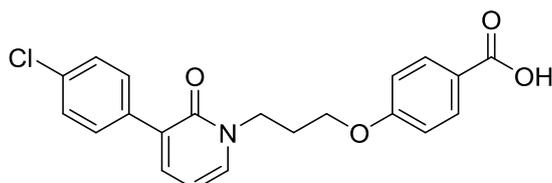


¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ : 1.30-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, $J = 6.9$ Hz), 2.15-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, $J = 6.3$ Hz), 4.16-4.19 (t, 2H, O-CH₂, $J = 6.3$ Hz), 4.26-4.31 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, $J = 6.9$ Hz),

5. Experimenteller Teil

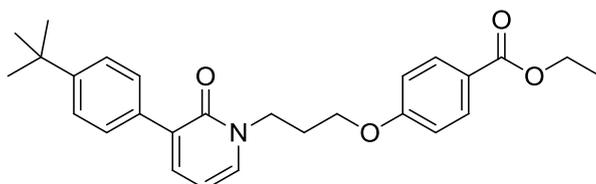
4.47-4.50 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 7.00-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.10-7.13 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.9, 7.4 Hz), 7.45-7.47 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.4 Hz), 7.59-7.61 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 8.4 Hz), 7.77-7.79 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.6, 7.4 Hz), 7.89-7.92 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 8.17-8.20 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.6, 4.9 Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.69 (CH₃-CH₂-O), 28.57 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.80 (O-CH₂-CH₃), 62.92 (CH₂-N), 65.43 (CH₂-O), 114.84 (Ph-C_{2/6}), 118.12 (Pyr-C₅), 122.57 (Pyr-C₄), 122.90 (Ph'-C₄), 128.67 (Ph'-C_{2/6}), 131.26 (Ph'-C₁), 131.66 (Pyr-C₃), 132.73 (Ph'-C_{3/5}), 135.49 (Ph-C₄), 139.39 (Pyr-C₂), 146.70 (Pyr-C₆), 160.05 (Ph-C_{3/5}), 162.80 (Ph-C₁), 165.86 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* 412.8 [M+H]⁺. **C₂₃H₂₂ClNO₄, [411.88 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 67.35 (67.07) [0.28]; H 5.70 (5.39) [0.32]; N 3.14 (3.40) [0.26].

Charakterisierung von 4-(3-(3-(4-chlorphenyl)-2-oxopyridin-1(2H-yl)propoxy)benzoesäure (161a)

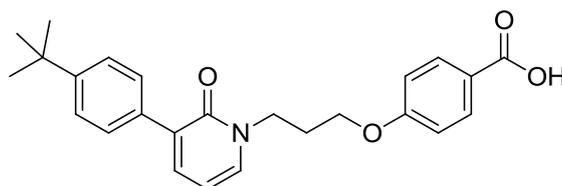


¹H-NMR (250 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.10-2.20 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.11-4.16 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.43-4.48 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 6.94-6.98 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.06-7.10 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.3, 7.3 Hz), 7.41-7.45 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.4 Hz), 7.55-7.58 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 8.4 Hz), 7.73-7.77 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 1.9, 7.3 Hz), 7.84-7.87 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.9 Hz), 8.14-8.17 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.9, 4.3 Hz), 12.38 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.59 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.94 (CH₂-N), 65.35 (CH₂-O), 114.68 (Ph-C_{2/6}), 118.12 (Pyr-C₅), 122.90 (Pyr-C₄), 123.41 (Ph'-C₄), 128.67 (Ph'-C_{2/6}), 131.27 (Ph'-C₁), 131.84 (Pyr-C₃), 132.74 (Ph'-C_{3/5}), 135.49 (Ph-C₄), 139.39 (Pyr-C₂), 146.70 (Pyr-C₆), 160.04 (Ph-C_{3/5}), 162.55 (Ph-C₁), 167.46 (COOH). **MS (ESI+):** *m/z* 383.82 [M+H]⁺. **C₂₁H₁₈ClNO₄, [383.83 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.74 (65.71) [0.03]; H 5.04 (4.73) [0.31]; N 3.32 (3.65) [0.33].

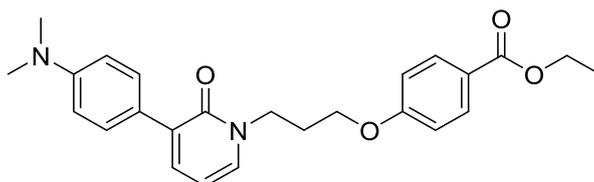
Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-(4-(tert-butyl)phenyl)-2-oxopyridin-1(2H-yl)propoxy)benzoat (162)



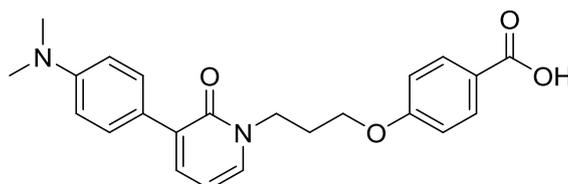
¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.30-1.34 (m, 12H, CH₃-CH₂-O + (CH₃)₃C-), 2.16-2.23 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.19-4.22 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.26-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 7.2 Hz), 4.48-4.51 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 7.02-7.04 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.5 Hz), 7.08-7.11 (dd, 1H, Pyr-C₅, *J* = 4.8, 7.2 Hz), 7.37-7.39 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 8.2 Hz), 7.49-7.51 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.2 Hz), 7.74-7.76 (dd, 1H, Pyr-C₄, 1.3, 7.2 Hz), 7.90-7.92 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.5 Hz), 8.14-8.16 (d, 1H, Pyr-C₆, *J* = 1.3, 4.8 Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.55 (CH₂-CH₂-CH₂), 31.51 ((CH₃)₃C), 34.71 ((CH₃)₃C), 60.77 (O-CH₂-CH₃), 62.64 (CH₂-N), 65.49 (CH₂-O), 114.89 (Ph-C_{2/6}), 118.07 (Pyr-C₅), 122.55 (Pyr-C₄), 124.03 (Ph'-C₄), 125.40 (Ph'-C₁ + Ph-C₄), 129.09 (Ph'-C_{2/6}), 131.64 (Pyr-C₃), 133.73 (Ph'-C_{3/5}), 139.21 (Pyr-C₂), 145.98 (Pyr-C₆), 150.34 (Ph-C_{3/5}), 162.88 (Ph-C₁), 165.83 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* 434.20 [M+H]⁺. **C₂₇H₃₁NO₄, [433.54 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 74.97 (74.80) [0.17]; H 7.21 (7.21) [0.00]; N 3.01 (3.23) [0.22].

Charakterisierung von 4-(3-(3-(4-(tert-butyl)phenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (162a)


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.29 (s, 9H, (CH₃)₃C-), 2.15-2.21 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.17-4.20 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 4.47-4.49 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 6.98-7.00 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 8.9 Hz), 7.07-7.09 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 2.0, 7.4 Hz), 7.37-7.39 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 8.5 Hz), 7.48-7.50 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.5 Hz), 7.73-7.75 (dd, 1H, Pyr-C₄, *J* = 4.8, 7.4 Hz), 7.87-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.5 Hz), 8.13-8.15 (dd, 1H, Pyr-C₆, *J* = 2.0, 4.8 Hz), 12.64 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.59 (CH₂-CH₂-CH₂), 31.53 ((CH₃)₃C), 34.72 ((CH₃)₃C), 62.69 (CH₂-N), 65.40 (CH₂-O), 114.70 (Ph-C_{2/6}), 118.06 (Pyr-C₅), 123.42 (Pyr-C₄), 124.04 (Ph'-C₄), 125.41 (Ph'-C₁), 129.10 (Ph'-C_{3/5}), 131.81 (Ph'-C_{2/6}), 133.73 (Ph-C₄), 139.20 (Ph-C_{3/5}), 145.98 (Pyr-C₃), 150.35 (Pyr-C₆), 160.19 (Pyr-C₂), 162.61 (Ph-C₁), 167.44 (COOH). **MS (ESI-):** *m/z* 404.9 [M-H]⁻. **C₂₅H₂₇NO₄, [405.19 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 74.13 (74.05) [0.08]; H 6.88 (6.71) [0.17]; N 3.05 (3.45) [0.40].

Charakterisierung von Ethyl 4-(3-(3-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoat (163)


¹H-NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.30-1.34 (t, 3H, CH₃-CH₂-O, *J* = 7.5 Hz), 2.16-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.3 Hz), 2.92 (s, 6H, (CH₃)₂N-), 4.20-4.23 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.4 Hz), 4.26-4.32 (q, 2H, O-CH₂-CH₃, *J* = 6.8 Hz), 4.46-4.49 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 5.8 Hz), 6.70-6.72 (d, 2H, Ph'-C_{3/5}, *J* = 8.4 Hz), 7.03-7.05 (m, 3H, Ph-C_{2/6} + Pyr-C₅), 7.42-7.44 (d, 2H, Ph'-C_{2/6}, *J* = 8.4 Hz), 7.68-7.70 (d, 1H, Pyr-C₄, *J* = 7.4 Hz), 7.90-7.92 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 8.4 Hz), 8.06-8.07 (d, 1H, Pyr-C₆, *J* = 4.8 Hz). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.70 (CH₃-CH₂-O), 28.62 (CH₂-CH₂-CH₂), 60.78 (O-CH₂-CH₃), 62.52 (CH₂-N), 65.48 (CH₂-O), 112.32 ((CH₃)₂N-), 114.91 (Ph-C_{2/6}), 118.03 (Pyr-C₅), 122.55 (Pyr-C₄), 123.93 (Ph'-C₄), 124.45 (Ph'-C₁ + Ph-C₄), 130.01 (Ph'-C_{2/6}), 131.65 (Pyr-C₃), 138.17 (Pyr-C₂), 144.76 (Pyr-C₆), 150.09 (Ph'-C_{3/5}), 160.12 (Ph-C_{3/5}), 162.87 (Ph-C₁), 165.85 (COOEt). **MS (ESI+):** *m/z* 421.10 [M+H]⁺. **C₂₅H₂₈N₂O₄, [420.50 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 71.45 (71.41) [0.04]; H 6.86 (6.71) [0.15]; N 6.33 (6.66) [0.33].

Charakterisierung von 4-(3-(3-(4-(dimethylamino)phenyl)-2-oxopyridin-1(2H)-yl)propoxy)benzoesäure (163a)


¹H-NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.15-2.22 (quin, 2H, CH₂-CH₂-CH₂, *J* = 6.1 Hz), 2.96 (s, 6H, (CH₃)₂N), 4.18-4.20 (t, 2H, O-CH₂, *J* = 6.1 Hz), 4.45-4.48 (t, 2H, N-CH₂, *J* = 6.1 Hz), 6.86-6.88 (m, 2H, Ph'-C_{3/5}), 6.99-7.02 (d, 2H, Ph-C_{2/6}, *J* = 9.4 Hz), 7.04-7.06 (t, 1H, Pyr-C₅, *J* = 6.6 Hz), 7.47-7.48 (m, 2H, Ph'-C_{2/6}), 7.69-7.71 (d, 1H, Pyr-C₄, *J* = 6.8 Hz), 7.86-7.89 (d, 2H, Ph-C_{3/5}, *J* = 9.4 Hz), 8.07-8.09 (d, 1H, Pyr-C₆, *J* = 4.5 Hz), 12.59 (s, 1H, COOH). **¹³C-NMR (126 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 28.65 (CH₂-CH₂-CH₂), 62.64 (CH₂-N), 65.41 (CH₂-O), 114.73 (Ph-C_{2/6}), 118.06 (Pyr-C_{4/5}), 123.41 (Ph'-C₄), 124.19 (Ph'-

5. Experimenteller Teil

$C_1 + Ph-C_4$, 130.21 ($Ph'-C_{2/6}$), 131.83 ($Ph-C_{3/5}$) 138.47 ($Pyr-C_{3/6}$), 145.18 ($Ph'-C_{3/5}$), 160.12 ($Ph-C_1$), 162.61 ($Pyr-C_2$), 167.46 ($COOH$). **MS (ESI+):** m/z 393.05 $[M+H]^+$. **$C_{23}H_{24}N_2O_4$, [392.45 g/mol]; $C_{23}H_{24}N_2O_4^*$ 0.8 mol HCl [421.62 g/mol], Elementaranalyse: gemessen (berechnet) [Abweichung]:** C 65.56 (65.52) [0.04]; H 5.84 (5.93) [0.09]; N 6.45 (6.64) [0.19].

6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

5-LO	5-lipoxygenase
ABCA-1	ATP-binding cassette transporter 1
ACC	acetyl-CoA carboxylase
ACN	Acetonitril
AF-1	Ligand-unabhängige Transaktivierungsdomäne (Aktivierungsfunktion 1)
AF-2	Ligand-abhängige Aktivierungsfunktion-2
AOX	AcylCoA oxidase
ApoAI	Apolipoprotein AI
ApoAII	Apolipoprotein AII
ApoC3	Apolipoprotein C3
BSEP	Bile Salt Export Pump
CAR	constitutive androstane receptor
CARM-1	coactivator-associated arginine methyltransferase 1
Cdk5	Cyclin-dependent kinase 5
CCK	Cholecystokinin
CREBP	AMP-response element-binding protein
CYP7A1	Cytochrome p-450 cholesterol 7 α -hydroxylase
CYP8B1	Cytochrome p-450 sterol 12 α -hydroxylase
DR-1	direct repeat -1
DBD	DNA-Bindungsdomäne
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DRIP	Vitamin D receptor interacting protein
ER	everted repeat
FAS	fatty acid synthase
FCS	fetal calf serum
FFS	freien Fettsäuren
FGF 1 19 21	fibroblast growth factor family (1, 19 und 21)
FGFR4	fibroblast growth factor receptor 4
FXR	Farnesoid X Rezeptor
FXR-RE	FXR Response Elemente
GAPDH	Glyzerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
Glut4	glucose transporter type 4
GPR40	G protein-coupled receptor 40
GPCR	G-Protein gekoppelten Rezeptoren
HbA _{1c}	glykosyliertes Hämoglobin
HDL	high density lipoprotein
IBABP	intestinalen BA-binding protein
ICAM-1	intercellular adhesion molecule 1
IR1	inverted repeat 1
JNK	c-Jun N-terminale Kinase

6. Anhang

LBD	Ligand-Bindungsdomäne
LPL	Lipoprotein-Lipase
LFABP	liver fatty acid binding protein
LXR	Liver X receptor
mPGES-1	microsomal prostaglandin synthase-1
NAFLD	non alcoholic fatty liver disease
NASH	non alcoholic steato hepatitis
NTCP	Na ⁺ -taurocholic acid cotransporting polypeptide
NR	nukleären Rezeptoren
NCoR	nuclear receptor co-repressor
NFκB	nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
OATP	organic anion transporting polypeptide
OSTα/β	organic solute transporter
PBP	PPAR binding protein
PBS	phosphate buffered Saline
PGC-1α	peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1α
PGA ₁	Prostaglandin A1
PGD ₂	Prostaglandin D2
PGJ ₂	Prostaglandin J2
PPARs	Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptoren
PPRE	peroxisome proliferator response element
PLPT	Phospholipid-Transferprotein
PS	Penicillin/Streptomycin
RXR	Retinoid X Rezeptor
PXR	Pregnan X Receptor
qPCR	quantitative Polymerase chain reaction
RE	Response Elements
RLU	relative Light Units (relative Lichteinheiten)
SHP	small heterodimer partner
SLUT2A1	Sulfotransferase 2A1
SMRT	silencing mediator for retinoid and thyroid receptor
SP	sodium pyruvate (Natriumpyruvat)
SPA	scintillation proximity assay
SRBP-1c	sterol-regulators-element-binding protein 1c
SRC-1	steroid receptor coactivator 1
TE	Trypsin / EDTA
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
TNF-α	tumor necrosis factor-α (Tumornekrosefaktor α)
TTP	Triphenylphosphin
TZD	Thiazolidindione
UCP-1 / -3	uncouplin protein 1 und 3
UGT2B	UDP-glucuronosyltransferase-2B
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule 1
VDR	Vitamin D receptor
VLDL	very low density lipoprotein
ZNS	zentralen Nervensystem

6.2 Tabellen zur Selektivität der FXR-Liganden über PPAR

#	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10µM			#	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10µM		
	α	γ	δ		α	γ	δ
115	2.3 ± 0.8	9.1 ± 1.5	9.4 ± 4.7	130	5.3 ± 5.6	5.3 ± 2.3	4.5 ± 5.3
115a	6.7 ± 6.6	4.9 ± 1.1	9.4 ± 0.1	130a	n.b.	n.b.	n.b.
116	1.9 ± 0.2	4.9 ± 0.3	11.2 ± 1.2	131	3.6 ± 0.4	11.5 ± 0.4	9.9 ± 5.5
117	3.4 ± 4.0	6.4 ± 2.0	3.4 ± 3.3	131a	33.2 ± 1.7	72.3 ± 10.8	10.9 ± 1.8
121	10.1 ± 1	23.4 ± 0.8	12.4 ± 3.6	132	1.3 ± 0.9	9.3 ± 0.1	4.0 ± 2.4
121a	10.5 ± 0.1	17.8 ± 4.8	7.4 ± 1.9	132a	10.5 ± 4.9	20.1 ± 0.4	3.6 ± 0.8
122	1.8 ± 0.3	9.2 ± 1.2	4.9 ± 3.2	133	2.0 ± 1.1	14.8 ± 9.5	6.5 ± 1.3
122a	2.8 ± 1.4	11.4 ± 6.1	5.6 ± 4.7	133a	3.3 ± 0.8	16.1 ± 7.4	3.7 ± 3.
123	3.2 ± 1.7	31.3 ± 2.3	7.7 ± 4.0	134	8.2 ± 0.7	17.7 ± 6.7	5.6 ± 3.3
123a	n.b.	n.b.	n.b.	134a	49.5 ± 7.2	35.3 ± 2.0	8.8 ± 3.6
124	2.1 ± 0.6	12.9 ± 3.8	3.9 ± 1.0	140	10.1 ± 7.3	20.2 ± 8.4	8.5 ± 5.0
124a	n.b.	n.b.	n.b.	140a	4.5 ± 0.1	6.4 ± 1.0	7.2 ± 4.9
125	15.0 ± 11.9	50.2 ± 6.9	9.3 ± 2.7	141	2.8 ± 0.2	9.1 ± 3.2	3.5 ± 2.6
125a	4.5 ± 0.1	6.8 ± 0.6	7.5 ± 3.8	141a	n.b.	n.b.	n.b.
126	2.5 ± 0.3	35.9 ± 12.2	4.4 ± 1.8	142	2.3 ± 1.4	17.6 ± 14.1	6.3 ± 3.4
126a	3.1 ± 0.2	4.9 ± 0.9	4.8 ± 4.9	142a	2.4 ± 0.6	6.2 ± 3.6	12.6 ± 7.3
127	2.5 ± 1.5	9.8 ± 2.5	3.7 ± 1.9	143	1.9 ± 0.3	5.1 ± 0.3	4.4 ± 2.9
127a	2.6 ± 0.5	10.6 ± 6.5	3.8 ± 1.9	143a	n.b.	n.b.	n.b.
128	4.0 ± 2.5	18.8 ± 8.7	9.2 ± 1.4	129a	n.b.	n.b.	n.b.

Tab. 37: In vitro-Aktivität der Substanzen **115-117, 121-130a, 140-143a** an allen drei PPAR-Subtypen, n.b. = nicht bestimmt, relative Aktivierungen beziehen sich auf die Vollagonisten (100%): PPARα GW7647, PPARγ Pioglitazon, PPARδ L165,041 bei jeweils 1µM.

#	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10µM			#	In vitro-Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10µM		
	α	γ	δ		α	γ	δ
140	10.1 ± 7.3	20.2 ± 8.4	8.5 ± 5.0	135	3.4 ± 0.4	20.6 ± 3.9	2.6 ± 1.1
140a	4.5 ± 0.1	6.4 ± 1.0	7.2 ± 4.9	135a	1.8 ± 0.6	7.9 ± 1.3	1.1 ± 0.0
141	2.8 ± 0.2	9.1 ± 3.2	3.5 ± 2.6	136	2.5 ± 0.7	5.5 ± 0.5	7.9 ± 3.1
141a	n.b.	n.b.	n.b.	136a	n.b.	n.b.	n.b.

6. Anhang

144	1.8 ± 1.1	19.2 ± 11.4	7.7 ± 3.3	137	2.7 ± 0.6	12.5 ± 1.1	4.9 ± 2.3
144a	1.3 ± 0.8	6.5 ± 0.3	4.4 ± 2.4	137a	8.0 ± 7.1	33.5 ± 9.5	8.1 ± 3.9
145	1.6 ± 0.1	9.7 ± 1.9	2.7 ± 1.9	138	2.0 ± 0.3	8.9 ± 0.2	5.9 ± 2.6
145a	n.b.	n.b.	n.b.	138a	4.6 ± 1.5	11.6 ± 1.2	5.6 ± 3.0
146	8.1 ± 3.6	17.1 ± 3.7	12.1 ± 10.7	139	5.2 ± 0.3	11.8 ± 4.0	3.8 ± 2.0
146a	n.b.	n.b.	n.b.	139a	1.5 ± 0.9	4.5 ± 1.3	6.2 ± 3.2

Tab. 38: Vergleich der in vitro Aktivität der Tautomere **135-146a** an den drei PPAR-Subtypen, n.b. = nicht bestimmt, relative Aktivierung bezieht sich auf die Vollagonisten (100%): PPAR α GW7647, PPAR γ Pioglitazon, PPAR δ L165,041 bei jeweils 1 μ M; n.b. = nicht bestimmt.

#	In vitro Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10 μ M			#	In vitro Aktivität PPAR-Subtypen rel. Aktivierung [%] bei 10 μ M		
	α	γ	δ		α	γ	δ
164	2.2 ± 0.4	9.3 ± 0.5	1.5 ± 0.4	156	2.8 ± 2.1	24.7 ± 7.1	20.4 ± 10.2
164a	7.2 ± 5.7	15.0 ± 2.9	4.7 ± 5.7	156a	2.9 ± 2.1	35.5 ± 2.7	8.6 ± 4.0
165	1.0 ± 0.2	3.5 ± 0.7	1.7 ± 0.1	157	1.3 ± 0.2	4.3 ± 0.6	0.9 ± 1.2
165a	2.4 ± 0.8	12.7 ± 0.4	6.1 ± 6.3	157a	36.7 ± 0.3	83.9 ± 13.8	34.9 ± 33.7
166	0.6 ± 0.1	11.2 ± 5.1	20.1 ± 4.5	158	0.7 ± 0.2	9.3 ± 2.4	1.3 ± 0.4
166a	11.0 ± 2.8	28.5 ± 5.1	14.0 ± 3.1	158a	6.1 ± 0.1	79.1 ± 3.3	6.2 ± 6.5
167	1.0 ± 0.1	10.0 ± 3.6	4.3 ± 4.8	159	7.2 ± 4.3	4.4 ± 1.9	4.3 ± 4.7
167a	n.b.	n.b.	n.b.	159a	24.4 ± 1 3.9	28.8 ± 5.9 @ 3	3.0 ± 0.8
168	4.5 ± 0.7	18.0 ± 4.8	3.4 ± 2.2	160	7.5 ± 6.0	79.1 ± 3.3	9.4 ± 8.0
168a	n.b.	n.b.	n.b.	160a	3.3 ± 0.2	33.0 ± 3.2	15.7 ± 5.2
169	4.9 ± 5.3	8.0 ± 0.0	5.9 ± 0.8	161	1.3 ± 0.1	37.6 ± 4.2	13.1 ± 4.2
169a	6.9 ± 6.4	15.7 ± 0.3	4.9 ± 5.9	161a	18.0 ± 6.7	62.8 ± 5.2	26.2 ± 10.7
170	1.6 ± 0.2	13.2 ± 4.8	3.3 ± 2.6	162	1.0 ± 0.1	5.9 ± 2.9	1.1 ± 0.2
170a	3.6 ± 0.7	32.7 ± 0.7	3.1 ± 2.3	162a	3.0 ± 2.6	6.6 ± 1.4	3.0 ± 2.9
171	5.9 ± 7.4	10.5 ± 4.4	17.0 ± 5.7	163	0.8 ± 0.2	5.3 ± 2.1	1.1 ± 0.1
171a	2.8 ± 0.2	55.2 ± 5.2	4.2 ± 4.0	163a	3.2 ± 0.5	26.4 ± 2.9	5.8 ± 2.7
172	1.2 ± 0.2	54.2 ± 12.8	19.8 ± 4.9				
172a	3.5 ± 0.0	190.5 ± 4.4	10.8 ± 1.3				

Tab. 39: Vergleich der in vitro-Aktivität der Tautomere **156-172a** an den PPAR-Subtypen, n.b. = nicht bestimmt, relative Aktivierung bezieht sich auf die Vollagonisten (100%): PPAR α GW7647, PPAR γ Pioglitazon, PPAR δ L165,041 bei jeweils 1 μ M; n.b. = nicht bestimmt.

7. Bibliographie

1. Staudinger, J. L; Goodwin, B; Jones, S. A; Hawkins-Brown, D; MacKenzie, K. I; LaTour, A; Liu, Y; Klaassen, C. D; Brown, K. K; Reinhard, J; Willson, T. M; Koller, B. H; Kliewer, S. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001, 6, 3369.
2. Xie, W; Radominska-Pandya, A; Shi, Y; Simon, C. M; Nelson, M. C; Ong, E. S; Waxman, D. J; Evans, R. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001, 6, 3375.
3. Trauner, M; Baghdasaryan, A; Claudel, T; Fickert, P; Halilbasic, E; Moustafa, T; Zollner, G. *Dig Dis* 2011, 1, 98.
4. Makishima, M; Lu, T. T; Xie, W; Whitfield, G. K; Domoto, H; Evans, R. M; Haussler, M. R; Mangelsdorf, D. J. *Science* 2002, 5571, 1313.
5. Gronemeyer, H; Gustafsson, J.-Å; Laudet, V. *Nat Rev Drug Discov* 2004, 11, 950.
6. Nuclear Receptors Nomenclature Committee. *Cell* 1999, 2, 161.
7. Germain, P; Staels, B; Dacquet, C; Spedding, M; Laudet, V. *Pharmacological Reviews* 2006, 4, 685.
8. Wurtz, J. M; Bourguet, W; Renaud, J. P; Vivat, V; Chambon, P; Moras, D; Gronemeyer, H. *Nat. Struct. Biol.* 1996, 1, 87.
9. Bourguet, W; Germain, P; Gronemeyer, H. *Trends Pharmacol. Sci.* 2000, 10, 381.
10. Benoit, G; Malewicz, M; Perlmann, T. *Trends Cell Biol.* 2004, 7, 369.
11. Sladek, F. M. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2011, 1-2, 3.
12. Kallenberger, B. C; Love, J. D; Chatterjee, V Krishna K; Schwabe, John W R. *Nat. Struct. Biol.* 2003, 2, 136.
13. Moras, D; Gronemeyer, H. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1998, 3, 384.
14. Togashi, M; Borngraeber, S; Sandler, B; Fletterick, R. J; Webb, P; Baxter, J. D. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2005, 2-5, 127.
15. Nagy, L; Schwabe, John W R. *Trends Biochem. Sci.* 2004, 6, 317.
16. Kainuma, M; Makishima, M; Hashimoto, Y; Miyachi, H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2007, 7, 2587.
17. Shang, Y; Hu, X; DiRenzo, J; Lazar, M. A; Brown, M. *Cell* 2000, 6, 843.
18. Issemann, I; Green, S. *Nature* 1990, 6294, 645.
19. Michalik, L; Auwerx, J; Berger, J. P; Chatterjee, V. K; Glass, C. K; Gonzalez, F. J; Grimaldi, P. A; Kadowaki, T; Lazar, M. A; O'Rahilly, S; Palmer, C. N. A; Plutzky, J; Reddy, J. K; Spiegelman, B. M; Staels, B; Wahli, W. *Pharmacological Reviews* 2006, 4, 726.
20. Zoete, V; Grosdidier, A; Michielin, O. *Biochim. Biophys. Acta* 2007, 8, 915.
21. Xu, H. E; Lambert, M. H; Montana, V. G; Parks, D. J; Blanchard, S. G; Brown, P. J; Sternbach, D. D; Lehmann, J. M; Wisely, G. B; Willson, T. M; Kliewer, S. A; Milburn, M. V. *Mol. Cell* 1999, 3, 397.
22. Nolte, R. T; Wisely, G. B; Westin, S; Cobb, J. E; Lambert, M. H; Kurokawa, R; Rosenfeld, M. G; Willson, T. M; Glass, C. K; Milburn, M. V. *Nature* 1998, 6698, 137.
23. Uppenberg, J; Svensson, C; Jaki, M; Bertilsson, G; Jendeberg, L; Berkenstam, A. *J. Biol. Chem.* 1998, 47, 31108.
24. Xu, H. E; Lambert, M. H; Montana, V. G; Plunket, K. D; Moore, L. B; Collins, J. L; Oplinger, J. A; Kliewer, S. A; Gampe, R. T; McKee, D. D; Moore, J. T; Willson, T. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001, 24, 13919.
25. Kliewer, S. A; Umesono, K; Noonan, D. J; Heyman, R. A; Evans, R. M. *Nature* 1992, 6389, 771.

7. Bibliographie

26. Keller, H; Dreyer, C; Medin, J; Mahfoudi, A; Ozato, K; Wahli, W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993, 6, 2160.
27. Gearing, K. L; Göttlicher, M; Teboul, M; Widmark, E; Gustafsson, J. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993, 4, 1440.
28. Feige, J. N; Gelman, L; Tudor, C; Engelborghs, Y; Wahli, W; Desvergne, B. *J. Biol. Chem.* 2005, 18, 17880.
29. Molnár, F; Matilainen, M; Carlberg, C. *J. Biol. Chem.* 2005, 28, 26543.
30. Palmer, C. N; Hsu, M. H; Griffin, H. J; Johnson, E. F. *J. Biol. Chem.* 1995, 27, 16114.
31. Werman, A; Hollenberg, A; Solanes, G; Bjorbaek, C; Vidal-Puig, A. J; Flier, J. S. *J. Biol. Chem.* 1997, 32, 20230.
32. Juge-Aubry, C. E; Hammar, E; Siegrist-Kaiser, C; Pernin, A; Takeshita, A; Chin, W. W; Burger, A. G; Meier, C. A. *J. Biol. Chem.* 1999, 15, 10505.
33. Xu, H. E; Li, Y. *Sci Signal* 2008, 48, pe52.
34. Hörlein, A. J; Näär, A. M; Heinzl, T; Torchia, J; Gloss, B; Kurokawa, R; Ryan, A; Kamei, Y; Söderström, M; Glass, C. K. *Nature* 1995, 6548, 397.
35. Chen, J. D; Evans, R. M. *Nature* 1995, 6548, 454.
36. Mandard, S; Müller, M; Kersten, S. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004, 4, 393.
37. Braissant, O; Fougère, F; Scotto, C; Dauça, M; Wahli, W. *Endocrinology* 1996, 1, 354.
38. Auboeuf, D; Rieusset, J; Fajas, L; Vallier, P; Fréring, V; Riou, J. P; Staels, B; Auwerx, J; Laville, M; Vidal, H. *Diabetes* 1997, 8, 1319.
39. Cahill, G. F. *Annu. Rev. Nutr.* 2006, 1.
40. Schoonjans, K; Peinado-Onsurbe, J; Lefebvre, A. M; Heyman, R. A; Briggs, M; Deeb, S; Staels, B; Auwerx, J. *EMBO J.* 1996, 19, 5336.
41. Staels, B; Vu-Dac, N; Kosykh, V. A; Saladin, R; Fruchart, J. C; Dallongeville, J; Auwerx, J. *J. Clin. Invest.* 1995, 2, 705.
42. Hertz, R; Bishara-Shieban, J; Bar-Tana, J. *J. Biol. Chem.* 1995, 22, 13470.
43. Vu-Dac, N; Schoonjans, K; Kosykh, V; Dallongeville, J; Fruchart, J. C; Staels, B; Auwerx, J. *J. Clin. Invest.* 1995, 2, 741.
44. Staels, B; Dallongeville, J; Auwerx, J; Schoonjans, K; Leitersdorf, E; Fruchart, J. C. *Circulation* 1998, 19, 2088.
45. Shepherd, J. *Drugs* 1994, 1.
46. Dreyer, C; Krey, G; Keller, H; Givel, F; Helftenbein, G; Wahli, W. *Cell* 1992, 5, 879.
47. Tugwood, J. D; Issemann, I; Anderson, R. G; Bundell, K. R; McPheat, W. L; Green, S. *EMBO J.* 1992, 2, 433.
48. Issemann, I; Prince, R; Tugwood, J; Green, S. *Biochem. Soc. Trans.* 1992, 4, 824.
49. Zandbergen, F; Plutzky, J. *Biochim. Biophys. Acta* 2007, 8, 972.
50. Duval, C; Müller, M; Kersten, S. *Biochim. Biophys. Acta* 2007, 8, 961.
51. Fajas, L; Auboeuf, D; Raspé, E; Schoonjans, K; Lefebvre, A. M; Saladin, R; Najib, J; Laville, M; Fruchart, J. C; Deeb, S; Vidal-Puig, A; Flier, J; Briggs, M. R; Staels, B; Vidal, H; Auwerx, J. *J. Biol. Chem.* 1997, 30, 18779.
52. Fajas, L; Fruchart, J. C; Auwerx, J. *FEBS Lett.* 1998, 1-2, 55.
53. Rosen, E. D; Sarraf, P; Troy, A. E; Bradwin, G; Moore, K; Milstone, D. S; Spiegelman, B. M; Mortensen, R. M. *Mol. Cell* 1999, 4, 611.
54. Chawla, A; Schwarz, E. J; Dimaculangan, D. D; Lazar, M. A. *Endocrinology* 1994, 2, 798.
55. Tontonoz, P; Hu, E; Spiegelman, B. M. *Cell* 1994, 7, 1147.

7. Bibliographie

56. Tontonoz, P; Graves, R. A; Budavari, A. I; Erdjument-Bromage, H; Lui, M; Hu, E; Tempst, P; Spiegelman, B. M. *Nucleic Acids Res.* 1994, 25, 5628.
57. Zhu, Y; Qi, C; Korenberg, J. R; Chen, X. N; Noya, D; Rao, M. S; Reddy, J. K. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1995, 17, 7921.
58. Feige, J. N; Gelman, L; Michalik, L; Desvergne, B; Wahli, W. *Prog. Lipid Res.* 2006, 2, 120.
59. Tontonoz, P; Spiegelman, B. M. *Annu. Rev. Biochem.* 2008, 289.
60. Rebrin, K; Steil, G. M; Getty, L; Bergman, R. N. *Diabetes* 1995, 9, 1038.
61. Rebrin, K; Steil, G. M; Mittelman, S. D; Bergman, R. N. *J. Clin. Invest.* 1996, 3, 741.
62. Randle, P. J. *Diabetes Metab Rev* 1998, 4, 263.
63. Iwaki, M; Matsuda, M; Maeda, N; Funahashi, T; Matsuzawa, Y; Makishima, M; Shimomura, I. *Diabetes* 2003, 7, 1655.
64. Hofmann, C; Lorenz, K; Braithwaite, S. S; Colca, J. R; Palazuk, B. J; Hotamisligil, G. S; Spiegelman, B. M. *Endocrinology* 1994, 1, 264.
65. Wu, Z; Xie, Y; Morrison, R. F; Bucher, N. L; Farmer, S. R. *J. Clin. Invest.* 1998, 1, 22.
66. Jonker, J. W; Suh, J. M; Atkins, A. R; Ahmadian, M; Li, P; Whyte, J; He, M; Juguilon, H; Yin, Y.-Q; Phillips, C. T; Yu, R. T; Olefsky, J. M; Henry, R. R; Downes, M; Evans, R. M. *Nature* 2012, 7398, 391.
67. Dutchak, P. A; Katafuchi, T; Bookout, A. L; Choi, J. H; Yu, R. T; Mangelsdorf, D. J; Kliewer, S. A. *Cell* 2012, 3, 556.
68. Oliver, W. R; Shenk, J. L; Snaith, M. R; Russell, C. S; Plunket, K. D; Bodkin, N. L; Lewis, M. C; Winegar, D. A; Sznaidman, M. L; Lambert, M. H; Xu, H. E; Sternbach, D. D; Kliewer, S. A; Hansen, B. C; Willson, T. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001, 9, 5306.
69. Lee, C.-H; Olson, P; Hevener, A; Mehl, I; Chong, L.-W; Olefsky, J. M; Gonzalez, F. J; Ham, J; Kang, H; Peters, J. M; Evans, R. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, 9, 3444.
70. Matsuura, H; Adachi, H; Smart, R. C; Xu, X; Arata, J; Jetten, A. M. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1999, 1-2, 85.
71. Tanaka, T; Yamamoto, J; Iwasaki, S; Asaba, H; Hamura, H; Ikeda, Y; Watanabe, M; Magoori, K; Ioka, R. X; Tachibana, K; Watanabe, Y; Uchiyama, Y; Sumi, K; Iguchi, H; Ito, S; Doi, T; Hamakubo, T; Naito, M; Auwerx, J; Yanagisawa, M; Kodama, T; Sakai, J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003, 26, 15924.
72. Lamers, C; Schubert-Zsilavec, M; Merk, D. *Expert Opin Ther Pat* 2012, 7, 803.
73. Neels, J. G; Grimaldi, P. A. *Physiol. Rev.* 2014, 3, 795.
74. Risérus, U; Srecher, D; Johnson, T; Olson, E; Hirschberg, S; Liu, A; Fang, Z; Hegde, P; Richards, D; Sarov-Blat, L; Strum, J. C; Basu, S; Cheeseman, J; Fielding, B. A; Humphreys, S. M; Danoff, T; Moore, N. R; Murgatroyd, P; O'Rahilly, S; Sutton, P; Willson, T; Hassall, D; Frayn, K. N; Karpe, F. *Diabetes* 2008, 2, 332.
75. Göttlicher, M; Widmark, E; Li, Q; Gustafsson, J. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1992, 10, 4653.
76. Kliewer, S. A; Sundseth, S. S; Jones, S. A; Brown, P. J; Wisely, G. B; Koble, C. S; Devchand, P; Wahli, W; Willson, T. M; Lenhard, J. M; Lehmann, J. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, 9, 4318.
77. Krey, G; Braissant, O; L'Horset, F; Kalkhoven, E; Perroud, M; Parker, M. G; Wahli, W. *Mol. Endocrinol.* 1997, 6, 779.

7. Bibliographie

78. Forman, B. M; Chen, J; Evans, R. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1997, 9, 4312.
79. Forman, B. M; Tontonoz, P; Chen, J; Brun, R. P; Spiegelman, B. M; Evans, R. M. *Cell* 1995, 5, 803.
80. Kliewer, S. A; Lenhard, J. M; Willson, T. M; Patel, I; Morris, D. C; Lehmann, J. M. *Cell* 1995, 5, 813.
81. Banner, C. D; Göttlicher, M; Widmark, E; Sjövall, J; Rafter, J. J; Gustafsson, J. A. *J. Lipid Res.* 1993, 9, 1583.
82. Willson, T. M; Brown, P. J; Sternbach, D. D; Henke, B. R. *J. Med. Chem.* 2000, 4, 527.
83. Cho, N; Momose, Y. *Curr Top Med Chem* 2008, 17, 1483.
84. Feldman, P. L; Lambert, M. H; Henke, B. R. *Curr Top Med Chem* 2008, 9, 728.
85. Epple, R; Azimioara, M; Russo, R; Bursulaya, B; Tian, S.-S; Gerken, A; Iskandar, M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2006, 11, 2969.
86. Batista, Fernanda A H; Trivella, Daniela B B; Bernardes, A; Gratieri, J; Oliveira, Paulo S L; Figueira, Ana Carolina M; Webb, P; Polikarpov, I. *PLoS One* 2012, 5, e33643.
87. Pingali, H; Jain, M; Shah, S; Patil, P; Makadia, P; Zaware, P; Sairam, Kalapatapu V V M; Jamili, J; Goel, A; Patel, M; Patel, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 24, 6471.
88. Staels, B; Fruchart, J.-C. *Diabetes* 2005, 8, 2460.
89. Cronet, P; Petersen, J. F; Folmer, R; Blomberg, N; Sjöblom, K; Karlsson, U; Lindstedt, E. L; Bamberg, K. *Structure* 2001, 8, 699.
90. Xu, H. E; Stanley, T. B; Montana, V. G; Lambert, M. H; Shearer, B. G; Cobb, J. E; McKee, D. D; Galardi, C. M; Plunket, K. D; Nolte, R. T; Parks, D. J; Moore, J. T; Kliewer, S. A; Willson, T. M; Stimmel, J. B. *Nature* 2002, 6873, 813.
91. Santilli, A. A; Scotese, A. C; Tomarelli, R. M. *Experientia* 1974, 10, 1110.
92. Bernardes, A; Souza, P. C. T; Muniz, J. R. C; Ricci, C. G; Ayers, S. D; Parekh, N. M; Godoy, A. S; Trivella, D. B. B; Reinach, P; Webb, P; Skaf, M. S; Polikarpov, I. *J. Mol. Biol.* 2013.
93. Kohlroser, J; Mathai, J; Reichheld, J; Banner, B. F; Bonkovsky, H. L. *Am. J. Gastroenterol.* 2000, 1, 272.
94. EMA. *European Medicines Agency recommends suspension of Avandia, Avandamet and Avaglim*: EMA; 2010.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2010/09/news_detail_001119.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1
95. FDA. *FDA Drug Safety Communication: FDA requires removal of some prescribing and dispensing restrictions for rosiglitazone-containing diabetes medicines*. Rosiglitazone: FDA; 2013.
<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm376389.htm>
96. Ahmadian, M; Suh, J. M; Hah, N; Liddle, C; Atkins, A. R; Downes, M; Evans, R. M. *Nat Med* 2013, 5, 557.
97. Zhang, H; Zhang, A; Kohan, D. E; Nelson, R. D; Gonzalez, F. J; Yang, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005, 26, 9406.
98. Guan, Y; Hao, C; Cha, D. R; Rao, R; Lu, W; Kohan, D. E; Magnuson, M. A; Redha, R; Zhang, Y; Breyer, M. D. *Nat. Med.* 2005, 8, 861.
99. Yang, T; Soodvilai, S. *PPAR Res* 2008, 943614.
100. Ryan, K. K; Li, B; Grayson, B. E; Matter, E. K; Woods, S. C; Seeley, R. J. *Nat. Med.* 2011, 5, 623.

7. Bibliographie

101. Lu, M; Sarruf, D. A; Talukdar, S; Sharma, S; Li, P; Bandyopadhyay, G; Nalbandian, S; Fan, W; Gayen, J. R; Mahata, S. K; Webster, N. J; Schwartz, M. W; Olefsky, J. M. *Nat. Med.* 2011, 5, 618.
102. Oberfield, J. L; Collins, J. L; Holmes, C. P; Goreham, D. M; Cooper, J. P; Cobb, J. E; Lenhard, J. M; Hull-Ryde, E. A; Mohr, C. P; Blanchard, S. G; Parks, D. J; Moore, L. B; Lehmann, J. M; Plunket, K; Miller, A. B; Milburn, M. V; Kliewer, S. A; Willson, T. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1999, 11, 6102.
103. Shearer, B. G; Billin, A. N. *Biochim. Biophys. Acta* 2007, 8, 1082.
104. Agrawal, R; Jain, P; Dikshit, S. N. *Mini Rev Med Chem* 2012, 2, 87.
105. Henriksen, K; Byrjalsen, I; Qvist, P; Beck-Nielsen, H; Hansen, G; Riis, B. J; Perrild, H; Svendsen, O. L; Gram, J; Karsdal, M. A; Christiansen, C. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2011, 4, 392.
106. Motani, A; Wang, Z; Weiszmann, J; McGee, L. R; Lee, G; Liu, Q; Staunton, J; Fang, Z; Fuentes, H; Lindstrom, M; Liu, J; Biermann, D. H; Jaen, J; Walker, N. P; Learned, R. M; Chen, J.-L; Li, Y. *Journal of Molecular Biology* 2009, 5, 1301.
107. Higgins, L. S; Mantzoros, C. S. *PPAR Res* 2008, 936906.
108. Taygerly, J. P; McGee, L. R; Rubenstein, S. M; Houze, J. B; Cushing, T. D; Li, Y; Motani, A; Chen, J.-L; Frankmoelle, W; Ye, G; Learned, M. R; Jaen, J; Miao, S; Timmermans, P. B; Thoolen, M; Kearney, P; Flygare, J; Beckmann, H; Weiszmann, J; Lindstrom, M; Walker, N; Liu, J; Biermann, D; Wang, Z; Hagiwara, A; Iida, T; Aramaki, H; Kitao, Y; Shinkai, H; Furukawa, N; Nishiu, J; Nakamura, M. *Bioorg. Med. Chem.* 2013, 4, 979.
109. DePaoli, A. M; Higgins, L. S; Henry, R. R; Mantzoros, C; Dunn, F. L. *Diabetes Care* 2014, 7, 1918.
110. Choi, J. H; Banks, A. S; Kamenecka, T. M; Busby, S. A; Chalmers, M. J; Kumar, N; Kuruvilla, D. S; Shin, Y; He, Y; Bruning, J. B; Marciano, D. P; Cameron, M. D; Laznik, D; Jurczak, M. J; Schürer, S. C; Vidović, D; Shulman, G. I; Spiegelman, B. M; Griffin, P. R. *Nature* 2011, 7365, 477.
111. Choi, S. S; Kim, E. S; Koh, M; Lee, S.-J; Lim, D; Yang, Y. R; Jang, H.-J; Seo, K.-A; Min, S.-H; Lee, I. H; Park, S. B; Suh, P.-G; Choi, J. H. *J. Biol. Chem.* 2014.
112. Clasen, R; Schupp, M; Foryst-Ludwig, A; Sprang, C; Clemenz, M; Krikov, M; Thöne-Reineke, C; Unger, T; Kintscher, U. *Hypertension* 2005, 1, 137.
113. Gupta, R. A; Wang, D; Katkuri, S; Wang, H; Dey, S. K; DuBois, R. N. *Nat. Med.* 2004, 3, 245.
114. Henry, R. R; Lincoff, A. M; Mudaliar, S; Rabbia, M; Chognot, C; Herz, M. *The Lancet* 2009, 9684, 126.
115. Scherbaum, W. A. *Der PPAR-alpha/gamma-Agonist Muraglitazar erhöht die Zahl kardiovaskulärer Ereignisse und die von Todesfällen bei Patienten mit Typ 2 Diabetes.* 2005.
http://www.diabetes-deutschland.de/archiv/archiv_3451.htm.
116. (BUSINESS WIRE). *Bristol-Myers Squibb Announces Discontinuation of Development of Muraglitazar, an Investigational Oral Treatment for Type 2 Diabetes.*
<http://www.businesswire.com/news/home/20081211006328/en/Bristol-Myers-Squibb-Announces-Discontinuation-Development-Muraglitazar-Investigational>
117. Astra Zeneca. *Discontinues-Development-of-GALIDA;* 2006.
<http://www.astrazeneca.com/Media/Press-releases/Article/20060504--AstraZeneca-Discontinues-Development-of-GALIDA-TM-te>
118. Conlon, D. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease* 2006, 3, 135.

7. Bibliographie

119. Jani, R. H; Pai, V; Jha, P; Jariwala, G; Mukhopadhyay, S; Bhansali, A; Joshi, S. *Diabetes Technol. Ther.* 2014, 2, 63.
120. Jani, R. H; Kansagra, K; Jain, M. R; Patel, H. *Clin Drug Investig* 2013, 11, 809.
121. Koyama, H; Miller, D. J; Boueres, J. K; Desai, R. C; Jones, A. B; Berger, J. P; MacNaul, K. L; Kelly, L. J; Doebber, T. W; Wu, M. S; Zhou, G; Wang, P.-r; Ippolito, M. C; Chao, Y.-S; Agrawal, A. K; Franklin, R; Heck, J. V; Wright, S. D; Moller, D. E; Sahoo, S. P. *J. Med. Chem.* 2004, 12, 3255.
122. Cariou, B; Zair, Y; Staels, B; Bruckert, E. *Diabetes Care* 2011, 9, 2008.
123. Genfit. *GFT505 BROADENS ITS THERAPEUTIC POTENTIAL*.
<http://www.bloomberg.com/article/2013-01-24/aVLdpbOkYmA8.html>
124. Artis, D. R; Lin, J. J; Zhang, C; Wang, W; Mehra, U; Perreault, M; Erbe, D; Krupka, H. I; England, B. P; Arnold, J; Plotnikov, A. N; Marimuthu, A; Nguyen, H; Will, S; Signaevsky, M; Kral, J; Cantwell, J; Settachatgull, C; Yan, D. S; Fong, D; Oh, A; Shi, S; Womack, P; Powell, B; Habets, G; West, B. L; Zhang, Kam Y J; Milburn, M. V; Vlasuk, G. P; Hirth, K. P; Nolop, K; Bollag, G; Ibrahim, P. N; Tobin, J. F. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009, 1, 262.
125. clinicaltrials.gov. *Study Evaluating PPM-204 In Subjects With Type 2 Diabetes*. NCT00425919. Available at: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00425919>; 2007.
126. *FIBRATES*: EMA; 2010.
http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/referrals/Fibrates/human_referral_000247.jsp&mid=WC0b01ac0580024e99
127. Mahaffey, K. W; Hafley, G; Dickerson, S; Burns, S; Tourt-Uhlig, S; White, J; Newby, L. K; Komajda, M; McMurray, J; Bigelow, R; Home, P. D; Lopes, R. D. *Am. Heart J.* 2013, 2, 240-249.e1.
128. Forman, B. M; Goode, E; Chen, J; Oro, A. E; Bradley, D. J; Perlmann, T; Noonan, D. J; Burka, L. T; McMorris, T; Lamph, W. W; Evans, R. M; Weinberger, C. *Cell* 1995, 5, 687.
129. Seol, W; Choi, H. S; Moore, D. D. *Mol. Endocrinol.* 1995, 1, 72.
130. Parks, D. J; Blanchard, S. G; Bledsoe, R. K; Chandra, G; Consler, T. G; Kliewer, S. A; Stimmel, J. B; Willson, T. M; Zavacki, A. M; Moore, D. D; Lehmann, J. M. *Science* 1999, 5418, 1365.
131. Wang, H; Chen, J; Hollister, K; Sowers, L. C; Forman, B. M. *Mol. Cell* 1999, 5, 543.
132. Makishima, M. *Science* 1999, 5418, 1362.
133. Lefebvre, P; Cariou, B; Lien, F; Kuipers, F; Staels, B. *Physiol. Rev.* 2009, 1, 147.
134. Downes, M; Verdecia, M. A; Roecker, A. J; Hughes, R; Hogenesch, J. B; Kast-Woelbern, H. R; Bowman, M. E; Ferrer, J.-L; Anisfeld, A. M; Edwards, P. A; Rosenfeld, J. M; Alvarez, Jacqueline G A; Noel, J. P; Nicolaou, K. C; Evans, R. M. *Mol. Cell* 2003, 4, 1079.
135. Pellicciari, R; Costantino, G; Fiorucci, S. *J. Med. Chem.* 2005, 17, 5383.
136. Mi, L.-Z; Devarakonda, S; Harp, J. M; Han, Q; Pellicciari, R; Willson, T. M; Khorasanizadeh, S; Rastinejad, F. *Mol. Cell* 2003, 4, 1093.
137. Ananthanarayanan, M; Li, S; Balasubramaniyan, N; Suchy, F. J; Walsh, M. J. *J. Biol. Chem.* 2004, 52, 54348.
138. Pineda Torra, I; Freedman, L. P; Garabedian, M. J. *J. Biol. Chem.* 2004, 35, 36184.
139. Savkur, R. S; Thomas, J. S; Bramlett, K. S; Gao, Y; Michael, L. F; Burris, T. P. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005, 1, 170.

7. Bibliographie

140. Zhang, Y; Castellani, L. W; Sinal, C. J; Gonzalez, F. J; Edwards, P. A. *Genes Dev.* 2004, 2, 157.
141. Cariou, B; Staels, B. *Trends Pharmacol. Sci.* 2007, 5, 236.
142. Zhang, Y; Kast-Woelbern, H. R; Edwards, P. A. *J. Biol. Chem.* 2003, 1, 104.
143. Bishop-Bailey, D; Walsh, D. T; Warner, T. D. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, 10, 3668.
144. Huber, R. M; Murphy, K; Miao, B; Link, J. R; Cunningham, M. R; Rupar, M. J; Gunyuzlu, P. L; Haws, T. F; Kassam, A; Powell, F; Hollis, G. F; Young, P. R; Mukherjee, R; Burn, T. C. *Gene* 2002, 1-2, 35.
145. Vlahcevic, Z. R; Heuman, D. M; Hylemon, P. B. *Hepatology* 1991, 3, 590.
146. Chiang, J. Y. *Front. Biosci.* 1998, d176-93.
147. Goodwin, B; Jones, S. A; Price, R. R; Watson, M. A; McKee, D. D; Moore, L. B; Galardi, C; Wilson, J. G; Lewis, M. C; Roth, M. E; Maloney, P. R; Willson, T. M; Kliewer, S. A. *Mol. Cell* 2000, 3, 517.
148. Hu, X; Bonde, Y; Eggertsen, G; Rudling, M. *J Intern Med* 2014, 1, 27.
149. Sayin, S. I; Wahlström, A; Felin, J; Jäntti, S; Marschall, H.-U; Bamberg, K; Angelin, B; Hyötyläinen, T; Orešič, M; Bäckhed, F. *Cell Metabolism* 2013, 2, 225.
150. Ananthanarayanan, M; Balasubramanian, N; Makishima, M; Mangelsdorf, D. J; Suchy, F. J. *J. Biol. Chem.* 2001, 31, 28857.
151. Landrier, J.-F; Eloranta, J. J; Vavricka, S. R; Kullak-Ublick, G. A. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006, 3, G476-85.
152. Zollner, G; Wagner, M; Moustafa, T; Fickert, P; Silbert, D; Gumhold, J; Fuchsbichler, A; Halilbasic, E; Denk, H; Marschall, H.-U; Trauner, M. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006, 5, G923-32.
153. Claudel, T; Staels, B; Kuipers, F. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005, 10, 2020.
154. Eloranta, J. J; Jung, D; Kullak-Ublick, G. A. *Mol. Endocrinol.* 2006, 1, 65.
155. Neimark, E; Chen, F; Li, X; Shneider, B. L. *Hepatology* 2004, 1, 149.
156. Fuchs, M. *J Lipids* 2012, 934396.
157. Horton, J. D; Goldstein, J. L; Brown, M. S. *J. Clin. Invest.* 2002, 9, 1125.
158. Pineda Torra, I; Claudel, T; Duval, C; Kosykh, V; Fruchart, J.-C; Staels, B. *Mol. Endocrinol.* 2003, 2, 259.
159. Yamagata, K; Daitoku, H; Shimamoto, Y; Matsuzaki, H; Hirota, K; Ishida, J; Fukamizu, A. *J. Biol. Chem.* 2004, 22, 23158.
160. Zhang, Y; Edwards, P. A. *FEBS Lett.* 2008, 1, 10.
161. Zhang, Y; Lee, F. Y; Barrera, G; Lee, H; Vales, C; Gonzalez, F. J; Willson, T. M; Edwards, P. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2006, 4, 1006.
162. Ma, K; Saha, P. K; Chan, L; Moore, D. D. *J. Clin. Invest.* 2006, 4, 1102.
163. Düfer, M; Horth, K; Wagner, R; Schittenhelm, B; Prowald, S; Wagner, T. F. J; Oberwinkler, J; Lukowski, R; Gonzalez, F. J; Krippeit-Drews, P; Drews, G. *Diabetes* 2012, 6, 1479.
164. Düfer, M; Hörth, K; Krippeit-Drews, P; Drews, G. *Islets* 2012, 5, 333.
165. Cariou, B; van Harmelen, K; Duran-Sandoval, D; van Dijk, Theo H; Grefhorst, A; Abdelkarim, M; Caron, S; Torpier, G; Fruchart, J.-C; Gonzalez, F. J; Kuipers, F; Staels, B. *J Biol Chem* 2006, 16, 11039.
166. Cariou, B; van Harmelen, K; Duran-Sandoval, D; van Dijk, T; Grefhorst, A; Bouchaert, E; Fruchart, J.-C; Gonzalez, F. J; Kuipers, F; Staels, B. *FEBS Lett* 2005, 19, 4076.
167. Lamers, C; Schubert-Zsilavecz, M; Merk, D. *Curr Topic Med Chem* 2014, 19, 2188.

7. Bibliographie

168. Prawitt, J; Abdelkarim, M; Stroeve, Johanna H M; Popescu, I; Duez, H; Velagapudi, V. R; Dumont, J; Bouchaert, E; van Dijk, Theo H; Lucas, A; Dorchies, E; Daoudi, M; Lestavel, S; Gonzalez, F. J; Oresic, M; Cariou, B; Kuipers, F; Caron, S; Staels, B. *Diabetes* 2011, 7, 1861.
169. Ryan, K. K; Tremaroli, V; Clemmensen, C; Kovatcheva-Datchary, P; Myronovych, A; Karns, R; Wilson-Pérez, H. E; Sandoval, D. A; Kohli, R; Bäckhed, F; Seeley, R. J. *Nature* 2014, 7499, 183.
170. Fiorucci, S; Mencarelli, A; Distrutti, E; Zampella, A. *Future Med Chem* 2012, 7, 877.
171. Merk, D; Steinhilber, D; Schubert-Zsilavec, M. *Future Med Chem* 2012, 8, 1015.
172. Zhao, A; Yu, J; Lew, J.-L; Huang, L; Wright, S. D; Cui, J. *DNA Cell Biol.* 2004, 8, 519.
173. Deng, R; Yang, D; Yang, J; Yan, B. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006, 1, 317.
174. Wang, S; Lai, K; Moy, F. J; Bhat, A; Hartman, H. B; Evans, M. J. *Endocrinology* 2006, 9, 4025.
175. Urizar, N. L. *Science* 2002, 5573, 1703.
176. Cui, J. *Journal of Biological Chemistry* 2003, 12, 10214.
177. Yu, J; Lo, J.-L; Huang, L; Zhao, A; Metzger, E; Adams, A; Meinke, P. T; Wright, S. D; Cui, J. *J. Biol. Chem.* 2002, 35, 31441.
178. Lew, J.-L; Zhao, A; Yu, J; Huang, L; Pedro, N. de; Peláez, F; Wright, S. D; Cui, J. *J. Biol. Chem.* 2004, 10, 8856.
179. Nishimaki-Mogami, T; Kawahara, Y; Tamehiro, N; Yoshida, T; Inoue, K; Ohno, Y; Nagao, T; Une, M. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006, 1, 386.
180. Marino, S. de; Ummarino, R; D'Auria, M. V; Chini, M. G; Bifulco, G; D'Amore, C; Renga, B; Mencarelli, A; Petek, S; Fiorucci, S; Zampella, A. *Steroids* 2012, 5, 484.
181. Renga, B; Mencarelli, A; D'Amore, C; Cipriani, S; D'Auria, M. V; Sepe, V; Chini, M. G; Monti, M. C; Bifulco, G; Zampella, A; Fiorucci, S; Lobaccaro, J.-M. A. *PLoS ONE* 2012, 1, e30443.
182. Sepe, V; Bifulco, G; Renga, B; D'Amore, C; Fiorucci, S; Zampella, A. *J. Med. Chem.* 2011, 5, 1314.
183. Sepe, V; Ummarino, R; D'Auria, M; Tagliatela-Scafati, O; Marino, S; D'Amore, C; Renga, B; Chini, M; Bifulco, G; Nakao, Y; Fusetani, N; Fiorucci, S; Zampella, A. *Marine Drugs* 2012, 12, 2448.
184. Nam, S.-J; Ko, H; Shin, M; Ham, J; Chin, J; Kim, Y; Kim, H; Shin, K; Choi, H; Kang, H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2006, 20, 5398.
185. Nam, S.-J; Ko, H; Ju, M. K; Hwang, H; Chin, J; Ham, J; Lee, B; Lee, J; Won, D. H; Choi, H; Ko, J; Shin, K; Oh, T; Kim, S; Rho, J.-R; Kang, H. *J. Nat. Prod.* 2007, 11, 1691.
186. Putra, M. Y; Bavestrello, G; Cerrano, C; Renga, B; D'Amore, C; Fiorucci, S; Fattorusso, E; Tagliatela-Scafati, O. *Steroids* 2012, 5, 433.
187. Carter, B. A; Taylor, O. A; Prendergast, D. R; Zimmerman, T. L; Furstenberg, R. von; Moore, D. D; Karpen, S. J. *Pediatr. Res.* 2007, 3, 301.
188. Xu, X; Lu, Y; Chen, L; Chen, J; Luo, X; Shen, X. *Steroids* 2013, 9, 813.
189. Pellicciari, R; Gioiello, A; Costantino, G; Sadeghpour, B. M; Rizzo, G; Meyer, U; Parks, D. J; Entrena-Guadix, A; Fiorucci, S. *J. Med. Chem.* 2006, 14, 4208.
190. Maloney, P. R; Parks, D. J; Haffner, C. D; Fivush, A. M; Chandra, G; Plunket, K. D; Creech, K. L; Moore, L. B; Wilson, J. G; Lewis, M. C; Jones, S. A; Willson, T. M. *J. Med. Chem.* 2000, 16, 2971.

7. Bibliographie

191. Singh, N; Yadav, M; Singh, A. K; Kumar, H; Dwivedi, Shailendra Kumar Dhar; Mishra, J. S; Gurjar, A; Manhas, A; Chandra, S; Yadav, P. N; Jagavelu, K; Siddiqi, M. I; Trivedi, A. K; Chattopadhyay, N; Sanyal, S. *Mol. Endocrinol.* 2014, 5, 659.
192. Howarth, D. L; Law, Sheran H W; Law, J. M; Mondon, J. A; Kullman, S. W; Hinton, D. E. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010, 1, 111.
193. Chiang, P.-C; Thompson, D. C; Ghosh, S; Heitmeier, M. R. *J Pharm Sci* 2011, 11, 4722.
194. Akwabi-Ameyaw, A; Bass, J. Y; Caldwell, R. D; Caravella, J. A; Chen, L; Creech, K. L; Deaton, D. N; Jones, S. A; Kaldor, I; Liu, Y; Madauss, K. P; Marr, H. B; McFadyen, R. B; Miller, A. B; Iii, F. N; Parks, D. J; Spearing, P. K; Todd, D; Williams, S. P; Wisely, G. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 15, 4339.
195. Crawley, M. L. *Expert Opin Ther Pat* 2010, 8, 1047.
196. Bass, J. Y; Caldwell, R. D; Caravella, J. A; Chen, L; Creech, K. L; Deaton, D. N; Madauss, K. P; Marr, H. B; McFadyen, R. B; Miller, A. B; Parks, D. J; Todd, D; Williams, S. P; Wisely, G. B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 11, 2969.
197. Feng, S; Yang, M; Zhang, Z; Wang, Z; Di Hong; Richter, H; Benson, G. M; Bleicher, K; Grether, U; Martin, R. E; Plancher, J.-M; Kuhn, B; Rudolph, M. G; Chen, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 9, 2595.
198. Nicolaou, K. C; Evans, R. M; Roecker, A. J; Hughes, R; Downes, M; Pfefferkorn, J. A. *Org. Biomol. Chem.* 2003, 6, 908.
199. Evans, M. J; Mahaney, P. E; Borges-Marcucci, L; Lai, K; Wang, S; Krueger, J. A; Gardell, S. J; Huard, C; Martinez, R; Vlasuk, G. P; Harnish, D. C. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2009, 3, G543-52.
200. Flatt, B; Martin, R; Wang, T.-L; Mahaney, P; Murphy, B; Gu, X.-H; Foster, P; Li, J; Pircher, P; Petrowski, M; Schulman, I; Westin, S; Wrobel, J; Yan, G; Bischoff, E; Daige, C; Mohan, R. *J. Med. Chem.* 2009, 4, 904.
201. Zhang, S; Wang, J; Liu, Q; Harnish, D. C. *J. Hepatol.* 2009, 2, 380.
202. Zhang, S; Liu, Q; Wang, J; Harnish, D. C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009, 2, 476.
203. Mehlmann, J. F; Crawley, M. L; Lundquist, J. T; Unwalla, R. J; Harnish, D. C; Evans, M. J; Kim, C. Y; Wrobel, J. E; Mahaney, P. E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 18, 5289.
204. Hambruch, E; Miyazaki-Anzai, S; Hahn, U; Matysik, S; Boettcher, A; Perović-Ottstadt, S; Schlüter, T; Kinzel, O; Krol, H. D; Deuschle, U; Burnet, M; Levi, M; Schmitz, G; Miyazaki, M; Kremoser, C. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2012, 3, 556.
205. Lundquist, J. T; Harnish, D. C; Kim, C. Y; Mehlmann, J. F; Unwalla, R. J; Phipps, K. M; Crawley, M. L; Commons, T; Green, D. M; Xu, W; Hum, W.-T; Eta, J. E; Feingold, I; Patel, V; Evans, M. J; Lai, K; Borges-Marcucci, L; Mahaney, P. E; Wrobel, J. E. *J. Med. Chem.* 2010, 4, 1774.
206. Soisson, S. M; Parthasarathy, G; Adams, A. D; Sahoo, S; Sitlani, A; Sparrow, C; Cui, J; Becker, J. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008, 14, 5337.
207. Dussault, I; Beard, R; Lin, M; Hollister, K; Chen, J; Xiao, J.-H; Chandraratna, R; Forman, B. M. *J. Biol. Chem.* 2003, 9, 7027.
208. Richter, Hans G F; Benson, G. M; Bleicher, K. H; Blum, D; Chaput, E; Clemann, N; Feng, S; Gardes, C; Grether, U; Hartman, P; Kuhn, B; Martin, R. E; Plancher, J.-M; Rudolph, M. G; Schuler, F; Taylor, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 4, 1134.
209. Richter, Hans G F; Benson, G. M; Blum, D; Chaput, E; Feng, S; Gardes, C; Grether, U; Hartman, P; Kuhn, B; Martin, R. E; Plancher, J.-M; Rudolph, M. G; Schuler, F; Taylor, S; Bleicher, K. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011, 1, 191.

7. Bibliographie

210. Schuster, D; Markt, P; Grienke, U; Mihaly-Bison, J; Binder, M; Noha, S. M; Rollinger, J. M; Stuppner, H; Bochkov, V. N; Wolber, G. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2011, 23, 7168.
211. Fu, J; Si, P; Zheng, M; Chen, L; Shen, X; Tang, Y; Li, W. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2012, 22, 6848.
212. Marinozzi, M; Carotti, A; Sansone, E; Macchiarulo, A; Rosatelli, E; Sardella, R; Natalini, B; Rizzo, G; Adorini, L; Passeri, D; Franco, F. de; Pruzanski, M; Pellicciari, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2012, 11, 3429.
213. Marinozzi, M; Carotti, A; Sardella, R; Buonerba, F; Ianni, F; Natalini, B; Passeri, D; Rizzo, G; Pellicciari, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2013, 13, 3780.
214. Yu, D. D; Lin, W; Forman, B. M; Chen, T. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2014, 11, 2919.
215. Huang, H; Yu, Y; Gao, Z; Zhang, Y; Li, C; Xu, X; Jin, H; Yan, W; Ma, R; Zhu, J; Shen, X; Jiang, H; Chen, L; Li, J. *J. Med. Chem.* 2012, 16, 7037.
216. Liu, P; Xu, X; Chen, L; Ma, L; Shen, X; Hu, L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2014, 5, 1596.
217. Liu, Y; Binz, J; Numerick, M. J; Dennis, S; Luo, G; Desai, B; MacKenzie, K. I; Mansfield, T. A; Kliewer, S. A; Goodwin, B; Jones, S. A. *J. Clin. Invest.* 2003, 11, 1678.
218. Fiorucci, S; Clerici, C; Antonelli, E; Orlandi, S; Goodwin, B; Sadeghpour, B. M; Sabatino, G; Russo, G; Castellani, D; Willson, T. M; Pruzanski, M; Pellicciari, R; Morelli, A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2005, 2, 604.
219. NCT00550862. Study of INT 747 in Combination With URSO in Patients With Primary Biliary Cirrhosis (PBC). Available at: <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00550862?term=obeticholic&rank=11>.
220. Wang, Y.-D; Chen, W.-D; Wang, M; Yu, D; Forman, B. M; Huang, W. *Hepatology* 2008, 5, 1632.
221. Fiorucci, S; Antonelli, E; Rizzo, G; Renga, B; Mencarelli, A; Riccardi, L; Orlandi, S; Pellicciari, R; Morelli, A. *Gastroenterology* 2004, 5, 1497.
222. Fiorucci, S; Cipriani, S; Mencarelli, A; Baldelli, F; Bifulco, G; Zampella, A. *Mini Rev Med Chem* 2011, 9, 753.
223. Qin, P; Tang, X; Elloso, M. M; Harnish, D. C. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006, 2, H741-7.
224. He, F; Li, J; Mu, Y; Kuruba, R; Ma, Z; Wilson, A; Alber, S; Jiang, Y; Stevens, T; Watkins, S; Pitt, B; Xie, W; Li, S. *Circ Res* 2006, 2, 192.
225. Sinal, C. J; Tohkin, M; Miyata, M; Ward, J. M; Lambert, G; Gonzalez, F. J. *Cell* 2000, 6, 731.
226. Zhang, Y; Wang, X; Vales, C; Lee, F. Y; Lee, H; Lusic, A. J; Edwards, P. A. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 10, 2316.
227. Gadaleta, R. M; van Erpecum, Karel J; Oldenburg, B; Willemsen, Ellen C L; Renooij, W; Murzilli, S; Klomp, Leo W J; Siersema, P. D; Schipper, Marguerite E I; Danese, S; Penna, G; Laverny, G; Adorini, L; Moschetta, A; van Mil, Saskia W C. *Gut* 2011, 4, 463.
228. Gadaleta, R. M; Oldenburg, B; Willemsen, E. C; Spit, M; Murzilli, S; Salvatore, L; Klomp, L. W; Siersema, P. D; van Erpecum, Karel J; van Mil, Saskia W.C. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2011, 8, 851.
229. Dai, J; Wang, H; Shi, Y; Dong, Y; Zhang, Y; Wang, J. *J Hematol Oncol* 2011, 1, 41.
230. Meng, Z; Wang, Y; Wang, L; Jin, W; Liu, N; Pan, H; Liu, L; Wagman, L; Forman, B. M; Huang, W. *Mol. Endocrinol.* 2010, 5, 886.

7. Bibliographie

231. Ohno, T; Shirakami, Y; Shimizu, M; Kubota, M; Sakai, H; Yasuda, Y; Kochi, T; Tsurumi, H; Moriwaki, H. *Cancer Letters* 2012, 2, 215.
232. Modica, S; Murzilli, S; Salvatore, L; Schmidt, D. R; Moschetta, A. *Cancer Res* 2008, 23, 9589.
233. Lee, J. Y; Lee, K. T; Lee, J. K; Lee, K. H; Jang, K.-T; Heo, J. S; Choi, S. H; Kim, Y; Rhee, J. C. *Br J Cancer* 2011, 6, 1027.
234. Gottardi, A. de; Touri, F; Maurer, C. A; Perez, A; Maurhofer, O; Ventre, G; Bentzen, C. L; Niesor, E. J; Dufour, J.-F. *Dig. Dis. Sci.* 2004, 6, 982.
235. Journe, F; Durbecq, V; Chaboteaux, C; Rouas, G; Laurent, G; Nonclercq, D; Sotiriou, C; Body, J.-J; Larsimont, D. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009, 3, 523.
236. Swales, K. E; Korbonits, M; Carpenter, R; Walsh, D. T; Warner, T. D; Bishop-Bailey, D. *Cancer Res* 2006, 20, 10120.
237. Merk, D; Steinhilber, D; Schubert-Zsilavecz, M. *Expert Opin Drug Discov* 2014, 1, 27.
238. Lamers, C; Dittrich, M; Steri, R; Proschak, E; Schubert-Zsilavecz, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014, 16, 4048.
239. d'Atri, G; Gomasasca, P; Resnati, G; Tronconi, G; Scolastico, C; Sirtori, C. R. *J. Med. Chem.* 1984, 12, 1621.
240. Koeberle, A; Zettl, H; Greiner, C; Wurglics, M; Schubert-Zsilavecz, M; Werz, O. *J. Med. Chem.* 2008, 24, 8068.
241. Popescu, L; Rau, O; Böttcher, J; Syha, Y; Schubert-Zsilavecz, M. *Arch. Pharm. (Weinheim)* 2007, 7, 367.
242. Rau, O; Syha, Y; Zettl, H; Kock, M; Bock, A; Schubert-Zsilavecz, M. *Arch. Pharm. (Weinheim)* 2008, 3, 191.
243. Thieme, T. M; Steri, R; Proschak, E; Paulke, A; Schneider, G; Schubert-Zsilavecz, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010, 8, 2469.
244. Zettl, H; Dittrich, M; Steri, R; Proschak, E; Rau, O; Steinhilber, D; Schneider, G; Lämmerhofer, M; Schubert-Zsilavecz, M. *QSAR Comb. Sci.* 2009, 5, 576.
245. Zettl, H; Steri, R; Lämmerhofer, M; Schubert-Zsilavecz, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 15, 4421.
246. Carrieri, A; Giudici, M; Parente, M; Rosas, M. de; Piemontese, L; Fracchiolla, G; Laghezza, A; Tortorella, P; Carbonara, G; Lavecchia, A; Gilardi, F; Crestani, M; Liodice, F. *Eur J Med Chem* 2013, 321.
247. Ramona Steri. *Entwicklung von zellulären Testsystemen und deren Anwendung zur Charakterisierung von Liganden für den Farnesoid X Rezeptor.* Dissertation. Frankfurt; 2012.
248. Greiner, C; Zettl, H; Koeberle, A; Pergola, C; Northoff, H; Schubert-Zsilavecz, M; Werz, O. *Bioorg. Med. Chem.* 2011, 11, 3394.
249. Mitsunobu, O. *Synthesis* 1981, 01, 1.
250. Breugst, M; Mayr, H. *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 43, 15380.
251. Chung, N. M; Tieckelmann, H. *J. Org. Chem.* 1970, 8, 2517.
252. Hopkins, G; Jonak, J; Minnemeyer, H; Tieckelmann, H. *J. Org. Chem.* 1967, 12, 4040.
253. Almena, I; Díez-Barra, E; de la Hoz, A. *Synthetic Communications* 1994, 8, 1057.
254. Lipinski, C. A; Lombardo, F; Dominy, B. W; Feeney, P. J. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2001, 1-3, 3.
255. Li, Y; Wang, Z; Furukawa, N; Escaron, P; Weiszmann, J; Lee, G; Lindstrom, M; Liu, J; Liu, X; Xu, H; Plotnikova, O; Prasad, V; Walker, N; Learned, R. M; Chen, J.-L. *J. Biol. Chem.* 2008, 14, 9168.

7. Bibliographie

256. Burgermeister, E; Schnoebelen, A; Flament, A; Benz, J; Stihle, M; Gsell, B; Rufer, A; Ruf, A; Kuhn, B; Märki, H. P; Mizrahi, J; Sebokova, E; Niesor, E; Meyer, M. *Mol. Endocrinol.* 2006, 4, 809.
257. Di Leva, Francesco Saverio; Festa, C; D'Amore, C; Marino, S. de; Renga, B; D'Auria, M. V; Novellino, E; Limongelli, V; Zampella, A; Fiorucci, S. *J. Med. Chem.* 2013, 11, 4701.
258. Thomas, C; Pellicciari, R; Pruzanski, M; Auwerx, J; Schoonjans, K. *Nat Rev Drug Discov* 2008, 8, 678.
259. Rau, O; Wurglics, M; Paulke, A; Zitzkowski, J; Meindl, N; Bock, A; Dingermann, T; Abdel-Tawab, M; Schubert-Zsilavecz, M. *Planta Med.* 2006, 10, 881.
260. Steri, R; Achenbach, J; Steinhilber, D; Schubert-Zsilavecz, M; Proschak, E. *Biochem. Pharmacol.* 2012, 12, 1674.
261. Seuter, S; Väisänen, S; Rådmark, O; Carlberg, C; Steinhilber, D. *Biochim. Biophys. Acta* 2007, 7, 864.

10. Eidesstattliche Versicherung

ERKLÄRUNG

Ich erkläre hiermit, dass ich mich bisher keiner Doktorprüfung im Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Bereich unterzogen habe.

Frankfurt am Main, den _____

Unterschrift

Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, dass ich die vorgelegte Dissertation über

Synthese und Charakterisierung von Fettsäure-Mimetika als Liganden der nukleären Rezeptoren PPARs und FXR

selbstständig angefertigt und mich anderer Hilfsmittel als der in ihr angegebenen nicht bedient habe, insbesondere, dass alle Entlehnungen aus anderen Schriften mit Angabe der betreffenden Schrift gekennzeichnet sind.

Ich versichere, die Grundsätze der guten wissenschaftlichen Praxis beachtet, und nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Frankfurt am Main, den _____

Unterschrift

10. Eidesstattliche Versicherung