

**Synthese und Struktur-Wirkungs-Beziehungen von  
dualen PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Modulatoren mit 5-Lo-inhibitorischen  
Eigenschaften**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften

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

von  
Laura Nicoleta Boteanu Popescu  
Campulung-Muscel, Rumänien

Frankfurt am Main (2009)  
(DF 1)

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

Dekan: Prof. Dr. D. Steinhilber

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

Datum der Disputation:

## Danksagung

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

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Schubert-Zsilavec für die engagierte, motivierende und menschliche Unterstützung beim Erstellen der Arbeit, die zahlreichen Fortbildungsmöglichkeiten und ich bedanke mich nicht zuletzt für seine stets freundliche und hilfsbereite Art. Unsere Gespräche waren mir gleichsam wichtige Anregung und Hilfe.

Ebenso bedanke ich mich bei Herrn Dr. M. Kock für seine Betreuung, seine stete Diskussionsbereitschaft und seine freundliche Art.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. K.-F. Beck, Prof. Dr. J. Pfeilschifter, Frau E. Dreieicher, Herrn O. Rau, Prof. Dr. D. Steinhilber, Prof. Dr. O. Werz, Dr. D. Pöckel und Herrn S. George für die pharmakologische *In-vitro*-Charakterisierung der synthetisierten Substanzen.

Für das sehr gute Arbeitsklima bedanke ich mich bei meinen Arbeitskreis-Kollegen Herrn A. Paulke, Frau Y. Syha, Frau L. Rangel-Ordenez, Herrn O. Rau, Frau M. Dittrich, Herrn H. Zettl, Herrn C. Ude, Herrn S. Bihler, Herrn Dr. J. Keller, Frau T. Paukert, Frau Dr. M. Tawab, Frau K. Griessmann, Frau Dr. K. Reising, Herrn Dr. M. Wurglics, Herrn P. Krüger, Frau J. Zitzkowski, Frau S. Munde und Frau F. Wonka.

Mein Dankeschön gilt ebenso meinen Kollegen Dr. B. Firla, T. Jaskolla, T. Kottke, H. Kubas, H. Zettl, M. Schübler, M. Dittrich und M. Weidlich, die mich in meiner Zeit als semesterleitende Assistentin des Praktikums Pharmazeutische Chemie I auf hervorragende Weise freundlich und kompetent unterstützt haben.

Ganz besonders bedanke ich mich ebenso bei meiner Kollegin und Freundin Dr. Y. Syha und bei H. Zettl für das Lösen sprachlicher Problemstellungen.

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

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Nukleäre Rezeptoren .....</b>	<b>4</b>
1.1.1 <i>Struktur nukleärer Rezeptoren .....</i>	7
1.1.1.1 Die A/B-Domäne.....	7
1.1.1.2 Die DNA-Bindungsdomäne (DBD).....	8
1.1.1.3 Die D-Domäne .....	9
1.1.1.4 Die Ligandenbindungsdomäne (LDB).....	9
1.1.2 <i>Der Wirkmechanismus nukleärer Rezeptoren.....</i>	10
<b>1.2 Peroxisomenproliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs).....</b>	<b>11</b>
1.2.1 <i>Strukturmodell und Funktion der PPARs.....</i>	11
1.2.2 <i>Natürliche Liganden der PPARs.....</i>	14
1.2.3 <i>Synthetische Liganden der PPARs .....</i>	14
1.2.3.1 Selektive PPAR $\alpha$ -Agonisten .....	15
1.2.3.2 Selektive PPAR $\gamma$ -Agonisten.....	18
1.2.3.3 Duale PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten .....	21
1.2.4 <i>Das Pharmakophormodell der PPAR-LBDs .....</i>	24
1.2.5 <i>Klinische Implikationen von PPAR-Agonisten .....</i>	26
1.2.5.1 Entzündung – PPAR $\alpha$ .....	26
1.2.5.2 Atherosklerose – PPAR $\alpha$ .....	27
1.2.5.3 Metabolisches Syndrom – PPAR $\alpha$ .....	27
1.2.5.4 Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM) – PPAR $\gamma$ .....	28
1.2.5.5 Dyslipidämie – PPAR $\gamma$ .....	29
<b>1.3 Lipoxigenasen .....</b>	<b>29</b>
1.3.1 <i>5-Lipoxygenase (5-LOX) .....</i>	30
1.3.2 <i>Die aktuelle molekulare Struktur der 5-Lipoxygenase .....</i>	32
1.3.2 <i>5-Lipoxygenase-Inhibitoren .....</i>	34
1.3.2.1 Redoxinhibitoren.....	34
1.3.2.2 Non-Redoxinhibitoren.....	35
1.3.2.3 Eisenligand-Inhibitoren.....	36
1.3.3 <i>Das Pharmakophormodell der 5-Lipoxygenase .....</i>	37

---

1.3.4 Pathologische Effekte von 5-Lipoxygenase-Produkten .....	40
<b>2. Zielsetzung .....</b>	<b>42</b>
<b>3. Ergebnisse &amp; Diskussion.....</b>	<b>44</b>
<b>3.1 Chemische Synthesen.....</b>	<b>44</b>
3.1.1 Allgemeine Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäure- derivaten mit W- und R-Strukturmodifikationen .....	44
3.1.1.1 Synthese von Modulatoren mit Strukturmodifikationen im Arylamino- Bereich (W-Substitution) .....	45
3.1.1.2 Synthese von Modulatoren mit Strukturmodifikationen in $\alpha$ -Position zur Ester- bzw. Carbonsäuregruppe (R-Substitution) .....	48
3.1.1.3 Synthese der 6-Hydroxychinolinderivate (Strukturmodifikation Y) .....	50
<b>3.2 Pharmakologische Studien .....</b>	<b>52</b>
3.2.1 Pharmakologische In-vitro-Testsysteme zur Identifizierung von Ligand- Rezeptor-Interaktionen und 5-LOX-Inhibitoren.....	52
3.2.1.1 Humaner PPAR-Assay der Subtypen $\alpha$ , $\beta$ und $\gamma$ .....	52
3.2.1.2 Intakte humane polymorphnukleäre Leukozyten- (PMNL-)Assay.....	53
3.2.2 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Modulatoren mit Struktur- Modifikationen im Arylamino-Bereich (W-Substitution).....	55
3.2.3 Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Strukturmodifika- tionen in $\alpha$ -Position zur Carbonsäureester- und zur Carbonsäuregruppe (R- Substitution) .....	57
3.2.4 Struktur-Wirkungs-Beziehungen eines in 4-Pyrimidin-Position modifi- zierten Derivates von WY 14643 (Y-Substitution) .....	62
<b>4. Zusammenfassung .....</b>	<b>64</b>
<b>5. Experimenteller Teil .....</b>	<b>67</b>
<b>5.1 Allgemeine Angaben.....</b>	<b>67</b>
<b>5.2 Synthesevorschriften und Charakterisierungen der Edukte.....</b>	<b>68</b>
5.2.1 Synthese der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester 1, 5, 15, 17 und 19 .....	68

5.2.2	<i>Synthese 4,6-dihalogensubstituierter (Pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethyl-ester</i> 2, 6, 16, 18 und 20 .....	71
5.2.3	<i>Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxy-tetrahydrofuran</i> 12 .....	74
5.2.3.1	Synthese von N-t-Boc-3-bromoanilin 9 .....	74
5.2.3.2	Synthese von 4-(3-t-Butyloxycarbonylaminophenyl)-4- hydroxytetrahydro-pyran 10.....	75
5.2.3.3	Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-hydroxytetrahydro-pyran 11 .....	75
5.2.3.4	Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxytetrahydro-pyran 12.....	76
5.2.4.	<i>Synthese von 2-(p-Aminophenoxymethyl)-chinolin</i> 23 .....	77
5.2.4.1	Synthese von 2-Chloromethyl-chinolin 21 .....	78
5.2.4.2	Synthese von 2-(p-Nitrophenoxymethyl)-chinolin 22 .....	79
5.2.4.3	Synthese von 2-(p-Aminophenoxymethyl)-chinolin 23.....	79
5.2.5	<i>Synthese der aus nukleophiler aromatischer Substitution am Pyrimidin</i> <i>resultierenden 6-Pyrimidin-substituierten Ethylester</i> 3, 7, 13, 24-31 und 39-40.....	80
5.2.5.1	Synthese von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]- essigsäureethylester 39 und 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin- 2-ylsulfanyl]-octansäureethylester 40 .....	93
5.2.6	<i>Synthese der Carbonsäuren</i> 4, 8, 14 und 32-38 und 41-43 .....	96
5.2.6.1	Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Carbonsäuren 41 und 42 ..	108
<b>6.</b>	<b>Anhang .....</b>	<b>111</b>
6.1	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>111</b>
6.2	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>116</b>
	<b>Publikationen .....</b>	<b>127</b>
	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>129</b>
	<b>Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>132</b>

## 1. Einleitung

### 1.1 Nukleäre Rezeptoren

Nukleäre Rezeptoren (NRs) bilden eine Familie von ligandabhängigen Transkriptionsfaktoren, die mit der DNA direkt interagieren. NRs sind sowohl im Zytosol als auch im Plasma lokalisiert. Da die Liganden einen lipophilen Charakter aufweisen, ist der passive Transport durch die Zellmembran erleichtert. NRs sind in viele physiologische Prozesse eingebunden. Beispiele hierfür sind: die Zelldifferenzierung, die Aufrechterhaltung der Homöostase sowie die prä- und die postnatale Entwicklung des Organismus<sup>1</sup>. Dysfunktionen in der durch NRs vermittelten Signaltransduktion führen zu metabolischen, proliferativen und reproduktiven Krankheitsbildern, wie Diabetes, Adipositas, Krebs und Infertilität<sup>3</sup>. Der zelluläre Wirkungsmechanismus einiger Rezeptoren wurde bereits vor über 30 Jahren entdeckt<sup>4</sup>. Mitte der 1980er-Jahre wurden Steroidhormone als endogene Liganden identifiziert<sup>5-7</sup>. Außerdem wurden Interaktionen mit A-Vitaminen<sup>8,9</sup>, Schilddrüsenhormonen<sup>10,11</sup>, Vitamin D<sub>3</sub>, Fettsäuren und Prostaglandinen festgestellt. NRs stellen somit Targets für eine Vielzahl chemisch unterschiedlichen Liganden dar und sind an vielfältigen genregulatorischen Prozessen beteiligt. Die universelle Natur dieser Rezeptoren zeigen Entdeckungen von Nauber et al.<sup>13, 14, 15</sup> besonders deutlich. Die Arbeitsgruppe entdeckte bei *Drosophila* den nukleären Rezeptor für Ecdyson, was darauf hindeutet, dass sich nukleäre Rezeptoren bereits vor der Divergenz von Vertebraten und Wirbeltieren und Wirbellosen entwickelt haben.

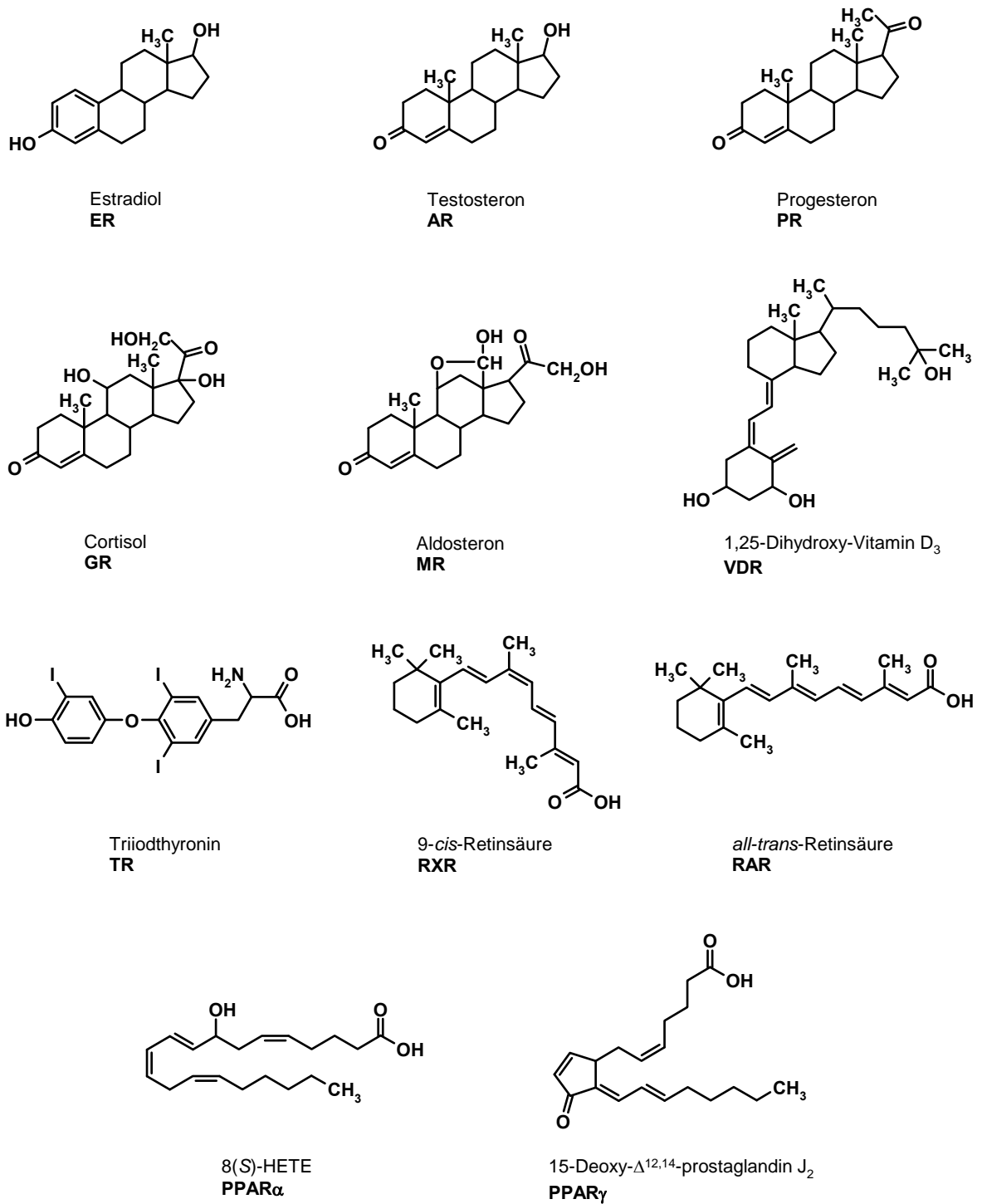
In den letzten Jahren ist eine große Anzahl von Liganden identifiziert und charakterisiert worden. Dennoch verbleibt eine Vielzahl von Rezeptoren, für die noch keine Liganden beschrieben worden sind (*orphan receptors*). Derzeit sind 48 Rezeptoren bekannt. Diese Rezeptoren werden, von phylogenetischen Untersuchungen ausgehend, in 6 Unterfamilien eingeteilt (I bis VI). Die Rezeptoren der jeweiligen Unterfamilien werden weiterhin in verschiedene Subtypen unterteilt und mit griechischen Buchstaben ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) benannt. Die Subtypen werden von verschiedenen Genen codiert.

Tabelle 1 zeigt eine Auswahl der wichtigsten Vertreter der NRs<sup>17, 18</sup>. Die Strukturen wichtiger endogener Liganden der NRs zeigt die Abb. 1.

Subfamilie	Name	Abkürzung	Nomenklatur	Liganden
I	Thyroid-Rezeptor	TR $\alpha$	NR1A1	Thyroidhormone
		TR $\beta$	NR1A2	Thyroidhormone
	Retinsäure-Rezeptor	RAR $\alpha$	NR1B1	<i>all-trans</i> -Retinsäure
		RAR $\beta$	NR1B2	<i>all-trans</i> -Retinsäure
		RAR $\gamma$	NR1B3	<i>all-trans</i> -Retinsäure
	Peroxisomenproliferator-aktivierter Rezeptor	PPAR $\alpha$	NR1C1	Fettsäuren, Icosanoide
		PPAR $\beta/\delta$	NR1C2	Fettsäuren
		PPAR $\gamma$	NR1C3	Fettsäuren, Icosanoide
	RAR-related orphan receptor	ROR $\alpha$	NR1F1	Cholesterol
		ROR $\beta$	NR1F2	<i>all-trans</i> -Retinsäure
		ROR $\gamma$	NR1F3	<i>all-trans</i> -Retinsäure
	Vitamin-D-Rezeptor	VDR	NR1H1	1,25-(OH) <sub>2</sub> -Vitamin D <sub>3</sub>
	Pregnan-X-Rezeptor	PXR	NR1I2	Xenobiotika
II	Retinoid-X-Rezeptor	RXR $\alpha$	NR2B1	<i>9-cis</i> -Retinsäure
		RXR $\beta$	NR2B2	<i>9-cis</i> -Retinsäure
		RXR $\gamma$	NR2B3	<i>9-cis</i> -Retinsäure
	Testis-Rezeptor	TR2	NR2C1	<i>Orphan</i>
		TR4	NR2C2	<i>Orphan</i>
III	Estrogen-Rezeptor	ER $\alpha$	NR3A1	Estrogene
		ER $\beta$	NR3A2	Estrogene
	Glucocorticoid-Rezeptor	GR	NR3C1	Glucocorticoide
	Mineralcorticoid-Rezeptor	MR	NR3C2	Mineralcorticoide
	Progesteron-Rezeptor	PR	NR3C3	Progesterone
	Androgen-Rezeptor	AR	NR3C4	Androgene
IV	NGF-induzierter Faktor B	NGFIB	NR4A1	<i>Orphan</i>
V	Steroidogener Faktor 1	SF1	NR5A1	<i>Orphan</i>
VI	Germ Cell Nuclear Factor	GCNF	NR6A1	<i>Orphan</i>

**Tabelle 1:** Klassifizierung nukleärer Rezeptoren<sup>17,18</sup>. NGF: *Nerve Growth Factor*.

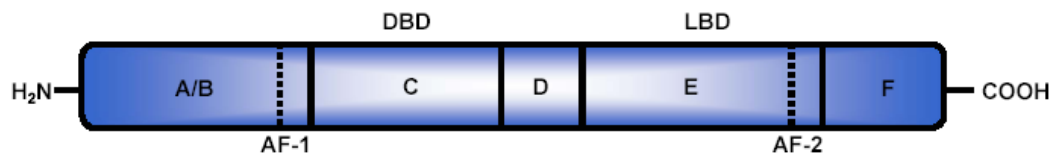




**Abb. 1:** Natürliche Liganden nukleärer Rezeptoren. Der zugehörige Rezeptor ist fett gedruckt.

### 1.1.1 Struktur nukleärer Rezeptoren

Nukleäre Rezeptoren besitzen eine modulare Struktur, die durch Anwesenheit von fünf funktionellen Domänen charakterisiert ist. Jede Domäne weist dabei eine spezifische Funktion auf (Abb. 2).



**Abb. 2:** Prinzipieller Aufbau nukleärer Rezeptoren.

Das *N*-terminale Ende des Rezeptors enthält die sogenannte A/B-Domäne mit der ligandenunabhängigen transkriptionellen Aktivierungsfunktion AF-1.

Die Region C stellt die DNA-Bindungsdomäne (DBD) dar. Sie gilt als die am stärksten konservierte Domäne und umfasst etwa 66–70 Aminosäuren<sup>19</sup>. Die DBD enthält zwei Zinkfinger und stellt den Kontakt zu spezifischen nukleotidischen Sequenzen (Response-Element, RE) auf der DNA her. Die Region D fungiert als Verknüpfungselement (auch *Hinge*-Region oder Linker genannt). Die carboxyterminale Region E (LBD: Ligandenbindungsdomäne) ist für die Bindung eines Liganden und für eine mögliche Dimerisierung des Rezeptors verantwortlich. Die LBDs der meisten NRs umfassen eine ligandabhängige transkriptionelle Aktivierungsfunktion (AF-2).

#### 1.1.1.1 Die A/B-Domäne

Die A/B-Domäne nukleärer Rezeptoren zeigt eine starke Varianz in Länge und Sequenz. Diese erstreckt sich zum Beispiel im Vitamin-D-Rezeptor über 23 Aminosäuren, wohingegen der Proteinbereich der A/B-Region des Mineralocorticoid-Rezeptors 602 Aminosäuren umfasst<sup>19</sup>. Diese Region enthält eine Funktion zur Aktivierung der Transkription mit der Bezeichnung AF-1. Studien am Estrogen- bzw. Progesteron-Rezeptor haben deutlich bewiesen, dass die transkriptionellen Aktivitäten der A/B-Domäne vom Zelltyp abhängig ist<sup>20-22</sup>. Obwohl nur wenige peptidische Übereinstimmungen zwischen den Vertretern der NRs vorliegen, wurde nachgewiesen, dass die A/B-Domänen verschiedener nukleärer Rezeptoren ähnliche Eigenschaften haben. Zum Beispiel können peptidische Sequenzen dieser Region lateral als Substrat für MAP-Kinase dienen<sup>23</sup>. Dadurch kann, durch Phosphorylierung der AF-1-Domäne, die Aktivität des Rezeptors mit

dem Zellzyklus und dem Signaltransduktionsmechanismus membranständiger Rezeptoren koordiniert werden.

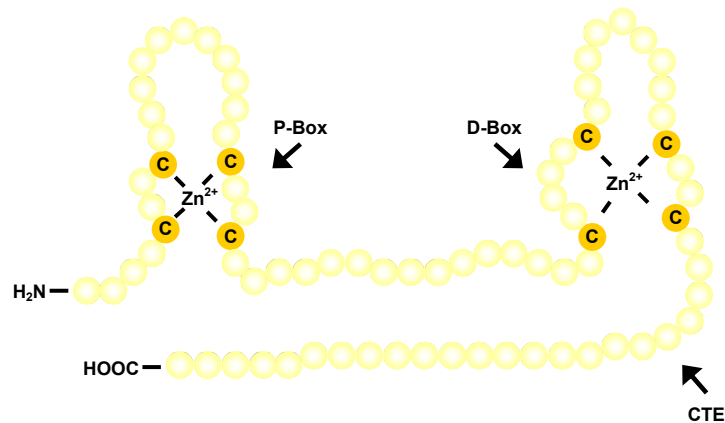
### 1.1.1.2 Die DNA-Bindungsdomäne (DBD)

Die zentral lokalisierte C-Domäne stellt die DNA-Bindungsdomäne (DBD) dar, welche das sogenannte Response-Element (RE) in der Promotor-Region des Targetgens über zwei Zinkfinger erkennt und an die DNA bindet. Sie gilt als die am stärksten konservierte Domäne nukleärer Rezeptoren und umfasst ungefähr 60–70 Aminosäuren und eine carboxyterminale-Extension (CTE) von ungefähr 25 Aminosäuren.

Nukleäre Rezeptoren binden in Form von Monomeren, Heterodimeren oder Homodimeren an die DNA. Diese Bindungsstellen auf der DNA werden als „Hormon-Response-Element (HRE)“ bezeichnet<sup>24</sup>. Die DNA-Bindungsdomäne nukleärer Rezeptoren bindet spezifisch an regulatorische DNA-Sequenzen von Genen. Die DNA-Bindungsdomänen bestehen typischerweise aus einer Abfolge von 6 Basenpaaren (Hexamer; Konsensus: AGGTCA; Abb. 3). Die unterschiedlichen Bindungseigenschaften verschiedener Rezeptoren entstehen dabei durch Variation der Anzahl der Nukleotide (N) zwischen den Hexameren und der Orientierung des Hexamers. Diese DNA-Sequenz kann eine inverse (IRn), eine direkte Wiederholung (DRn) oder everted (ERn) Wiederholung des Nukleotid-Hexamers enthalten. Die Anzahl der Nukleotide zwischen den Hexameren kann zwischen 0 und 7 betragen.

Direkte Repetition (DR)	AGGTCA-----N-----AGGTCA
Everse Repetition (ER)	ACTGGA-----N-----AGGTCA
Inverse Repetition (IR)	AGGTCA-----N-----ACTGGA

**Abb. 3:** DNA Bindungsmotive.



**Abb. 4:** DBD nukleärer Rezeptoren. Innerhalb der beiden Zink-Finger koordinieren jeweils vier Cysteinreste (C) ein Zink-Ion. Die beiden Zink-Finger-Bindungsmotive enthalten die P-Box (Erkennungshelix) und die D-Box (Dimerisierungshelix) und besitzen eine charakteristische U-förmige Faltung.

### 1.1.1.3 Die D-Domäne

Die D-Domäne wird auch als *Hinge*-Region bezeichnet, die die C-Domäne und die Ligandenbindungsdomäne (E-Domäne) miteinander verbindet. Diese sehr flexible Region trägt zur Spezifität und Polarität der Rezeptorbindung an die DNA bei<sup>24</sup>. Die D-Domäne die ihre Konformation nach der Ligandenbindung ändert, ist bei der Korepressorbindung<sup>27</sup>,<sup>28</sup> sowie den Bewegungen zwischen Nukleus und Zytoplasma involviert<sup>29</sup>.

### 1.1.1.4 Die Ligandenbindungsdomäne (LDB)

Die E-Domäne ist eine multifunktionelle Region und wird als Liganden-Bindungs-Domäne (LBD) bezeichnet. Die LBD beschreibt jene Proteinsequenz des Rezeptors, an welche der Ligand bindet, bietet aber auch Bindungsstellen zur Interaktion mit Homo- bzw. Heterodimerisierungspartnern, Korepressoren und Koaktivatoren. Verschiedene Kristallstrukturanalysen zeigen, dass die LBDs verschiedener nukleärer Rezeptoren ähnliche Strukturen aufweisen. Sie bestehen aus 11–13  $\alpha$ -Helices, sind in drei Ebenen organisiert und bilden einen antiparallelen  $\alpha$ -helicalen Sandwich<sup>30-37</sup>. Die ligandenabhängige Aktivierung der LBD erfordert die Anwesenheit eines LXXLL-Motivs (L = Leucin, X = beliebige Aminosäure), welche die Bezeichnung AF-2 und am carboxyterminale Ende des LBD lokalisiert ist. Die ligandabhängige Aktivierung der

Transkription erfordert die Rekrutierung von Koaktivatoren, wobei die AF-2-Domäne eine wesentliche Rolle spielt<sup>38</sup>.

F-Domäne: Die Funktion von F-Domäne ist bisweilen unbekannt<sup>39</sup>

### **1.1.2 Der Wirkmechanismus nukleärer Rezeptoren**

Das Aktionsmodell eines nukleären Rezeptors geht im Allgemeinen von einem inaktiven zytoplasmatischen Rezeptor aus, welcher mit Hitzeschock-Proteinen komplexiert vorliegt. Dieser Komplex wird durch die Bindung eines Liganden aktiviert, welche die Translokation in den Zellkern und die Transkription seiner Zielgene zur Folge hat<sup>27, 41-45</sup>. Um die Transkription ihres Zielgens anzupassen, interagieren die nukleären Rezeptoren mit Koregulatorproteinen. Es wurde gezeigt, dass NRs in Assoziation mit Korepressoren oder Koaktivatoren vorliegen<sup>46,47</sup>. Korepressoren rekrutieren Histon-Deacetylasen (HDAC), welche das Chromatin in einem Zustand halten, der keine Transkription erlaubt<sup>48</sup>. Nach der Bindung eines Liganden verändert der Rezeptor seine Konformation. Als Folge davon dissoziiert der Repressorkomplex vom Rezeptor ab und steht für weitere Wechselwirkungen zur Verfügung.

Des Weiteren können die nukleären Rezeptoren die Transkription über direkte Wechselwirkungen mit anderen Transkriptionsfaktoren regulieren, ein Vorgang, der nicht von der DNA-Bindung des nukleären Rezeptors selbst abhängt<sup>49, 50</sup>.

Unsere Kenntnisse über die Regulierung der genetischen Expression durch nukleäre Rezeptoren haben sich in den letzten Jahren erweitert. Einblicke in die Kristallstruktur der LBD des nukleären Rezeptors ermöglichten es, diejenigen Mechanismen zu identifizieren, durch die der Transkriptionszustand der Zelle verändert wird. Es offenbart sich immer deutlicher, dass die nukleären Rezeptoren eine wichtige Rolle spielen beim Wachstum, bei der Differenzierung, im Metabolismus, in der Reproduktion und der Morphogenese. Der hohe Stellenwert, den nukleäre Rezeptoren in der menschlichen Pathophysiologie einnehmen, spiegelt auch ihre hohe Bedeutung als therapeutisches Target wider. Ein detailliertes Verständnis ihrer Funktion wird eine deutliche Auswirkung auf die Entwicklung neuer Arzneimittel für die Behandlung einer Reihe von Erkrankungen wie Krebs, Diabetes, Atherosklerose oder Adipositas haben.

## 1.2 Peroxisomenproliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs)

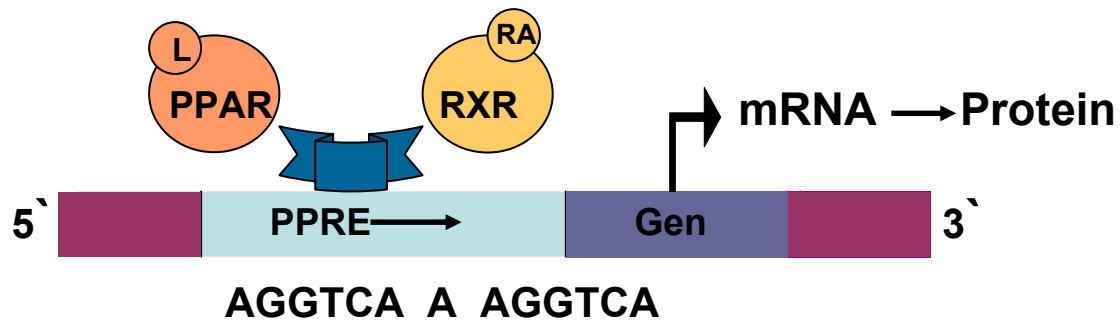
Peroxisomenproliferator-aktivierte Rezeptoren (PPARs) gehören zur Familie der nukleären Rezeptoren (s. Kap. 1.1) und wurden aufgrund phylogenetischer Untersuchungen der Subfamilie I der NRs zugeordnet (s. Kap. 1.1, Tab. 1)<sup>51</sup>. PPARs wirken als ligandabhängige Transkriptionsfaktoren. Sie regulieren die Genexpression, indem sie nach Ausbildung eines heterodimeren Komplexes (s. Abb. 5) mit dem Retinoid-X-Rezeptor (RXR) PPAR-Response-Elemente (PPREs) erkennen, welche in der Promotorregion des Zielgens lokalisiert sind<sup>52</sup>.

Die PPAR-Rezeptoren bilden drei Subtypen:

- PPAR $\alpha$  ist hauptsächlich in den Geweben lokalisiert, die bei der Metabolisierung von Fettsäuren eine Rolle spielen. Beim Menschen, ist PPAR $\alpha$  vorwiegend in der Leber, den Cardiomyocyten, den proximalen Nierentubuli und den Enterocyten exprimiert.
- PPAR $\delta$  (auch PPAR- $\beta$ , NUC-1 oder FAAR genannt) ist ubiquitär verteilt.
- PPAR $\gamma$  liegt beim Menschen in drei Isoformen (PPAR- $\gamma_1$ , PPAR- $\gamma_2$  und PPAR- $\gamma_3$ ) vor. Sie werden in zahlreichen Geweben schwach exprimiert, kommen versteckt im Fettgewebe vor<sup>53</sup>.

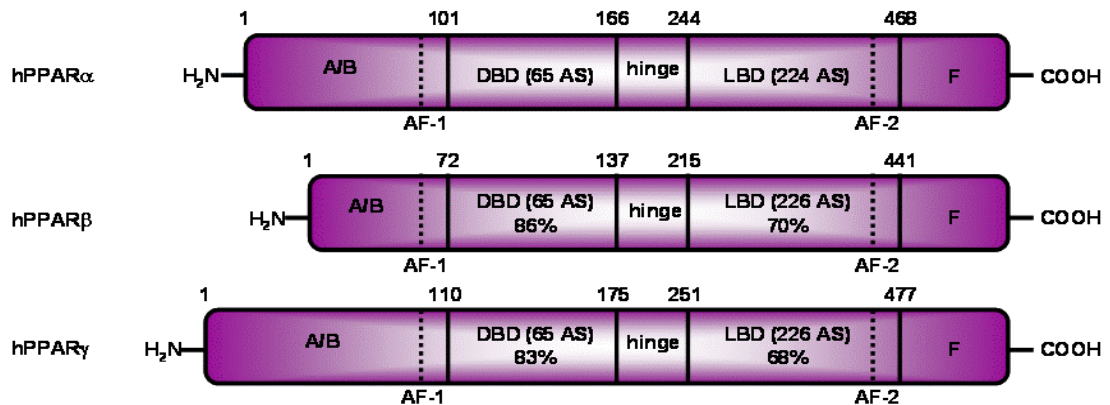
### 1.2.1 Strukturmodel und Funktion der PPARs

PPARs enthalten die typische Struktur nukleärer Rezeptoren, bestehend aus den sechs funktionellen Domänen A/B, C, D und E/F (Abb. 6). Die N-terminale DNA-Bindungsdomäne der PPARs enthält zwei Zink-Finger, die für die Erkennung der spezifischen PPAR-Response-Elemente innerhalb der Promotorregion der Zielgene verantwortlich sind. Die C-terminale Domäne steuert hingegen die ligandabhängige Rezeptoraktivierung und zusätzliche Protein-Protein-Interaktionen. Nach der Aktivierung durch ihre Liganden bilden sie Heterodimere mit dem sogenannten Retinoid-X-Rezeptor (RXR) und binden an definierte Erkennungssequenzen (*Peroxisome Proliferator Response Elements* = PPREs) in der Promotorregion ihrer Zielgene (Abb. 5).



**Abb. 5:** Modifiziert nach<sup>54</sup>. Regulation der Transkription von Targetgenen durch PPARs. Nach Aktivierung durch ihre Liganden „L“ bilden PPARs Heterodimere mit einem anderen nukleären Transkriptionsfaktor, dem „Retinoid-X-Rezeptor“ (RXR). Diese Heterodimere binden in der Promoterregion ihrer Targetgene, deren Transkription sie regulieren. Die entsprechende Konsensussequenz des PPREs kann somit durch die Abfolge 5'-AGGTCA A AGGTCA-3' dargestellt werden und wird auch als DR-1- (*Direct Repeat*) Element bezeichnet.

Das PPRE besteht bei allen drei PPAR-Subtypen aus einer direkten Wiederholung der Basenabfolge AGGTCA, welche durch das Nukleotid Adenin (A) unterbrochen ist (s. Abb. 5). Diese PPREs gehören in die Kategorie der *Direct-Repeat-1*-Sequenzen (DR-1), das heißt, sie bestehen aus zwei Hexanukleotidsequenzen, die durch ein einzelnes Nukleotid getrennt sind. Die übereinstimmende Sequenz der PPREs ist 5'-AGGTNCA A AGGTCA-3'. Nach der Bindung des dimeren Rezeptorkomplexes an PPRE wird die Transkription der entsprechenden Targetgene regulierend beeinflusst (DiRenzo et al. 1997, Dowell et al. 1999, I Jpenberg et al. 1997, Vamecq u. Latruffe 1999, Zamir et al. 1997). Dies wirkt sich in unterschiedlicher Weise auf den Lipidmetabolismus, die Fettsäureaufnahme, die peroxisomale und die mitochondriale Fettsäureoxidation und den Glukosestoffwechsel aus.



**Abb. 6:** Strukturmodell der PPARs.

Die DBD des PPAR $\beta$  zeigt im Vergleich zur DBD des PPAR $\alpha$  eine 86%ige Sequenzübereinstimmung mit der des PPAR $\alpha$ . identisch. Die Sequenz der DBD des PPAR $\gamma$  ist zu 83 % mit der des PPAR $\alpha$  identisch. Der Proteinbereich der DBD aller drei PPAR-Isoformen erstreckt sich über eine Länge von 65 Aminosäuren. Die sich an die DBD anschließende *Hinge*-Region fungiert als Verknüpfungselement für die DBD und die LBD. Die Ligandenbindungsdomäne (LBD) beherbergt eine ligandabhängige transkriptionelle Aktivierungsfunktion (AF-2) und bindet zum einen das entsprechende Hormon bzw. den entsprechenden Liganden. Zum anderen verfügt die LBD der PPARs über Bindungsstellen zur Bindung eines zweiten nukleären Rezeptors, und zwar des Retinoid-X-Rezeptors (RXR). Die Aminosäuresequenz der LBD des PPAR $\beta$  zeigt in Relation zu der des PPAR $\alpha$  eine Übereinstimmung von 70 %, wohingegen die LBD des PPAR $\gamma$  zu 68 % mit der des PPAR $\alpha$  identisch ist. Auch die Länge der Proteinabschnitte der LBDs unterscheidet sich in den einzelnen PPAR-Subtypen. Die LBD des PPAR $\alpha$  besteht aus 224 Aminosäuren, während die LBDs des PPAR $\beta$  und des PPAR $\gamma$  226 Aminosäuren umfassen.

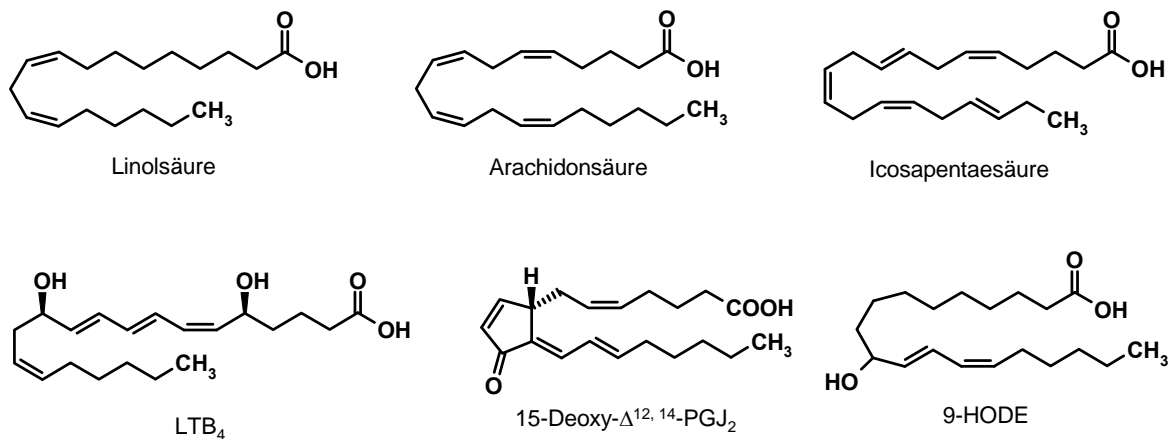
Im Gegensatz zu der relativ hohen Sequenzübereinstimmung zwischen den DBD-Subtypen besteht eine signifikante Sequenzvarianz der einzelnen LBDs bezüglich der Aminosäurereste, die die sogenannte Ligandenbindungstasche (LBP, *Ligand Binding*



*Pocket*) umgeben. Diese Varianz gibt den pharmakologischen Unterschied zwischen den PPAR-Subtypen wieder. Die Funktion der F-Domäne ist bisher unbekannt<sup>55, 56, 57</sup>.

### 1.2.2 Natürliche Liganden der PPARs

PPARs besitzen ein breites Spektrum an natürlichen Liganden<sup>58</sup>. Unter diesen Liganden haben vor allem Fettsäuren eine große Bedeutung für die Aktivierung von PPARs. Hierbei weisen einzelne Fettsäuren unterschiedliche Präferenzen zu den jeweiligen Rezeptorsubtypen auf. PPAR $\alpha$  hat die schwächste Selektivität und erreicht den schlechtesten Sättigungsgrad, während PPAR $\gamma$  eine höhere Affinität für mehrfach ungesättigte Fettsäuren besitzt. Die ungesättigten Fettsäuren Linolsäure, Arachidonsäure und Icosapentaensäure binden an alle drei PPAR-Subtypen mit EC<sub>50</sub>-Werten im mikromolaren Bereich. Andere natürliche Agonisten von PPAR $\alpha$  und PPAR $\gamma$  werden von Arachidonsäurederivaten mithilfe der Cyclooxygenase und der Lipoxygenase abgeleitet. Als Beispiele seien das Leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) und das Icosanoid 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -PGJ<sub>2</sub> genannt. Ferner sind die oxidierten Fettsäuren, die aus der Arachidonsäurekaskade hervorgehen, ebenfalls natürliche Liganden der PPARs.<sup>59</sup>



**Abb. 7:** Natürliche Liganden der PPARs.

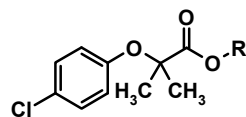
### 1.2.3 Synthetische Liganden der PPARs

Die synthetischen Hauptliganden der PPARs umfassen Prostaglandin-12-Analoga, Leukotrien-B<sub>4</sub>-Analoga, die Antagonisten von Leukotrien D<sub>4</sub>, Antihyperlipidämika (Fibrate), hypolipidämische Substanzen wie Pirinixinsäure, antidiabetische Substanzen wie

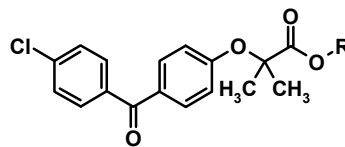
Thiazolidindione, nichtsteroidale antiinflammatorische Substanzen wie Ibuprofen, Carnitin-Palmitoyl-Transferase-I-Inhibitoren und Acyl-CoA-Dehydrogenase-Inhibitoren.

### 1.2.3.1 Selektive PPAR $\alpha$ -Agonisten

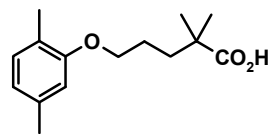
Fibrate wurden erstmals als selektive Liganden von PPAR $\alpha$  identifiziert. Fibrate gehören zur Gruppe der Aryloxyalkancarbonsäurederivate und wurden bereits vor der Entdeckung der PPARs als Lipidsenker (Antihyperlipidämika) mit unbekanntem Wirkungsmechanismus eingesetzt. Als repräsentative Vertreter der Fibrate mit PPAR-agonistischer Aktivität seien im Folgenden Clofibrat, Fenofibrat, Gemofibrozil und Ciprofibrat (s. Abb. 8) genannt. Die EC<sub>50</sub>-Werte von Clofibrat und Fenofibrat sind in Tab. 3 dargestellt.



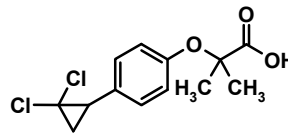
Clofibrat (Prodrug, R=Et)  
Clofibrinsäure (aktiver Metabolit, R=H)



Fenofibrat (Prodrug, R=*i*-Pr)  
Fenofibrinsäure (akt. Metabolit, R=H)



Gemofibrozil



Ciprofibrat

**Abb. 8:** (Selektive) PPAR $\alpha$ -Agonisten: Fibrate.

Clofibrinsäure und Fenofibrinsäure sind aktive Metaboliten der Prodrugs Clofibrat und Fenofibrat. Sie zeigen eine duale PPAR $\alpha$ -/ $\gamma$ -Aktivität jedoch mit einer 10- bis 15-fachen PPAR $\alpha$ -Selektivität. Bezafibrat aktiviert alle drei PPAR-Subtypen in vergleichbaren Dosen und gehört somit eigentlich zur Klasse der PPARpan-Agonisten<sup>57</sup>.

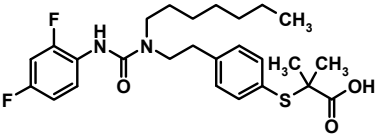
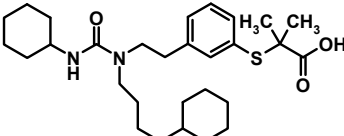
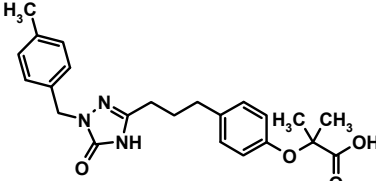
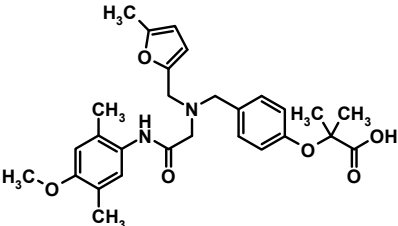
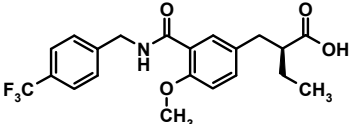
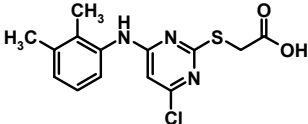
Obwohl Fibrate seit mehr als zwei Dekaden klinisch eingesetzt werden, gab es bis in die 90er-Jahre keine klinischen Studie zu den bekannten PPAR $\alpha$ -Agonisten. Die ersten Untersuchungen zu PPAR $\alpha$ -Agonisten beschäftigten sich mit GW9578<sup>60</sup> und GW7647<sup>61</sup> (s. Tab. 2). Das Phenylsulfanylessigsäurederivat GW9578 ist ein selektiver PPAR $\alpha$ -Agonist mit starker lipidsenkender Wirkung und zeichnet sich durch seinen potenten PPAR $\alpha$ -Agonismus mit 300-facher Selektivität am murinen Rezeptor und 20-facher Selektivität am humanen Rezeptor aus (vgl. Tab. 3)<sup>60</sup>. Auf diese ersten Untersuchungen

folgten Publikationen der Firmen *Lilly* und *Kyorin*. Die Leitsubstanz der Firma *Lilly* ist LY518674, ein Phenoxyessigsäurederivat, das einen heterozyklischen Kern, einen Triazolon-Linker, enthält (s. Tab. 2). Es zeigt ebenso eine selektive PPAR $\alpha$ -Aktivität mit EC<sub>50</sub>-Werten von 42 nM<sup>62</sup>. Das  $\alpha$ -substituierte Phenylpropansäurederivat (KCL) der Firma *Kyorin* ist ebenso ein potenter selektiver PPAR $\alpha$ -Agonist. Im Gegensatz zum *R*-Stereoisomer zeigt jedoch das *S*-Stereoisomer KCL (s. Tab. 2) eine 100-fach höhere PPAR $\alpha$ -Selektivität mit EC<sub>50</sub>-Werten im nanomolaren Bereich (s. Tab.3)<sup>63</sup>.

Die Firma Bayer hat die innovative Struktur des hoch selektiven PPAR $\alpha$ -Agonisten **1** (s. Tab. 2) mit EC<sub>50</sub>-Werten von 0,04–200 nM präsentiert<sup>64</sup>. Diese innovative Struktur ist durch die Einführung verzweigter hydrophober terminaler Reste, welche einen Heterozyklus beinhalten, charakterisiert.

ABT-335, ein selektiver PPAR $\alpha$ -Agonist, ist Abbots firmeneigenes Fenofibrat der nächsten Generation und befindet sich derzeit in klinischen Phase-III-Tests. Sanofi-Aventis testet den selektiven PPAR $\alpha$ -Agonisten AVE8134 in klinischen Phase-II-Studien.

Des Weiteren bildet die Carbonsäure WY 14643 (Pirinixinsäure; s. Tab. 2), deren EC<sub>50</sub>-Werte im mikromolaren Bereich liegen (s. Tab. 3), einen zentralen Bestandteil der Substanzbibliothek selektiver PPAR $\alpha$ -Agonisten<sup>65</sup>. Sie zeichnet sich durch ihren PPAR-aktivierenden Effekt und hypolipidämische Eigenschaften aus.

Name	Struktur	<i>In-vivo</i> -Effekt
GW 9578		↓ LDLc 40-60 %
GW 7647		↓ TG 93 %
LY 518674		↑ HDLc 208 % ↓ TG 96 %
1 Bayer		keine Angabe
KCL		↓ TG 56 % ↓ FF 69 % ↓ GC 35 %
WY 14643		↓ GC 23.5 % ↓ TG 30.9 %

**Tabelle 2:** Selektive PPAR $\alpha$ -Agonisten und deren pharmakologischen *In-vivo*-Effekt. LDLc: *Low Density Lipoprotein Cholesterol*, HDLc: *High Density Lipoprotein Cholesterol*, VLDLc: *Very Low Density Lipoprotein Cholesterol*, FF: Freie Fettsäuren, GC: Gesamt-Cholesterol, TG: Triglyceride.

	Muriner Rezeptor			Humaner Rezeptor			
	EC <sub>50</sub> (μM)			EC <sub>50</sub> (μM)			
	PPARα	PPARβ	PPARγ	PPARα	PPARβ	PPARγ	Lit.
Clofibrat	50	ia bei 100	~500	55	ia bei 100	~500	57
Fenofibrat	18	ia bei 100	250	30	ia bei 100	300	57
Bezafibrat	90	110	55	50	20	60	57
GW 9578	0,005	2.6	1.5	0,05	1.4	1	60
GW 7647	0,001	2.9	1.3	0,006	6.2	1.1	61
LY 518674	keine Angabe			0,042	ia bei 10	ia bei 10	62
<b>1 Bayer</b>	keine Angabe			0.001	1.5	0.1	64
<i>KCL</i> <sup>a</sup>	keine Angabe			0,04	3,6	0,4	63
WY 14643	0,63	ia bei 100	32	5	35	60	57

**Tabelle 3:** Aktivitäten selektiver PPARα-Agonisten. <sup>a</sup>Racemat, ia: inaktiv, Lit.: Literaturstelle.

### 1.2.3.2 Selektive PPARγ-Agonisten

Neben endogenen Liganden, wie z. B. Prostaglandin I<sub>2</sub>, kann PPARγ auch durch synthetische Agonisten aktiviert werden, von denen die Thiazolidindione (TZDs, Glitazone) am bekanntesten sind. Diese Verbindungsklasse wurde Mitte der Neunzigerjahre erstmals als hochaffine, selektive PPARγ-Agonisten identifiziert und basiert auf dem charakteristischen 2,4-Thiazolidindion-Strukturmotiv<sup>66</sup>. Die Thiazolidindion-Derivate erhöhen die Insulinsensitivität in peripheren Organen und senken so die Blutglukose- und Triglyceridspiegel (Schoonjans et al., 2000), weshalb sie als *Insulinsensitizer* bekannt sind.

Zu den wichtigsten Vertretern der TZDs zählen Troglitazon (Rezulin<sup>®</sup>), Pioglitazon (Actos<sup>®</sup>), Rosiglitazon (Avandia<sup>®</sup>) und Ciglitazon. Die Glitazone sind allgemein chemisch charakterisiert durch eine acide Kopfgruppe (Thiazolidindion-Kopfgruppe (s. Abb. 9, bordeaux)), einen zentralen Aryl-Spacer (s. Abb. 9, blau) und einen lipophilen Rest (s. Abb. 9, gelb).

Die aktuell zugelassenen TZDs, Rosiglitazon und Pioglitazon (s. Tab. 4), sind selektive PPARγ-Agonisten und zeigen keine Affinität zu PPARα und PPARδ. Die Wirkstoffe werden als Racemate eingesetzt, wirksam ist jedoch nur S-Enantiomer.

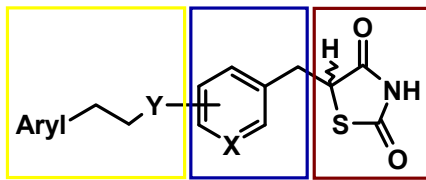


Abb. 9: Prinzipielle Struktur selektiver TZD-PPAR $\gamma$ -Agonisten<sup>67</sup>.

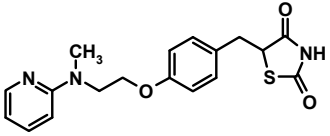
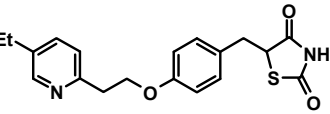
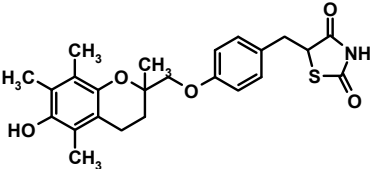
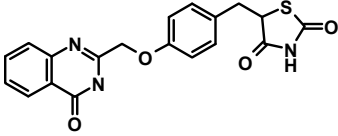
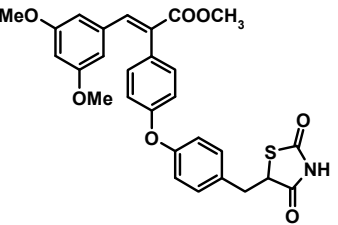
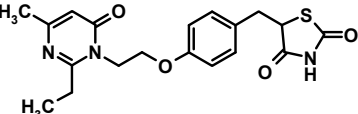
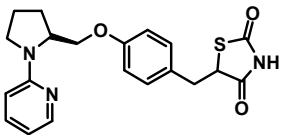
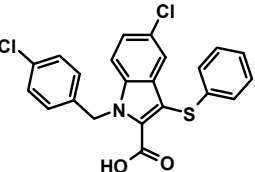
Das erste, im Jahr 1997 in den USA zugelassene TZD Troglitazon wurde durch die FDA bereits 2000 aufgrund schwerer hepatischer Nebenwirkungen vom Markt genommen. Dem Wirkstoff wurden weltweit mehr als 130 berichtete Fälle von fulminantem Leberversagen zugeschrieben, davon sechs mit mortalem Ausgang. Die anderen Glitazone wie Rosiglitazon und Pioglitazon zeigten in klinischen

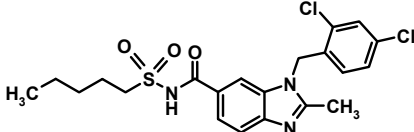
Studien erhöhte Werte für die Leberenzyme, insbesondere die Alanin-Aminotransferase (ALT), bis zum oberen Grenzwert hin, während der ALT-Grenzwert bei Troglitazon um 300 % überschritten wurde. Für die Hepatotoxizität spielen vermutlich die  $\alpha$ -Tocopherol-Partialstruktur des Troglitazons sowie eine Interaktion mit der Cytochrom-P450-Isoform 3A4, welches teilweise für die Elimination verantwortlich ist, eine Rolle<sup>68</sup>.

Obgleich Glitazone die Panazee für die Behandlung von Diabetes mellitus Typ II, Atherosklerose und andere chronisch entzündliche Prozessen sein könnten, gibt es Nebenwirkungen, die ihren Gebrauch begrenzen. Die wichtigsten Nebenwirkungen sind Erhöhung des viszeralen Fettgewebes, Flüssigkeitsretention und Hämodilution, was zu kongestiver Herzinsuffizienz führen kann<sup>69</sup>. Zur Vermeidung dieser unerwünschten Nebenwirkungen der TZDs besteht ein großes Interesse an neuen partiellen PPAR $\gamma$ -Agonisten. Die Mehrheit dieser PPAR $\gamma$ -Agonisten ist durch eine Varianz in der aciden Kopfgruppe charakterisiert, wodurch sie sich von der Thiazolidindion-Partialstruktur der Glitazone unterscheiden. Ein heterozyklisches N-Atom im Bereich des lipophilen Restes der Verbindungen geht mit einer Verbesserung der PPAR $\gamma$ -Affinität einher. Dies lässt vermuten, dass das Heteroatom an Wasserstoffbrückenbindungen zu einem spezifischen Aminosäurerest der PPAR $\gamma$ -LBD beteiligt ist.

Bei Balaglitazon (DRF 2593; s. Tab. 4), einem partiellen PPAR $\gamma$ -Agonisten, welcher sich in der klinischen Phase-III-Prüfung befindet und eine den TZDs ähnliche Struktur aufweist, ist die Affinität zum Rezeptor um ungefähr 80 % schwächer als bei Rosiglitazon<sup>70</sup>. Verglichen mit dem Avandia-Produkt, Rosiglitazon, zeigt Balaglitazon in einer Tierstudie ein besseres kardiovaskuläres Sicherheitsprofil. Ferner verbesserte es den Blutzuckerspiegel bei Mäusen. DRF2593 befindet sich bei der Dr. Reddy's Research Foundation und der Firma Novo Nordisk in der Entwicklung.

Ähnliche Affinitäten zu PPAR $\gamma$  zeigen auch die Verbindungen CLX-0921 von der Firma Calyx Therapeutics, PMT13 von der Discovery Chemistry Group of Dr. Reddy's Research Foundation und PAT5A. CLX-0921 befindet

Name	Struktur	hPPAR $\alpha$	hPPAR $\beta$	hPPAR $\gamma$	Literatur
		EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	
Rosiglitazon		ia	Ia	0.043	42
Pioglitazon		ia	Ia	0.58	42
Troglitazon		ia	ia	0.55	42
Balaglitazon					70
CLX-0921		nb	nb	0.284	72
PMT13			nb		
PAT5A		0.25	nb	0.50	73
nTZDpa		kein Agonist	kein Agonist	0.057	74

FK 614		na	na	na	75
--------	---	----	----	----	----

**Tabelle 4:** Aktivitäten selektiver PPAR $\gamma$ -Agonisten. ia: inaktiv bei 10  $\mu$ M, nb: nicht bestimmt, na: nicht angegeben.

sich in klinischen Phase-II-Studien. CLX-0921 senkt in Tiermodellen für Typ-2-Diabetes die Blutglukosekonzentration, verursacht aber keine Hypoglykämie in der Kontrollgruppe (nicht diabetisches Tiere). Es fungiert als *Insulinsensitizer* und ist vermutlich bereits bei niedriger Konzentration wirksam. Obgleich CLX-0921 ebenso stark wie Rosiglitazon die Blutglukose senkt, ist es deutlich weniger adipogen als Rosiglitazon. In den verschiedenen Tiermodellen ist für CLX-0921 gezeigt worden, dass es die Seruminsulin- und -lipidspiegel, einschließlich der Triglyceridspiegel und der Konzentration an freien Fettsäuren, erheblich zu verringert<sup>71,72</sup>.

Ein weiteres neues, chemisch eindeutiges Non-TZD-Derivat ist PAT5A, ein ungesättigtes TZD (s. Tab. 4). Dessen Fähigkeit, PPAR $\gamma$  zu aktivieren, ist gering, jedoch vergleichbar mit der von Rosiglitazon. Die sensibilisierenden Effekte von PAT5A entsprechen der des Insulins<sup>73</sup>.

Die Charakterisierung eines anderen partiellen Non-TZD-PPAR $\gamma$ -Agonisten, (nTZDpa), ein potenter selektiver PPAR $\gamma$ -Modulator, verlief erfolgreich (s. Tab. 4)<sup>74</sup>. Die chronische Behandlung von diabetischen Mäusen mit nTZDpa zeigte positive Effekte bezüglich Hyperglykämie und Hyperinsulinämie. Außerdem änderte sich durch die Bindung von nTZDpa an PPAR $\gamma$  sowohl die konformative Stabilität des Proteins als auch die betroffene Genexpression, verglichen mit TZD-Agonisten.

FK614, das zur Klasse der Benzimidazole gehört, ist ein selektiver Non-TZD-PPAR $\gamma$ -Modulator. Es zeigt eine insulinsensitivierende Wirkung<sup>75</sup> und befindet sich in klinischen Phase-II-Untersuchungen.

### 1.2.3.3 Duale PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten

Die Forschungen in diesem Bereich haben zu der Entwicklung von Molekülen geführt, die sowohl PPAR $\alpha$  als auch PPAR $\gamma$  aktivieren und auf diese Weise die Lipideffekte eines PPAR $\alpha$ -Agonisten mit den insulinsensibilisierenden Effekten eines PPAR $\gamma$ -Agonisten kombinieren konnten. Diese neue Wirkstoffklasse soll die Vorteile von zwei bekannten Wirkstoffklassen in sich vereinen. Insulinsensitizer (auch Glitazone), die auf PPAR $\gamma$



wirken, verringern die Insulinresistenz und wirken dadurch antidiabetisch. Fibrate beeinflussen PPAR $\alpha$  und werden bei Fettstoffwechselstörungen eingesetzt, da das „gute“ HDL-Cholesterin erhöhen und die Triglyceridkonzentration (Fette) im Blut senken. Die Verbindung beider Wirkprinzipien gegen Diabetes und Fettstoffwechselstörungen in einem Medikament ist für Pharma-Unternehmen eine attraktive Idee, denn viele Typ-2-Diabetiker haben auch erhöhte Blutfettwerte, d. h., sie leiden an einem metabolischen Syndrom.

Duale PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Agonisten, welche trotz geringer struktureller Verwandtschaft auch unter der Bezeichnung Glitazare bekannt sind, aktivieren sowohl den  $\alpha$ -Subtyp als auch den  $\gamma$ -Subtyp des Peroxisomenproliferator-aktivierten Rezeptors.

Ragaglitazar, Muraglitazar (Pargluva<sup>®</sup>), Tesaglitazar (Galida<sup>®</sup>), Naveglitazar, TAK-559 und MK0767 sind in klinischen Phase-II- oder Phase-III-Studien für die Behandlung von Diabetes getestet worden. Aber die meisten Studien wurden wegen Gesundheitsrisiken eingestellt (s. Tab.5)<sup>76</sup>.

Der erste literaturbekannte duale PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Agonist war das TZD-Derivat MK 0767 (auch als KRP 297 bekannt; s. Tab. 5), welches hPPAR $\alpha$  und hPPAR $\gamma$  annähernd gleichermaßen aktiviert [ $EC_{50}$  (hPPAR $\alpha$ ) = 0,15  $\mu$ M,  $EC_{50}$  (hPPAR $\gamma$ ) = 0,08  $\mu$ M]<sup>77</sup>.

TAK-559<sup>78</sup> ist ein Phenylbutansäurederivat, das in  $\gamma$ -Position zur Carboxylgruppe substituiert ist und sich dadurch von anderen dualen PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Agonisten unterscheidet, die normalerweise  $\alpha$ - oder  $\beta$ -substituiert sind.

Ragaglitazar, Tesaglitazar und Naveglitazar wurden als Phenylpropansäurederivate mit dualer PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Aktivität beschrieben. Das  $\alpha$ -Ethoxy- $\beta$ -phenylpropansäurederivat Ragaglitazar (DRF 2725; s. Tab. 5) trägt eine Phenoxazin-Gruppe als lipophilen Rest. Ragaglitazar transaktiviert beide PPAR-Subtypen mit  $EC_{50}$ -Werten von 0,98  $\mu$ M (hPPAR $\alpha$ ) und 0,09  $\mu$ M (hPPAR $\gamma$ ).<sup>79</sup>

Astra Zeneca hat am 4. Mai 2006 bekannt gegeben, dass es die Entwicklung von Tesaglitazar nicht weiterverfolgen wird. Hauptgrund ist, dass die Nierenfunktion durch Tesaglitazar vorübergehend herabgesetzt wurde. Astra Zeneca wird aber weiter an Medikamenten dieser Substanzklasse forschen. Tesaglitazar (s. Tab. 5), welches zur Klasse der  $\alpha$ -Ethoxy- $\beta$ -phenylpropansäurederivate gehört, fungiert ebenso als dualer PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Aktivator mit  $EC_{50}$ -Werten von 1,2  $\mu$ M (hPPAR $\alpha$ ) bzw. 1,3  $\mu$ M (PPAR $\gamma$ ).<sup>80</sup>

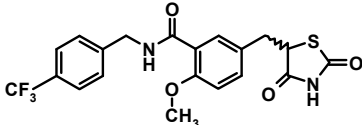
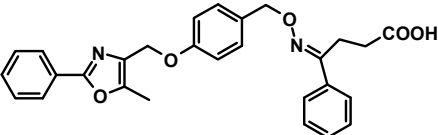
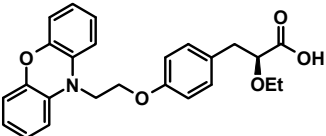
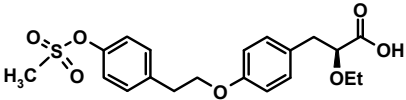
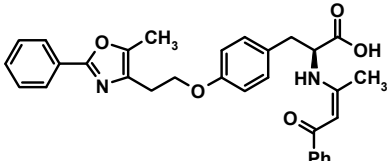
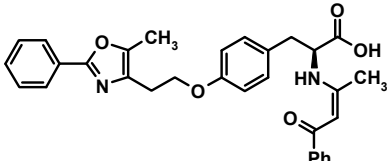
Muraglitazar (BMS 298585) ist ein Oxybenzylglycin-Derivat und zeigt eine potente duale Aktivität bei PPAR $\alpha$  und bei PPAR $\gamma$  (s. Tab. 5).<sup>81</sup>

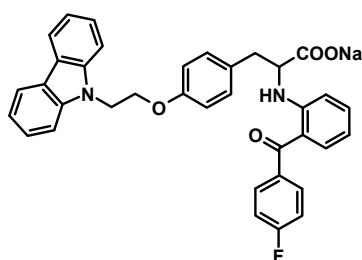
Die Hersteller Bistol Myers Squibb und Merck (USA) haben bereits die Zulassung von Muraglitazar bei der US-Zulassungsbehörde FDA beantragt. Diese ist allerdings ins

Stocken geraten, weil eine Studie auf eine möglicherweise erhöhte Gefahr für kardiovaskuläre Ereignisse wie Herzinfarkt oder Schlaganfall hingewiesen hat.

Zurzeit befindet sich das Medikament Naveglitazar der Firma Lilly in früheren Untersuchungsphasen. Daher gibt es noch keine weiteren Informationen über die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Naveglitazar. Naveglitazar ist wie andere Glitazare, Tesaglitazar und Ragaglitazar, ein  $\alpha$ -methoxysubstituiertes *p*-Hydroxycarbonsäurederivat, dessen *R*-Enantiomer eine gute duale PPAR $\alpha/\gamma$ -Aktivität besitzt.<sup>82</sup>

Chigitazar (s. Tab. 5), welches zur Klasse der *p*-Hydroxyphenylpropansäurederivate gehört befindet sich derzeit in klinische Phase II-Untersuchungen.<sup>83</sup>

Struktur	hPPAR $\alpha$ EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	hPPAR $\gamma$ EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Status
	0,15	0,08	2006 eingestellt
	0,06	0,03	2005 eingestellt
	0,98	0,09	2004 eingestellt
	1,2	1,3	2006 eingestellt
	2,86	0,36	befindet sich noch in früheren Untersuchungs-Phasen
	0,32	0,11	2006 eingestellt



1,2

0,08

Phase II

**Tabelle 5:** Duale PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten

### 1.2.4 Das Pharmakophormodell der PPAR-LBDs

Im Vergleich zu natürlichen PPAR-Liganden können synthetische Liganden so konzipiert werden, dass sie verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften haben, beispielsweise eine erhöhte metabolische Stabilität und verbesserte orale Bioverfügbarkeit.

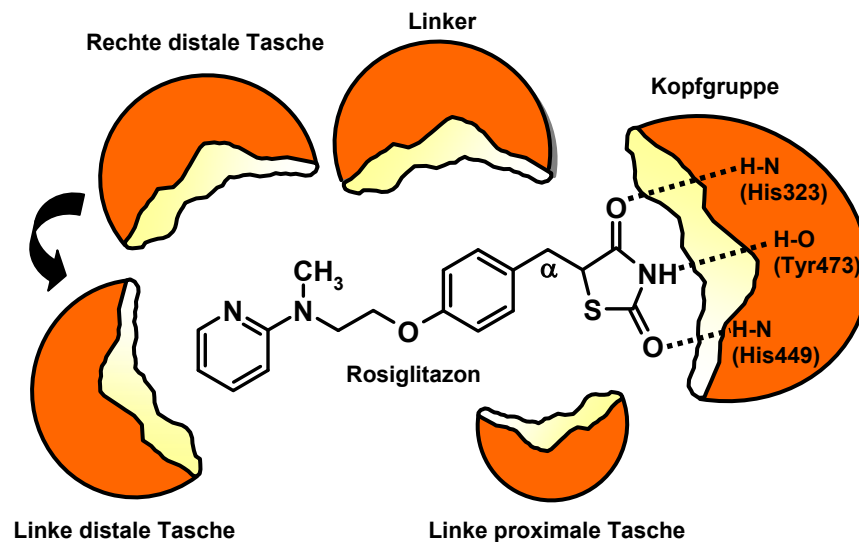
Alle synthetischen PPAR-Liganden, die im Kapitel 1.2.3 vorgestellt wurden, weisen gemeinsame Strukturelemente auf, die für die Bindung an die LBD des Rezeptors notwendig sind. Mithilfe verschiedener Kristallstrukturen von Ligand-PPAR-LBD-Komplexen sind wertvolle Einblicke in den molekularen Mechanismus der Rezeptoraktivierung möglich. Die Kristallstrukturen dienen als Grundlage für ein Pharmakophormodell, welches das Designen neuer Liganden mit gezielt beeinflusstem Selektivitätsprofil erleichtert.

Die meisten PPAR-Agonisten sind chemisch durch eine acide Kopfgruppe, einen zentralen Aryl-Spacer und einen lipophilen Rest charakterisiert (s. Abb. 9). Die Ligandenbindungstasche (LBP, *Ligand Binding Pocket*) der PPARs zeigt eine charakteristische T-Form, wird von den Helices 3, 5, 7, 11 und 12 flankiert und hat ein Volumen von  $\sim 1300 \text{ \AA}^3$ .<sup>84</sup> Pirard et al. etablierten unter Anwendung der GRID/CPCA-Strategie<sup>85</sup> und unter Zuhilfenahme von 14 PPAR-LBD-Kristallstrukturen<sup>37,86</sup> ein Pharmakophormodell.

Die GRID-Strategie beschreibt eine rechnerische Methode, welche Anhaltspunkte zum Design von Wirkstoffen bezüglich hoher Selektivität an einzelnen Rezeptorsubtypen liefert. Das Computerprogramm GRID charakterisiert 3-D-Strukturen von Targetproteinen und berechnet für funktionelle Gruppen eines potentiellen Liganden günstige Positionen in Proteinbindungstaschen.

Die LBPs der PPARs sind strukturell in fünf Ligand-Bindungstaschen gegliedert (s. Abb. 10):

- die Bindungstasche der hydrophilen Kopfgruppe, welche den Liganden durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert.
- die Bindungsregion des Linkers, welche formal zwischen der Kopfgruppe und der rechten distalen Bindungstasche lokalisiert ist.
- die linke distale Bindungstasche.
- die rechte distale Bindungstasche.
- die linke proximale Bindungstasche, welche für lipophile Wechselwirkungen mit in  $\alpha$ -Position zur aciden Kopfgruppe positionierten Resten verantwortlich ist.

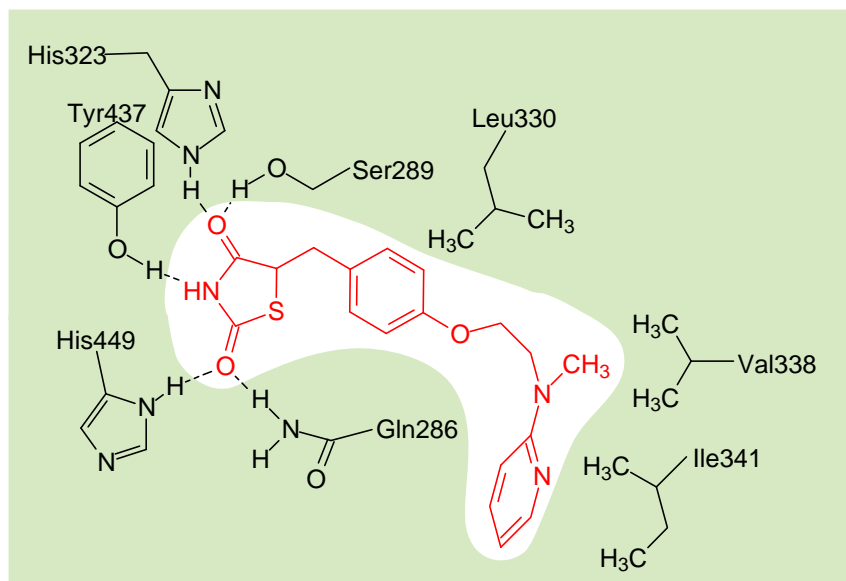


**Abb. 10:** Pharmakophormodell von PPAR-Agonisten am Beispiel des selektiven PPAR $\gamma$ -Agonisten Rosiglitazon. Die TZD-Kopfgruppe bildet charakteristische Wasserstoffbrücken mit den Aminosäuren Ser289 (nicht eingezeichnet), His323, His449 und Tyr473 der PPAR $\gamma$ -LBD aus. NH- bzw. OH-Gruppen der Aminosäuren Tyr und His fungieren als Wasserstoffdonoren. Modifiziert nach Syha<sup>67</sup>

Aus dem von *Pirard* vorgeschlagenen Pharmakophormodell kann somit ein Selektivitätsprofil erstellt werden. Alle PPAR-Liganden besetzen zunächst drei der fünf Bindungstaschen der LBD: die Bindungstasche der Kopfgruppe, die Bindungsregion des Linkers und die linke distale Bindungstasche. Die linke proximale Bindungstasche wird nur von PPAR $\alpha$ - und PPAR $\gamma$ -Liganden besetzt, wohingegen die rechte distale Bindungstasche ausschließlich von PPAR $\beta$  und PPAR $\gamma$ -Liganden okkupiert wird. Das Selektivitätsprofil wird durch die distalen LBP bestimmt.

Durch Kristallstrukturanalysen konnte gezeigt werden, dass sowohl die Carbonylgruppe der TZD-Kopfgruppe des selektiven PPAR $\gamma$ -Agonisten Rosiglitazon (s. Abb. 10 und Abb.

11 ) als auch die Carboxylgruppe des selektiven PPAR $\gamma$ -Agonisten Farglitazar (vgl. Tab. 4) Wasserstoffbrücken zu den Resten His323 und His449 der hPPAR $\gamma$ -LBD ausbilden.<sup>37,87</sup> Die Wasserstoffbrücke zwischen der Carboxylgruppe des dualen PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten Tesaglitazar (vgl. Tab. 5) und des Restes Tyr464 der AF-2-Helix der PPAR-Subtypen  $\alpha$  und  $\gamma$  – ein gemeinsames Charakteristikum aller Agonist-PPAR-LBDs-Kokristallisate – ist für die Stabilisierung der aktiven AF-2-Helixkonformation, welche zur Rekrutierung von Koaktivatoren führt, verantwortlich.<sup>87, 88</sup>



**Abb. 11:** Bindung von Rosiglitazon an die hPPAR $\gamma$ -LBD Steinhilber, Schubert-Zsilavec, Roth

**Medizinische Chemie: Targets und Arzneistoffe**

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft 2005

## 1.2.5 Klinische Implikationen von PPAR-Agonisten

### 1.2.5.1 Entzündung – PPAR $\alpha$

Sowohl PPAR $\gamma$  als auch PPAR $\alpha$  nehmen regulierende Funktionen in Entzündungsprozessen im Sinne eines antiphlogistischen Effektes ein. So wurde beispielsweise herausgefunden, dass der Entzündungsmediator Leukotrien B<sub>4</sub> ein Ligand von PPAR $\alpha$  ist. Dieser scheint in der Lage zu sein, durch Induktion des PPAR $\alpha$  und der dadurch vermittelten vermehrten  $\beta$ -Oxidation seinen eigenen Metabolismus zu aktivieren. In Übereinstimmung damit zeigten PPAR $\alpha$ -defiziente Mäuse eine verlängerte Entzündungsantwort. Weiterhin scheinen sowohl PPAR $\alpha$  als auch PPAR $\gamma$  ihre

antiphlogistische Rolle über eine Downregulation der Aktivität verschiedener Transkriptionsfaktoren, wie z. B. *Signal Transducer and Activator of Transcription* (STAT), und eine verminderte Produktion proinflammatorischer Interleukine zu bewirken.<sup>89</sup> Zum Abschluss sei erwähnt, dass die Aktivierung der PPARs durch Fenofibrat oder nichtsteroidale Antiphlogistika, die beide als PPAR-Liganden identifiziert wurden, zum antiphlogistischen Effekt dieser Substanzen beisteuert.

#### **1.2.5.2 Atherosklerose – PPAR $\alpha$**

Die Atherosklerose ist ein lokaler, unspezifischer inflammatorischer Prozess, der von einer systemischen Antwort begleitet wird. Für eine Expression der für die Atherosklerose bedeutsamen Gene, ist diejenige von PPAR $\alpha$  in glatten Gefäßmuskelzellen, Endothelzellen und Monozyten entscheidend. In Endothelzellen führen PPAR $\alpha$ -Aktivatoren zu einer Hemmung der zytokinabhängigen VCAM-1-Expression (*Vascular Cell Adhesion Molecule*).<sup>90</sup> Dieser Prozess wird durch die Inhibierung des NF- $\kappa$ B-Signaltransduktionsweges mittels PPAR $\alpha$ -Agonisten vermittelt.

Staels et al. konnten erstmals antiinflammatorische Aspekte von PPAR $\alpha$ -Aktivatoren nachweisen. So führten Fibratderivate über eine PPAR $\alpha$ -Aktivierung in glatten Muskelzellen zu einer Reduktion der IL-1-abhängigen IL-6-Freisetzung und bewirkten eine verminderte Synthese von Prostaglandin und Cyclooxygenase-2.<sup>91</sup> Marx et al. konnten mithilfe eines *In-vitro*-Adhäsionsassays zeigen, dass die Adhäsion von monozytoiden Zellen nach einer PPAR $\alpha$ -Aktivierung durch Fenofibrat und WY14643, einem weiteren PPAR $\alpha$ -Aktivator, reduziert ist zeigen. In frühen Stadien der Atherogenese könnte Fenofibrat somit protektiv wirksam sein<sup>92</sup> und die Adhäsion und konsekutive Migration von Leukozyten in die Gefäßwand modulieren.

Ferner hemmen PPAR $\gamma$ -Aktivatoren die Migration glatter Gefäßmuskelzellen und induzieren die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO).

#### **1.2.5.3 Metabolisches Syndrom – PPAR $\alpha$**

Unter dem metabolischen Syndrom (auch Syndrom X, metabolische Triade genannt) versteht man ein miteinander einhergehendes Auftreten von Typ-2-Diabetes, Bluthochdruck und Übergewicht.

Adipositas, besonders abdominelle Adipositas, ist mit Insulinresistenz vergesellschaftet und führt häufig zu Diabetes mellitus Typ 2. Die Hyperinsulinämie, die in Folge von Insulinresistenz auftritt, bewirkt in vielen Fällen eine Blutdruckerhöhung und Plasmalipidstörungen. Beide Faktoren erhöhen das Risiko für Atherosklerose (Kaplan, 2003). PPAR $\alpha$  ist Angriffspunkt der Fibrate, die als Lipidsenker positive Effekte auf das metabolische Syndrom und die koronare Herzkrankheit haben<sup>93</sup>. Auch eine von der Lipidsenkung unabhängige insulinsensitivierende Wirkung von PPAR $\alpha$  in übergewichtigen (*ob/ob*) Mäusen und diabetischen (ZDF) Ratten wurde beschrieben<sup>94</sup>. Der selektive PPAR $\alpha$ -Agonist, WY14643, war in fettgefütterten Wistar-Ratten ähnlich effektiv wie Pioglitazon in der Senkung von Plasma-Glucose- und -triglycerid-Konzentrationen, bewirkte aber keine Gewichtszunahme und verringerte den viszeralen Fettanteil<sup>95</sup>.

Als PPAR $\alpha$ -Aktivatoren sind unter anderem die Fibrat-Abkömmlinge Fenofibrat® und Gemfibrozil® bei Hyperlipoproteinämie (Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie) indiziert (vgl. Kap. 1.2.3.1). Diese Substanzen bewirken vor allem eine Senkung der Serum-Triglycerid-Spiegel. In einer Reihe von klinischen Studien wurde gezeigt, dass PPAR $\alpha$ -Aktivatoren einen positiven Einfluss auf kardiovaskuläre Ereignisse ausüben und das Fortschreiten von Atherosklerose verlangsamen.

#### **1.2.5.4 Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM) – PPAR $\gamma$**

Typ-2-Diabetes ist ein heterogenes Krankheitsbild, welches primär durch Insulinresistenz und im weiteren Verlauf auch durch eine gestörte Insulinsekretion gekennzeichnet ist. Beim Typ-2-Diabetes kommen PPAR $\gamma$ -Agonisten therapeutisch zum Einsatz. Mit der Gruppe der Thiazolidindione sind jetzt erstmals solche Substanzen verfügbar, bei denen es im Gegensatz zu den Sulfonylharnstoffen nicht zu einer Stimulation der Insulinsekretion kommt. Vielmehr wird die Utilisation von Glucose im Fettgewebe erhöht und die zur Insulinresistenz beitragende Freisetzung von Mediatoren aus den Fettzellen etwa von TNF $\alpha$  verringert. Während die erste Substanz, die in den USA und in Japan erhältlich war, das Troglitazon (Rezulin®), wegen hepatotoxischer Eigenschaften wieder vom Markt genommen wurde, ist jetzt die „2. Generation“ dieser Präparategruppe – auch in Deutschland – im Einsatz. Diese verursacht keine toxischen Effekte auf die Leber. Klinische Studien zu T2DM bestätigten die Wirksamkeit der TZDs: Sie erhöhen die Insulinsensitivität, aktivieren periphere, kleine Adipozyten, verringern die Plasmakonzentrationen freier Fettsäuren und verteilen intrazelluläres Fett von Leber und

den Muskeln in periphere Adipozyten um<sup>96</sup>. Thiazolidindione steigern die Lipolyse von Triglyceriden in Very-low-density-Lipoproteinen (VLDL), reduzieren die Triglycerid- und erhöhen die HDL-Cholesterin-Spiegel. Pioglitazon (Actos<sup>®</sup>) und Rosiglitazon (Avandia<sup>®</sup>; vgl. Kap. 1.2.3.1) bewirken dosisabhängig eine Senkung der Plasma-Glukose-Konzentration um bis zu ~40 mg/dl sowie des HbA<sub>1c</sub> um 0,3 bis 1,5 %, und werden klinisch auch in Kombination mit Metformin und/oder Sulfonylharnstoffen eingesetzt.

#### **1.2.5.5 Dyslipidämie – PPAR $\gamma$**

Die diabetische Dyslipidämie manifestiert sich in einer Erhöhung der Plasmatriglyceride, einer Verminderung des HDL-Cholesterins sowie dem gehäuften Auftreten von kleinen LDL-Cholesterinpartikeln mit hoher atherogener Potenz. In einer vor kurzem publizierten Metaanalyse verglichen DeFronzo und Mitarbeiter die Wirkung der beiden erhältlichen Glitazone auf die Lipidspiegel<sup>97</sup>. Aufgrund der PPAR- $\gamma$ -Stimulation senkt Pioglitazon signifikant die Triglyceridspiegel und erhöht das HDL-Cholesterin, während das LDL-Cholesterin unbeeinflusst bleibt. Bezüglich der notwendigen Wirkstärke konnte bereits vor Längerem gezeigt werden, dass mit einer signifikanten Steigerung des HDL-Cholesterins ab einer Pioglitazondosis von 30 mg und einer Senkung der Triglyceride ab 45 mg pro Tag (das ist die maximale zugelassene Tagesdosis) zu rechnen ist. Rosiglitazon erhöht das HDL-Cholesterin und geringfügig das LDL-Cholesterin, wobei es aber zu einer Verschiebung in Richtung größerer, weniger atherogener LDL-Partikel kommt. Bezüglich der Triglyceride ist Rosiglitazon neutral<sup>98</sup>.

### **1.3 Lipoxygenasen**

Lipoxygenasen (LOX) stellen eine heterogene Familie der lipidperoxydierenden Enzyme dar; sie sind weit verbreitet in Pflanzen und Säugetiere, aber auch in Pilzen und in Evertebraten<sup>99, 100</sup>. Vor kurzem ist es auch in Bakterien entdeckt worden<sup>101, 102</sup>. Die 15-LOX wurde als erste niedrige LOX-Form charakterisiert und in der Sojabohne (Theorell, 1947) lokalisiert. Das erste Säugetier-LOX identifizierten Hamberg et al. 1974 in den menschlichen Plättchen. Kurz danach entdeckten Borgeat et al. (1976) das erste Säugetier-5-LOX in den Kaninchenleukozyten.

Diese Dioxygenasen katalysieren bei der Umsetzung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren, welche ein oder mehrere (Z,Z)-1,4-Pentadien-Anteile enthalten, zu



Hydroperoxiderivaten die regio- und stereospezifische Einführung des molekularen Sauerstoffes. Sie erfordern ein „Non-Häm“-Eisenatom pro Molekül, das zwischen der inaktiven  $\text{Fe}^{2+}$ -Form und der aktiven  $\text{Fe}^{3+}$ -Form oszilliert. Im Allgemein anerkannten LOX-Reaktionsmechanismus fungiert das Eisen während der Wasserstoffeliminierung und der Bildung von Peroxiden als Elektronakzeptor und -donor. Im Tierreich sind zurzeit vier Hauptisoformen bekannt. Sie schließen die 5-, die 8-, die 12- und die 15-LOX mit ein. Historisch, werden diese entsprechend ihrer Regioselektivität, die sie bei der Oxidation von Arachidonsäure (AA), ihrem Hauptsubstrat, ausüben, eingestuft. Die verschiedenen Subtypen unterscheiden sich des Weiteren in ihrer Gewebeverteilung sowie ihrer Substratspezifität<sup>103</sup>.

### **1.3.1 5-Lipoxygenase (5-LOX)**

Die Existenz der 5-LOX wurde 1976 von Borgeat und Mitarbeiter<sup>104</sup> postuliert, die die Umwandlung von AA in 5-HETE entdeckten. Ende der 70er-Jahre gelang die Strukturaufklärung der wichtigsten Metaboliten des 5-LO-Weges, der Leukotriene, durch Samuelsson et al.<sup>105</sup>. Wegen ihrer in reiner Form extremen Instabilität (humane 5-LOX: HWZ 45 min bei 37 °C<sup>106</sup>) gelang die Isolierung des Enzyms erst relativ spät Mitte der 80er-Jahre<sup>107</sup>.

5-Lipoxygenase ist ein lösliches, monomeres Enzym mit einem Molekulargewicht von über 78 kDa, das ein „Non-Häm“ Eisenatom enthält. Diesem kommt eine zentrale Rolle im katalytischen Mechanismus zu. Das Enzym katalysiert die Addition von molekularem Sauerstoff an die Arachidonsäure und damit die Bildung des Allylepoxids  $\text{LTA}_4$  in zwei Schritten (Ford-Hutchinson et al., 1994; Samuelsson, 1983).

Im ersten Schritt wird dabei in einer stereospezifischen Reaktion, an der die Reduktion des Eisen-Ions im aktiven Zentrum beteiligt ist, ein Wasserstoffatom von Position  $\text{C}_7$  der Arachidonsäure abstrahiert. Durch die Anlagerung von Sauerstoff an das  $\text{C}_5$ -Atom entsteht 5-HPETE (5-(S)Hydroperoxy-6,8,11,14 (E,Z,Z,Z)-icosatetraensäure (Abb. 12). In einer zweiten Redoxreaktion wird durch Eliminierung eines Wasserstoffatoms am  $\text{C}_{10}$  der 5-HPETE das Epoxid  $\text{LTA}_4$  gebildet.  $\text{LTA}_4$  wird dann unter Katalyse von  $\text{LTA}_4$ -Hydrolase zu  $\text{LTB}_4$  umgewandelt. Durch Konjugation von Glutathion entstehen dagegen die Peptidleukotriene  $\text{LTC}_4$ ,  $\text{LTD}_4$  und  $\text{LTE}_4$ , die auch Cysteinyl-Leukotriene genannt werden (Abb. 12). 5-Lipoxygenase wird dabei ständig durch Fettsäurehydroperoxide von der inaktiven  $\text{Fe}^{2+}$ -Form in die aktive  $\text{Fe}^{3+}$ -Form umgewandelt. Die Aktivierung der 5-

Lipoxygenase erfolgt in intakten Zellen durch eine erhöhte Ca-Ionen-Konzentration und Anlagerung des Enzyms an die Kernmembran. Verantwortlich für die Translokation der 5-LOX ist das Membranprotein *Five Lipoxygenase Activating Protein*, kurz FLAP genannt. Des Weiteren dient dieses Protein als Carrier für die aus der Zellmembran freiwerdende Arachidonsäure. Das Substrat der 5-LOX, die Arachidonsäure, liegt im Organismus nicht frei vor, sondern ist als Bestandteil der Phospholipide an die Zellmembran gebunden. Arachidonsäure kann nach Stimulierung der Zelle mithilfe einer Phospholipase freigesetzt werden, wobei bis heute nicht vollständig geklärt ist, welche Phospholipasen in den verschiedenen Zelltypen für die Freisetzung verantwortlich sind (Müller, 1995).

Die 5-LO wurde hauptsächlich in neutrophilen Granulozyten nachgewiesen, aber auch in Eosinophilen, Monozyten, Makrophagen, Mastzellen, Basophilen, B-Lymphozyten sowie Keratinozyten.

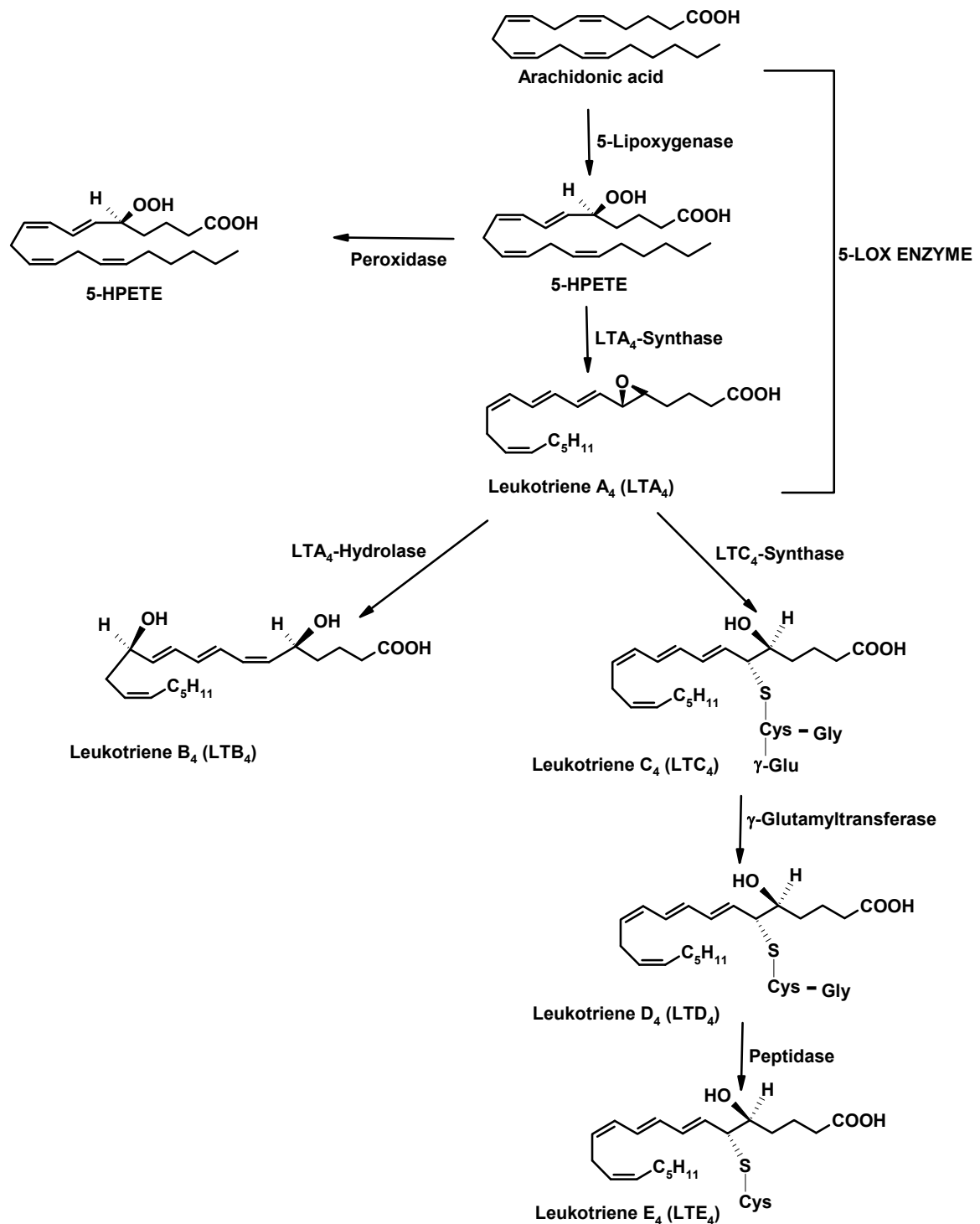
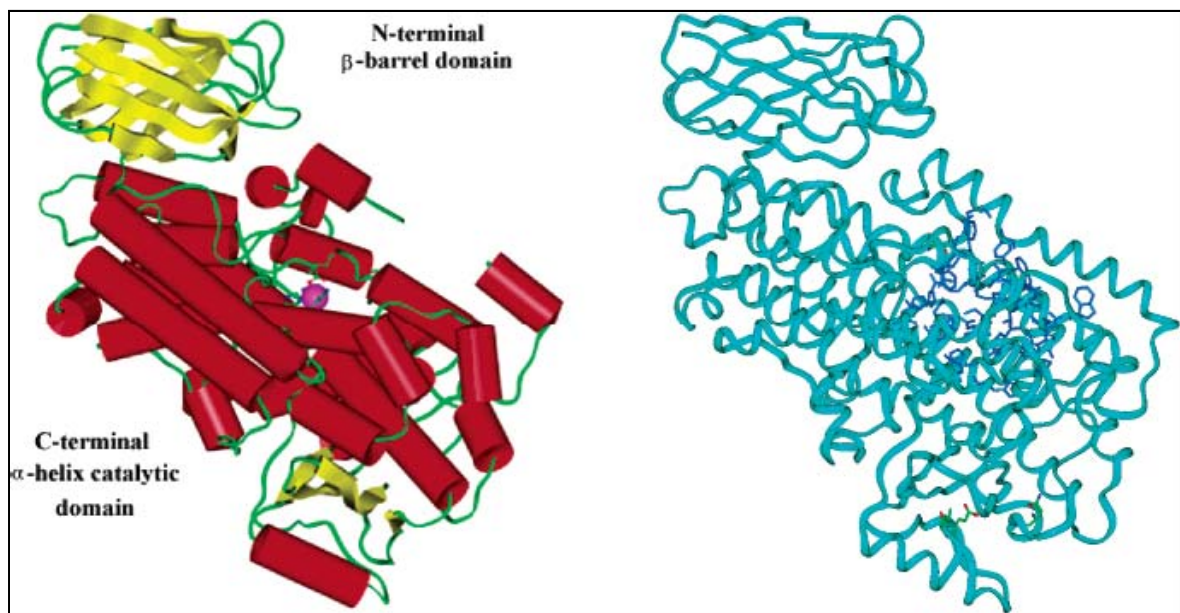


Abb. 12: Die Arachidonsäure-Kaskade mit Schwerpunkt auf dem Leukotrienbiosyntheseweg

### 1.3.2 Die aktuelle molekulare Struktur der 5-Lipoxygenase

Das Molekulargewicht der monomeren 5-LOX in Säugetieren und in Pflanzen liegt bei 75–80 kDa beziehungsweise 94–104 kDa.

Die 3-D-Struktur der menschlichen 5-LOX wurde aufgrund der Kristallstruktur der Kaninchen-15-LOX und die Bindungsmodi von repräsentativen Liganden durch molekulare Dockingstudien modelliert. Ein Modell von 5-LOX, das auf experimentellen Daten beruht, und die Struktur von Reticulocyten-15-LOX wurde von Hemak et al. 2002 vorgeschlagen. Auf der Basis der gefundenen Struktur konnten aufgrund der bestehenden Sequenzhomologien (35–80 %) auch Rückschlüsse auf die Bindungsmechanismen von 5- und 15-LOX gezogen werden (Abb. 13). Demnach besitzt das menschliche 5-LOX-Modell eine *N*-terminale  $\beta$ -Barrel-Domäne, welche der *N*-terminalen regulatorischen  $C_2$ -Domäne einiger Lipasen in Sequenz, Struktur und Größe ähnelt und an der Lipidbindung beteiligt ist, sowie eine große *C*-terminale katalytischen-Domäne, die hauptsächlich aus  $\alpha$ -Helices besteht und ein charakteristisches Eisenzentrum enthält, das Bindungen zu konservierten Histidin- (His) und *C*-terminale Isoleucin- (Ile) Resten unterhält (Hammarberg et al., 1995).



**Abb. 13: Links:** Kristallstruktur der Kaninchen-15-LOX. Das Eisenatom ist in Magenta dargestellt. **Rechts:** Homologie-Modellstruktur des menschlichen 5-LOX.

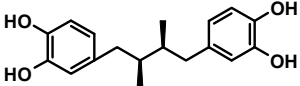
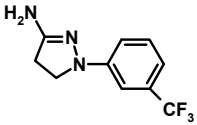
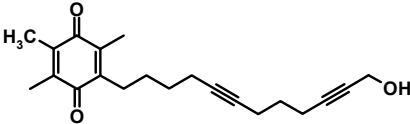
### **1.3.2 5-Lipoxygenase-Inhibitoren**

Die pathophysiologischen Eigenschaften von LTs, zu denen die Mediation allergischer und entzündlicher Krankheiten zählen, gaben den Grund zur pharmakologischen Intervention mit der Zielstellung, die Biosynthese oder die Wirkung der LTs zu beeinflussen. LTs werden bei Asthma bronchiale durch Mastzellen, eosinophile Granulozyten und Alveolarmakrophagen vermehrt freigesetzt. Eine pharmakologische Suppression der Leukotrienwirkungen kann einerseits durch Hemmung der 5-LOX erfolgen, andererseits durch einen kompetitiven Antagonismus am Cysteinyl-Leukotrien-1-Rezeptor. Bis jetzt sind verschiedene chemische Familien der 5-LOX-Inhibitoren in der Literatur beschrieben und abhängig von ihrem Reaktionsmechanismus eingestuft worden. Es werden drei unterschiedliche Inhibitoren-Typen unterschieden: Inhibitoren von Redoxinhibitoren, von Non-Redoxinhibitoren und von Eisenligandinhibitoren.

#### **1.3.2.1 Redoxinhibitoren**

Zu dieser Gruppe zählt die Mehrheit der Inhibitoren. Die Wirksamkeit der Verbindungen beruht entweder auf der direkten Inhibition von 5-LOX, d. h. der Reduktion der aktiven Form des Eisens ( $\text{Fe}^{3+}$ ) zur inaktiven ( $\text{Fe}^{2+}$ ), oder einer Komplexbildung des Eisenatoms. In der Folge befindet sich das Enzym in einem inaktiven Zustand. Eine solche unspezifische Hemmung kann beispielsweise durch Antioxidantien sehr leicht erzielt werden.

Zu den sogenannten Redoxinhibitoren (s. Tab. 6) gehören z. B. Flavonoide (Cirsiliol), verschiedene Kaffeesäurederivate, Nordihydroguaiarsäure und Cumarin. Diese sind effiziente 5-LOX Inhibitoren, sowohl *in vivo* als auch *in vitro*. Sie besitzen jedoch eine schlechte 5-LOX-Selektivität und lösen heftige Nebenwirkung (z. B. Methämoglobinbildung) aus, etwa durch Interferenz mit anderen biologischen Redoxsystemen oder durch Produktion reaktiver Radikale<sup>108</sup>. Die Redoxinhibitoren AA-861, BW755C, und ZM-207968 sind potente und oral-aktive 5-LOX-Inhibitoren. Aufgrund ihrer geringen Selektivität und möglichen Toxizität kommt diesen Substanzen aber keine große therapeutische Bedeutung zu.

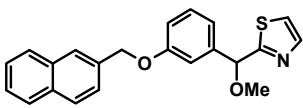
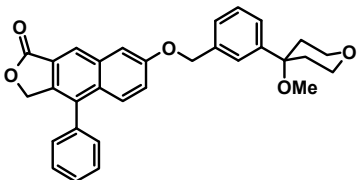
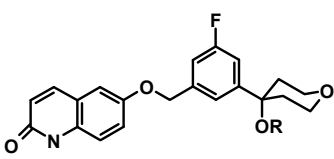
Name	Struktur	Wirkprinzip
Nordihydroguaiaretsäure		Redoxinhibitor
BW-755C		Redoxinhibitor
AA-861		Redoxinhibitor

**Tab. 6:** 5-LOX-Redoxinhibitoren

### 1.3.2.2 Non-Redoxinhibitoren

Die Suche nach starken und spezifischeren 5-LOX-Inhibitoren ohne Redoxeigenschaften führte zu der Entwicklung der Non-Redoxinhibitoren, die AA aus der Bindungsstelle im aktiven Zentrum von 5-LOX verdrängen. Beispiele hierfür sind die Hybridmoleküle von Methoxyalkylthiazol oder Methoxytetrahydropyran und „Naphtalenic Lignan Lactone“ (s. Tab. 7), die als potente Non-Redox-5-LOX-Inhibitoren bezeichnet werden. Sie scheinen verschiedene akute entzündliche Antworten stark zu unterdrücken, aber chronische Entzündung nicht hemmen zu können.<sup>108</sup>

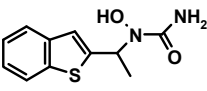
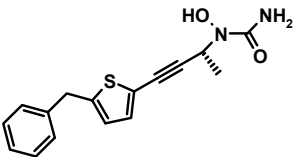
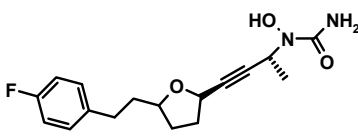
Nach Testung in verschiedenen *In-vitro*- und *In-vivo*-Modellen stellte sich heraus, dass vor allem ZD2138 und ZD230487 vielversprechende LT-Synthesehemmstoffe sein könnten<sup>109</sup>. Diese Substanzen sind nahezu frei von Nebenwirkungen, zeigten jedoch in klinischen Studien geringe Wirksamkeit.<sup>110</sup> Darüber hinaus wurde kürzlich gezeigt, dass die Hemmung der 5-LOX-Produktbildung in PMNL durch Non-Redoxinhibitoren von der Art der Aktivierung der 5-LOX abhängig sein kann.

Name	Struktur	Wirkprinzip
ZM 211965		Non-Redoxinhibitor
L-697198		Non-Redoxinhibitor
ZD-2138; R= Methyl ZD-230487; R= Ethyl		Non-Redoxinhibitor

**Tab. 7:** 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren

### 1.3.2.3 Eisenligand-Inhibitoren

Eisenligand-Inhibitoren können mit dem Eisen im aktiven Zentrum des Enzyms agieren. Ihre Selektivität für die 5-Lipoxygenase ist etwas höher als die der Redoxinhibitoren. Beispiele hierfür sind die Hydroxamsäurederivate und die große Gruppe der *N*-Hydroxyharnstoffe, zu der auch das bereits zugelassene Zileuton (Zyflo<sup>®</sup>, Abbott Lab.) gehört, das als erster und einziger Vertreter dieser Stoffklasse als 5-LOX-Inhibitor zugelassen ist. Zileuton ist seit Ende der 90er-Jahre in den USA für die Behandlung des Asthmas zugänglich. Wegen seiner kurzen Halbwertszeit muss Zileuton mehrmals täglich und in hohen Dosen verabreicht werden.<sup>111</sup> Strukturell verwandte Verbindungen mit höherer Wirksamkeit und Wirkdauer (ABT-761; LDP-977) (s. Tab. 8) befinden sich derzeit in klinischer Prüfung.

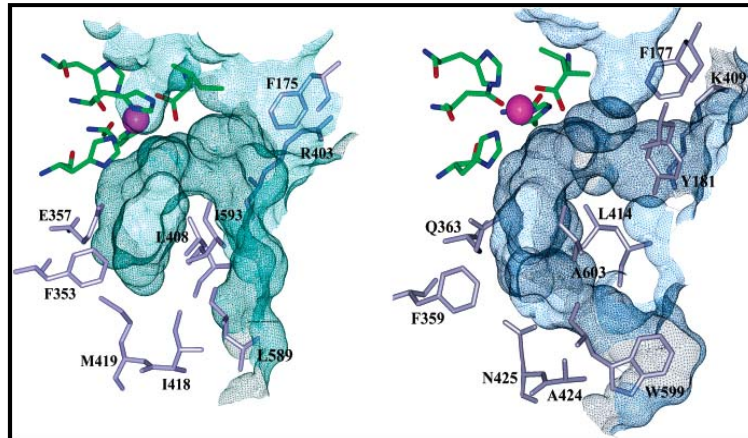
Name	Struktur	Wirkprinzip
<i>Zileuton</i>		Eisenligand-Inhibitor
<i>ABT-761</i>		Eisenligand-Inhibitor
<i>LDP-977</i>		Eisenligand-Inhibitor

**Tab. 8:** Eisenligandinhibitoren

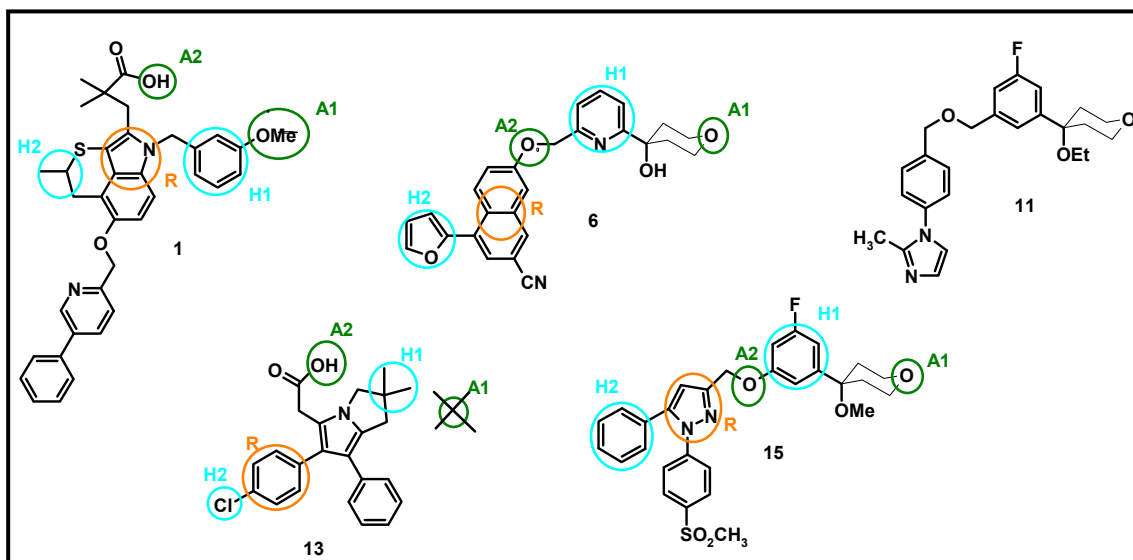
### 1.3.3 Das Pharmakophormodell der 5-Lipoxygenase

Das menschliche 5-LOX-Enzym und seine Interaktion mit kompetitiven Inhibitoren wurden durch eine kombinierte ligandenbasierte und targetbasierte Simulation erforscht. Wouters et al. etablierten unter Anwendung der GRID-Strategie und Zuhilfenahme von fünf hoch aktiven 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren ein Pharmakophormodell.<sup>103</sup> Die GRID-Strategie beschreibt eine rechnerische Methode, welche Anhaltspunkte zum Design von Wirkstoffen mit hoher Selektivität für einzelne LOX-Subtypen liefert. Das Computerprogramm GRID charakterisiert 3-D-Strukturen von Target-Proteinen und berechnet für funktionelle Gruppen eines potentiellen Liganden günstige Positionen in der Proteinbindungstasche. Die 3-D-Struktur der menschlichen 5-LOX wurde anschließend, basierend auf der Kristallstruktur der Kaninchen-15-LOX, modelliert und die Bindungsmodi von repräsentativen Liganden durch molekulare Dockingstudien analysiert. Als aktives Zentrum der 5-LOX wurde eine Sphäre im Bereich des 12,5 Å-Radius definiert, welches kokristallisiert auf dem Inhibitor mit Kaninchen-15-LOX zentriert wurde. In Konkordanz mit den Mutagenesestudien zeigte sich, dass das aktive Zentrum des menschlichen 5-LOX größer ist als die des Kaninchens 15-LOX (s. Abb. 14).



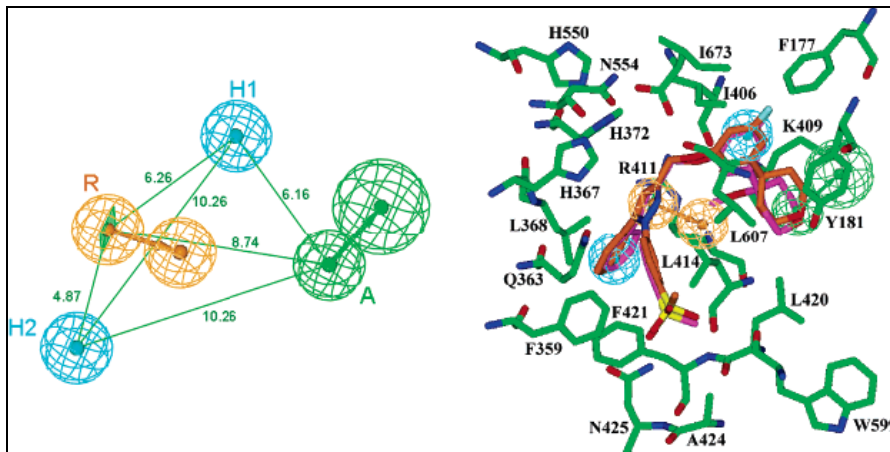


**Abb. 14:** Das aktive Zentrum von 15-LOX (links) und 5-LOX (rechts), das jeweils die zugängliche Bindungstasche definiert.



**Abb. 15:** Repräsentative Liganden für Dockingstudien; Wasserstoffbrückenbindungsakzeptoren (H), blau = zwei hydrophobe Gruppen (A), orange = ein aromatischer Ring (R)

Die meisten 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren sind, wie bereits Tab. 7 zeigt, strukturell in einen aromatischen Ring, zwei hydrophobe Gruppen und weil Wasserstoffbrückenbindungsakzeptoren gegliedert. Hydrophobe Funktionen (H1 und H2) werden entweder von den aliphatischen Gruppen, wie Methyl- oder aromatische Resten, oder von Halogenatomen ausgeübt. Aromatische Ringe (R) sind z. B. Phenyl-, Indol-, Pyrazol- oder Naphthalinreste. Als Wasserstoffbrückenbindungsakzeptoren (A1 und A2) fungiert entweder das Sauerstoffatom in Etherbindungen, im Tetrahydropyranring und in Carboxylgruppen oder das Schwefelatom im Thiopyranring (s. Abb. 15).



**Abb. 16:** Regeln für das Pharmakophormodell für 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren: grün = zwei Wasserstoffbrückenbindungsakzeptoren (H), blau = zwei hydrophobe Gruppen (A), orange = ein aromatischer Ring (R) <sup>5</sup>

Der aromatische Ring (R) liegt mitten im Spalt und interagiert stark mit der Aminosäure Leu414 durch CH... $\pi$  Kontakt. Eine der hydrophoben Gruppen (H2) ist in der kleinen lipophilen Seitentasche untergebracht, die innen von Phe421 und von Leu368 umgeben ist, während sich die andere (H1) am oberen Teil des verbindlichen Aufstellungsortes in der Nähe von Ile406 und Leu607 befindet. Der erste Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor (A1) passt in den Eingang des aktiven Zentrums und bildet eine Wasserstoffbrückenbindung mit der Aminosäure Tyr181. Der zweite Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor (A2), meist ein Ethersauerstoffatom, findet dagegen im aktiven Zentrum von 5-LOX keinen Bindungspartner. In dessen Umgebung befindet sich kein Wasserstoffatom, das eine Wasserstoffbrückenbindung eingehen könnte. Folglich liegt die Vermutung nahe, dass der Molekülteil A2 für optimale Interaktion mit dem Enzym keine wesentliche Rolle spielt, sondern eher als Spacer dient, was für die meisten der analysierten Liganden zutrifft. Basierend auf der Analyse der angedockten Verbindungen, können zur Bestätigung zwei weitere Kriterien herangezogen werden: ein säurehaltiger Rest (eine negativ ionisierbare Gruppe), wie er für thiopyranindolische Derivaten charakteristisch ist, kann mit der Aminosäure Arg411 eine Bindung eingehen, sowie ein Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor in der Nähe der Aminosäure Asn425. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass in dem hypothetischen Pharmakophormodell der 5-LOX vier chemische Eigenschaften ausschlaggebend sind und zwei chemische Eigenschaften eine untergeordnete Rolle spielen. s. Abb.16).

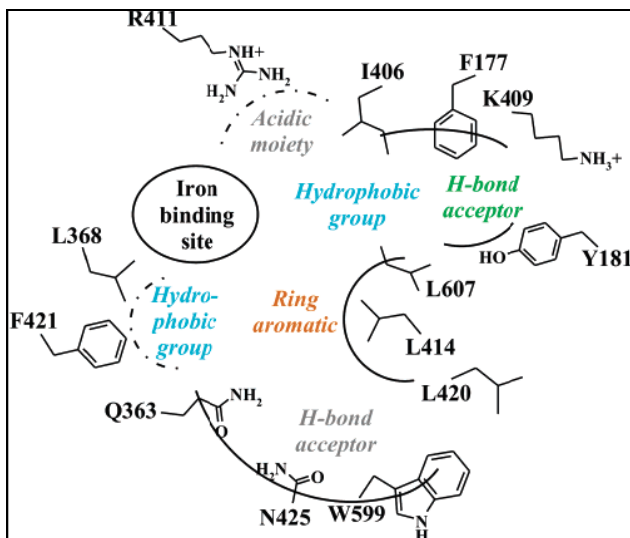


Abb. 17: Pharmakophormodell von 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren

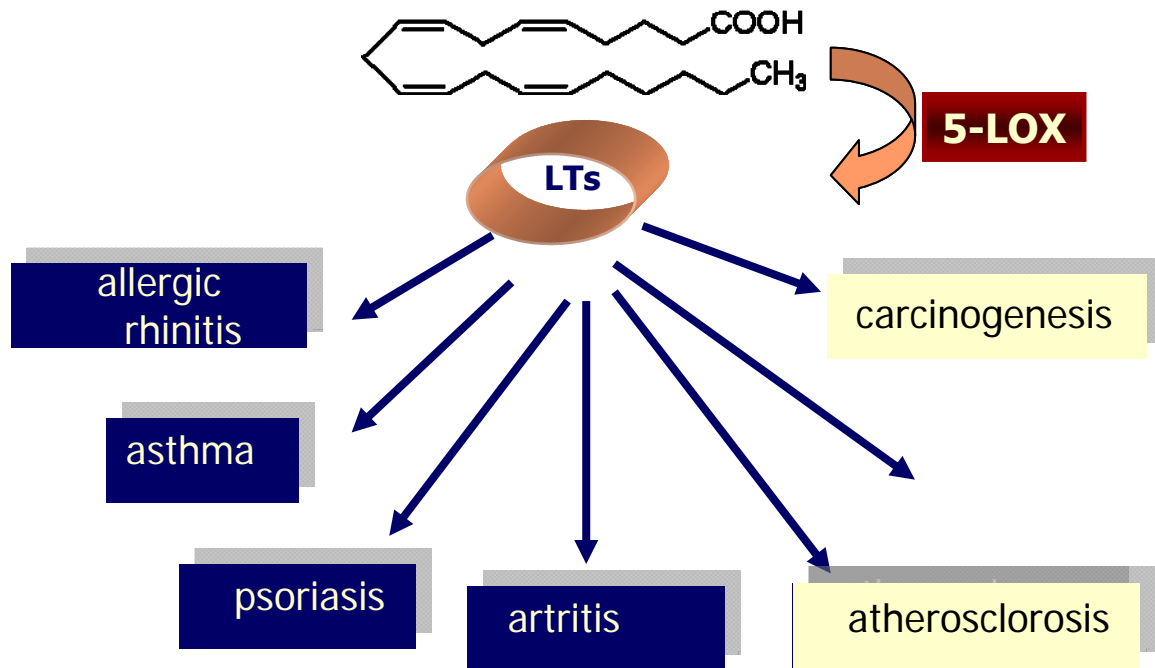
### 1.3.4 Pathologische Effekte von 5-Lipoxygenase-Produkten

5-LOX-Metaboliten sind starke physiologische Effektoren bei einer Vielzahl von zellulären Antworten, die mit der Immunabwehr und Entzündungsprozessen verbunden sind. Insbesondere werden Leukotriene (LTs), wie in Kapitel 1.3.1 gezeigt, über den 5-LOX-Weg produziert. LTs sind entscheidende Mediatoren bei akuten Hypersensitivitätsreaktionen und Entzündungsprozessen. Bisher ist keine essenzielle physiologische Funktion der Leukotriene im gesunden Organismus bekannt.

Insbesondere  $LTB_4$  ist ein wichtiger Mediator bei akuten und chronischen Entzündungsprozessen. Er besitzt schon in geringsten Konzentrationen eine hohe chemotaktische und chemokinetische Wirkung auf Granulozyten, Monozyten, Makrophagen und Lymphozyten. Des Weiteren wird durch  $LTB_4$  die Freisetzung lysosomaler Enzyme sowie aktiver Sauerstoffspezies aktiviert.

Samuelsson und Corey identifizierten in Zusammenarbeit die seit Langem bekannte *Slow Reacting Substance of Anaphylaxis* (SRS-A) als ein Gemisch der LTs  $C_4$ ,  $D_4$  und  $E_4$ . Diese sogenannten Peptido-LTs ( $LTC_4$  und  $LTD_4$ ) entfalten eine starke spasmogene Wirkung an den Bronchiolen, welche etwa 1000-mal stärker ist als die von Histamin, jedoch wesentlich langsamer einsetzt. Sie induzieren mikrovaskuläre Plasmaexudation und die Schleimproduktion in der Lunge.<sup>112</sup> Eine maßgebliche Rolle spielen  $LTC_4$ ,  $LTD_4$  sowie  $LTE_4$  auch bei der Pathogenese des Endotoxinschocks, bei welchem ihre Konzentration im Blut deutlich erhöht ist. Sie bewirken dabei durch Steigerung der Gefäßpermeabilität einen intensiven Plasmaaustritt in das Gewebe<sup>113</sup>.

LTs sind in zahlreichen entzündlichen Krankheiten und in allergischen Störungen wie Allergie, Asthma, Arthritis, Morbus Crohn, Colitis ulcerosa und Psoriasis involviert<sup>114, 115</sup> (s. Abb. 18). Außerdem weisen neue Studien darauf hin, dass 5-LOX-Produkte auch in der Karzinogenese und beim Überleben von Zellen<sup>116, 117</sup> sowie in der Atherosklerose eine Rolle spielen.<sup>118, 119</sup>



**Abb. 18:** Pathologische Wirkung der Leukotriene

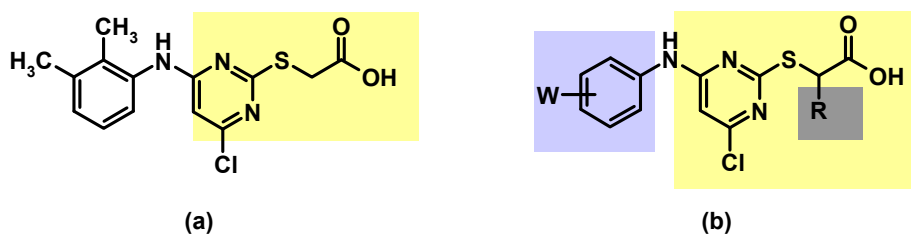
Für das in der Therapie von Colitis ulcerosa eingesetzte Mesalazin konnte allerdings eine Lipxygenasehemmung nachgewiesen werden, die zumindest teilweise für die Wirkung verantwortlich scheint. Zur abschließenden Beurteilung der Rolle von Leukotrieninhibitoren bei diesen Krankheitsbildern sind daher noch weitere Studien erforderlich.

## 2. Zielsetzung

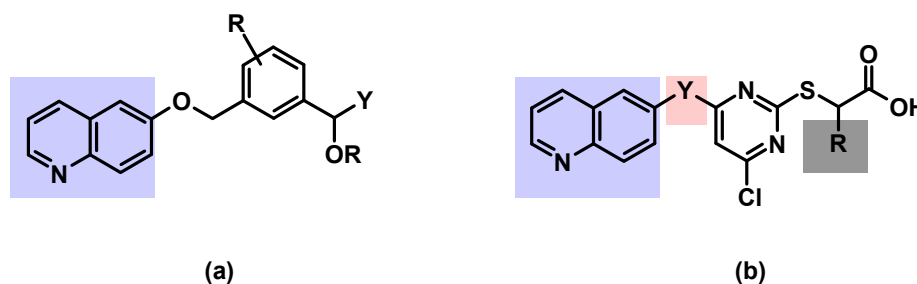
Im Zentrum des Interesses der vorliegenden Arbeit standen die Synthese von dualen PPAR $\alpha/\gamma$ -Modulatoren der 5-Lipoxygenase mit inhibitorischen Eigenschaften, basierend auf dem Grundgerüst des literaturbekannten selektiven PPAR $\alpha$ -Agonisten Pirinixinsäure (WY 14643; vgl. Kap. 1.2.3.1) als Leitstruktur, sowie die Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen. Die Rationale eines dualen PPAR-Agonismus und einer 5-LOX-Hemmung basiert auf folgenden Überlegungen:

Ungesättigte Fettsäuren, wie Arachidonsäure, 8(S)-HETE, LTB<sub>4</sub> sind Aktivatoren des PPARs sowie Substrate für 5-LOX. Bis zum heutigen Tag wurden Verbindungen, die gleichzeitig einen PPAR-Agonismus und ein 5-LOX-inhibitorisches Potenzial aufweisen, selten studiert.

Mit der Entdeckung der PPARs wurde Pirinixinsäure als selektiver PPAR $\alpha$ -Agonist mit EC<sub>50</sub>-Werten im mikromolaren Bereich identifiziert.<sup>57</sup>



**Abb. 19:** (a) Leitstruktur WY 14643 mit *Scaffold* (invariantes System) (gelb), (b) Grundgerüst der Pirinixinsäure mit Positionen der vorzunehmenden Strukturmodifikationen W und R.



**Abb. 20:** Leitstruktur 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren

Das Chinolin-Strukturelement ist für die inhibierende Wirkung auf die 5-LOX verantwortlich, während die Intensität der biologischen Aktivität durch das Substitutionsmuster moduliert wird (s. Abb. 20 (a)). Im Hinblick auf eine Steigerung der PPAR-agonistischen Aktivität und der Reduktion der hepatotoxischen Eigenschaften der Leitstruktur Pirinixinsäure sollte eine Leitstrukturoptimierung durch Einführung

unterschiedlicher Reste W, Y und R an den farbig markierten *Building Blocks* (Grundbausteine des Moleküls; s. Abb. 19 (b)) vorgenommen werden. Das *Scaffold* (invariantes System) bildet den in Abb. 19 (a) gelb markierten Pyrimidin-2-ylsulfanylessigsäure-Grundbaustein.

- Mit Strukturmodifikationen durch Variation von W (s. Abb. 19 (b), lila) sollte der Einfluss des 2,3-Dimethylanilin-Substituenten in 6-Position des Pyrimidins auf die PPAR-Aktivität und die 5-LOX-Hemmung untersucht werden. Die Substituenten W bestehen sowohl aus arylischen als auch aus heteroatomaren Resten.
- Zudem sollten hinsichtlich der Okkupierung einer weiteren Bindungstasche in  $\alpha$ -Position zur Carboxylgruppe Reste R (s. Abb. 19 (b), grau) implementiert werden, die durch Wechselwirkung mit der linken proximalen Bindungstasche (vgl. Pharmakophormodell, Kap. 1.2.4) weitere positive Bindungsbeiträge liefern können und dadurch eine Affinitätssteigerung bezüglich der PPARs erzielen können. Die Reste R schließen Alkyl- bzw. Arylsubstituenten ein.
- Die Strukturmodifikation Y (s. Abb. 20 (b), rosa) bestand in der Implementierung eines Etherstrukturelements in Analogie zu literaturbekannten 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren (vgl. Kap. 1.3.3.2)<sup>109</sup> und (s. Abb. 20 (a)).

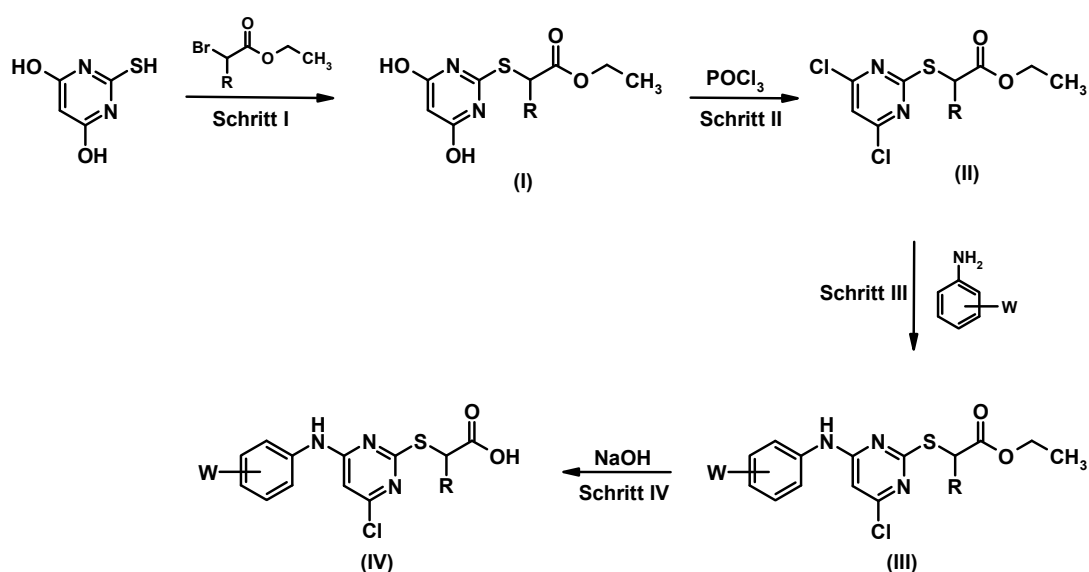
Um eine Leitstrukturoptimierung zu erzielen, bedarf es der Etablierung geeigneter Synthesestrategien. Für die dann anstehende Optimierung der gefundenen Leitstrukturen müssen diese möglichst vielfältig modifiziert werden. Das strukturelle Umfeld der Leitstruktur wird systematisch variiert und über die Aufstellung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen gelangt man zu Kandidaten, die dann einer ausführlichen pharmakologischen Testung unterzogen werden. Alle synthetisierten Zielstrukturen sollten nach Etablierung pharmakologischer *In-vitro*-Testsysteme für alle drei Subtypen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  auf ihre PPAR-agonistische Aktivität und ihre inhibierende Wirkung auf die 5-LOX in intakten humanen polymorphkernigen Leukozyten (PMNL, *Polymorphonuclear Leukocytes*) untersucht werden. Valide  $EC_{50}$ -Werte bzw.  $IC_{50}$ -Werte synthetisierter Modulatoren erlauben letztendlich das Aufstellen von Struktur-Aktivitäts-Beziehungen und bieten neuartige Aspekte bezüglich der therapeutischen Targets Dyslipidämie, Diabetes Typ 2 und allergische Reaktionen.

### 3. Ergebnisse & Diskussion

#### 3.1 Chemische Synthesen

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

Zur Darstellung von Liganden, welche Strukturmodifikationen im Phenylamino-Bereich (W) und in  $\alpha$ -Position zur endständigen Carbonsäurefunktion (R) aufweisen, wurde eine allgemein verwendbare Synthesestrategie etabliert, die über vier Reaktionsstufen (s. Abb. 21, Schritte I bis IV) verläuft.<sup>120</sup> In Schritt I reagiert Thiobarbitursäure in einer nukleophilen Substitution mit dem entsprechenden 2-Brommethylester. Im zweiten Schritt erfolgt eine Halogenierung der aus Schritt I resultierenden 4,6-Dihydroxypyrimidine (I) mittels Phosphorylchlorid ( $\text{POCl}_3$ ) im Sinne eines Additions-Eliminierungs-Mechanismus. Schritt III ist durch die Kopplung der entsprechenden W-substituierten Anilin- bzw. Chinolinderivate an die chlorierten Vorstufen (II) im Rahmen einer nukleophilen aromatischen Substitution charakterisiert. Schritt IV ist gekennzeichnet durch die Hydrolyse der Carbonsäureester (III) und führt zu den korrespondierenden Carbonsäuren (IV; s. Abb. 21, Schritt IV).

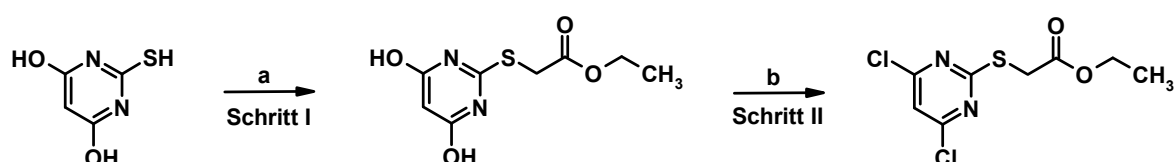


**Abb. 21:** Allgemeine Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten mit Strukturmodifikationen in den Bereichen W (Arylamino-Bereich) und R ( $\alpha$ -Position zur Carboxylgruppe).<sup>120</sup>

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

Die Grundidee der Synthese von im Arylamino-Bereich modifizierten Pirinixinsäurederivaten besteht in der Untersuchung des (essenziellen) Einflusses der Methylgruppen in 2- und 3-Phenylposition bzw. in der Auffindung von Phenylresten in beliebiger Phenylposition, die positive Bindungsbeiträge liefern, um weitere Aktivitätssteigerungen am Rezeptor zu erzielen. Das hat schon meine Kollegin erforscht<sup>67</sup>. Nach den Untersuchungen von *Pirard et al.*<sup>121</sup> bildet der Proteinbereich der distalen Bindungstaschen für die drei PPAR-Subtypen das Target zur Bindung des Arylamino-Bereichs der Pirinixinsäurederivate, sodass die Einführung verschiedener Substituenten in das Grundgerüst von WY 14643 Ligand-Rezeptor-Interaktionen bezüglich der distalen Bindungstaschen aufdecken soll. Die Strukturelemente 4-Alkoxy-pyran<sup>122</sup> und Chinolinderivate (s. Tab. 7) sind für die inhibierende Wirkung auf die 5-LOX verantwortlich. die Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich (W-Substitution) wurden mit Blick auf eine Steigerung der PPAR-agonistischen Aktivität und Hemmung der Leukotrienbiosynthese vorgenommen.

Zunächst wurde der für die Synthese aller Liganden mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich benötigte Precursor (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **2** synthetisiert.<sup>65</sup> Hierbei wurde in Schritt I Thiobarbitursäure mittels einer 1M wässrigen NaOH-Lösung regioselektiv an der SH-Gruppe deprotoniert und das entstandene Thiolat-Anion in einer S<sub>N</sub>2-Reaktion in Ethanol bei einer Reaktionstemperatur von 60 °C mit Bromethylacetat umgesetzt. Das Produkt (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **1** (s. Abb. 22) entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 79 % d. Th. Verbindung **1** wurde in Schritt II in Gegenwart von *N,N*-Diethylanilin, welches als Protonenakzeptor fungiert, mittels Phosphorylchlorid in 4- und 6-Pyrimidin-Position chloriert. **2** entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 86 % d. Th.

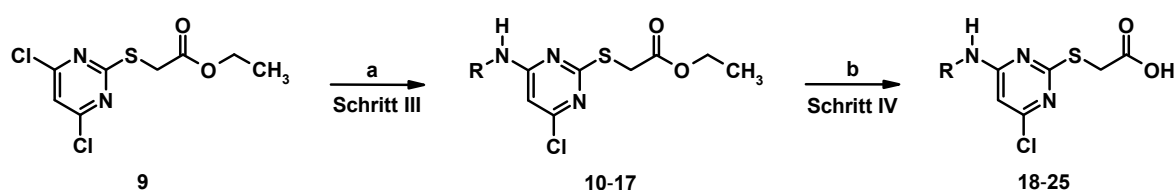


**Abb. 22:** Zweistufige Synthese des Precursors (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester **2**. (a) 1M NaOH, BrCH<sub>2</sub>COOEt, EtOH, 60 °C, (b) POCl<sub>3</sub>, *N,N*-Diethylanilin, 110 °C.

Anschließend wurde der Precursor **2** in einer nukleophilen aromatischen Substitution mit den entsprechenden Anilin- und Chinolinderivaten umgesetzt (s. Abb. 23). Zum Aufbau



des sekundären Amins in Schritt III wurde zur Verstärkung des nukleophilen Charakters des entsprechenden Anilinderivates  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  als Base eingesetzt. Die Ausbeuten der erhaltenen Produkte **3**, **13**, **24**, **29** und **30** (s. Tab. 9) differieren relativ stark. Der Grund hierfür liegt in den unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Phenylsubstituenten begründet. Der elektronenziehende  $-I$ -Effekt der Halogensubstituenten in 4-Phenylposition bewirkt eine Erniedrigung der Nucleophilie der Aminogruppe, was die Ausbeuten der iodsubstituierten Ester **3** (47,5 % d. Th.) erklärt. Alle anderen Ausbeuten der Ester **13**, **24** und **30** lagen zwischen 23 und 62 % d. Th. Ferner waren die Synthesen in derartigen Reaktionsschritten standardmäßig nicht total zu beobachten, was die grundsätzlich moderaten Ausbeuten der Produkte **3**, **13**, **24** und **30** erklärt. Im abschließenden Schritt IV wurden die entstandenen Ester mit Hilfe von zwei Äquivalenten einer 1N NaOH-Lösung in EtOH hydrolysiert. Die Carbonsäuren **4**, **14**, **32** (s. Tab. 9) fielen in Form weißer Kristalle an, abgesehen von **32** (gelbe Kristalle) mit Ausbeuten zwischen 47 und 98 % d. Th.



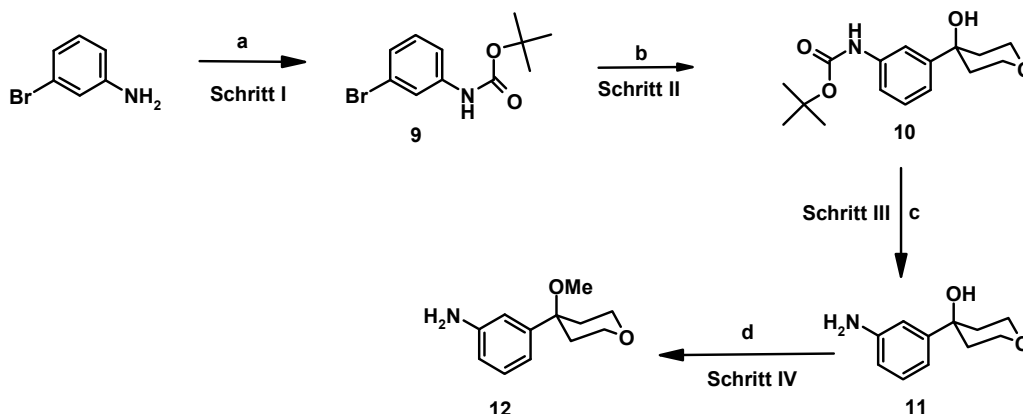
**Abb. 23:** Synthese der Carbonsäureester **3**, **13**, **24**, **30** und der Carbonsäuren **4**, **14**, **32**. (a) Entsprechendes Anilinderivat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss. R = s. Tab. 6.

	R			
Carbonsäureester	3	13	24	30
Carbonsäure	4	14	32	-

**Tabelle 9:** Arylamino-substituierte Derivate der Serie der W-Strukturmodifikationen.

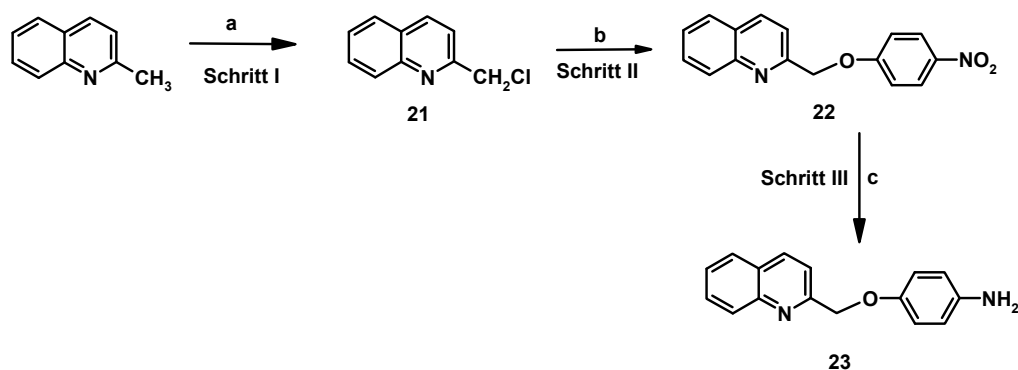
Die meisten der zur Synthese in Schritt III erforderlichen Anilinderivate waren kommerziell erhältlich, 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxytetrahydro-pyran **12** (zur Synthese von Verbindung **13** bzw. **14**) und 2-(*p*-Aminophenoxymethyl)-chinolin **23** (zur Synthese von Verbindung **30**) wurden synthetisiert. 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxytetrahydro-pyran **12** (Ausbeute: 52 % d. Th.) wurde nach literaturbekannten Verfahren in vier Stufen synthetisiert<sup>122</sup>. Im ersten Syntheseschritt wurde die Aminogruppe von 3-Bromoanilin mit Di-*tert*-butyldicarbonat in 2M NaOH geschützt (Produkt **9**). Das Brom-Atom wurde mit

Tetrahydro-pyran-4-on in *n*-BuLi substituiert und führt zu dem Produkt **10**. Die Schutzgruppe wurde im Schritt III durch Trifluoressigsäure in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> abgespalten. Im abschließenden Schritt IV wurde das entstandene 4-(3-Aminophenyl)-4-hydroxytetrahydro-pyran mit Hilfe eines Äquivalents MeI und NaH in DMF alkyliert. Das 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxytetrahydro-pyran, Produkt **12** (s. Abb. 24), entstand in Form orangefarbener Kristalle in einer Ausbeute von 67 % d. Th.



**Abb. 24:** Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxytetrahydro-pyran. (a) [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COCO]<sub>2</sub>O bzw. 2M NaOH, Rückfluss, (b) Tetrahydro-pyran-4-on bzw. *n*-BuLi, unter Ar bei -78 °C, (c) CF<sub>3</sub>-COOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, (d) NaH/MeI bzw. DMF, 0 °C.

Die Herstellung des 2-(*p*-Aminophenoxymethyl)-chinolin **23** (zur Synthese von Verbindung **30**) erfolgte nach literaturbekannten Verfahren in drei Stufen (s. Abb. 25).



**Abb. 25:** Dreistufige Synthese von 2-(*p*-Aminophenoxymethyl)-chinolin. (a) TCIA bzw. MeCN, unter Ar bei -5 °C, (b) *p*-Nitro-phenol, NaI, CsCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Rückfluss, (c) N<sub>2</sub>H<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, MeOH, THF, Raney-Nickel, Rückfluss.

Die Darstellung des chlorierten Precursors **21** erfolgte, ausgehend von Chinaldin und der entsprechenden TCIA (Trichloroisocyanursäure), in Acetonitril nach einem

literaturbekanten englischen Patent für die Synthese von Chinolinderivaten als Inhibitoren der Leukotrien-Biosynthese<sup>123</sup>. Die nachfolgende Kopplung von *p*-Nitrophenol an die chlorierte Vorstufe **22** wurde nach einem US-amerikanischen Patent<sup>124</sup> mit einer Ausbeute von 18,28 % d. Th. durchgeführt.

Im abschließenden Schritt III wurde die katalytische Reduktion (Raney-Nickel) der aromatischen Nitroverbindung **22** mit Hilfe des Hydrazinhydrats ausgeführt. Die daraus resultierende Verbindung **23** konnte in kristalliner Form mit einer Ausbeute von 91 % d. Th. isoliert werden.

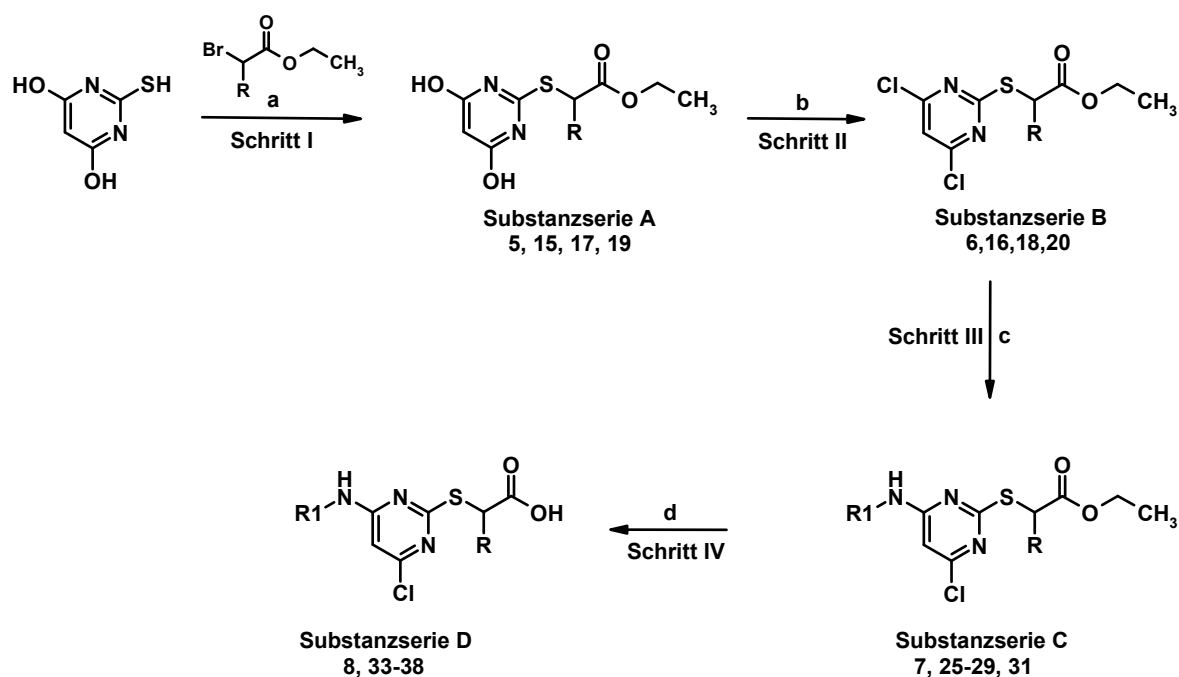
### 3.1.1.2 Synthese von Modulatoren mit Strukturmodifikationen in $\alpha$ -Position zur Ester- bzw. Carbonsäuregruppe (R-Substitution)

Basierend auf dem von *Pirard* postulierten Pharmakophormodell<sup>121</sup> wurde die Leitstruktur WY 14643 in  $\alpha$ -Position zur funktionellen Ester- bzw. Carbonsäuregruppe durch Einführung von Alkyl- bzw. Arylsubstituenten modifiziert. Die Esterverbindungen zeigen potente 5-LOX-inhibitorische Aktivität und die Carbonsäurederivate sind potente duale PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten. Die Zielsetzung dieser Strukturmodifikation besteht darin, durch die Einführung von  $\alpha$ -Substituenten das Besetzen der linken proximalen Bindungstasche (vgl. Kap. 1.2.4) zu provozieren, um somit weitere positive Bindungsbeiträge zu erzielen bzw. die Gesamtaffinität des Liganden zum Rezeptor zu steigern.

Die Einführung der Alkyl- bzw. Arylreste in  $\alpha$ -Position zur Carbonsäuregruppe erfolgt bereits im Syntheseschritt I (s. Abb. 21) mit Hilfe von in 2-Position alkylierten bzw. arylierten kommerziell erhältlichen 2-Brom-essigsäureethylestern.

Die Darstellung der zweifach hydroxylierten Precursors **5**, **15**, **17**, **19**, ausgehend von Thiobarbitursäure und den entsprechenden 2-substituierten 2-Brom-essigsäureethylestern, zeigte einige signifikante Unterschiede im Vergleich zur Synthese des zweifach hydroxylierten  $\alpha$ -unsubstituierten Precursors **1** (R = H) (s. Kap. 3.1.1.1, Abb. 22). Die Synthesestrategie (Schritt I bzw. Schritt II) wurde von Yvonne Syha übernommen.<sup>67</sup> Schritt III bestand wiederum in der Kopplung von *p*-Iodanilin, 6-Aminochinolin, 6-Aminomethylchinolin und 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenylamin in Gegenwart von Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> an die jeweilige chlorierte Vorstufe der Substanzserie B (**6**, **16**, **18**, **20**), woraus die Verbindungen **7**, **25–29** und **31** der Substanzserie C mit einer durchschnittlichen Ausbeute von ~40 % d. Th. resultierten. Die Carbonsäureester der Substanzserie C (s. Tab. 7) wurden nach der in Kap. 3.1.1.1 beschriebenen Methode (Schritt IV) verseift. Die daraus

resultierenden Carbonsäuren **8** und **33–38** (Substanzserie D; s. Tab. 7) konnten in kristalliner Form mit durchschnittlichen Ausbeuten von ~70 % d. Th. isoliert werden.



**Abb. 26:** Vierstufige Synthese von  $\alpha$ -substituierten Pirinixinsäurederivaten. (a) 1M NaOH, Br-CH<sub>2</sub>(R)COOEt (R = Me, *n*-Bu, Hex, Ph), EtOH, 60 °C, (b) POCl<sub>3</sub>, *N,N*-Diethylanilin, 110 °C, (c) R<sub>1</sub>-NH<sub>2</sub> = *p*-Iodanilin, 6-Aminochinolin, 6-Aminomethylchinolin und 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenylamin, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, EtOH, Rückfluss, (d) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

	R			
	Me	<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Hex	Ph
Substanzserie A	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>17</b>	<b>19</b>
Substanzserie B	<b>6</b>	<b>16</b>	<b>18</b>	<b>20</b>

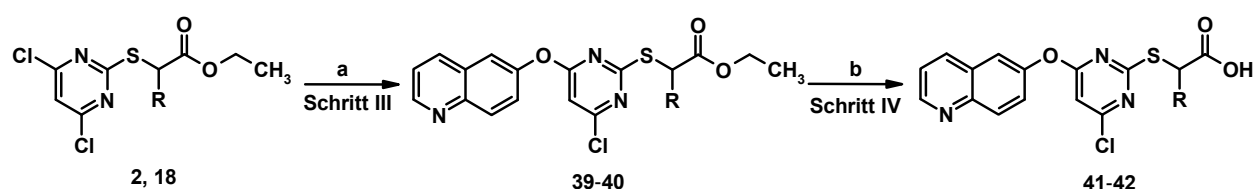
**Tabelle 10:**  $\alpha$ -alkyl- bzw.  $\alpha$ -phenyl-substituierte Verbindungen. Substanzserie A und B

	R <sub>1</sub>			
	W	X	Y	Z
<b>Substanzserie C</b>				
R = Me		25		
R = <i>n</i> -Bu		26		
R = <i>n</i> -Hex		27	29	31
R = Ph	7	28		
<b>Substanzserie D</b>				
R = Me		33		
R = <i>n</i> -Bu		34		
R = <i>n</i> -Hex		35	36	38
R = Ph	8	37		

**Tabelle 11:**  $\alpha$ -alkyl- bzw.  $\alpha$ -phenylsubstituierte Verbindungen. Substanzserie C und D. (W) 4-Iodphenyl, (X) Chinolin-6-yl, (Y) Methylchinolin-6-yl, (Z) 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenyl.

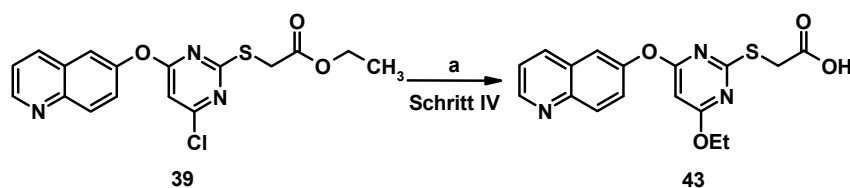
### 3.1.1.3 Synthese der 6-Hydroxychinolinderivate (Strukturmodifikation Y)

Hinsichtlich der von *McMillan et al.* entwickelten 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren der Klasse der 6-Hydroxychinolinderivate (s. Kap. 1.3.3.2) und (s. Abb. 20) mit IC<sub>50</sub>-Werten im nanomolaren Bereich<sup>109</sup>, sollte geprüft werden, ob die analoge Einführung einer Ethoxychinolin-Partialstruktur in das Pirinixinsäure-Grundgerüst zu einer deutlichen Steigerung der durch den Inhibitoren induzierten 5-LOX-Hemmung und PPAR-Affinität führt. Hierzu wurde zunächst, ausgehend von Pirinixinsäureethylester **2** bzw. **18**, nach der Strategie von [120] 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäureethylester **39** und 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäureethylester **40** synthetisiert.



**Abb. 27:** Synthese von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäure und -octansäure **41** (R = H) bzw. **42** (R = Hex.). (a) 6-Hydroxychinolin, NaOH, EtOH, Rückfluss, (b) 1N NaOH, *iso*-Propanol, Rückfluss.

Die Synthese dieses Derivates verlief approximativ analog zu der in Kap. 3.1.1 vorgestellten allgemeinen Synthesestrategie (s. Abb. 27), indem der Precursor **2** bzw. **18** in einer nukleophilen aromatischen Substitution mit 6-Hydroxychinolin mittels NaOH als Base in Ethanol gekoppelt wurde. Nach Umkristallisation aus Ethanol konnte das Produkt **39** in Form brauner Kristalle in einer Ausbeute von 67 % d. Th. isoliert werden. Das Produkt **40** entstand nach säulenchromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 50 % d. Th. (rosafarbenes Wachs). Die allgemeine Verseifungsmethode des entstandenen Esters **39** mit 1N NaOH in Ethanol als Verseifungsreagenzien führte zur Bildung von [4-Ethoxy-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **43** (s. Abb. 28).



**Abb. 28:** Synthese von [4-Ethoxy-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **43**. (a) 1N NaOH, EtOH, Rückfluss.

Für die Verseifung der beiden Ester **39** und **40** wurde 1N NaOH mit *iso*-Propanol als Lösungsmittel angewandt (s. Abb. 27, Schritt IV, (b))<sup>126</sup>. Die daraus resultierenden Carbonsäuren **41** und **42** konnten in kristalliner Form isoliert werden. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol bildeten sich graue Kristalle von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure **41** in einer Ausbeute von 75 % d. Th. 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-octansäure **42** entstand in Form weißer Kristalle mit einer Ausbeute von 47 % d. Th.

## 3.2 Pharmakologische Studien

Die Hemmung der 5-Lipoxygenase (5-LOX) durch die synthetisierten Substanzen wurde in intakten humanen polymorphkernigen Leukozyten (PMNL, *Polymorphonuclear Leukocytes*) untersucht und ist im Kapitel 3.2.12 beschrieben. Im Allgemeinen zeigen die Esterderivate eine signifikante Hemmung der 5-LOX. Da sie darüber hinaus potente PPAR-Aktivatoren sind, weisen die Derivate der Pirinixinsäure duale pharmakologische Eigenschaften auf. Die pharmakologische *In-vitro*-Untersuchungen zur Aktivierung des humanen PPAR mit den Subtypen PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  und PPAR $\gamma$  durch die Substanzen wurde mit Hilfe eines Reporter-gen-Assays durchgeführt, welcher im folgenden Kapitel 3.2.1.1 beschrieben ist.

### 3.2.1 Pharmakologische *In-vitro*-Testsysteme zur Identifizierung von Ligand-Rezeptor-Interaktionen und 5-LOX-Inhibitoren

#### 3.2.1.1 Humaner PPAR-Assay der Subtypen $\alpha$ , $\beta$ und $\gamma$

Alle in Kap. 3.1 beschriebenen synthetisierten Liganden, die freien Carbonsäuren **4**, **8**, **14**, **32–38** und **41–43**, wurden ebenso wie WY 14643, welches als Leitstruktur fungierte und somit auch als Referenzsubstanz verwendet wurde, mit Hilfe eines humanen Reporter-gen-Assays auf ihre PPAR $\alpha$ -, PPAR $\beta$ - und PPAR $\gamma$ -aktivierende Wirkung hin untersucht. Hierzu wurde ein Fusionsprotein aus der Gal4-DNA-Bindedomäne (anstelle der DBD des PPAR) der *Hinge*-Region und der Liganden-Bindedomäne (LBD) des jeweiligen humanen PPAR genutzt. Der Assay beruht darauf, dass das Fusionsprotein nach der Bindung eines Liganden an die LBD die Transkription des Luciferase-Gens aktiviert, welches vom Gal4-*Responselement* auf dem Reporterplasmid steht. Im Assay wird dadurch eine sehr hohe Subtyp-Spezifität erreicht, da die Aktivierung endogener PPARs aufgrund des Fehlens des entsprechenden PPREs auf dem Reporter-Plasmid nicht miterfasst wird. Die Aktivität des Luciferase-Gens steht in direktem Zusammenhang mit der Aktivierung der PPAR-LBD des jeweiligen PPAR-Subtyps und kann deshalb als Maß für die Aktivierung von PPAR verwendet werden. Die zu erwartende Aktivierungskurve weist bei Auftragung der Signalstärke gegen den Logarithmus der Konzentration einen sigmoidalen Verlauf mit Sättigungskinetik auf.

Neben dem Expressionsplasmid für den PPAR-Fusionsrezeptor (pFA-CMV-PPAR) und dem Reportervektor pFR-Luc (Stratagene), wurde der Normierungsvektor pRL-SV40 (Promega) verwendet, welcher für das Renilla-Luciferase-Gen unter der Kontrolle eines unter den Testbedingungen konstitutiven SV40-Promotors kodiert.

Die Testung wurde in Cos7-Zellen durchgeführt, welche zu 30.000 Zellen pro Well in 96-Well-Platten ausgesät wurden. Am darauf folgenden Tag wurde die Transfektion mit Hilfe von Lipofectamin nach den Angaben des Herstellers durchgeführt und nach der Transfektion das Medium durch ein solches ersetzt, welches die Testsubstanzen in ansteigenden Konzentrationen enthielt. Nach einer Inkubation über Nacht wurde die Aktivität des Reporter- und des Normierungsgens mit Hilfe des Dual-Glo Luciferase Assay System Kits (Promega) in einem Tecan Luminometer durchgeführt.

Die Testung der Referenzsubstanz WY 14643 ergab für PPAR $\alpha$  einen EC<sub>50</sub>-Wert von 39,8  $\mu$ M und für PPAR $\gamma$  einen EC<sub>50</sub>-Wert von 53,7  $\mu$ M, welcher mit den literaturbekannten Werten von 0,63  $\mu$ M bzw. 60  $\mu$ M als konform anzusehen ist.<sup>57</sup>

### **3.2.1.2 Intakte humane polymorphnukleäre Leukozyten- (PMNL-)Assay**

Die potente, inhibitorische Wirkung der synthetisierten Carbonsäureesters **3, 7, 13, 24-31, 39-40** und freie Carbonsäure auf 5-LOX kann mit Hilfe eines Testsystems im Arbeitskreis von Prof. Steinhilber bestimmt werden. Um die Struktur-Wirkungs-Beziehungen im Hinblick auf die 5-Lipoxygenase näher zu analysieren, wurden meine Substanzen im 5-LOX-Standardassay intakte PMNL (polymorphnukleäre neutrophile Leukozyten), deren Homogenat und S-100-Überstand getestet<sup>127</sup>. Die benötigten Zellen wurden hierbei mittels Dextranfällung mit anschließender Dichtezentrifugation und nach drei Waschschritten in PBS (pH 7,4) aus Humanblut isoliert und in PBS / Glucose (1g/L) aufgenommen.

#### Durchführung der Assays:

Intakte Zellen wurden zu 5 Mio./ml pro Inkubation eingesetzt. Die Substanzen wurden mit 1 mM CaCl<sub>2</sub> für 10 Minuten bei 37 °C vorinkubiert und anschließend 10 Minuten mit 20  $\mu$ M Arachidonsäure und 2,5  $\mu$ M Ca-Ionophor stimuliert. Die Aufreinigung der Proben erfolgte über C-18 Säulen. Analysiert wurden die Proben mittels HPLC.<sup>127</sup>



Bei den Homogenaten wurden pro Inkubation 7,5 Mio./ml eingesetzt. Zum PBS wurde 1 mM EDTA zugefügt. Nach Behandlung mit dem Ultraschallstab wurden die erhaltenen Homogenate auf Eis gestellt und mit 1 mM ATP behandelt. Danach wurden die Proben 30 Sekunden bei 37 °C vorinkubiert und anschließend mit 2 mM CaCl<sub>2</sub> und 20 µM Arachidonsäure für 10 Minuten stimuliert. Aufreinigung und Analyse erfolgte wie bei den intakten Zellen.

Bei den S-100-Überständen wurden ebenfalls 7,5 Mio./ml eingesetzt. Die Überstände wurden hierbei analog den Homogenaten gewonnen. Nach der Ultraschallbehandlung erfolgt jedoch zusätzlich noch eine Ultrazentrifugation mit 100.000 g. Aufreinigungen und Analysen erfolgten wie bei den intakten Zellen.

Alle Konzentrationsangaben sind Endkonzentrationen.

### 3.2.2 *Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Modulatoren mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich (W-Substitution)*

Durch Anwendung des in Kap. 3.2.1.1 bzw. 3.2.1.2 beschriebenen hPPAR-Reporterassays und der 5-LOX-Testung wurde zunächst ein Aktivitäts-Screening aller in den folgenden Kapiteln 3.2.2 bis 3.2.7 diskutierten Liganden durchgeführt. Schließlich wurden jene Substanz an den hPPAR-Rezeptorsubtypen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  (freie Carbonsäuren) und an 5-LOX (Carbonsäureesterderivate) im Vergleich zu der Referenzstruktur WY 14643 getestet. Um den Einfluss des 2,3-Dimethylanilin in 6-Pyrimidin-Position zu untersuchen, wurden verschiedene Substitutionen wie 4-Iodphenyl, Chinolin-6-yl, Methoxychinolin-2-yl und Tetrahydropyran<sup>128</sup> (s. Tab. 9) vorgenommen.

Humane pharmakologische In-vitro-Ergebnisse (s. Tab. 12) bezüglich PPAR $\alpha$  und PPAR $\gamma$  zeigten bei dem 4-iodphenylsubstituierten Derivat **4** eine im Vergleich zu WY 14643 schwache Aktivierung.

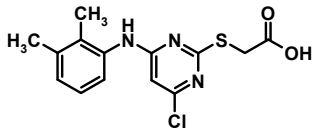
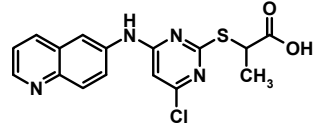
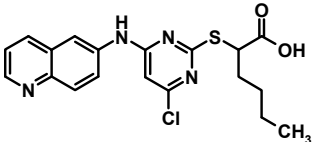
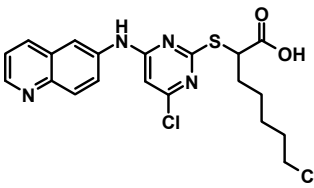
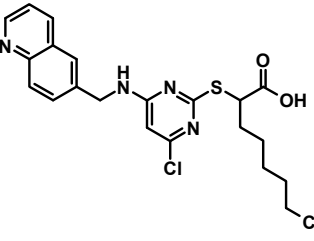
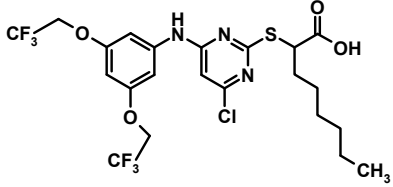
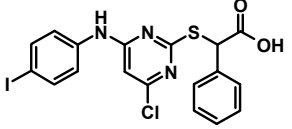
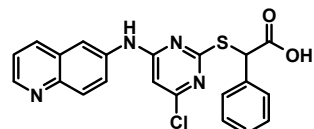
Die anderen beiden Carbonsäurederivate mit Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich mit Pharmakophorresten, die typisch für 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren (**14**<sup>127</sup> und **32**) sind, zeigen, wie erwartet, bei allen hPPAR-Rezeptorsubtypen keine Aktivität. Die pharmakologischen Ergebnisse (s. Tab. 12) der Carbonsäureester **24** und **43** für 5-LOX sind allerdings im Vergleich zu WY 14643-Ester deutlich besser, und zwar um ca. den Faktor 10 (**24**) bzw. 2,5 (**43**). Die Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich mit den Chinolinresten führen zu potenten 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren. Der IC<sub>50</sub>-Wert von Verbindung **13** (7  $\mu$ M), verglichen mit der Strukturreferenz WY 14643-Ester (10  $\mu$ M), demonstriert den für eine gesteigerte 5-LOX-Hemmung wichtigen Beitrag des Methoxytetrahydropyranrestes.<sup>127</sup> Das 4-iodphenylsubstituierte Esterderivat **3** zeigt keine Hemmung der 5-LOX.

Serien-Nr.	Struktur	hPPAR $\alpha$	hPPAR $\beta$	hPPAR $\gamma$	5-LOX int. PMNL
		EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
WY 14643		39.8 $\pm$ 0.7	> 100	53.7 $\pm$ 0.8	nd
WY 14643 Ester		nd	nd	nd	10
4		> 30	nd	> 20	Ia
3		nd	nd	nd	Ia
14		ia	ia	ia	> 10
13		nd	nd	nd	7
32		ia bei 50	ia bei 50	ia bei 50	> 10
24		nd	nd	nd	2-3
43		nd	nd	nd	4

**Tabelle 12:** In-vitro-pharmakologische (PPAR und 5-LOX) Ergebnisse der im Arylamino-Bereich substituierten Derivate von WY 14643., ia: inaktiv, nd: nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

### 3.2.3 **Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Liganden mit Strukturmodifikationen in $\alpha$ -Position zur Carbonsäureester- und zur Carbonsäuregruppe (R- Substitution)**

Aufgrund des pharmakologischen Interesses an der Untersuchung von agonistisch wirkenden Liganden wurde folgende Leitstrukturoptimierung adaptiert: Implementierung von aliphatischen Alkyl- und Aryl-Substituenten in  $\alpha$ -Position zur pharmakophoren Carboxylfunktion<sup>67</sup>, wenn das Strukturelement W ein Chinolinderivat bzw. 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenyl ist. Die Einführung von aliphatischen Alkylresten R in  $\alpha$ -Position zur Carbonsäure bewirkt sowohl am hPPAR $\alpha$  als auch am hPPAR $\gamma$  in der Reihe R = Me (**33**) << *n*-Bu (**34**) < *n*-Hex (**35**) (s. Tab. 13 und 14) eine ansteigende PPAR-Aktivität. Die Faktoren der Aktivitätssteigerung im Vergleich zur Leitstruktur WY 14643 sind in Tabelle 13 dargelegt. Der  $\alpha$ -hexylsubstituierte Ligand **35** der diskutierten Substanzserie fungiert mit einem EC<sub>50</sub>-Wert von 1,9  $\mu$ M am hPPAR $\alpha$  bzw. einer Aktivitätssteigerung um ca. den Faktor 20 sowohl als potentester PPAR $\alpha$ -Aktivator und mit einem EC<sub>50</sub>-Wert von 11,5  $\mu$ M bzw. einer Aktivitätssteigerung um ca. den Faktor 9 auch als potentester PPAR $\gamma$ -Aktivator. Der potenteste 5-LOX-Non-Redoxinhibitor ist auch der  $\alpha$ -hexylsubstituierte Ligand, der Carbonsäureester **27**, mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 0,7  $\mu$ M. Die Einführung von aliphatischen Resten in  $\alpha$ -Position zur Carbonsäure-Funktion bei den Liganden **33–35** führt am hPPAR $\alpha$  und am hPPAR $\gamma$  zu einer Zunahme des aktivierenden Potenziales mit steigender Kettenlänge des  $\alpha$ -positionierten Restes R. Die Einführung eines Linkers, genauer einer Methylengruppe, zwischen dem Chinolin-6-ylrest und dem *Scaffold* (invariantes System, wie in Abb. 19 (a) gelb markiert), führt zur Carbonsäure **36**, welche eine schwache Aktivierung in allen hPPAR-Rezeptorsubtypen erfährt. Die pharmakologischen Ergebnisse (s. Tab. 15) des Carbonsäureesters **29** bzw. der Carbonsäure **36** (s. Tab. 14) für 5-LOX zeigen im Vergleich zu den korrespondierenden Verbindungen ohne den Linker (...) keine nennenswerte Änderung. Im Gegensatz zu den  $\alpha$ -alkylierten Liganden **33–37** weisen die  $\alpha$ -arylierten Derivate **8** und **37** (R = Phenyl) am hPPAR $\alpha$  und am hPPAR $\gamma$  nur eine schwache Aktivierung bzw. Inaktivität auf (s. Tabelle 14). Dies hat vermutlich sterische Gründe.

Serien-Nr.	Struktur	Faktor der Aktivitätssteigerung	
		hPPAR $\alpha$	hPPAR $\gamma$
WY 14643 (Leitstruktur als Referenz)		1	1
33		1	1.5
34		3.5	6.2
35		20.1	9.3
36		1	1
38		3.6	7
8		>2	>1
37		Ia	>2

**Tabelle 13:** Relative Faktoren der Aktivitätssteigerung  $\alpha$ -substituierter Liganden **33–38** relativ zur Leitstruktur WY 14643. Die Faktoren der Aktivitätssteigerung wurden ermittelt, indem der  $EC_{50}$ -Wert der Leitstruktur WY 14643 durch den jeweiligen  $EC_{50}$ -Wert des entsprechenden Liganden dividiert wurde.

Serien-Nr.	Struktur	hPPAR $\alpha$	hPPAR $\beta$	hPPAR $\gamma$	5-LOX int. PMNL
		EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% bei 100	nd
		ia bei 50	ia	ia bei 50	>10
33		rel. Akt. < 30%	ia	48.3	>10
34		11.5	ia bei 30	8.7	10
35		1.9	ia bei 30	5.8	5
36		rel. Akt. < 30% bei 30	ia bei 30	rel. Akt. < 730% bei 30	7
38		11	ia bei 30	7.7	1
8		>60	nd	>60	5
37		ia	nd	>100	>10

**Tabelle 14:** *In-vitro*-pharmakologische Ergebnisse  $\alpha$ -alkylierter bzw.  $\alpha$ -arylierter Pirinixinsäurederivate **8** und **33–38**. ia: inaktiv, nd nicht bestimmt, rel. Akt.: relative Aktivierung.

Im Gegensatz zu den frei drehbaren C-C-Einfachbindungen aliphatischer  $\alpha$ -Alkylreste, welche konformationell sehr flexibel sind, besitzen  $\alpha$ -Arylreste aufgrund ihres starren Ringsystems einen sterisch anspruchsvollen, raumerfüllenden Charakter und somit eine weniger flexible konformationelle Struktur, sodass sich diese Substituenten offensichtlich nicht optimal in die Bindungstasche platzieren können. Zum anderen sind  $\pi$ -Bindungen zur Ausbildung von  $\pi$ - $\pi$ -Ligand-Rezeptor-Interaktionen prädestiniert. Als Spekulation verbleibt die Annahme der fehlenden Bereitstellung von aromatischen zu  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen befähigten Aminosäureresten innerhalb der linken proximalen Bindungstasche der LBD der PPARs.

Das 5-LOX-inhibitorische Potenzial der  $\alpha$ -arylierten Chinolin-6-ylcarbonsäureester **28** ist sehr gut (s. Tab. 15), die entsprechende Carbonsäure **37** wirkt erwartungsgemäß deutlich schwächer (s. Tab. 14).

Basierend auf der Struktur eines 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenyl-Derivates NNC61-3058 (*Per Sauerberg, Novo Nordisk*)<sup>129</sup>, das sich durch eine hohe Aktivität am hPPAR $\alpha$  auszeichnet, wurde eine Leitstrukturoptimierung im Sinne der Einführung eines 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenylrestes in 6-Position des  $\alpha$ -hexylsubstituierten *Scaffolds* vorgenommen, woraus der Ligand **38** resultiert. Der Ligand **38** ist ein potenter dualer PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Agonist (s. Tab. 14) mit einem EC<sub>50</sub>-Wert von 11  $\mu$ M am hPPAR $\alpha$  bzw. 7,7  $\mu$ M am hPPAR $\gamma$  und ein stark wirksamer 5-LOX-Inhibitor mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1  $\mu$ M im 5-LOX-Standardassay. Das Produkt **38** ist in präklinische Studien gegangen. Vier Stunden nach oraler Administration bei Mäusen (n = 6) erreicht das Produkt **38** Plasmaspiegel von 40  $\mu$ M.

Insbesondere die  $\alpha$ -alkylierten Derivate von WY 14643 zeigen eine mit wachsender Kettenlänge korrelierte steigende duale PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Aktivität. Eine mögliche Hypothese hierfür könnte sein, dass die Serie von potenten dualen PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Liganden die linke proximale Bindungstasche besetzt und ein optimiertes hydrophobes Ligand-Rezeptor-Interaktionsprofil ergibt.

Serien-Nr.	Struktur	5-LOX int. PMNL
		IC <sub>50</sub> (μM)
WY 14643 Ester		10
25		3
26		1
27		0.7
29		1
31		>10
7		>10
28		1

**Tabelle 15:** *In-vitro*-pharmakologische Ergebnisse  $\alpha$ -substituierter Pirinixinsäurederivate bezüglich der Inhibierung der 5-Lipoxygenase.



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

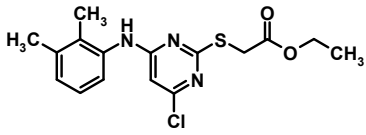
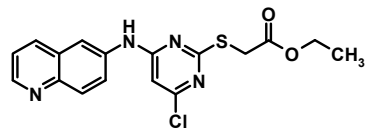
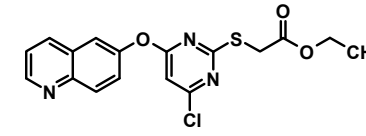
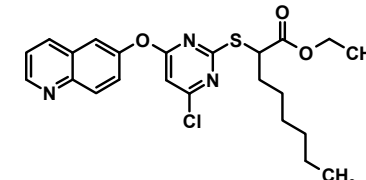
Die Strukturmodifikation Y (s. Abb. 20 (b), rosa) bestand in der Implementierung eines Ether-Strukturelements in Analogie zu literaturbekannten 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren (vgl. Kap. 1.3.3.2<sup>109</sup> und s. Abb. 20 (a)).

Die Substitution des sekundären Amins der Chinolin-6-yl-Verbindungen durch einen Ether-Sauerstoff führt zu einer verminderten Aktivität sowohl an PPAR $\alpha$  als auch PPAR $\gamma$  (s. Tab. 16). Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass an entsprechender Position der Liganden-Bindungstasche eine Wasserstoffbrücken-Akzeptor-Position vorhanden ist, welche zur Erhöhung der Affinität beiträgt. Offensichtlich wird im Falle von WY 14643 ein hoher Bindungsbeitrag durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen der NH-Funktion und einem Wasserstoffbrücken-Akzeptor innerhalb der LBP erreicht.

Serien-Nr.	Struktur	hPPAR $\alpha$	hPPAR $\beta$	hPPAR $\gamma$	5-LOX int. PMNL
		EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)
WY 14643		0.98	39.8	rel. Akt. < 20% bei 100	53.7
41		ia	ia	rel. Akt. < 10% bei 100	>10
42		rel. Akt. < 20% bei 30	ia bei 30	>30	4

**Tabelle 16:** *In-vitro*-pharmakologische Ergebnisse eines Ether-Strukturelements des Carbonsäurederivates von WY 14643. ia: inaktiv, rel. Akt.: relative Aktivierung.

Die in nachfolgender Tabelle 17 gezeigten *in-vitro*-pharmakologischen Daten bezüglich der Inhibierung der 5-Lipoxygenase demonstrieren, dass 6-Aminochinolinderivate eine genauso potente 5-LOX-Inhibierung zeigen wie 6-Hydroxychinolinderivate ( $IC_{50}$  ca. 1).

Serien-Nr.	Struktur	5-LO
		$IC_{50}$ ( $\mu$ M)
50		10
25		2-3
39		>10
40		1

**Tabelle 17:** *In-vitro*-pharmakologische Ergebnisse der Pirinixinsäurederivate bezüglich der Inhibierung der 5-Lipoxygenase.

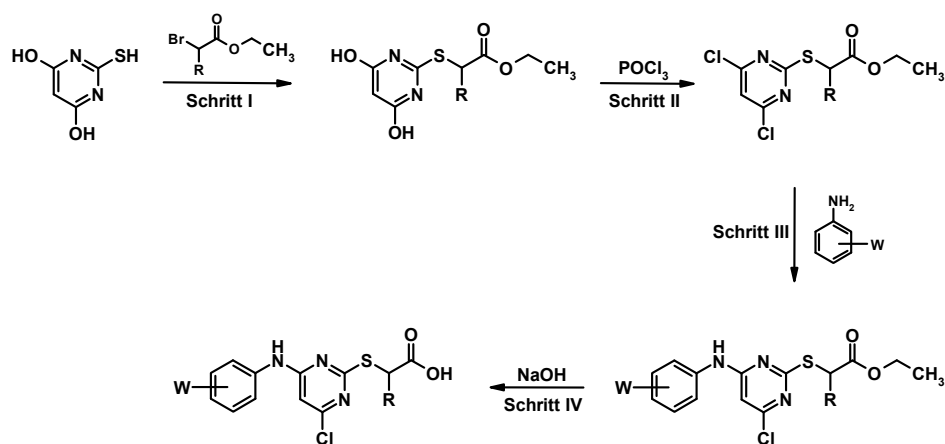
## 4. Zusammenfassung

PPARs gehören wie die Steroidhormon-Rezeptoren (z. B. Glucocorticoid-, Estrogen- oder Testosteron-Rezeptoren) zur Superfamilie der nukleären Rezeptoren. Es existieren drei PPAR-Subtypen, die als PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  und PPAR $\gamma$  bezeichnet werden und von drei verschiedenen Genen kodiert werden.

Fibrate sind PPAR $\alpha$ -Agonisten, welche die Plasma-Triglyceridspiegel reduzieren und gleichzeitig eine moderate Steigerung des HDL-Cholesterols bewirken. Thiazolidindione (Glitazone) sind PPAR $\gamma$ -Agonisten, die bei Typ-2-Diabetes-mellitus indiziert sind und als Insulinsensitizer wirken. Duale PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten stellen eine neue Klasse von Arzneistoffen dar, die zukünftig zur Behandlung von Typ-2-Diabetikern mit gestörtem Lipidprofil eingesetzt werden könnten.

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde eine Leitstrukturoptimierung des selektiven PPAR $\alpha$ -Agonisten Pirinixinsäure (WY 14643) durchgeführt. Die pharmakologische *In-vitro*-Charakterisierung der Substanzen erfolgte mit Hilfe subtypspezifischer Reporter-Gen-Assays. Zusätzlich wurde gezeigt<sup>130</sup>, dass Chinolinderivate der Pirinixinsäure 5-LOX-inhibierende Eigenschaften in polymorphnukleären Leukozyten zeigen.<sup>131</sup>

Zunächst wurde eine geeignete Synthesestrategie zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten etabliert, was zur Charakterisierung und Identifizierung einer Serie von potenten dualen PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonisten und 5-LOX-Inhibitoren führte. Die Synthesestrategie zur Darstellung von sowohl im Arylamino-Bereich (W) als auch in  $\alpha$ -Position (R) modifizierten Derivaten der Pirinixinsäure bestand in einer vierstufigen Reaktionsfolge (I–IV; siehe Abb.).



Allgemeines Syntheschema zur Darstellung von Pirinixinsäurederivaten mit dualen PPAR $\alpha/\gamma$ -agonistischen und 5-LOX-inhibitorischen Eigenschaften.

Die PPAR-Modulatoren (Carbonsäuren) **4**, **8**, **14**, **32–38**, **41** und **42** wurden *in-vitro*-pharmakologisch unter Anwendung subtypeselektiver Reportergergen-Assays (hPPAR $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) charakterisiert.

Die 5-LOX-Modulatoren (Carbonsäureester) **3**, **7**, **8**, **13**, **14**, **24–29**, **31–42** und **50** wurden *in-vitro*-pharmakologisch unter Anwendung des 5-LOX-Standardassays in intakten PMNL (polymorphnukleäre neutrophile Leukozyten) evaluiert.

Die vorliegende Untersuchung deckte auf, dass der Ersatz des 2,3-Dimethylanilin-Strukturelements der Pirinixinsäure durch 6-Aminochinolin zu einem Gesamtverlust des PPAR $\alpha/\gamma$ -Agonismus führt. Durch Strukturmodifikationen im Arylamino-Bereich der Leitstruktur WY 14643 mit für 5-LOX-Non-Redoxinhibitoren typischen Pharmakophorresten, Tetrahydropyran-4-yl (Substanzen **13–14**) und Methoxychinolin-2-yl (Substanz **43**), konnte eine signifikante Steigerung des 5-LOX-inhibitorischen Potenzials erzielt werden [ $IC_{50}$  7  $\mu$ M (**13**) bzw. 4  $\mu$ M (**43**)]. Die  $\alpha$ -alkylsubstituierten Carbonsäurederivate **33–38** zeigten sowohl am hPPAR $\alpha$  als auch am hPPAR $\gamma$  eine mit der aliphatischen Kettenlänge steigende Potenz. Am hPPAR $\alpha$  erwiesen sich das  $\alpha$ -Hexyl-Derivat **35** und das  $\alpha$ -Butyl-Derivat **34** mit  $EC_{50}$ -Werten von 1,9  $\mu$ M (**35**) bzw. 11,5  $\mu$ M (**34**) entsprechend einer Steigerung der Aktivität gegenüber WY 14643 um den Faktor 20 (**35**) bzw. den Faktor 4 (**34**) als besonders potent. Im Falle des hPPAR $\gamma$  zeigten ebenso das  $\alpha$ -butylsubstituierte Derivat **34** und der  $\alpha$ -hexylsubstituierte Ligand **35** die höchste Aktivität mit  $EC_{50}$ -Werten von 8,7  $\mu$ M (**34**) bzw. 5,8  $\mu$ M (**35**) und einer Steigerung der Aktivität gegenüber WY 14643 von Faktor 6 (**35**) bzw. Faktor 9 (**34**). Die Einführung von  $\alpha$ -Alkylsubstituenten in das Grundgerüst der Pirinixinsäure führt möglicherweise zum Besetzen der linken proximalen Bindungstasche und somit zu einer im Vergleich zur Leitstruktur WY14643 stärkeren Bindung in die Ligandenbindungstasche des Rezeptors. Die Besetzung dieser proximalen Bindungstasche entscheidet jedoch nicht über die PPAR-Selektivität, da diese sowohl von hPPAR $\alpha$ - als auch von hPPAR $\gamma$ -Agonisten belegt wird. PPAR $\alpha/\gamma$ -Selektivität kann zum einen durch das Besetzen der linken bzw. rechten distalen Bindungstasche erzielt werden, zum anderen durch die Auswahl verschiedener acider Kopfgruppen. Aufgrund unterschiedlicher Aminosäuresequenzen der Bindungstaschen der einzelnen PPAR-Subtypen ergibt sich für die Kopfgruppen der PPAR-Modulatoren im hPPAR $\alpha$  und hPPAR $\gamma$  eine durch den sterischen Einfluss von Carboxyl- bzw. TZD-Kopfgruppen verursachtes unterschiedliches Wasserstoffbrückennetzwerk. Im Vergleich

mit Pirinixinsäure konnte nur durch die Einführung der größeren Alkylketten (*n*-Butyl- oder *n*-Hexyl) ein stark erhöhter dualer PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Agonismus erreicht werden.

Die Substitution des sekundären Amins der Chinolin-6-ylverbindungen durch einen Ether-Sauerstoff in den Substanzen **41** und **42** sowie die Einführung eines Linkers, genauer einer Methylengruppe, zwischen dem Chinolin-6-ylrest und dem *Scaffold* (Derivate **29** und **36**), führt zu einer verminderten Aktivität sowohl an hPPAR $\alpha$  als auch an hPPAR $\gamma$ . Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass an entsprechender Position der Liganden-Bindungstasche eine Wasserstoffbrücken-Akzeptor-Position vorhanden ist, welche zur Erhöhung der Affinität beiträgt. Offensichtlich wird, durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen der NH-Funktion und einem Wasserstoffbrücken-Akzeptor innerhalb der LBP im Falle von WY 14643 ein hoher Bindungsbeitrag erreicht.

Daten bezüglich der Inhibierung der 5-Lipoxygenase demonstrieren, dass 6-Aminochinolinderivate potente 5-LOX-Inhibitoren sind. Die Einführung eines 3,5-Bis-(2,2,2-trifluor-ethoxy)-phenylrestes in 6-Position des  $\alpha$ -hexylsubstituierten *Scaffolds* führt zu Ligand **38**. Dieser ist ein potenter dualer PPAR $\alpha$ / $\gamma$ -Agonist mit einem EC<sub>50</sub>-Wert von 11  $\mu$ M an hPPAR $\alpha$  bzw. 7,7  $\mu$ M an hPPAR $\gamma$  und ein stark wirksamer 5-LOX-Inhibitor mit einem IC<sub>50</sub>-Wert von 1  $\mu$ M im 5-LOX-PMNL-Standardassay. Die Substanz **38** wurde in präklinischen Studien eingesetzt. Vier Stunden nach oraler Administration bei Mäusen (*n* = 6) wurde einen Plasmaspiegel von 40  $\mu$ M erreicht.

Im Hinblick auf eine Steigerung der PPAR-agonistischen Aktivität und der Reduktion der hepatotoxischen Eigenschaften der Leitstruktur Pirinixinsäure wurde eine Leitstrukturoptimierung durch Einführung der größeren Alkylketten in  $\alpha$ -Position zur pharmakophoren Carboxyl-Funktion durchgeführt.

Für die inhibierende Wirkung auf die 5-LOX scheint das Chinolin-Strukturelement verantwortlich zu sein, während die Potenz der Inhibition durch das Substitutionsmuster moduliert wird.

## 5. Experimenteller Teil

### 5.1 Allgemeine Angaben

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

**Dünnschichtchromatographie (DC):** DC-Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Firma Merck KGaA), Schichtdicke 0.2 mm. Die Chromatogramme wurden entweder durch UV-Licht oder durch das Sprühreagenz Ninhydrin visualisiert.

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

**Kernresonanzspektroskopie (NMR):** Zur Aufnahme von <sup>1</sup>H-NMR-Spektren wurde das Spektrometer Bruker ARX 300 (300 MHz) verwendet; <sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden am Spektrometer AC 200 E (50 MHz) aufgenommen. Die Zuordnung der <sup>13</sup>C-NMR-Signale erfolgte mit Hilfe von DEPT 135-Pulssequenzen oder HMBC- bzw. HMQC-Experimenten. Die chemischen Verschiebungen  $\delta$  der <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren wurden auf CDCl<sub>3</sub> (7.26 ppm (<sup>1</sup>H-NMR), 77.2 ppm (<sup>13</sup>C-NMR)) bzw. DMSO-d<sub>6</sub> (2.50 (<sup>1</sup>H-NMR), 39.5 (<sup>13</sup>C-NMR)) geeicht und beziehen sich auf eine Messtempertaur von 25 °C.

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

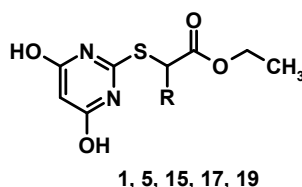
**Elementaranalysen** wurden am Institut für Organische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main durchgeführt (Foss Heraeus CHN-O-rapid).

**Verwendete Chemikalien:** Der Großteil aller verwendeten Lösemittel wurde, soweit nicht anders angegeben, in technischer Form eingesetzt. Absolutierte Lösemittel sowie alle weiteren Chemikalien wurden von den Firmen Merck KGaA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Fluka), Lancaster, TCI Europe N.V. und Interchim bezogen.

## 5.2 Synthesevorschriften und Charakterisierungen der Edukte

### 5.2.1 Synthese der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **1**, **5**, **15**, **17** und **19**

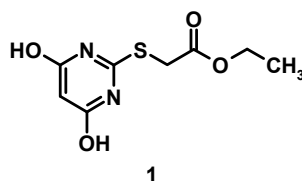
#### Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von **1**, **5**, **15**, **17** und **19**



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

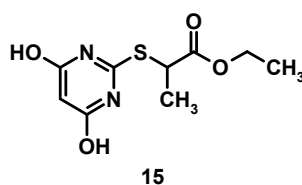
Nr.	R	TBS	1M NaOH	Ethylester	LM	Zeit	Ausbeute	Aussehen
		(g (mmol))	(mL (mmol))	(g (mmol))	(mL)		(g (% d. Th.))	
<b>1</b>	H	10 (69.4)	75 (75)	13.6 (81.2) <sup>a</sup>	75	2	12.6 (79)	weiße Kristalle
<b>15</b>	Me	17 (117.9)	128 (127)	24.97 (138) <sup>b</sup>	128	19	15.59 (54.15)	weiße Kristalle
<b>17</b>	<i>n</i> -Bu	13.8 (95.73)	100 (103)	25 (112.5) <sup>c</sup>	100	73	11.18 (40.8)	gelbe Kristalle
<b>19</b>	Hex	28.6 (198)	200 (214)	58.4 (232.3) <sup>d</sup>	200	72	26.63 (42.73)	weiße Kristalle <sup>f</sup>
<b>5</b>	Ph	15 (104)	115 (112)	29.6 (121.7) <sup>e</sup>	115	4	29.17 (91.52)	weiße Kristalle

**Tabelle 18:** Reaktionsansätze zur Darstellung der (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **1**, **5**, **15**, **17** und **19**. TBS: Thiobarbitursäure, LM: Lösemittel. <sup>a</sup> 2-Brom-essigsäureethylester, <sup>b</sup> 2-Brom-propansäureethylester, <sup>c</sup> 2-Brom-hexansäureethylester, <sup>d</sup> 2-Brom-octansäureethylester, <sup>e</sup> 2-Brom-2-phenyl-essigsäureethylester, <sup>f</sup> 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-octansäureethylester **19** wurde mittels Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase AcOEt/*n*-Hex 3:1) gereinigt.

**Charakterisierung von (4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)- essigsäureethylester 1**

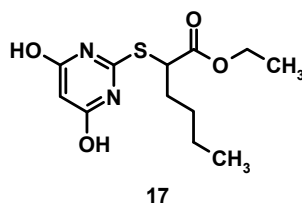
Smp. = 195-196 °C.

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

**Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)- propansäureethylester 15**

Smp. = 149 °C.

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

**Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-hexansäureethylester 17**

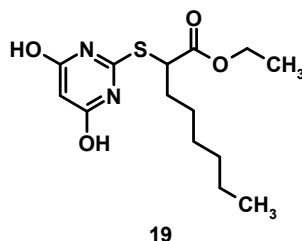
Smp. = 172-173 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.96 (t, 3H,  $\text{CH}_3$  ( $n$ -Bu),  $J$  = 7.1 Hz), 1.29 (t, 3H, O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J$  = 7.1 Hz), 1.41-1.43 (m, 4H,  $\text{CH}_2$  ( $n$ -Bu)), 1.84-2.06 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  ( $n$ -Bu)),



4.24 (q, 2H, O-CH<sub>2</sub>, *J* = 7.1 Hz), 4.62 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.1 Hz), 5.35 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 11.91 (s (br), 2H, OH).

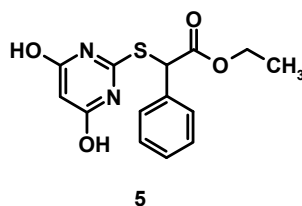
### Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-octansäureethylester 19



Smp. = 138 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO): δ = 0.83 (t, 3H, CH<sub>3</sub> (Hex), *J* = 6.9 Hz), 1.17 (t, 3H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, *J* = 7.1 Hz), 1.23-1.30 (m, 8H, CH<sub>2</sub> (Hex)), 1.76-1.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (Hex)), 4.11 (q, 2H, O-CH<sub>2</sub>, *J* = 7.1 Hz), 4.50 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.1 Hz), 5.22 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 11.79 (s (br), 2H, OH).

### Charakterisierung von 2-(4,6-Dihydroxy-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-phenyl-essigsäureethylester 5

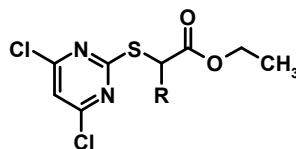


Smp. = 200-205 °C (Zersetzung).

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO): δ = 1.26 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, *J* = 7.1 Hz), 4.16-4.34 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 5.40 (s, 1H, Pyr-5-*H*), 5.74 (s, 1H, S-CH), 7.44-7.60 (m, 5H, *H* (Ph)), 11.97 (s (br), 2H, OH).

### 5.2.2 Synthese 4,6-dihalogen substituierter (Pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **2**, **6**, **16**, **18** und **20**

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von **2**, **6**, **16**, **18** und **20**

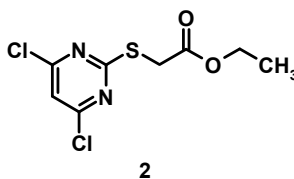


**2**, **6**, **16**, **18**, **20**

In einer trockenen Apparatur wurde eine Lösung der entsprechenden (4,6-Dihydroxypyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **1**, **5**, **15**, **17** und **19** (1 eq) in POCl<sub>3</sub> (18 eq) mit *N,N*-Diethylanilin (1 eq) versetzt und bei 110 °C zum Sieden erhitzt. Das überschüssige POCl<sub>3</sub> wurde abdestilliert und der Rückstand auf Eis gegeben. Die wässrige Phase wurde dreimal mit AcOEt extrahiert, die vereinigten organischen Phasen dreimal mit 2N HCl, dreimal mit ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. und einmal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch oder durch Umkristallisieren gereinigt (s. Tab. 19).

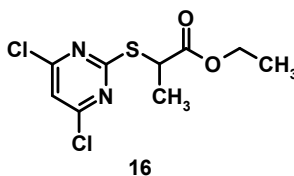
Nr.	R	Edukt (g (mmol))	POCl <sub>3</sub> (mL (mol))	Zeit (h)	Ausbeute g (% d. Th.)	UK (mL)	SC	Aussehen
<b>2</b>	H	10 (43.4) <b>1</b>	70 (0.79)	4.5	10 (86)	500	–	weiße Kristalle
<b>16</b>	Me	6.5 (26.6) <b>15</b>	42.42 (0.48)	5.5	7 (94)	–	30:1	gelbes Öl
<b>18</b>	<i>n</i> -Bu	5.5 (19.21) <b>17</b>	30.6 (0.35)	5.5	5.86 (94)	–	50:1	gelbes Öl
<b>20</b>	Hex	3.52 (11.2) <b>19</b>	17.9 (0.2)	6	2.38 (61)	–	50:1	orangefarbenes- Öl
<b>6</b>	Ph	29 (94.68) <b>5</b>	158.8 (1.70)	4	33.62 (99)	600	–	beigefarbene Kristalle

**Tabelle 19:** Reaktionsansätze zur Darstellung der (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-ethylester **2**, **6**, **16**, **18** und **20**. UK: Umkristallisation aus *n*-Hexan. Die entstandene Lösung wurde heiß von unlöslichen Rückständen abfiltriert. SC: Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt).

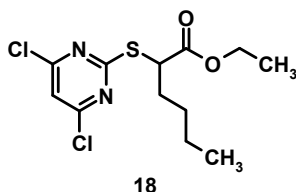
**Charakterisierung von (4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-essigsäureethylester 2**

Smp. = 70-72 °C.

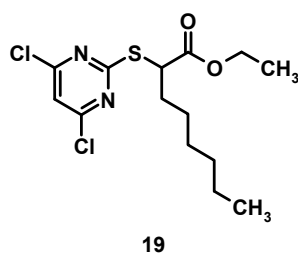
$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.29 (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J$  = 7.1 Hz), 3.90 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 4.23 (q, 2H, O- $\text{CH}_2$ ,  $J$  = 7.1 Hz), 7.06 (s, 1H, Pyr-5- $H$ ).

**Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-propansäureethylester 16**

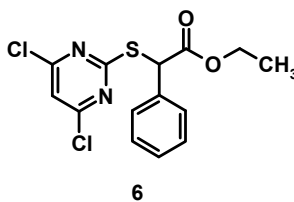
$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.24 (t, 3H, O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J$  = 7.1 Hz), 1.58 (d, 3H, S- $\text{CHCH}_3$ ,  $J$  = 7.4 Hz), 4.16 (q, 2H, O- $\text{CH}_2$ ,  $J$  = 7.1 Hz), 4.38 (q, 1H, S- $\text{CH}$ ,  $J$  = 7.4 Hz), 7.01 (s, 1H, Pyr-5- $H$ ).

**Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-hexansäureethylester 18**

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

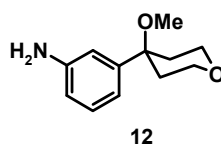
**Charakterisierung von 2-(4,6-Dichlor-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-octansäureethylester  
19**

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

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

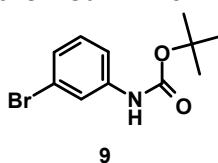
$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.28$  (t, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J = 7.1$  Hz), 4.10-4.33 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.48 (s, 1H,  $\text{S-CH}$ ), 7.06 (s, 1H, Pyr-5- $H$ ), 7.34-7.39 (m, 3H,  $H$  (Ph)), 7.49-7.53 (m, 2H,  $H$  (Ph)).

### 5.2.3 Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxy-tetrahydrofuran 12



Die Herstellung des 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxy-tetrahydrofuran 12 erfolgte nach literaturbekannten Verfahren in vier Stufen.<sup>122</sup>

#### 5.2.3.1 Synthese von *N*-*t*-Boc-3-bromoanilin 9



13.3 g (76.36 mmol) 3-Brom-anilin und 25 g (114.5 mmol) Di-*tert*-butyldicarbonat wurden in 50 mL 2M NaOH gelöst und eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Die erkaltete Reaktionslösung wurde dreimal mit je 70 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 100 mL ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung, einmal mit 100 mL Wasser und einmal mit 100 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus 200 mL *n*-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 13.69 g (69.16 % d. Th.), farblose Kristalle.

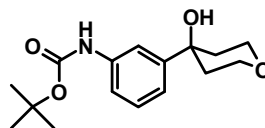
#### Charakterisierung

Smp. = 83-84 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.52 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 6.49 (br s, 1H, NH), 7.23-7.32 (m, 3H, Ph.), 7.54 (br s, 1H, Ph)

<sup>13</sup>C-NMR (50.32 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.34 (CO)NH), 139.68 (Ar-C-NH), 130.15 (Ar- CH), 125.94 (Ar-CH), 122.72 (Ar-C-Br.), 121.33 (Ar-CH.), 116.85 (Ar-CH.), 81.0 (C+), 28.26 (3, CH<sub>3</sub>)

### 5.2.3.2 Synthese von 4-(3-*t*-Butyloxycarbonylamino-phenyl)-4-hydroxytetrahydro-pyran 10



10

Eine Lösung aus 12 g (46.84 mmol) *N*-*t*-Boc-3-bromanilin **9** in 180 ml THF wurde unter Ar auf -78 °C gekühlt und anschließend 68.75 ml (75.11 mmol) *n*-BuLi langsam unter Rühren zugefroren. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei -78 °C gerührt. Nach 1.5 h wurden 5 mL (54.43 mmol) Tetrahydro-4H-pyran-4-on unter Rühren bei Raumtemperatur zugegeben und das Reaktionsgemisch 30 min bei Raumtemperatur unter Ar gerührt, anschließend auf 200 mL ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung gegeben und zweimal mit je 200 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 200 mL ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung, zweimal mit je 200 mL Wasser und einmal mit 200 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus 80 mL *n*-Hexan und 80 mL Chloroform umkristallisiert.

Ausbeute: 8.24 g (60 % d. Th.), beigefarbene Kristalle.

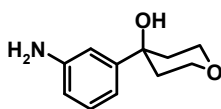
#### Charakterisierung

Smp. = 130-132 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.52 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 1.69 (t, br, 2H), 2.19 (3d, 2H), 3.87 (d, 2H), 6.54 (br, s, 1H, NH), 7.12-7.22 (m, 3H, Ph.), (br s, 1H, Ph.).

<sup>13</sup>C-NMR (50.32 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 152.34 (C=ONH), 149.23 (C-OH), 138.49 (Ar-C-NH), 129.04 (Ar-CH), 119.19 (Ar-CH), 117.48 (Ar-CH), 115.12 (Ar-CH), 80.58 (C+), 70.67 (C-OHpyran), 63.83 (2 CH<sub>2</sub>pyran), 38.32 (2 CH<sub>2</sub>pyran), 28.32 (3, CH<sub>3</sub>)

### 5.2.3.3 Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-hydroxytetrahydro-pyran 11



11

Zur einer auf 0 °C gekühlten Suspension aus 3.5 g (11.93 mmol) 4-(3-*t*-Butyloxycarbonylamino-phenyl)-4-hydroxytetrahydro- pyran 10 in 25 mL Dichlormethan wurden 25 mL Trifluoressigsäure gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei 0 °C und 1 h bei Raumtemperatur gerührt, anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit 130 ml gessättigter K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung basifiziert, viermal mit je 150 mL Dichlormethan extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde aus 35 mL Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert.

Ausbeute: 1.8 g (78.30 % d. Th.), beigefarbene Kristalle.

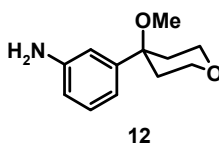
### Charakterisierung

Smp. = 145-147 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.52 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 1.69 (t, br, 2H), 2.19 (3d, 2H), 3.87 (d, 2H), 6.54 (br, s, 1H, NH), 7.12-7.22 (m, 3H, Ph.), (br s, 1H, Ph)

<sup>13</sup>C-NMR (50.32 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 150.55 (C-OH), 147.40 (Ar-C-NH<sub>2</sub>), 128.57 (Ar- CH), 113.27(Ar-CH), 112.65 (Ar- CH), 111. 25 (Ar- CH), 69.09 (Ar-C-OHpyran), 63.36(2 CH<sub>2</sub>pyran), 38.48 (2 CH<sub>2</sub>pyran)

#### 5.2.3.4 Synthese von 4-(3-Aminophenyl)-4-methoxytetrahydro-pyran 12



Zu einer Lösung aus 1.5 g (7.76 mmol) 4-(3-Aminophenyl)-4-hydroxytetrahydro-pyran **11** in 30 mL abs. DMF wurden 0.78 mg NaH (60% ige Dispersion in Mineralöl) gegeben und

bei Raumtemperatur 1 h gerührt. Dem Reaktionsansatz wurden 0.47 mL (7.59 mmol) Iodmethan zugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde noch 30 min bei Raumtemperatur unter Ar und unter Lichtausschluss gerührt, anschließend gesättigte NH<sub>4</sub>Cl-Lösung 80 mL zugegeben und fünfmal mit je 80 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 300 mL ges. NH<sub>4</sub>Cl-Lösung, zweimal mit je 300 mL ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. extrahiert, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösemittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase: *n*-Hex/AcOEt 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.071 g (67 % d. Th.), orangefarbene Kristalle.

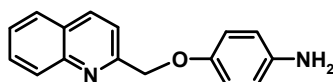
### Charakterisierung

Smp. = 100-101 °C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 1.95-2.02 (m, 4H, Ar), 2.99 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.82 (3d, 2H, J=3), 3.86 (d, 2H; J= 2.7), 6.95-6.98 (m, 2H), 6.85 (ddd, 1H, J=9), 7.22 (t, 1H, J=8.13)

<sup>13</sup>C-NMR (50.32 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ =146.24 (C-OH), 142.07(Ar-C-NH<sub>2</sub>), 129.58Ar- CH), 119.58 (Ar-CH), 116.41(Ar- CH), 114. 97(Ar- CH), 74.90 (Ar-C-OMe), 63.63 (2 CH<sub>2</sub>pyran), 49.88 (CH<sub>3</sub>), 35.27 (2 CH<sub>2</sub>pyran)

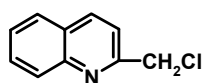
#### 5.2.4. Synthese von 2-(*p*-Aminophenoxymethyl)-chinolin 23



Die Herstellung von 2-(*p*-Aminophenoxymethyl)-chinolin 23 erfolgte nach literaturbekannten (5.2.4.1<sup>123</sup>, 5.2.4.2<sup>124</sup>, 5.2.4.3<sup>125</sup>) Verfahren in drei Stufen.



### 5.2.4.1 Synthese von 2-Chloromethyl-chinolin 21



21

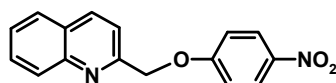
25 g (0.17 mmol) Chinaldin wurden unter Ar in ca 190 mL Acetonitril auf -5 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden unter Rühren 16.23 g (0.07 mmol) TCIA in 54 mL Acetonitril auf -5 °C zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 40 min. bei -5 °C gerührt. Die entstandene weiße Suspension wurde unter Lichtausschluss und unter Rühren bei 0 °C für 4h gerührt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert und dreimal mit Acetonitril gewaschen. Das Filtrat wurde mit ca 150 mL 2N HCl gerührt. Die saure wäßrige Phase wird mit 150 mL Essigester überschichtet, mit 50% iger Natronlauge auf pH 3 gebracht und die Phasen kraftig gerührt. Anschließend wurden die Phasen getrennt, die wäßrige Phase nochmals mit 100 mL Essigester extrahiert, die vereinigten Essigesterphasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Rotationsverdampfer eingeeengt. Das grüne Produkt wurde an die Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 15.59 g (50.44 % d. Th.), grüne Kristalle.

### Charakterisierung

Smp. = 52-54°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.23 (d, 1H, J = 8.48, 4-ArH), 8.10 (d, 1H, J = 8.45, 8-ArH), 7.85 (br d, 1H, J = 8.14, 5-ArH), 7.77 (ddd, 1H, J = 8.44, 6.98, 1.47, 7-ArH), 7.63 (d, 1H, J = 8.47, 3-ArH), 7.59 (br dd, 1H, J = 1.03, 8.08, 6-ArH), 4.85 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl).

**5.2.4.2 Synthese von 2-(p-Nitrophenoxyethyl)-chinolin 22**

22

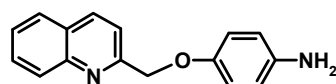
Ein Gemisch aus 15.65g (87.26mmol) **22**, 13.31 (95.7mmol) p-Nitrophenol, 0.65 g (4.34mmol) Natriumiodid, 31.18 g (95.7mmol) Cäsiumcarbonat und 13.22 g (95.7mmol) Kaliumcarbonat in ca 170 mL Aceton wurde für ca 4h refluxiert. Das erkaltete Reaktionsgemisch wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der entstandene Niederschlag wurde in Diethylether gelöst, zweimal mit 1N NaOH, einmal mit Wasser, einmal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer evaporiert. Das Rohprodukt wurde aus 260 mL Diethylether und 80 mL *n*-Hexan umkristallisiert.

Ausbeute: 4.45 g (18.28 % d. Th.), beigefarbene Kristalle.

**Charakterisierung**

Smp. = 138-140°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.24 (d, 2H, J = 6.36, NO<sub>2</sub>-Ar), 8.2 (d, 1H, J = 7.10, 4-ArH), 8.11(d, 1H, J = 8.46, 8-ArH), 7.86 (br d, 1H, J = 8.10, 5-ArH), 7.80 (ddd, 1H, J = 8.44, 7.06, 1.23, 7-ArH), 7.63 (d, 1H, J = 8.36, 3-ArH), 7.58 (br dd, 1H, J = 2.10, 7.24, 6-ArH), 7.10 (d, 2H, J = 2.07, O-Ar), 5.48 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-O).

**5.2.4.3 Synthese von 2-(p-Aminophenoxyethyl)-chinolin 23**

23

Zu einer Suspension aus 4.45 (15.87 mmol) g **22** in 10 mL Methanol / 10 mL THF wurden bei 30 °C unter Rühren zunächst 0.28 g (5.62 mmol) Hydrazin Hydrat, anschließend in kleinen Portionen 0.188 g Raney-Nickel in 6 mL Ethanol gegeben. Nachdem bei Temperaturaustieg und zu ende war, wurde das Reaktionsgemisch 4h zum sieden erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch wurde abfiltriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 60 mL Dichlormethan aufgenommen. Die vereinigten organischen Phasen wurden dreimal mit je 60 mL Wasser gewaschen und mit konz. HCl versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit 2N HCl gewaschen, in Wasser gelöst und mit 20% iger NaOH alkalisiert. Das Rohprodukt wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 3.60 g (91.28 % d. Th.), beigefarbene Kristalle.

### Charakterisierung

Smp. = 130-131°C.

<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ = 8.39 (d, 1H, J = 8.50, 4-ArH), 8.00 (d, 1H, J = 7.42, 8-ArH), 7.79 (br d, 1H, J = 8.10, 5-ArH), 7.73 (ddd, 1H, J = 8.44, 7.06, 1.23, 7-ArH), 7.65 (d, 1H, J = 8.36, 3-ArH), 7.59 (br dd, 1H, J = 2.53, 7.26, 6-ArH), 6.75 (d, 2H, J = 2.14, O-Ar), 6.48 (d, 2H, J = 2.14, NH<sub>2</sub>-Ar), 5.19 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-O), 4.62 (s, br, 2H, NH<sub>2</sub>).

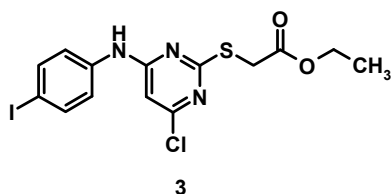
### 5.2.5 Synthese der aus nukleophiler aromatischer Substitution am Pyrimidin resultierenden 6-Pyrimidin-substituierten Ethylester **3**, **7**, **13**, **24-31** und **39-40**

**Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von 3, 7, 13, 24-31**

Nr.	Edukt (g (mmol))	Amin (g (mmol))	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (g (mmol))	LM (mL)	Zeit (h)	UK (mL)	SC	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aus- sehen
<b>3</b>	4.54 (16.99) <b>2</b>	3.72 (16.99) <sup>a</sup>	2.06 (16.99)	60	26	60 <sup>1</sup>	–	3.63 (47.5)	grüne Kristalle
<b>7</b>	1.1 (3.2) <b>6</b>	0.702 (3.2) <sup>a</sup>	0.388 (3.2)	11	96	–	8:1	0.452 (26.87)	weiße Kristalle
<b>13</b>	1.29 (4.82.21) <b>2</b>	1 (4.82) <b>12</b>	0.584 (4.82)	20	25	30 <sup>1</sup>	–	1.0358 (49)	Gelbe Kristalle
<b>24</b>	6 (22.46) <b>2</b>	3.24 (22.46) <sup>b</sup>	2.72 (22.46)	75	120	40 <sup>2</sup>	–	0.756 (23.4)	gelbe Kristalle
<b>25</b>	7.8(27.7) <b>16</b>	4(27.7) <sup>b</sup>	3.36 (27.7)	60	72	40 <sup>3</sup>	–	2.98 (27.66)	gelbe Kristalle
<b>26</b>	7 (21.6) <b>18</b>	3.12 (21.6) <sup>b</sup>	2.62 (21.6)	60	108	40 <sup>3</sup>	–	2.37 (25.5)	weiße Kristalle
<b>27</b>	2.14 (6.096) <b>20</b>	0.88 (6.096) <sup>b</sup>	0.74 (6.096)	20	144	20 <sup>3</sup>	–	0.372 (13.33)	beigefarb ene Kristalle
<b>28</b>	6.63 (19.3) <b>6</b>	2.78 (19.3) <sup>b</sup>	2.34 (19.3)	50	72	20 <sup>3</sup>	–	2.49 (28.64)	beigefarb ene Kristalle
<b>29</b>	2.198 (6.26) <b>20</b>	0.99 (6.26) <sup>c</sup>	0.758 (6.26)	25	23	–	1:1	1.83 (62.17)	gelbes Öl
<b>30</b>	0.317 (1.19) <b>2</b>	0.3 (1.19) <b>23</b>	0.143 (1.19)	10	24	–	3:1	0.393 (33.15)	weiße Kristalle
<b>31</b>	4.86 (13.83) <b>20</b>	4 (13.83) <sup>d</sup>	1.67 (13.83)	80	48	–	8:1	2.56 (30.63)	weiße Kristalle

**Tabelle 20:** Reaktionsansätze zur Darstellung 6-Pyrimidin-substituierter Ethylester **3, 7, 13, 24-31**. LM: Lösemittel (Ethanol), UK: Umkristallisation aus<sup>1</sup> Ethanol<sup>2</sup>, Essigsäureethylester<sup>3</sup>, Methanol SC: Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt) <sup>a</sup>. 4-Iodanilin <sup>b</sup>, 6-Aminochinolin <sup>c</sup>, 6-Aminomethylchinolin <sup>d</sup>, 3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenylamin.

Die jeweiligen 4,6-dihalogenierten Ethylester **2, 6, 16, 18** bzw **20** (1 eq), die entsprechenden Amine **a-d** bzw **12** und **23** (1 eq) (s. Tab. 20) und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 eq) wurden in EtOH suspendiert und unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> wurde abfiltriert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in AcOEt (**3, 7, 13, 24-26** und **29**), Chloroform (**27** und **28**) bzw. Dichlormethan (**30**) gelöst. Das Produkt **31** wurde direkt säulenchromatographisch gereinigt. Die organische Phase wurde einmal mit Wasser, dreimal mit 2N HCl, zweimal mit NaHCO<sub>3</sub>-Lsg. und noch einmal mit Wasser extrahiert und anschliessend über MgSO<sub>4</sub> getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Ethanol, Essigsäureethylester oder Methanol umkristallisiert oder säulenchromatographisch gereinigt (s. Tab. 20).

**Charakterisierung von 6-Chloro-[(4-iodo-phenyl)amino]-2-pyrimidinyl]-thioessigsäureethylester 3**

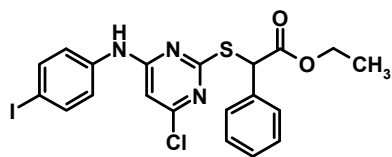
Smp. = 123-125°C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.12 (t,  $J$  = 7.11, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.97 (s, 2H,  $\text{S-CH}_2$ ), 4.02 (q,  $J$  = 7.11, 2H,  $\text{O-CH}_2$ ), 6.49 (br. s, 1H,  $\text{CH - Pyr}$ ), 7.37 (d,  $J$  = 8.73,  $\text{C}_{2,3}\text{-H - Ar}$ ), 7.65 (d,  $J$  = 7.02,  $\text{C}_{5,6}\text{-H - Ar}$ ), 10.00 (br. s, 1H,  $\text{NH}$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 168.516 (Pyr - C), 160.287 (Pyr - C), 157.413 (Pyr - C), 137.36 (Ar- C), 122.653 (Ar- C), 101.246 (Pyr -CH), 60.94 (O- $\text{CH}_2$ ), 39.84 ( $\text{CH}_2$ ), 32.80 (S- $\text{CH}_2$ ), 13.092 ( $\text{CH}_3$ )

MS (ESI<sup>-</sup>):  $m/e$  = 450

Anal. ( $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClIN}_3\text{O}_2\text{S}$  [449.7]) C, H, N: ber. C 37.39, H 2.89, N 9.34; gef. C 37.47, H 2.72, N 9.13; Abw. C 0.08, H 0.17, N 0.21.

**Charakterisierung von 6-Chloro-[(4-iodo-phenyl)amino]-2-pyrimidinyl]-thio- $\alpha$ -phenyl-essigsäureethylester 7**

7

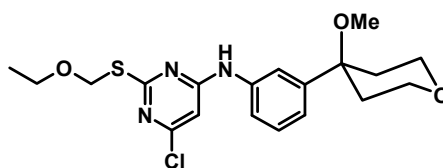
Smp. = 170-172 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.063 (t,  $J$  = 7.09, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4.02 (q,  $J$  = 7.11, 2H,  $\text{O-CH}_2$ ), 5.54 (s, 1H,  $\text{S-CH}_2$ ), 6.53 (br. s, 1H,  $\text{CH - Pyr}$ ), 7.34 (m,  $\text{CH - Ar}$ ), 7.67 (d,  $J$  = 8.64,  $\text{C}_{5,6}\text{-H - Ar}$ ), 10.03 (br. s, 1H,  $\text{NH}$ )

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 13.794 ( $\text{CH}_3$ ), 51.826 ( $\text{CH-S}$ ), 61.472 ( $\text{O-CH}_2$ ), 87.137 ( $\text{C-I}$ ), 101.604 ( $\text{CH- Pyr}$ ), 122.831 [ $\text{CH-Ar (I)}$ ], 128.351 [ $\text{CH-Ar } (\alpha)$ ], 129.010 [ $\text{CH-Ar } (\alpha)$ ], 138.285 ( $\text{CH-NH}$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 525.9

Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{ClIN}_3\text{O}_2\text{S}$  [525.8]) C, H, N: ber. C 45.69, H 3.26, N 7.99; gef. C 45.41, H 3.28, N 7.73; Abw. C 0.28, H 0.02, N 0.26.

**Charakterisierung von {4-Chloro-6-[3-(4-methoxy-tetrahydro-pyran-4-yl)-phenylamino]-pyrimidin-2-ylsulfanyl}-essigsäureethylester 13**

13

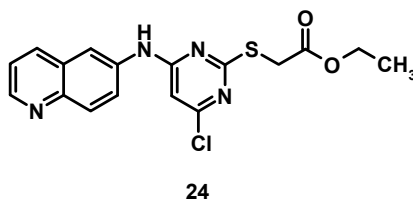
Smp. = 96 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.12 (t, 3H,  $\text{O-CH}_2\text{CH}_3$ ,  $J = 7.1$  Hz), 1.87-1.89 (m, 4H, Ar), 2.90 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.69 (d, 2H,  $J = 4.57$ ), 3.97 (s, 2H,  $\text{S-CH}_2$ ), 4.05 (q, 2H,  $\text{O-CH}_2$ ,  $J = 7.1$  Hz), 6.48 (s, 1H, Pyr-5-H), 7.11 (d, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.35 (t, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.51-7.55 (m, 2H), 9.96 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 169.82 (C-OO), 168.53 (Pyr-6 - C), 160.51 (Pyr-2 - C), 157.27 (Pyr-4 - C), 145.07 ( $\text{C}_{\text{pyran-O-Me}}$ ), 138.57 (Ar-C-NH), 128.83 (Ar-CH), 121.08 (Ar-CH), 119.46 (Ar-CH), 118.16 (Ar-CH), 100.95 (CH-Pyr.), 74.45 (Ar-C-OMe), 62.78 (2  $\text{CH}_2_{\text{pyran}}$ ), 49.28 (O- $\text{CH}_3$ ), 34.80 (2  $\text{CH}_2_{\text{pyran}}$ ), 32.73 (S- $\text{CH}_2$ ), 13.89 (O- $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ).

MS (ESI<sup>-</sup>):  $m/e = 438$ .

Anal. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$  [437.95]) C, H, N: ber. C 54.85, H 5.52, N 9.59; gef. C 54.63, H 5.50, N 9.35; Abw. C 0.22, H 0.02, N 0.24.

**Charakterisierung von 4-Chloro[6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäureethylester 24**

Smp. = 180-182 °C.

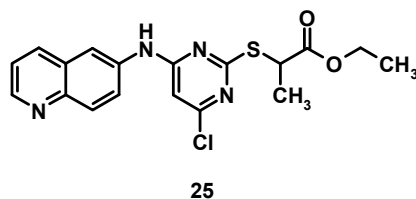
<sup>1</sup>H-NMR (300.13 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO): δ = 0.94 (t, 3H, J=7.07, CH<sub>3</sub>), 3.90 (q, 2H, J=7.07, O-CH<sub>2</sub>), (s, 2H, S-CH<sub>2</sub>), 6.61 (s, 1H, Pyr), 7.48(d, 1H, J=4.17, 5-ArH), 7.51(dd, 1H, J=4.17, 7-ArH), 7.78 (dd, 1H, J = 2.4, 3-ArH), 7.97 (d, 1H, J=9.06, 4-ArH), 8.32 (d, 1H, J=3.8, 8-ArH), 8.78 (dd, 1H, J = 1.5, 2.6, 2-ArH), 10.24 (br. s, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (50.32 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO): 170.82 (C=O), 168.57 (Pyr - C), 160.50 ((Pyr - C), 157.50 (Pyr - C), 149.14(C<sub>2</sub>-Chinolin), 144.7 (C-NH-Chinolin), 136.42 (C<sub>9</sub>-Chinolin), 135.46 (C<sub>4</sub>-Chinolin), 129.54 (C<sub>5</sub>-Chinolin), 128.32 (C<sub>10</sub>-Chinolin), 124.32 (C<sub>8</sub>-Chinolin), 121.76 (C<sub>7</sub>-Chinolin), 116.30 (C<sub>3</sub>-Chinolin), 101.40 (CH-Pyrimidine), 60.91 (O-CH<sub>2</sub>), 32.90 (S-CH<sub>2</sub>), 13.72 (CH<sub>3</sub>).

MS (ESI<sup>-</sup>): *m/e* = 374.9

Anal. (C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S [374.85]) C, H, N: ber. C 54.47, H 4.03, N 14.95; gef. C 54.21, H 3.91, N 14.68; Abw. C 0.26, H 0.12, N 0.27.



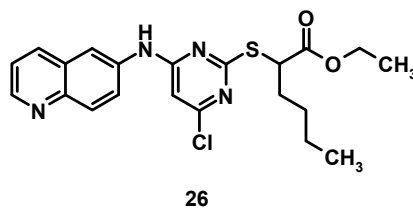
**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-propansäureethylester 25**

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.00 (t, 3H,  $J$  = 7.11,  $\text{CH}_3$ ), 1.55 (d, 3H,  $J$  = 7.35,  $\text{CH}_3$ ), 4.50 (q, 2H,  $J$  = 7.38, O- $\text{CH}_2$ ), 3.98 (q, 1H, S- $\text{CH}$ ), 6.76 (s, 1H, Pyr), 7.90 (d, 1H,  $J$  = 5.0, 5-ArH), 8.11 (dd, 1H,  $J$  = 2.19, 7-ArH), 8.23 (dd, 1H, 3-ArH), 8.60 (d, 1H,  $J$  = 1.98, 4-ArH), 8.88 (d, 1H,  $J$  = 3.8, 8-ArH), 9.05 (d, 1H,  $J$  = 3.99, 2-ArH), 10.79 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.82 (C-OO), 168.57 (Pyr - C), 160.50 ((Pyr - C), 157.50 (Pyr - C), 149.14 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 144.7 (C-NH-Chinolin), 136.42 ( $\text{C}_9$ - Chinolin), 135.46 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 129.54 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.3 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.32 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.76 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 116.30 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 101.40 (CH - Pyrimidine), 60.91 (O- $\text{CH}_2$ ), 32.90 (S- $\text{CH}_2$ ), 13.72 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (ESI+):  $m/e$  = 389

Anal. ( $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [388.88]) C, H, N: ber. C 56.60, H 4.41, N 14.41; gef. C 56.92, H 4.50, N 14.66; Abw. C 0.32, H 0.09, N 0.25.

**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-hexansäureethylester 26**

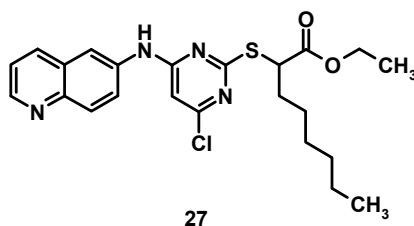
Smp. = 155-157 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.80 (t, 3H,  $J$  = 7.05,  $\text{CH}_3$ -Butyl), 1.02 (t, 3H,  $J$  = 7.08,  $\text{CH}_3$ ), 1.22-1.37 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ -Butyl), 1.81-1.90 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Butyl), 4.05 (q, 2H,  $J$  = 7.08, O- $\text{CH}_2$ ), 4.52 (t, 1H,  $J$  = 7.20, S-CH), 6.82 (s, 1H, Pyr), 7.96 (d, 1H,  $J$  = 5.13, 5-ArH), 8.17 (dd, 1H,  $J$  = 1.83, 7-ArH), 8.20 (dd, 1H, 3-ArH), 8.66 (d, 1H,  $J$  = 1.71, 4-ArH), 8.96 (d, 1H,  $J$  = 8.34, 8-ArH), 9.10 (d, 1H,  $J$  = 4.26, 2-ArH), 11.04 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 171.18 (C-OO), 169.87 (Pyr - C), 160.46 (Pyr-C), 157.64 (Pyr-C), 144.11 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 143.11 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 138.92 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 136.39 (C-NH-Chinolin), 129.28 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 127.99 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 123.21 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 122.28 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 115.69 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 102.32 (CH-Pyrimidine), 60.98 (O- $\text{CH}_2$ ), 46.99 (S- $\text{CH}_2$ ), 30.79 ( $\text{CH}_2$ -Butyl), 28.64 ( $\text{CH}_2$ -Butyl), 21.561 ( $\text{CH}_2$ -Butyl), 13.84 ( $\text{CH}_3$ -Butyl), 13.59 ( $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI+):  $m/e$  = 431.

Anal. ( $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [430.96]) C, H, N: ber. C 58.55, H 5.38, N 13.0; gef. C 58.65, H 5.29, N 13.09; Abw. C 0.1, H 0.09, N 0.09.

**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäureethylester 27**

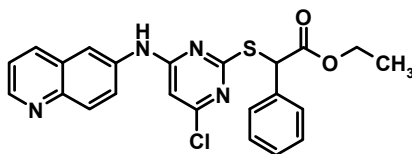
Smp. = 145-147 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.76 (t, 3H,  $J$  = 6.75,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.08 (t, 3H,  $J$  = 7.08,  $\text{CH}_3$ ), 1.15-1.23 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.28 -1.33 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.78 -1.91 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 4.05 (q, 2H,  $J$  = 7.08, O- $\text{CH}_2$ ), 4.52 (t, 1H,  $J$  = 7.20, S-CH), 6.68 (s, 1H, Pyr), 7.66 (d, 1H,  $J$  = 4.50, 5-ArH), 7.93 (dd, 1H,  $J$  = 2.16, 7-ArH), 8.07 (dd, 1H, 3-ArH), 8.43 (d, 1H,  $J$  = 1.95, 4-ArH), 8.52 (d, 1H,  $J$  = 8.31, 8-ArH), 8.90 (d, 1H,  $J$  = 3.40, 2-ArH), 10.51 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 171.19 (C-OO), 169.78(Pyr - C), 160.51(Pyr-C), 157.58 (Pyr-C), 147.50( $\text{C}_2$ -Chinolin), 141.89 (C-NH-Chinolin), 138.01( $\text{C}_4$ -Chinolin), 137.26 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 128.64 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 127.40 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 125.69( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.96 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 116.19 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 101.83 (CH-Pyrimidine), 60.98 (O- $\text{CH}_2$ ), 46.85 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.20 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.82 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 27.93 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.37 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.82 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.83 ( $\text{CH}_3$ -Hex.), 17.74 ( $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI+):  $m/e$  = 459.01.

Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$  [435.94]) C, H, N: ber. C 60.18, H 5.93, N 12.21; gef. C 60.01, H 5.92, N 12.06; Abw. C 0.17, H 0.01, N 0.15.

**Charakterisierung von 4-Chloro[6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-phenyl-essigsäureethylester 28**

28

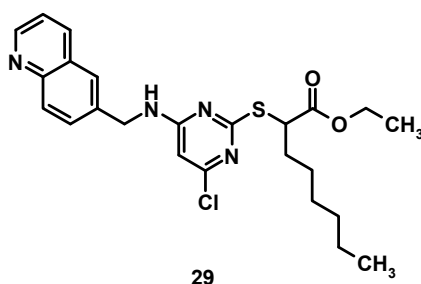
Smp. = 217-219 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.86 (t, 3H,  $J$  = 7.11,  $\text{CH}_3$ ), 3.82 (q, 2H,  $J$ =7.08,  $\text{O-CH}_2$ ), 4.10-4.33 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.70 (s, 1H,  $\text{S-CH}$ ), 6.65 (s, 1H, Pyr), 7.35-7.42 (m, 3H,  $H$  (Ph)), 7.45-7.51 (m, 2H,  $H$  (Ph)), 7.78 (d, 1H,  $J$  = 6.72, 5-ArH), 8.00 (dd, 1H,  $J$  = 2.46, 7-ArH), 8.37 (dd, 1H, 3-ArH), 8.43 (d, 1H,  $J$  = 1.95, 4-ArH), 8.77 (d, 1H,  $J$  = 8.31, 8-ArH), 8.79 (d, 1H,  $J$  = 3.40, 2-ArH), 10.30 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  13.57 ( $\text{CH}_3$ ), 51.82 ( $\text{S-CH}$ ), 61.37 ( $\text{CH}_2$ ), 101.72 (Pyr-5-C), 116.60 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 121.80 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 124.41 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 128.36 (Ph-4-C), 128.60 (Ph-3,5-C), 129.05 (Ph-2,6-C), 129.62 ( $\text{C}_5$ -Chinolin.), 134.01 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin.), 135.5 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 136.29 (Ph-1-C), 144.78 ( $\text{C}_6$ -NH-Chinolin), 149.19 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 157.50 (Pyr-4-C), 160.5 (Pyr-2-C), 169.48 (Pyr-6-C), 169.73 (COOH).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 451.1.

Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [450.95]) C, H, N: ber. C 61.26, H 4.25, N 12.42; gef. C 61.30, H 4.29, N 12.46; Abw. C 0.04, H 0.04, N 0.04.

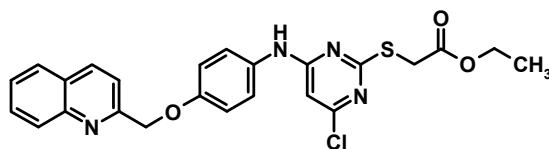
**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäureethylester 29**

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.78 (t, 3H,  $J$  = 6.9,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.10 (t, 3H,  $J$  = 7.10,  $\text{CH}_3$ -Ethyl), 1.13-1.18 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.60 -1.74 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.97 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -NH), 4.05 (q, 2H,  $J$  = 7.08, O- $\text{CH}_2$ ), 4.23 (t, 1H,  $J$  = 7.20, S- $\text{CH}$ ), 6.36 (s, 1H, Pyr), 7.52 (dd, 1H,  $J$  = 4.20, 8.31, 3-ArH), 7.68 (dd, 1H,  $J$  = 2.63, 9.13, 7-ArH), 7.87 (d, 1H,  $J$  = 2.58, 5-ArH), 8.10 (d, 1H,  $J$  = 9.13, 8-ArH), 8.38 (dd, 1H,  $J$  = 7.64, 4-ArH), 8.92 (dd, 1H,  $J$  = 4.1, 1.6, 2-ArH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 172.55 (C-OO), 169.71 (Pyr-C-NH), 162.54 (Pyr-C-S), 156.67 (Pyr-C-Cl), 145.99 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 143.23 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 140.16 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 139.62 ( $\text{C}_6$ -Chinolin), 132.72 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.31 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 125.66 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 123.12 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 122.03 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 99.75 (CH-Pyrimidine), 47.14 (S- $\text{CH}_2$ ), 43.22 ( $\text{CH}_2$ -NH), 31.21 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.80 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 27.99 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.30 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.79 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.73 ( $\text{CH}_3$ -Hex.+  $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI+):  $m/e$  = 473.1.

Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [473.04]) C, H, N: ber. C 60.94, H 6.18, N 11.84; gef. C 60.64, H 6.02, N 11.54; Abw. C 0.3, H 0.16, N 0.3.

**Charakterisierung von 4-Chloro-6-[4-(chinolin-2-ylmethoxy)-phenylamino]-2-ylsulfanyl]-essigsäureethylester 30**

30

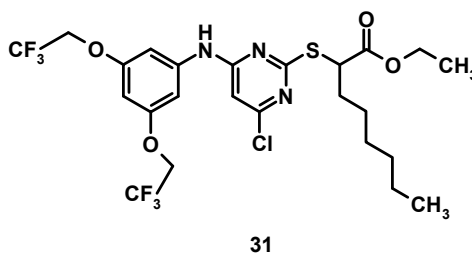
Smp. = 230-232 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 9.77 (s, br, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 8.42 (d, 1H,  $J$  = 8.53, 4- $\text{ArH}$ ), 8.02 (d, 1H,  $J$  = 7.24, 8- $\text{ArH}$ ), 7.80 (br d, 1H,  $J$  = 6.85, 5- $\text{ArH}$ ), 7.78 (ddd, 1H,  $J$  = 8.44, 7.06, 1.23, 7- $\text{ArH}$ ), 7.68 (d, 1H,  $J$  = 8.36, 3- $\text{ArH}$ ), 7.58 (br dd, 1H,  $J$  = 2.53, 7.26, 6- $\text{ArH}$ ), 7.43 (d, 2H,  $J$  = 8.82, O- $\text{Ar}$ ), 7.06 (d, 2H,  $J$  = 8.99,  $\text{NH}_2$ - $\text{Ar}$ ), 6.38 (s, 1H, Pyr), 5.35 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -O), 4.04 (q, 2H,  $J$  = 7.09, O- $\text{CH}_2$ ), 3.97 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 1.12 (t, 3H,  $J$  = 7.10,  $\text{CH}_3$ -Ethyl).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 169.75 (C-OO), 168.54 ( $\text{C}_{\text{Pyr}}$  - S), 160.63 ( $\text{C}_{\text{Pyr}}$  - Cl), 177.56 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 154.60 ( $\text{C}_6$ - $\text{Ar}$ -O), 146.91 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 136.95 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 131.67 ( $\text{C}_3$ - $\text{Ar}$ -NH), 129.79 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 128.47 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 127.88 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 127.13 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 126.50 ( $\text{C}_6$ -Chinolin), 122.60 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 119.44 ( $\text{CH}_{2,4}$ - $\text{Ar}$ ), 115.07 ( $\text{CH}_{1,5}$ - $\text{Ar}$ ), 101.16 (CH-Pyr), 71.04 ( $\text{CH}_2$ -Py- $\text{Ar}$ ), 60.87 (O- $\text{CH}_2$ ), 32.68 (S- $\text{CH}_2$ ), 13.86 ( $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 481

Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{ClN}_4\text{O}_3\text{S}$  [480.98]) C, H, N: ber. C 59.93, H 4.40, N 11.65; gef. C 60.21, H 4.31, N 11.68; Abw. C 0.28, H 0.09, N 0.03.

**Charakterisierung von 2-[4-[3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenylamino]-6-chloro-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-octansäureethylester 31**

Smp. = 100-102 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.81 (t, 3H,  $J$  = 6.50,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.11(t, 3H,  $J$  = 7.11,  $\text{CH}_3$ ), 1.16-1.19 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 1.31 -1.34 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 1.76 -1.85 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 4.08 (q, 2H,  $J$  = 7.08, O- $\text{CH}_2$ ), 4.42 (t, 1H,  $J$  = 7.11, S- $\text{CH}$ ),  $\delta$  = 4.75 (q, 2H,  $J$  = 8.76, O- $\text{CH}_2$ - $\text{CF}_3$ ), 6.52 (s, 1H, Pyr), 6.60 (d, 1H,  $J$  = 2.07, Ar ), 6.93 (d, 2H,  $J$  = 2.0, Ar ), 10.00 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 171.065 (C-OO), 169.62 (Pyr-C), 160.48 ((Pyr-C), 158.17 (2C, C-Ar-O), 157.50 (Pyr-C), 140.33 (2C- $\text{F}_3$ ), 125.69 (C-Ar-NH), 101.43 (CH-Pyr), 96.82 (CH-Ar), 64.98 (2 $\text{CH}_2$ - $\text{CF}_3$ ), 60.93 (O- $\text{CH}_2$ ), 46.85 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.25 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.80 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 28.03 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.24 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.82 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.83 ( $\text{CH}_3$ -Hex.), 17.77 ( $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI+):  $m/e$  = 604.

Anal. ( $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{ClF}_6\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  [604.02]) C, H, N: ber. C 47.73, H 4.67, N 6.96; gef. C 47.54, H 4.84, N 6.87; Abw. C 0.19, H 0.17, N 0.09.

### 5.2.5.1 Synthese von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäureethylester **39** und 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäureethylester **40**

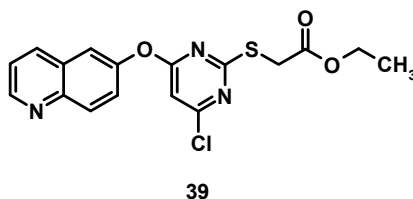
Nr.	Edukt (g (mmol))	Hydroxyderiv. (g (mmol))	NaOH (g (mmol))	LM (mL)	Zeit (h)	UK (mL)	SC	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aus-sehen
<b>39</b>	4.13 (15.48) <b>2</b>	2.4 (16.53) <sup>a</sup>	0.62(15.48)	57	3	180 <sup>1</sup>	–	3.95 (67.9)	braune Kristalle
<b>40</b>	5.67 (16.12) <b>2</b>	2.5 (17.22) <sup>a</sup>	0.64 (16.0)	58	48	–	2:1	3.7 (50.01)	rosafarbenes Wachs

**Tabelle 21:** Reaktionsansätze zur Darstellung 6-Pyrimidin-substituierter Ethylester **39** und **40**. LM: Lösemittel (Ethanol), UK: Umkristallisation aus <sup>1</sup> Ethanol SC: Säulenchromatographie (stationäre Phase: Silicagel 60 Å, mobile Phase *n*-Hex/AcOEt). <sup>a</sup> 6-Hydroxychinolin.

Zu einer 45 °C warmen Suspension von 4,6-dihalogenierten Ethylester **2** (1 eq) in EtOH wurden unter Rühren 1.068 eq 6-Hydroxychinolin und 1 eq NaOH in EtOH gegeben und unter Rückfluss zum Sieden erhitzt.

Das erkaltete Reaktionsgemisch wurde abfiltriert, mit EtOH gewaschen und ein Teil des Filtrats im Vakuum entfernt. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser unter intensivem Rühren verdünnt. Das Produkt wurde viermal mit je 100 mL Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde einmal mit ges. NaCl-Lsg gewaschen und anschliessend über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert (**39**) oder säulenchromatographisch gereinigt (**40**) (s. Tab. 21).



**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäureethylester 39**

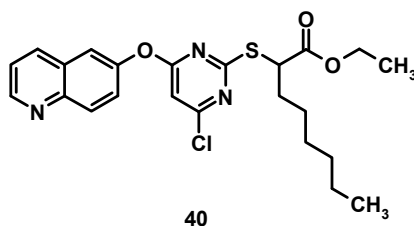
Smp. = 125-127 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.91 (t, 3H,  $J$  = 7.10,  $\text{CH}_3$ ), 3.76 (q, 2H,  $J$  = 7.10, O- $\text{CH}_2$ ), 4.08 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 7.19 (s, 1H, Pyr), 7.60 (dd, 1H,  $J$  = 4.20, 8.31, 3- $\text{ArH}$ ), 7.68 (dd, 1H,  $J$  = 2.65, 9.14, 7- $\text{ArH}$ ), 7.86 (d, 1H,  $J$  = 2.60, 5- $\text{ArH}$ ), 8.10 (d, 1H,  $J$  = 9.13, 8- $\text{ArH}$ ), 8.38 (dd, 1H,  $J$  = 7.49, 4- $\text{ArH}$ ), 8.93 (dd, 1H,  $J$  = 4.1, 1.6, 2- $\text{ArH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.63 (C-OO), 169.25 (Pyr-C), 167.56 (Pyr-C), 160.75 (Pyr-C), 150.49 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 149.25 (C-O-Chinolin), 145.82 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 135.82 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 130.72 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.36 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.67 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.98 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 118.34 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 103.58 (CH-Pyr), 60.88 (O- $\text{CH}_2$ ), 32.89 (S- $\text{CH}_2$ ), 13.69 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 375.8

Anal. ( $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$  [375.84]) C, H, N: ber. C 54.33, H 3.75, N 11.18; gef. C 54.34, H 3.70, N 11.02; Abw. C 0.01, H 0.05, N 0.16.

**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäureethylester 40**

Smp. = 58-60 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.79 (t, 3H,  $J=6.9$ ,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.03 (t, 3H,  $J$  = 7.10,  $\text{CH}_3$ -Ethyl), 1.09-1.18 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.56 -1.70 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 4.05 (q, 2H,  $J$  = 7.08, O- $\text{CH}_2$ ), 4.52 (t, 1H,  $J$  = 7.20, S- $\text{CH}$ ), 7.21 (s, 1H, Pyr), 7.59 (dd, 1H,  $J$  = 4.20, 8.31, 3- $\text{ArH}$ ), 7.70 (dd, 1H,  $J$  = 2.63, 9.13, 7- $\text{ArH}$ ), 7.87 (d, 1H,  $J$  = 2.58, 5- $\text{ArH}$ ), 8.10 (d, 1H,  $J$  = 9.13, 8- $\text{ArH}$ ), 8.38 (dd, 1H,  $J$  = 7.64, 4- $\text{ArH}$ ), 8.92 (dd, 1H,  $J$  = 4.1, 1.6, 2- $\text{ArH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.33 (C-OO), 170.03 (Pyr-C), 169.29 (Pyr-C), 160.72 (Pyr-C), 150.44 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 149.28 (C-O-Chinolin), 145.79 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 135.70 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 130.68 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.34 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.66 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.66 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 118.36 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 103.77 (CH-Pyr), 60.95 (O- $\text{CH}_2$ ), 47.32 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.12 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.69 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 27.77 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.18 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.74 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.74 ( $\text{CH}_3$ -Hex.+  $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI+):  $m/e$  = 459.8

Anal. ( $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$  [460]) C, H, N: ber. C 60.06, H 5.70, N 9.13; gef. C 60.05, H 5.71, N 9.01; Abw. C 0.01, H 0.01, N 0.12.

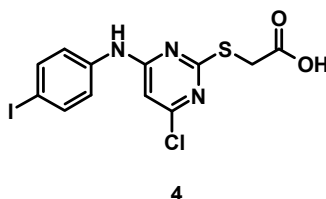
### 5.2.6 Synthese der Carbonsäuren **4**, **8**, **14** und **32-38** und **41-43**

#### Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von **4**, **8**, **14**, **32-38** und **43**

Nr.	Edukt (g (mmol))	1N NaOH (mL (mmol))	LM (mL)	Zeit (min)	UK (mL)	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aussehen
<b>4</b>	0.331 (0.73) <b>3</b>	1.47 (1.47)	5.5	35	-	0.306 (98)	weiße Kristalle
<b>8</b>	0.6(1.14) <b>7</b>	2.28 (2.28)	10	30	25 (1:5) <sup>a</sup>	0.15 (58)	weiße Kristalle
<b>14</b>	0.7 (1.59) <b>13</b>	3.19 (3.19)	20	15	30 <sup>b</sup>	0.564 (86.54)	weiße Kristalle
<b>32</b>	1.55 (4.14) <b>24</b>	8.3 (8.3)	70	60	40 (1:1) <sup>c</sup>	0.134 (46.15)	gelbe Kristalle
<b>33</b>	1.15 (3.85) <b>25</b>	7.71 (7.71)	50	45	40 (3:1) <sup>d</sup>	0.71 (53.88)	gelbliche Kristalle
<b>34</b>	1.5 (3.48) <b>26</b>	6.96 (6.96)	60	60	20 <sup>d</sup>	0.766 (54.71)	weiße Kristalle
<b>35</b>	0.22 (0.483) <b>27</b>	0.967 (0.967)	20	45	10 (1:1) <sup>a</sup>	0.059 (28.5)	gelbe Kristalle
<b>36</b>	1.268 (2.68) <b>29</b>	5.36 (5.36)	30	30	12 <sup>e</sup>	0.868 (72.94)	weiße Kristalle
<b>37</b>	1 (2.21) <b>28</b>	4.43 (4.43)	40	60	25 <sup>c</sup>	0.851 (90.93)	weiße Kristalle
<b>38</b>	2.55 (4.22) <b>31</b>	8.44 (8.44)	60	60	35(1:6) <sup>a</sup>	1.032 (42.67)	beige Kristalle
<b>43</b>	2 (5.32) <b>39</b>	10.64 (10.64)	60	144	5 <sup>f</sup>	0.42 (22.10)	beige Kristalle

**Tabelle 22:** Reaktionsansätze zur Darstellung der Carbonsäuren **4**, **8**, **14** und **32-38**. LM: Lösemittel (Ethanol), UK<sup>a</sup>: Umkristallisation aus AcOEt/*n*-Hex<sup>b</sup>., Essigsäureethylester<sup>c</sup>, Essigsäure/Wasser<sup>d</sup>, Methanol/Wasser<sup>e</sup>, Ethanol und <sup>f</sup> Essigsäure.

Die entsprechenden Ester **3**, **7**, **13** und **31-39** (1 eq) wurden in EtOH suspendiert und zum Sieden erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde mit einer 1N NaOH-Lösung (2 eq) versetzt und unter Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wurde unter Vakuum entfernt und der Rückstand mit Wasser verdünnt. Die wässrige Phase wurde mit konz. HCl auf pH 2-3 angesäuert. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser intensiv gewaschen und umkristallisiert (s. Tab. 22).

**Charakterisierung von 6-Chloro-[(4-iodophenyl)amino]-2-pyrimidinyl]-thioessigsäure 4**

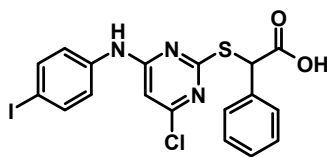
Smp. = 210-212°C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 3.79 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 6.55 (br. s, 1H, CH Pyr), 7.46 (d,  $J$  = 8.7,  $\text{C}_{2;3}\text{-H} - \text{Ar}$ ), 7.61 (d,  $J$  = 8.7,  $\text{C}_{5;6}\text{-H} - \text{Ar}$ ), 10.27 (br. s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 171.37(COOH), 169.75 (Pyr-C), 160.26 (Pyr-C), 157.24 (Pyr-C), 138.78 (Ar-C-NH), 137.34 (Ar-2C), 122.35 (Ar-2C), 100.91 (Pyr-CH), 86.38 (I-C), 35.09 (S- $\text{CH}_2$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 421.6.

Anal. ( $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClIN}_3\text{O}_2\text{S}$  [421.64]) C, H, N: ber. C 34.18, H 2.15, N 9.97; gef. C 34.33, H 2.48, N 9.70; Abw. C 0.15, H 0.33, N 0.27.

**Charakterisierung von 6-Chloro- [4-iodo-phenyl]amino]-2-pyrimidinyl]-thio- $\alpha$ -phenyl-essigsäure 8**

8

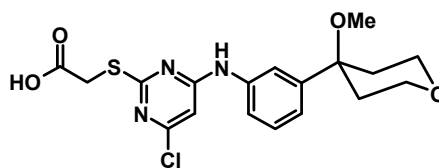
Smp. = 175-177°C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 5.46 (s, 1H, S- $\text{CH}_2$ ), 6.52 (br. s, 1H, CH Pyr), 7.40 (m, C-H - Ar), 7.66 (d,  $J$  = 8.73,  $\text{C}_{5,6}$ -H - Ar), 10.01 (br. s, 1H, NH), 13.11 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 52.17 (CH-S), 86.99 (C-I), 101.47 (CH- Pyr), 122.67 [(CH-Ar(I))], 128.29 [(CH-Ar( $\alpha$ ))], 128.79 [(CH-Ar( $\alpha$ ))], 135.15 (CH-NH), 138.33 (CH-Ar), 157.40 (Pyr-4-C), 160.39 (Pyr-2-C), 169.76 (Pyr-6-C), 170.60 (COOH).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 497.7.

Anal. ( $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClIN}_3\text{O}_2\text{S}$ ) C, H, N: ber. C 43.44, H 2.63, N 8.44; gef. C 43.50, H 2.42, N 8.26; Abw. C 0.06, H 0.21, N 0.18.

**Charakterisierung von {4-Chloro-6-[3-(4-methoxy-tetrahydro-pyran-4-yl)-phenylamino]-pyrimidin-2-ylsulfanyl}-essigsäure 14**

14

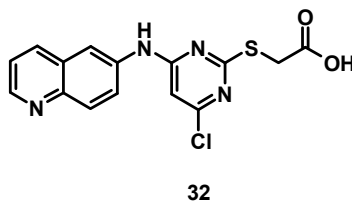
Smp. = 138-140°C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.87-1.89 (m, 4H, Ar), 2.90 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3.69 (d, 2H,  $J = 4.57$ ), 3.92 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 6.49 (s, 1H, Pyr), 7.11(d, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.35 (t, 1H,  $J = 7.8$ ), 7.51-7.55(m, 2H), 9.98 (br. s, 1H, NH), 12.9 (br., s, COOH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.07 (C-OO), 169.88 (Pyr-C), 160.40 (Pyr-C), 157.44 (Pyr-C), 145.05 ( $\text{C}_{\text{pyran-Ome}}$ ), 138.45 (Ar-C-NH), 128.98 (Ar-CH), 121.15 (Ar-CH), 119.37(Ar-CH), 117.95 (Ar-CH), 100.91 (CH-Pyr.), 74.51 (Ar-C-OMe), 62.83 (2  $\text{CH}_2_{\text{pyran}}$ ), 49.29 (O- $\text{CH}_3$ ), 34.71 (2  $\text{CH}_2_{\text{pyran}}$ ), 32.78 (S- $\text{CH}_2$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e = 408.1$  ( $M - 1$ ).

Anal. ( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$  [409.89]) C, H, N: ber. C 52.75, H 4.92, N 10.25; gef. C 52.43, H 4.63, N 10.54; Abw. C 0.32, H 0.29, N 0.29.

**Charakterisierung von [4-Chloro[6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäure 32**

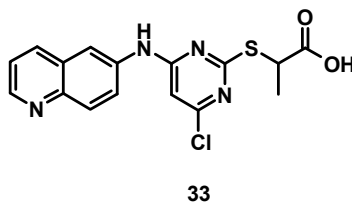
Smp. = 290-291 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 4.02 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 6.63 (s, 1H, Pyr), 7.50 (d, 1H,  $J$  = 4.20, 5- $\text{ArH}$ ), 7.54 (dd, 1H,  $J$  = 4.17, 7- $\text{ArH}$ ), 7.82 (dd, 1H, 3- $\text{ArH}$ ), 8.00 (d, 1H,  $J$  = 9.03, 4- $\text{ArH}$ ), 8.38 (d, 1H,  $J$  = 8.73, 8- $\text{ArH}$ ), 8.80 (d, 1H,  $J$  = 3.12, 2- $\text{ArH}$ ), 10.32 (br. s, 1H,  $\text{NH}$ ), 12.83 (br. s, 1H,  $\text{OH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.50 (C-OO), 169.887 (Pyr-C), 160.52 (Pyr-C), 157.48 (Pyr.-C), 148.53 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 143.74 (C-NH-Chinolin), 136.84 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 136.29 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 128.93 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.48 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.58 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.80 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 115.83 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 101.47 (CH-Pyr.), 3.04 (S- $\text{CH}_2$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 346.8

Anal. ( $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [346.8]) C, H, N: ber. C 51.95, H 3.20, N 16.16; gef. C 51.69, H 3.35, N 15.90; Abw. C 0.26, H 0.15, N 0.26.

**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-propansäure 33**

Smp. = 238-240 °C.

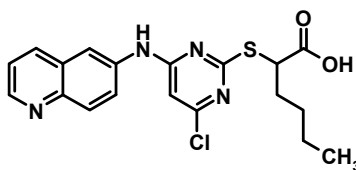
$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.55 (d, 3H,  $J$  = 7.32,  $\text{CH}_3$ ), 4.50 (q, 1H,  $J$  = 7.23 S-CH), 6.62 (s, 1H, Pyr), 7.50 (d, 1H,  $J$  = 4.14, 5-ArH), 7.80 (dd, 1H,  $J$  = 2.28, 7-ArH), 8.00 (dd, 1H, 3-ArH),  $\delta$  = 8.32 (d, 1H,  $J$  = 1.98, 4-ArH), 8.88 (d, 1H,  $J$  = 3.8, 8-ArH), 9.05 (d, 1H,  $J$  = 3.99, 2-ArH), 10.79 (br. s, 1H, NH), 12.94 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 172.69 (C-OO), 170.12 (Pyr-C), 160.59 (Pyr-C), 157.52 (Pyr-C), 149.08 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 144.64 (C-NH-Chinolin), 136.54 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 135.40 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 129.58 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.36 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.31 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.85 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 116.03 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 101.48 (CH-Pyr), 42.20 (S- $\text{CH}_2$ ), 17.74 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 359 ( $M - 1$ ).

Anal. ( $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{ClN}_3\text{O}_2\text{S}$  [360.82]  $\times$  0.3  $\text{H}_2\text{O}$   $\times$  0.4 MeOH [379.05]) C, H, N: ber. C 51.97, H 4.04, N 14.78; gef. C 51.96, H 3.62, N 14.41; Abw. C 0.01, H 0.08, N 0.37.



**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-hexansäure 34**

34

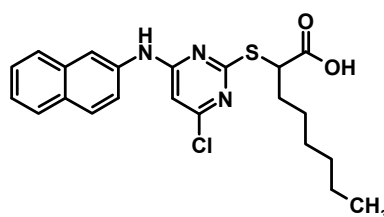
Smp. = 238-240 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.75 (t, 3H,  $J$  = 7.05,  $\text{CH}_3$ -Butyl), 1.18-1.33 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ -Butyl), 1.78-1.97 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Butyl), 4.45 (t, 1H,  $J$  = 7.05, S-CH), 6.61 (s, 1H, Pyr), 7.50 (d, 1H,  $J$  = 4.20, 5-ArH), 7.80 (dd, 1H,  $J$  = 2.34, 7-ArH), 7.97 (dd, 1H, 3-ArH), 8.29 (d, 1H,  $J$  = 7.86, 4-ArH), 8.33 (d, 1H,  $J$  = 1.86, 8-ArH), 8.77 (d, 1H,  $J$  = 1.5, 2-Ar), 10.27 (br. s, 1H, NH), 12.96 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 172.48 (C-OO), 170.07 (Pyr-C), 160.52 (Pyr-C), 157.48 (Pyr-C), 149.09 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 144.68 (C-NH-Chinolin), 136.43 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 135.2 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 129.53 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.28 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.36 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.75 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 116.24 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 101.43 (CH-Pyr), 46.99 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.20 ( $\text{CH}_2$ -Butyl), 26.67 ( $\text{CH}_2$ -Butyl), 21.51 ( $\text{CH}_2$ -Butyl), 13.53 ( $\text{CH}_3$ -Butyl).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 402.9

Anal. ( $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [402.91]) C, H, N: ber. C 56.64, H 4.75, N 13.91; gef. C 56.67, H 4.90, N 13.75; Abw. C 0.03, H 0.15, N 0.16.

**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäure 35**

35

Smp. = 155-157 °C.

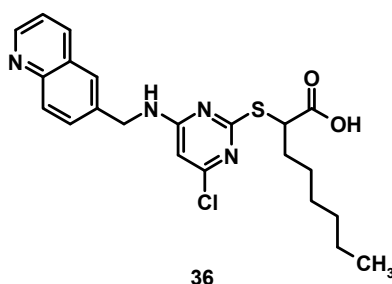
$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.14-1.35 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.79-1.91(m, 2H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 4.47 (t, 1H,  $J = 6.99$ , S-CH), 6.76 (s, 1H, Pyr), 7.89 (d, 1H,  $J = 4.65$ , 5-ArH ), 8.10 (dd, 1H,  $J = 8.94$ , 7-ArH ), 8.22 (dd, 1H, 3-ArH ), 8.63 (d, 1H,  $J = 7.86$ , 4-ArH ), 8.83 (d, 1H,  $J = 8.52$ , 8-ArH), 9.04 (d, 1H,  $J = 3.90$ , 2-ArH ), 10.82 (br. s, 1H, NH), 12.96 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 172.56 (C-OO), 170.22 (Pyr-C), 160.47 (Pyr-C), 157.64 (Pyr-C), 144.54 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 142.268 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 138.73(C-NH-Chinolin), 137.22 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 129.23 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin.), 127.61 ( $\text{C}_5$ -Chinolin.), 123.87( $\text{C}_8$ -Chinolin), 122.19 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 115.60 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 102.16 (CH-Pyr), 47.13 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.33 ( $\text{CH}_2$ - Butyl), 30.85 ( $\text{CH}_2$ - Hexyl), 28.02 ( $\text{CH}_2$ - Hexyl), 26.44 ( $\text{CH}_2$ - Hexyl), 21.84 ( $\text{CH}_2$ - Hexyl), 13.76 ( $\text{CH}_3$ -Hexyl).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e = 431.1$

Anal. ( $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [430.96]) C, H, N: ber. C 58.53, H 5.38, N 13; gef. C 58.26, H 5.39, N 12.79; Abw. C 0.27, H 0.01, N 0.21.

### Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäure 36



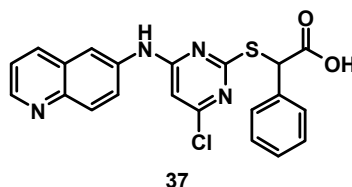
Smp. = 160-162 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.75 (t, 3H,  $J$  = 6.9,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.06 -1.18(m,8H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 1.55 -1.69 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 4.11 (t, 1H,  $J$  = 7.0, S-CH), ), 4.82 (q, 2H,  $\text{CH}_2$ -Hex), 6.42 (s, 1H, Pyr), 7.93 (dd, 1H,  $J$  = 4.20, 8.31, 5-ArH), 7.99 (dd, 1H,  $J$  = 2.63, 9.13, 7-ArH ), 8.09 (s, br. 1H, NH), 8.29 (d, 1H,  $J$  = 2.58, 3-ArH ), 8.71 (d, 1H,  $J$  = 9.13, 4-ArH), 8.97 (dd, 1H,  $J$  = 7.64, 8-ArH), 9.17 (dd, 1H,  $J$  = 4.1, 1.6, 2-ArH), 12.5 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 172.55 (C-OO), 169.71 (Pyr-C-NH), 162.54 (Pyr-C-S), 156.67(Pyr-C-Cl), 145.99 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 143.23 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 140.16 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 139.62 ( $\text{C}_6$ -Chinolin), 132.72 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.31 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 125.66 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 123.12 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 122.03 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 99.75 (CH-Pyr.), 47.14 (S- $\text{CH}_2$ ), 43.22 ( $\text{CH}_2$  -NH), 31.21 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.80 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 27.99 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.30 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.79 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.73 ( $\text{CH}_3$ -Hex.+  $\text{CH}_3$ -Ethyl).

MS (ESI+):  $m/e$  = 445

Anal. ( $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{ClN}_4\text{O}_2\text{S}$  [444.99]) C, H, N: ber. C 59.38, H 5.66, N 12.59; gef. C 59.21, H 5.56, N 12.59; Abw. C 0.17, H 0.1, N 0.00.

**Charakterisierung von [4-Chloro[6-(chinolin-6-ylamino)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-phenyl-essigsäure 37**

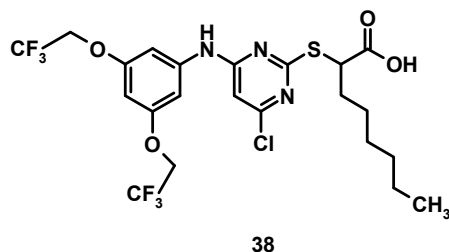
Smp. = 259-260 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 5.60 (s, 1H, S-CH), 6.42 (s, 1H, Pyr), 7.34-7.43 (m, 3H, H (Ph)), 7.45-7.50 (m, 2H, H (Ph)), 7.78 (d, 1H,  $J = 6.72$ , 5-ArH), 8.00 (dd, 1H,  $J = 2.46$ , 7-ArH), 8.37 (dd, 1H, 3-ArH), 8.43 (d, 1H,  $J = 1.95$ , 4-ArH), 8.77 (d, 1H,  $J = 8.31$ , 8-ArH), 8.79 (d, 1H,  $J = 3.40$ , 2-ArH), 10.26 (br. s, 1H, NH), 13.13 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  13.57 (CH<sub>3</sub>), 51.82 (S-CH), 61.37 (CH<sub>2</sub>), 101.72 (Pyr-5-C), 116.60 (C<sub>3</sub>-Chinolin), 121.80 (C<sub>7</sub>-Chinolin), 124.41 (C<sub>8</sub>-Chinolin), 128.36 (Ph-4-C), 128.60 (Ph-3,5-C), 129.05 (Ph-2,6-C), 129.62 (C<sub>5</sub>-Chinolin.), 134.01 (C<sub>10</sub>-Chinolin.), 135.51 (C<sub>4</sub>-Chinolin), 136.29 (Ph-1-C), 144.78 (C<sub>6</sub>-NH-Chinolin), 149.19 (C<sub>2</sub>-Chinolin), 157.50 (Pyr-4-C), 160.5 (Pyr-2-C), 169.48 (Pyr-6-C), 169.73 (COOH).

MS (ESI<sup>-</sup>):  $m/e = 422.9$

Anal. (C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S [422.9] × 0.4 H<sub>2</sub>O [430.1]) C, H, N: ber. C 58.65, H 3.70, N 13.03; gef. C 58.64, H 3.72, N 12.78; Abw. C 0.01, H 0.02, N 0.25.

**Charakterisierung von 2-{4-[3,5-Bis-(2,2,2-trifluoro-ethoxy)-phenylamino]-6-chloro-pyrimidin-2-ylsulfanyl}-octansäure 38**

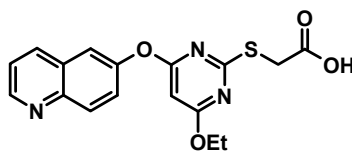
Smp. = 139-141 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.81 (t, 3H,  $J$  = 6.50,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.16-1.19 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.32 -1.35 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 1.71-1.90 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ - Hexyl), 4.38 (t, 1H,  $J$  = 7.11, S- $\text{CH}$ ), 4.75 (q, 2H,  $J$  = 8.76, O- $\text{CH}_2$ - $\text{CF}_3$ ), 6.53 (s, 1H, Pyr), 6.59 (d, 1H,  $J$  = 2.07, Ar ), 6.94 (d, 2H,  $J$  = 2.0, Ar ), 10.01 (br. s, 1H,  $\text{NH}$ ), 12.90 (br. s, 1H,  $\text{OH}$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 172.39 (C-OO), 170.03 (Pyr-C), 160.49 (Pyr-C), 158.17(2C, C-Ar-O), 157.52 (Pyr-C), 140.43 (2C- $\text{F}_3$ ), 125.67 (C-Ar-NH), 101.35 (CH-Pyr), 96.93(CH-Ar), 64.98 (2 $\text{CH}_2$ - $\text{CF}_3$ ), 47.22 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.67 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.85 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 28.12 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.24 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.84 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.77 ( $\text{CH}_3$ -Hex.).

MS (ESI+):  $m/e$  = 574.1 (M + 1).

Anal. ( $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{ClF}_6\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  [575.96]) C, H, N: ber. C 45.88, H 4.20, N 7.30; gef. C 46.05, H 4.39, N 7.27; Abw. C 0.17, H 0.19, N 0.03.

**Charakterisierung von [4-Ethoxy[6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2-ylsulfanyl]-essigsäure 43**

43

Smp. = 222-227 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 1.29 (t, 3H,  $J$  = 7,  $\text{CH}_3$ -Ethyl), 3.77 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 4.37 (q, 2H,  $J$  = 7,  $\text{CH}_2$ -Ethyl), 6.12 (s, 1H, Pyr), 7.58 (dd, 1H,  $J$  = 4.17, 8.31, 3-ArH), 7.61 (dd, 1H,  $J$  = 2.64, 9.15, 7-ArH), 7.85 (d, 1H,  $J$  = 2.55, 5-ArH), 8.08 (d, 1H,  $J$  = 9.12, 8-ArH), 8.36 (dd, 1H,  $J$  = 8.25, 4-ArH), 8.90 (dd, 1H,  $J$  = 4.17, 1.56, 2-ArH), 12.64 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.68 (C-OO), 169.91 (Pyr-C), 169.81 (Pyr-C), 169.66 (Pyr-C), 150.24 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 149.91 (C-O-Chinolin), 145.58 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 135.74 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 130.70 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.43 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.76 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.90 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 118.01 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 87.17 (CH-Pyr.), 63.02 (O- $\text{CH}_2$ ), 33.06 (S- $\text{CH}_2$ ), 14.24 ( $\text{CH}_3$ ).

MS (ESI $^-$ ):  $m/e$  = 357.9

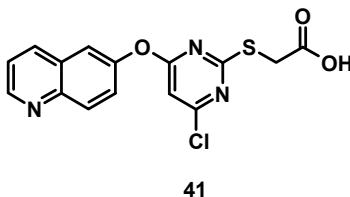
Anal. ( $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  [357.39]) C, H, N: ber. C 57.13, H 4.23, N 11.76; gef. C 56.91, H 4.40, N 11.57; Abw. C 0.22, H 0.17, N 0.19.

**5.2.6.1 Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Carbonsäuren 41 und 42**

Nr.	Edukt (g (mmol))	1N NaOH (mL (mmol))	LM (mL)	Zeit (min)	UK (mL)	Ausbeute (g (% d. Th.))	Aussehen
<b>41</b>	0.8 (2.12) <b>39</b>	1.95 (1.95)	27	75	60 <sup>a</sup>	0.551 (74.76)	graue Kristalle
<b>42</b>	1.09(2.36) <b>40</b>	2.15 (2.15)	40	144	40 <sup>b</sup>	0.481 (47.2)	weiße Kristalle

**Tabelle 23:** Reaktionsansätze zur Darstellung Carbonsäuren 41 und 42. LM: Lösemittel (*iso*-propanol), UK: Umkristallisation aus MeOH <sup>a</sup>, Essigsäureethylester <sup>b</sup>.

Die entsprechenden Ester **39** und **40** (1 eq) wurden in *iso*-Propanol suspendiert<sup>126</sup> und zum Sieden erhitzt. Der Reaktionsansatz wurde mit einer 1N NaOH-Lösung (0.91 eq) versetzt und unter Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Wasser verdünnt. Die wässrige Phase wurde einmal mit Diethylether gewaschen. Die wässrige Phase wurde mit 2N HCl auf pH 1 angesäuert. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser intensiv gewaschen und umkristallisiert (s. Tab. 23).

**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-essigsäure 41**

Smp. = 234-236 °C.

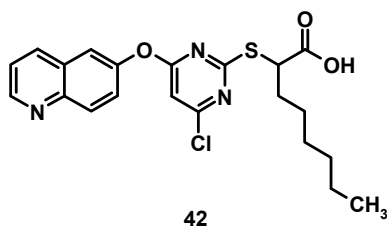
$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.80 (t, 3H,  $J$  = 7,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 3.75 (s, 2H, S- $\text{CH}_2$ ), 7.15 (s, 1H, Pyr), 7.59 (dd, 1H,  $J$  = 4.17, 8.31, 3-ArH), 7.67 (dd, 1H,  $J$  = 2.64, 9.15, 7-ArH), 7.86 (d, 1H,  $J$  = 2.55, 5-ArH), 8.10 (d, 1H,  $J$  = 9.12, 8-ArH), 8.38 (dd, 1H,  $J$  = 8.25, 4-ArH), 8.92 (dd, 1H,  $J$  = 4.17, 1.56, 2-ArH), 12.69 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 170.87 (C-OO), 169.15 (Pyr-C), 167.56 (Pyr-C), 160.73 (Pyr-C), 150.44 (C<sub>2</sub>-Chinolin), 149.18 (C-O-Chinolin), 145.75 (C<sub>9</sub>-Chinolin), 135.82 (C<sub>4</sub>-Chinolin), 130.80 (C<sub>5</sub>-Chinolin), 128.33 (C<sub>10</sub>-Chinolin), 124.54 (C<sub>8</sub>-Chinolin), 121.54 (C<sub>7</sub>-Chinolin), 118.28 (C<sub>3</sub>-Chinolin), 103.39 (CH-Pyr), 33.07 (S- $\text{CH}_2$ ).

MS (ESI<sup>-</sup>):  $m/e$  = 347.8

Anal. ( $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$  [347.78]) C, H, N: ber. C 51.80, H 2.90, N 12.08; gef. C 51.56, H 2.95, N 11.93; Abw. C 0.24, H 0.05, N 0.15.



**Charakterisierung von 2-[4-Chloro-6-(chinolin-6-yloxy)-pyrimidin-2ylsulfanyl]-octansäure 42**

Smp. = 157-159 °C.

$^1\text{H-NMR}$  (300.13 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ):  $\delta$  = 0.80 (t, 3H,  $J$  = 7,  $\text{CH}_3$ -Hexyl), 1.09-1.18 (m, 8H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 1.56 -1.70 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -Hexyl), 3.96 (t, 1H,  $J$  = 7.30, S-CH), 7.20 (s, 1H, Pyr), 7.59 (dd, 1H,  $J$  = 4.20, 8.31, 3-ArH), 7.70 (dd, 1H,  $J$  = 2.63, 9.13, 7-ArH), 7.87 (d, 1H,  $J$  = 2.58, 5-ArH), 8.09 (d, 1H,  $J$  = 9.09, 8-ArH), 8.37 (dd, 1H,  $J$  = 7.64, 4-ArH), 8.92 (dd, 1H,  $J$  = 4.1, 1.59, 2-ArH), 12.92 (br. s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (50.32 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ): 171.71 (C-OO), 170.13 (Pyr-C), 169.34 (Pyr-C), 160.78 (Pyr-C), 150.48 ( $\text{C}_2$ -Chinolin), 149.34 (C-O-Chinolin), 145.83 ( $\text{C}_9$ -Chinolin), 135.77 ( $\text{C}_4$ -Chinolin), 130.73 ( $\text{C}_5$ -Chinolin), 128.38 ( $\text{C}_{10}$ -Chinolin), 124.77 ( $\text{C}_8$ -Chinolin), 121.96 ( $\text{C}_7$ -Chinolin), 118.44 ( $\text{C}_3$ -Chinolin), 103.67 (CH-Pyr), 47.70 (S- $\text{CH}_2$ ), 31.59 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 30.79 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 27.95 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 26.29 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 21.84 ( $\text{CH}_2$ -Hex.), 13.82 ( $\text{CH}_3$ -Hex.).

MS (ESI+):  $m/e$  = 431.8

Anal. ( $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$  [431.9]) C, H, N: ber. C 58.39, H 5.13, N 9.73; gef. C 58.52, H 5.07, N 9.45; Abw. C 0.131, H 0.06, N 0.28.

## 6. Anhang

### 6.1 Abkürzungsverzeichnis

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

---

DNA	Desoxyribonukleinsäure
DR	direct repeat
d. Th.	der Theorie
$\delta$	Chemische Verschiebung
EC <sub>50</sub>	Effektive Konzentration (Konzentration, bei der 50 % des Maximaleffektes am Rezeptor erreicht wird)
eq	Äquivalent
ER	Estrogen-Rezeptor
ESI	Electro Spray Ionization
Et	Ethyl-
EtOH	Ethanol
FF	Freie Fettsäure
fl.	flüssig
g	Gramm
GC	Gesamt-Cholesterol
gef.	gefunden
h	human
H	Helix
HDLc	High Density Lipoprotein Cholesterol
HETE	Hydroxyicosatetraensäure
Hex	Hexyl-
<i>n</i> -Hex	<i>n</i> -Hexan
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMPA	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HODE	Hydroxyoctadecadiensäure
hPPAR	humaner PPAR
HRE	Hormon-Response-Element
Hsp	Hitzeschockprotein
Hz	Hertz

---

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

---

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

---

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

## 6.2 Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> H. Gronemeyer, J.-A. Gustafsson, V. Laudet, Principles for Modulation of the Nuclear Receptor Superfamily, *Nature* **2003**; 3, 950-964.
- <sup>2</sup> Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ., Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files, *Science* **2001**; 294(5548):1866-70.
- <sup>3</sup> Francis GA, Fayard E, Picard F, Auwerx J., Nuclear receptors and the control of metabolism, *Annu Rev Physiol* **2003**; 65:261-311.
- <sup>4</sup> Jensen EV, Desombre ER, Hurst DJ, Kawashima T, Jungblut PW. Estrogen-receptor interactions in target tissues, *Arch Anat Microsc Morphol Exp* **1967**;56(3):547-69.
- <sup>5</sup> Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, Cerelli G, Oro A, Lebo R, Thompson EB, Rosenfeld MG, Evans RM., Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA, *Nature* **1985**; 318(6047):635-41.
- <sup>6</sup> Miesfeld R, Rusconi S, Godowski PJ, Maler BA, Okret S, Wikstrom AC, Gustafsson JA, Yamamoto KR., Genetic complementation of a glucocorticoid receptor deficiency by expression of cloned receptor cDNA, *Cell* **1986**; 46(3):389-99.
- <sup>7</sup> Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, Argos P, Chambon P., Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A, *Nature* **1986**; 320(6058):134-9.
- <sup>8</sup> Giguere V, Ong ES, Segui P, Evans RM. Identification of a receptor for the morphogen retinoic acid, *Nature* **1987**; 330(6149):624-9.
- <sup>9</sup> Petkovich M, Brand NJ, Krust A, Chambon P. A human retinoic acid receptor which belongs to the family of nuclear receptors, *Nature* **1987**; 330(6147):444-50.
- <sup>10</sup> Sap J, Munoz A, Damm K, Goldberg Y, Ghysdael J, Leutz A, Beug H, Vennstrom B. The c-erb-A protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone, *Nature* **1986**; 324(6098):635-40.
- <sup>11</sup> Weinberger C, Thompson CC, Ong ES, Lebo R, Gruol DJ, Evans RM. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor, *Nature* **1986**; 324(6098):641-6.
- <sup>12</sup> Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily, *Science* **1988**; 240(4854):889-95.
- <sup>13</sup> Nauber U, Pankratz MJ, Kienlin A, Seifert E, Klemm U, Jackle H. Abdominal segmentation of the Drosophila embryo requires a hormone receptor-like protein encoded by the gap gene knirps, *Nature* **1988**;336(6198):489-92.

- <sup>14</sup> Oro AE, Ong ES, Margolis JS, Posakony JW, McKeown M, Evans RM. The *Drosophila* gene knirps-related is a member of the steroid-receptor gene superfamily, *Nature* **1988**; 336(6198):493-6.
- <sup>15</sup> Koelle MR, Talbot WS, Seagraves WA, Bender MT, Cherbas P, Hogness DS. The *Drosophila* EcR gene encodes an ecdysone receptor, a new member of the steroid receptor superfamily, *Cell* **1991**;67(1):59-77.
- <sup>16</sup> Mangelsdorf DJ, Ong ES, Dyck JA, Evans RM. Nuclear receptor that identifies a novel retinoic acid response pathway, *Nature* **1990**; 345:224-229.
- <sup>17</sup> V. Laudet, Evolution of the nuclear receptor superfamily: early diversification from an ancestral orphan receptor, *J. Mol. Endocrinol.*, **1997**, 19, 207-226.
- <sup>18</sup> The Nuclear Receptor Nomenclature Committee, A Unified Nomenclature System for the Nuclear Receptor Superfamily, *Cell*, **1999**, 97, 161-163.
- <sup>19</sup> J. P. Renaud, D. Moras, Structural studies on nuclear receptors, *Cell. Mol. Life Sci.*, **2000**, 57, 1748-1769.
- <sup>20</sup> Tora L, Gronemeyer H, Turcotte B, Gaub MP, Chambon P. The N-terminal region of the chicken progesterone receptor specifies target gene activation, *Nature* **1988**; 333:185-188.
- <sup>21</sup> Berry M, Metzger D, Chambon P. Role of the two activating domains of the oestrogen receptor in the cell-type and promoter-context dependent agonistic activity of the antioestrogen 4-hydroxytamoxifen, *Embo J* **1990**; 9(9):2811-8.
- <sup>22</sup> Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonnell DP. Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function, *Mol Endocrinol* **1993**; 7(10):1244-55.
- <sup>23</sup> Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T, Uchiyama S, Sasaki H, Masushige S, Gotoh Y, Nishida E, Kawashima H and others. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase, *Science* **1995**; 270 (5241):1491-4.
- <sup>24</sup> Glass CK. Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers, *Endocr Rev* **1994**;15(3):391-407.
- <sup>25</sup> Umesono K, Evans RM. Determinants of target gene specificity for steroid/thyroid *Cell* **1989**; 57(7):1139-46.
- <sup>26</sup> Perlmann T, Rangarajan PN, Umesono K, Evans RM. Determinants for selective RAR and TR recognition of direct repeat HREs *Genes & Development* **1993**; 7:1411-1422.
- <sup>27</sup> Zechel C, Shen XQ, Chambon P, Gronemeyer H. Dimerization interfaces formed the DNA binding domains determine the cooperative binding of RXR/RAR



and RXR/TR heterodimers to DR5 and DR4 elements, *Embo J* **1994**; 13(6):1414-24.

<sup>27</sup> Horlein AJ, Naar AM, Heinzel T, Torchia J, Gloss B, Kurokawa R, Ryan A, Kamei Y, Soderstrom M, Glass CK and others. Ligand-independent repression by the thyroid hormone receptor mediated by a nuclear receptor co-repressor, *Nature* **1995**; 377(6548): 397-404.

<sup>28</sup> T. E. Wilson, R. E. Paulsen, K. A. Padgett, J. Milbrandt, Participation of non-zinc finger residues in DNA binding by two nuclear orphan receptors, *Science*, **1992**, 256, 107-110.

<sup>29</sup> Chen JD, Evans RM. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors, *Nature* **1995**; 377:454-457.

<sup>30</sup> Guiochon-Mantel A, Lescop P, Christin-Maitre S, Loosfelt H, Perrot-Applanat M, Milgrom E. Nucleocytoplasmic shuttling of the progesterone receptor, *Embo J* **1991**; 10(12) 3851-9.

<sup>31</sup> Bourguet W, Ruff M, Chambon P, Gronemeyer H, Moras D. Crystal structure of the ligand-binding domain of the human nuclear receptor RXR- $\alpha$ , *Nature* **1995**;375:377-382.

<sup>32</sup> Wagner RL, Apriletti JW, McGrath ME, West BL, Baxter JD, Fletterick RJ. A structural role for hormone in the thyroid hormone receptor, *Nature* **1995**;378(6558):690-7.

<sup>33</sup> Renaud JP, Rochel N, Ruff M, Vivat V, Chambon P, Gronemeyer H, Moras D. Crystal structure of the RAR-gamma ligand-binding domain bound to all-trans retinoic acid, *Nature* **1995**;378(6558):681-9.

<sup>34</sup> Brzozowski AM, Pike AC, Dauter Z, Hubbard RE, Bonn T, Engstrom O, Ohman L, Greene GL, Gustafsson JA, Carlquist M. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor, *Nature* **1997**;389(6652):753-8.

<sup>35</sup> Williams SP, Sigler PB. Atomic structure of progesterone complexed with its receptor. *Nature* **1998**; 393(6683):392-6.

<sup>36</sup> Uppenberg J, Svensson C, Jaki M, Bertilsson G, Jendeberg L, Berkenstam A. Crystal structure of the ligand binding domain of the human nuclear receptor PPAR $\gamma$ , *Journal of Biological Chemistry* **1998**;273:31108-31112.

<sup>37</sup> Nolte RT, Wisely GB, Westin S, Cobb JE, Lambert MH, Kurokawa R, Rosenfeld MG, Willson TM, Glass CK, Milburn MV, Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, *Nature* **1998**; 395(6698):137-43.

<sup>38</sup> Feng W, Ribeiro RC, Wagner RL, Nguyen H, Apriletti JW, Fletterick RJ, Baxter JD, Kushner PJ, West BL. Hormone-dependent coactivator binding to a hydrophobic cleft on nuclear receptors, *Science* **1998**; 280(5370):1747-9.

<sup>39</sup> Weatherman RV, Scanlan TS. Unique protein determinants of the subtype-selective

ligand responses of the estrogen receptors (ERalpha and ERbeta ) at AP-1 sites, *J Biol Chem* **2001**; 276(6):3827-32.

<sup>40</sup> Pratt WB, Toft DO. Steroid receptor interactions with heat shock protein and immunophilin chaperones, *Endocr Rev* **1997**; 18(3):306-60.

<sup>41</sup> Chen JD, Evans RM. A transcriptional co-repressor that interacts with nuclear hormone receptors [see comments], *Nature* **1995**; 377(6548):454-7.

<sup>42</sup> Damm K, Thompson CC, Evans RM. Protein encoded by v-erbA functions as a thyroid-hormone receptor antagonist, *Nature* **1989**; 339(6226):593-7.

<sup>43</sup> Sap J, Munoz A, Schmitt J, Stunnenberg H, Vennstrom B. Repression of transcription mediated at a thyroid hormone response element by the v-erb-A oncogene product, *Nature* **1989**; 340(6230):242-4.

<sup>44</sup> Graupner G, Wills KN, Tzukerman M, Zhang XK, Pfahl M. Dual regulatory role for thyroid-hormone receptors allows control of retinoic-acid receptor activity, *Nature* **1989**; 340(6235):653-6.

<sup>45</sup> Baniahmad A, Kohne AC, Renkawitz R. A transferable silencing domain is present in the thyroid hormone receptor, in the v-erbA oncogene product and in the retinoic acid receptor, *Embo J* **1992**; 11(3):1015-23.

<sup>46</sup> McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology, *Endocr Rev* **1999**; 20(3):321-44.

<sup>47</sup> Glass CK, Rose DW, Rosenfeld MG. Nuclear receptor coactivators. *Curr Opin Cell Biol* **1997**; 9(2):222-32.

<sup>48</sup> Glass CK, Rosenfeld MG. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors, *Genes Dev* **2000**; 14(2):121-41.

<sup>49</sup> Pfahl M. Nuclear receptor/AP-1 interaction, *Endocr Rev* **1993**; 14(5):651-8.

<sup>50</sup> Karin M. New twists in gene regulation by glucocorticoid receptor: is DNA binding dispensable? *Cell* **1998**; 93(4):487-90.

<sup>51</sup> I. Isseman, S. Green, Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*, **1990**; 347, 645-650.

<sup>52</sup> K. Schoonjans, B. Staels, J. Auwerx, The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation, *Biochem. Biophys. Acta*, **1996**; 1302, 93-109.

<sup>53</sup> M.P. Hermans, Les récepteurs PPAR en pratique lipidologique et diabétologique, *Louvain Med.*, **2001**; 120, 13-17.

- <sup>54</sup> Marx, N. and Hombach, V, Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in the vessel wall: new regulators of gene expression in vascular cells, *Z Kardiol.* **2001**; *90*(7), 470-477.
- <sup>55</sup> B. Desvergne, W. Wahli, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Nuclear Control in Metabolism, *Endocrine Reviews*, **1999**, *20*, 649-688.
- <sup>56</sup> T. M. Willson, W. Wahli, Peroxisome proliferator-activated receptor agonists, *Current Opinion in Chemical Biology*, **1997**, *1*, 235-241.
- <sup>57</sup> T. M. Willson, P. J. Brown, D. D. Sternbach, B. R. Henke, The PPARs: From Orphan Receptors to Drug Discovery, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 527-550.
- <sup>58</sup> Kersten S, Wahli W. Peroxisome proliferators activated receptor agonists, *EXS*, **2000**, *89*, 141-51.
- <sup>59</sup> S. Lestavel, G. Chinetti, V. Bocher, Jean-Charles Fruchart, V. Clavey, B. Staels, PPAR (peroxisome proliferator-activated receptors) et paroi vasculaire: implications dans l'athérosclérose, *m/s n° 5*, **mai 2001**, *vol. 17*, 637-642.
- <sup>60</sup> P. J. Brown, D. A. Wineger, K. D. Plunket, A ureido-thiobutyric acid (GW 9578) is a subtype-selective PPAR $\alpha$  agonist with potent lipid-lowering activity, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 3785-3788.
- <sup>61</sup> H. Miyachi, Synthetic ligands for peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ , review of the patent literature 2000-2003, *Exprt Opin. Ther. Patents.*, **2004**, *14*(5), 607-617.
- <sup>62</sup> Xu, Y.; Mayhugh, D.; Saeed, A.; Wang, X.; Thompson, R. C.; Dominianni, S. J.; Kauffman, R. F.; Singh, J.; Bean, J. S.; Bensch, W. R.; Barr, R. W.; Osborne, J.; Montrose-Rafizadeh, C.; Zink, R. W.; Yumibe, N. P.; Huang, N.; Luffer-Atlas, D.; Rungta, D.; Maise, D. E.; Mantlo, N. B. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5121-5124.
- <sup>63</sup> Nomura, M.; Tanase, T.; Ide, T.; Tsunoda, M.; Suzuki, M.; Uchiki, H.; Murakami, K.; Miyachi, H. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3581.
- <sup>64</sup> Weignad et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4619.
- <sup>65</sup> G. d'Atri, P. Gomasca, G. Resnati, G. Tronconi, C. Scolastico, C. R. Sirtori, Novel Pyrimidine and 1,3,5-Triazine Hypolipidemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1984**, *27*, 1621-1629
- <sup>66</sup> F. D. King, G. Lawton, A. W. Oxford, *Progress in Medicinal Chemistry*, **2004**, *Vol. 42*, 1-53, Elsevier.
- <sup>67</sup> Y.Syha, Synthese und in vitro-pharmakologische Charakterisierung von dualen PPARalpha/gamma-Agonisten, **2005**.
- <sup>68</sup> Andrew C. Li and Wulf Palinski, PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED

RECEPTORS: How Their Effects on Macrophages Can Lead to the Development of a New Drug Therapy Against Atherosclerosis, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2006**, *46*, 1–39.

<sup>69</sup> Wang F, Aleksunes LM, Reagan LA, Vergara CM. Management of rosiglitazone-induced edema: two case reports and a review of the literature. *Diabetes Technol. Ther.* **2002**, *4*, 505–14.

<sup>70</sup> J-P. Pégrier, Récepteurs PPAR et insulinosensibilité : nouveaux agonists en développement, *Ann. Endocrinol.*, **2005**, *66*, 2, 1S10-1S17.

<sup>71</sup> L. Peterson, American Diabetes Association, *Trends-in-Medicine*, **2003**, June 13-18, 1-11

<sup>72</sup> D. Debendranath et al., A novel peroxisome proliferator-activated gamma (PPAR gamma) agonist, CLX-0921, has potent antihyperglycemic activity with low adipogenic potential, *Metabolism*, **2003**, *52*, Issue 8, 1012-1018.

<sup>73</sup> Misra P, Chakrabarti R, Vikramadithyan RK, Bolusu G, Juluri S, Hiriyani J, Gershon C, Rajjak A, Kashireddy P, Yu S, Surapureddi S, Qi C, Zhu YJ, Rao MS, Reddy JK, Ramanujam R 2003 PAT5A: a partial agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a potent antidiabetic thiazolidinedione yet weakly adipogenic. *J Pharmacol Exp Ther.* **2003**, *306*:763-71

<sup>74</sup> J. P. Berger, A. E. Petro, K. L. MacNaul, L. J. Kelly, B. B. Zhang, K. Richards, A. Elbrecht, B. A. Johnson, G. Zhou, T. W. Doebber, C. Biswas, M. Parikh, N. Sharma, M. R. Tanen, G. M. Thompson, J. Ventre, A. D. Adams, R. Mosley, R. S. Surwit, D. E. Moller, Distinct Properties and Advantages of a Novel Peroxisome Proliferator-Activated Protein  $\gamma$  Selective Modulator, *Mol. Endocrinol.*, **2003**, *17*, 662-676.

<sup>75</sup> H. Minoura, S. Takeshita, M. Ita, J. Hirosumi, M. Mabuchi, I. Kawamura, S. Nakajima, O. Nakayama, H. Kayakiri, T. Oku, A. Ohkubo-Suzuki, M. Fukagawa, H. Kojo, K. Hanioka, N. Yamasaki, T. Imoto, Y. Kobayashi, S. Mutoh, Pharmacological characteristics of a novel nonthiazolidindione insulin sensitizer, FK614, *Eur. J. Pharmacol.*, **2004**, *494*, 273-281.

<sup>76</sup> D. Conlon, Goodbye glitazars?, *The british journal of diabetes and vascular disease*, 2006, *6*, 3, 135-137.

<sup>77</sup> T.W. Doebber et al., MK-0767, a novel dual PPAR $\alpha$ /gamma agonist, displays robust robust antihyperglycemic and hypolipidemic activities. *Biochem Biophys Res Commun*, **2004**, *318*(2), 323-8.

- <sup>78</sup> Sakamoto, J., et al., A novel oxyiminoalkanoic acid derivative, TAK-559, activates human peroxisome proliferator-activated receptor subtypes. *Eur J Pharmacol*, **2004**, *495*(1), 17-26
- <sup>79</sup> S. Ebdrup et al., Synthesis and biological and structural characterization of the dual-acting peroxisome proliferator-activated receptor alpha/gamma agonist ragaglitazar, *J. Med. Chem.*, **2003**, *46*(8), 1306-17.
- <sup>80</sup> P. Cronet et al., Structure of the PPARalpha and -gamma ligand binding domain in complex with AZ 242; ligand selectivity and agonist activation in the PPAR family, *Structure (Camb)*, **2001**, *9*(8): p. 699-706.
- <sup>81</sup> P.V. Devasthale et al., Design and synthesis of N-[(4-methoxyphenoxy)carbonyl]-N-[[4-[2-(5-methyl-2-phenyl-4-oxazolyl)ethoxy]phenyl]methyl]glycine [Muraglitazar/BMS-298585], a novel peroxisome proliferator-activated receptor alpha/gamma dual agonist with efficacious glucose and lipid-lowering activities, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*(6), 2248-50.
- <sup>82</sup> J.A. Martin et al., 2-Alkoxydihydrocinamates as PPAR agonists. Activity modulation by the incorporation of phenoxy substituents, *Bioorg. Med. Chem. Lett*, **2005**, *15*(1), 51-5.
- <sup>83</sup> P. P. Li et al., The PPARalpha/gamma dual agonist chiglitazar improves insulin resistance and dyslipidemia in MSG obese rats, *Br J Pharmacol*, **2006**, *148*(5), 610-618.
- <sup>84</sup> T. M. Willson, P. J. Brown, D. D. Sternbach, B. R. Henke, The PPARs: From Orphan Receptors to Drug Discovery, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 527-550.
- <sup>85</sup> M. A. Kastenzholz, M. Pastor, G. Cruciani, E. E. J. Haaksma, T. Fox, GRID/CPCA: A New Computational Tool To Design Selective Ligands, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 3033-3044.
- <sup>86</sup> P. Cronet, J. F. W. Petersen, R. Folmer, N. Blomberg, K. Sjöblom, U. Karlsson, E.-L. Lindstedt, K. Bamberg, Structure of the PPAR $\alpha$  and - $\gamma$  Ligand Binding Domain in Complex with AZ 242; Ligand Selectivity and Agonist Activation in the PPAR Family, *Structure*, **2001**, *9*, 699-706.
- <sup>87</sup> R. T. Gampe, Jr., V. G. Montana, M. H. Lambert, A. B. Miller, R. K. Bledsoe, M. V. Milburn, S. A. Kliewer, T. M. Willson, H. E. Xu, Asymmetry in the PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  Crystal Structure Reveals the Molecular Basis of Heterodimerization among Nuclear Receptors, *Mol. Cell*, **2000**, *5*, 545-555.
- <sup>88</sup> H. E. Xu, M. H. Lambert, V. G. Montana, D. J. Parks, S. G. Blanchard, P. J. Brown, D. D. Sternbach, J. M. Lehmann, G. B. Wisely, T. M. Willson, S. A. Kliewer, M. V. Milburn,

Molecular Recognition of Fatty Acids by Peroxisome Proliferator-Activated Receptors, *Mol. Cell*, **1999**, 3, 397-403.

<sup>89</sup> P. Delerive, J.-C. Fruchart, B. Staels, Peroxisome proliferators-activated receptors in inflammation control, *J. of Endocrinol.*, **2001**, 169, 453-459.

<sup>90</sup> N. Marx, G. K. Sukhova, T. Collins, P. Libby, J. Plutzky, PPAR $\alpha$  activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells, *Circulation*, **1999**, 99, 3125-3131.

<sup>91</sup> Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A. Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators. *Nature* **1998**, 393, 790-793.

<sup>92</sup> Marx N, Galina K, Sukhova GK, Collins T, Libby P, Plutzky J. PPAR $\alpha$  activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation* **1999**, 99, 3125-3131.

<sup>93</sup> Rubins HB, Robins SJ, Conclusions from the VAHIT study. *Am J Cardio*, **2000** 86, 543–544.

<sup>94</sup> Guerre-Millo M, Gervois P, Raspe E, Madsen L, Poulain P, Derudas B, Herbert JM, Winegar DA, Willson TM, Fruchart JC, Berge RK, Staels B, Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators improve insulin sensitivity and reduce adiposity. *J Biol Chem* **2000**, 275: 16638–16642.

<sup>95</sup> Ye JM, Doyle PJ, Iglesias MA, Watson DG, Cooney GJ, Kraegen EW, Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha activation lowers muscle lipids and improves insulin sensitivity in high fat-fed rats: comparison with PPAR-gamma activation. *Diabetes* **2001**, 50, 411–417.

<sup>96</sup> S. Mudaliar, R. R. Henry, New Oral Therapies for Type 2 Diabetes Mellitus: The Glitazones or Insulin Sensitizers, *Annu. Rev. Med.*, **2001**, 52, 239-257.

<sup>97</sup> Kendall DM, Rubin CJ, Mohideen P, Ledezine JM, Belder R, Gross J, Norwood P, O'Mahony M, Sall K, Sloan G, Roberts A, Fiedorek FT, DeFronzo RA. *Diabetes Care*. **2006** May, 29(5), 1016-23.

<sup>98</sup> Univ.-Prof. Dr. Bernhard Ludvik, *Ärztemagazin* 1-2/**2005** 13. Jänner 2005

<sup>99</sup> Brash, A. R. Lipoygenases: occurrence, functions, catalysis, and acquisition of substrate. *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 23679-23682.

<sup>100</sup> Shibata, D.; Axelrod, B. Plant lipoygenases. *J. Lipid. Mediat. Cell Signal.* **1995**, 12, 213-228.

- <sup>101</sup> Porta, H.; Rocha-Sosa, M. Lipoxygenase in bacteria: a horizontal transfer event? *Microbiology* **2001**, *147*, 3199-3200.
- <sup>102</sup> Vance, R. E.; Hong, S.; Gronert, K.; Serhan, C. N.; Mekalanos, J. J. The opportunistic pathogen *Pseudomonas aeruginosa* carries a secretable arachidonate 15-lipoxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 2135-2139.
- <sup>103</sup> Caroline Charlier, Jean-Pierre He´nichart, Francois Durant and Johan Wouters, Structural Insights into Human 5-Lipoxygenase Inhibition: Combined Ligand-Based and Target-Based Approach. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 186-195.
- <sup>104</sup> Borgeat P, Hamberg M, Samuelsson B, *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 7816-7820.
- <sup>105</sup> Samuelsson B, Borgeat P, Hammarstrom S, Murphy RC, *Prostaglandins* **1979**, *17* (6), 785-787.
- <sup>106</sup> Musser JH, Kreft AF, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 2501-2524.
- <sup>107</sup> Rouzer CA, Samuelsson B, *Methods Enzymol.* **1990**, *187*, 312-319.
- <sup>108</sup> Wertz O, 5-Lipoxygenase: Cellular Biology and Molecular Pharmacology, *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy* **2002**, *1*, 23-44.
- <sup>109</sup> McMillan RM, Walker ERH, Designing therapeutically effective 5-lipoxygenase inhibitors, *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *13*, 323-30.
- <sup>110</sup> Steinhilber D, 5-Lipoxygenase: a target for antiinflammatory drugs revisited, *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 68-83.
- <sup>111</sup> Carter GW et al, 5-Lipoxygenase inhibitory activity of zileuton, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1992**, *245*, 205-27.
- <sup>112</sup> Steinhilber D, Schubert-Zsilavecz M, Roth HJ, *Medizinische Chemie*, **2005**, 364.
- <sup>113</sup> Dahlen SE, Hedqvist P, Hammarstrom S, Samuelsson B, *Nature* **1980**, *288*, 484-486.
- <sup>114</sup> Brain, S. D.; Williams, T. J. Leukotrienes and inflammation. *Pharmacol. Ther.* **1990**, *46*, 57-66.
- <sup>115</sup> Wenzel, S. E. The role of leukotrienes in asthma. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **2003**, *69*, 145-155.
- <sup>116</sup> Romano, M.; Claria, J. Cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase converging functions on cell proliferation and tumor angiogenesis: implications for cancer therapy. *FASEB J.* **2003**, *17*, 1986-1995.
- <sup>117</sup> Ding, X. Z.; Hennig, R.; Adrian, T. E. Lipoxygenase and cyclooxygenase metabolism: new insights in treatment and chemoprevention of pancreatic cancer. *Mol. Cancer* **2003**, *2*, 10.

- <sup>118</sup> Dwyer, J. H.; Allayee, H.; Dwyer, K. M.; Fan, J.; Wu, H.; Mar, R.; Lusi, A. J.; Mehrabian, M. Arachidonate 5-lipoxygenase promoter genotype, dietary arachidonic acid, and atherosclerosis. *N. Engl. J. Med.* **2004**, *350*, 29-37.
- <sup>119</sup> Mehrabian, M.; Allayee, H. 5-lipoxygenase and atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* **2003**, *14*, 447-457.
- <sup>120</sup> G. d'Atri, P. Gomasasca, G. Resnati, G. Tronconi, C. Scolastico, C. R. Sirtori, Novel Pyrimidine and 1,3,5-Triazine Hypolipidemic Agents, *J. Med. Chem.*, **1984**, *27*, 1621-1629.
- <sup>121</sup> B. Pirard, Peroxisome Proliferator-Activated Receptors target family landscape: A chemometrical approach to ligand selectivity based on protein binding site analysis, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, **2003**, *17*, 785-796.
- <sup>122</sup> J. Dellaria et al. - *Abbott Lab.*-, (4-Alkoxy-pyran-4-yl) substituted arylalkyl-, arylalkenylaryl- and arylalkynylarylurea inhibitors of 5-lipoxygenase, *United States Patent 5,432,194*, **1995**.
- <sup>123</sup> J.E. Payack et al. - *Merck & Co. Inc.*-, Synthesis of a quinoliylmethoxyphenyl hydrazine, *UK Patent 2 265 621 A*, **1993**.
- <sup>124</sup> R. Youssefyeh et al. - *Rorer Pharmaceutical Corporation*-, Aryl and heteroaryl ethers as agents for the treatment of hypersensitive ailments, *United States Patent*, 4,938,369, **1989**.
- <sup>125</sup> M. Müller-Gliemann et al. - *Bayer AG Leverkusen* -, Substituierte Arylharnstoffe, *Deutsches Patent*, DE 44010893 A1, **1995**.
- <sup>126</sup> B. Connop et al. - *Active Pass Pharmaceutical Inc. Canada* -, Arylthioetherpyrimidine and aryloxyetherpyrimidine derivatives and their therapeutic uses, Patent : PCT/CA **2003/001962** - WO **2004/054988 A1**
- <sup>127</sup> O. Werz, & D. Steinhilber, *Eur J Biochem* **1996**, *242*, 90-97.
- <sup>128</sup> Yves Ducharme et al., Naphthalenic Lignan Lactones as 5-Lipoxygenase Inhibitors, Synthesis and Biological Activity of (Methoxyalkyl)thiazole and Methoxytetrahydropyran Hybrids, *Journal of Medicinal Chemistry*, **1994**, Vol.37, No.4, 512-518.
- <sup>129</sup> P. Sauerberg et al., Identification of potent PPAR $\alpha$  agonists, *J. Med. Chem.*, **2003**, 4883.
- <sup>130</sup> Popescu Laura, Rau Oliver, Böttcher Jark, Syha Yvonne, Schubert-Zsilavec Manfred, Quinoline-based derivatives of pirinixic acid as dual PPAR alpha/gamma agonists, *Archiv der Pharmazie*, **2007**, 340(7):367-71.



---

<sup>131</sup> Oliver Werz, Christine Greiner, Andreas Koeberle, Christina Hoernig, Sven George, Laura Popescu, Ivonne Syha, Manfred Schubert-Zsilavec and Dieter Steinhilber, Novel and Potent Inhibitors of 5-Lipoxygenase Product Synthesis Based on the Structure of Pirinixic Acid, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (17), pp 5449–5453.

## Publikationen

### Patente

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

### Andere Publikationen

Oliver Werz, Christine Greiner, Andreas Koeberle, Christina Hoernig, Sven George, **Laura Popescu**, Ivonne Syha, Manfred Schubert-Zsilavec and Dieter Steinhilber, Novel and Potent Inhibitors of 5-Lipoxygenase Product Synthesis Based on the Structure of Pirinixic Acid, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (17), pp 5449–5453.

Rau Oliver; Zettl Heiko, **Popescu Laura**, Steinhilber Dieter, Schubert-Zsilavec Manfred, The treatment of dyslipidemia-what's left in the pipeline?, *ChemMedChem*, **2008**, 3(2):206-21.

**Popescu Laura**, Rau Oliver, Böttcher Jark, Syha Yvonne, Schubert-Zsilavec Manfred, Quinoline-based derivatives of pirinixic acid as dual PPAR alpha/gamma agonists, *Archiv der Pharmazie*, **2007**, 340(7):367-71.

Rau Oliver, Zettl Heiko, **Popescu Laura**, Steinhilber Dieter, Schubert-Zsilavec Manfred, New targets and drugs for treatment of lipid metabolism disorders, *Pharmazie in unserer Zeit*, **2007**, 36(2):142-8.

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

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

**Posterbeiträge**

**Popescu, L.** Rau, O. Syha Y. and Schubert-Zsilavecz, M: Novel derivatives of pirinixic acid as potent dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonists, *19th International Symposium on Medicinal Chemistry ISMC 2006*.

**Popescu, L.** Rau, O. and Schubert-Zsilavecz, M: Novel synthetic derivatives of pirinixic acid as potent dual PPAR $\alpha/\gamma$  agonists, *Annual Meeting: Frontiers in Medicinal Chemistry 2006*, Frankfurt am Main.

Poeckel, D., **Popescu, L.** Rau, O., Hörnig, C., Steinhilber, D., Wertz, O. and Schubert-Zsilavecz, M: Novel synthetic derivatives of pirinixic acid: Potent ligands of PPARs with a broad spectrum of anti-inflammatory properties: *DPhG-Tagung Mainz 2005*.

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

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Boteanu- Popescu  
 Vorname: Laura  
 Geburtsdatum: 18. Juni 1968  
 Geburtsort: Campulung-Muscel Rumänien  
 Nationalität: Kanadisch

### Derzeit

**Seit 01.2009 - präs.** Regulatory Affairs an der Firma YES (Your External Support) Pharmaceutical Development Services GmbH/Friedrichsdorf

**1.05.2007 – 31.12.2008** Drug Development an der Firma YES (Your External Support) Pharmaceutical Development Services GmbH/Friedrichsdorf

### Berufserfahrung

**1.10.2006 – 30.03.2007** Leitung des 3. Studiensemesters Pharmazie (Arzneistoffsynthese, Pharmazeutische Chemie) der Universität Frankfurt

**1.03.2005-1.10.2006** Wissenschaftliche Angestellte am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main

**1.07.2004-28.02.2005** Wissenschaftliche Mitarbeiter als Doktorandin im Projekt „PPAR-Aktivatoren/Chemische Synthesen“ des Biotechnologie Unternehmens Phenion GmbH & Co. KG (Research & Development Company co-founded by Henkel KGa/Düsseldörf)

- seit 29.04.2003-präs.** Doktorandin unter der Anleitung von Prof. M. Schubert Zsilaveczech am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe Universität mit dem Thema „Synthese und Struktur-Wirkungs-Beziehungen von dualen PPAR $\alpha/\gamma$  / 5-LOX- Modulatoren“
- 01/2002 – 06/2002** Manager Forschung und Entwicklung der Firma Paklab Products Inc., Montreal Kanada
- 01/1998 – 12/2001** Manager der Qualitätskontrolle der Firma Mosti Mondiale Inc., Montreal Kanada
- 09/1997 – 12/1997** Université de Montreal; Wissenschaftliche Mitarbeiter im Arbeitskreis von Prof. Dr. James West Forschung im Rahmen eines Forschungsprogramm für organischen Synthesen: „Mehrphasige Synthesen der neuen organischen Verbindungen abgeleitet von der 1,3,5-Triazins“; Verwendung des MKROMODELS (UNIX); Software Anwendung für Forschung der multi-konformen der Molekulardynamik und der Minimierung und Design eines Trypsineinhibitor.
- 09/1996 – 09/1997** Manager der pharmazeutischen Abteilung und der Qualitätskontrolle Firma Les Laboratoires HOLIS Inc., Montreal Kanada

### **Akademische Ausbildung**

- seit 05/2003** Doktorandin unter der Anleitung von Prof. M. Schubert Zsilaveczech am Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe Universität mit dem Thema „Synthese und Struktur-Wirkungs-Beziehungen von dualen PPAR $\alpha/\gamma$  /5-Lo-Modulatoren“

- 1994-1995** Universität Bukarest in Zusammenarbeit mit der Universität Lille, Frankreich - Master in organischen Chemie
- 1990-1994** Studium an der Bukarester Universität; Organische Chemie Diplomabschlussarbeit: Organisch-präparative Synthese

### Fachliche Fortbildung

- 09/2006** 19th International Symposium on Medicinal Chemistry ISMC 2006, Istanbul (Türkei)
- 07/2006** 4-ème Colloque Franco-roumain de Chimie Appliquée, 2006, Clermont-Ferrand (Frankreich)
- 03/2006** Annual Meeting: Frontiers in Medicinal Chemistry 2006, Frankfurt am Main
- 10/2005** Doktorandentagung der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft an der Universität Mainz
- 10/2004** 2nd Summer School Medicinal Chemistry an der Universität Regensburg
- 09/2004** 15th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships & Molecular Modelling, Istanbul (Türkei)

### Mitgliedschaften

- seit 2004** Mitglied der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft
- Seit 1997** Mitglied der O.C.Q (Ordre des Chimistes du Québec)

## **Eidesstattliche Versicherung**

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

Frankfurt am Main, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Laura Boteanu Popescu