

Synthese und Charakterisierung von Inhibitoren der mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase-1 und der 5-Lipoxygenase

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

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

von

Thomas Hanke
aus Marburg

Frankfurt (2014)

(D 30)

vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der Goethe-Universität als Dissertation
angenommen.

Dekan: Prof. Dr. Thomas Prisner

Gutachter: Prof. Dr. Manfred Schubert-Zsilavecz
Prof. Dr. Oliver Werz

Datum der Disputation:

“Chemistry [...] reduced to its simplest terms, is not physics. Medicine is not chemistry [...] knowledge of the specific physiological and eventually molecular sequence of events does not help us understand what [a] poet has to say to us.”

Frei nach: Roald Hoffmann, speech at the Nobel banquet, 1981

Inhalt

1.	Zielsetzung.....	1
2.	Einleitung.....	4
2.1.	5-Lipoxygenase.....	5
2.1.1.	Struktur und Funktion	5
2.1.2.	Physiologie und Pathophysiologie.....	10
2.2.	Mikrosomale Prostaglandin E ₂ Synthase-1.....	17
2.2.1.	Struktur und Funktion	17
2.2.2.	Physiologie und Pathophysiologie.....	22
2.3.	Medizinische Chemie der 5-LO- & mPGES-1-Inhibitoren	26
2.3.1.	5-LO-Inhibitoren	26
2.3.2.	mPGES-1-Inhibitoren.....	31
2.3.3.	Duale 5-LO/mPGES-1-Inhibitoren.....	39
3.	Ergebnisse und Diskussion	46
3.1.	Chemische Synthesen.....	46
3.1.1.	Synthese der Pirinixinsäurederivate.....	46
3.1.2.	Synthese des Dicarbonsäurederivates (Verb. 66)	48
3.1.3.	Synthese der Benzensulfonamidderivate.....	49
3.1.4.	Synthese des deuterierten Benzensulfonamidderivates (Verb. 94)	52
3.2.	In vitro pharmakologische Charakterisierung der Substanzen	53
3.3.	Struktur-Wirkungsbeziehungen	55
3.3.1.	SAR der Pirinixinsäurederivate	55
3.3.2.	SAR der Benzensulfonamidderivate	70
4.	Zusammenfassung.....	77
5.	Experimenteller Teil	82
5.1.	Allgemeine Angaben	82
5.2.	Synthesen der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate (Verb. 3, 51–65, 67–76).....	83
5.2.1.	Synthese und Charakterisierung der Thioetherderivate (Verb. 96–98).....	83
5.2.2.	Synthese und Charakterisierung der chlorierten Thioetherderivate (Verb. 99–101) ...	85
5.2.3.	Synthese und Charakterisierung der 2-Aminothiazole (Verb. 102–106)	88
5.2.4.	Synthese und Charakterisierung der <i>N,N</i> -Diheteroarylamine (Verb. 107–132)	91
5.2.5.	Synthese und Charakterisierung der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate (Verb. 3, 51–65, 67–76).....	116
5.3.	Synthese des Dicarbonsäurederivates (Verb. 66)	136

5.3.1.	Synthese und Charakterisierung des Ethyl-4-acetylbenzoat (Verb. 133).....	136
5.3.2.	Synthese und Charakterisierung von Ethyl-4-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)benzoat (Verb. 134) 137	137
5.3.3.	Synthese und Charakterisierung von Ethyl-4-[2-({6-chlor-2-[(1-ethoxy-1-oxooctan-2-yl)sulfanyl]pyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoat (Verb. 135)	138
5.3.4.	Synthese und Charakterisierung von 4-[2-({1-Carboxyheptyl)sulfanyl]-6-chlorpyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoesäure (Verb. 66)	139
5.4.	Synthese der Benzensulfonamide der Serie 1 (Verb. 4, 82–87).....	141
5.4.1.	Synthese und Charakterisierung der sekundären Amine mit Aryletherbenzylaminstruktur (Verb. 136–142)	141
5.4.2.	Synthese und Charakterisierung der Benzensulfonamide der Serie 1 (Verb. 4, 82–87) 145	145
5.5.	Synthese der Benzensulfonamide der Serie 2 (Verb. 78, 88–93).....	152
5.5.1.	Synthese und Charakterisierung der sekundären Amine mit Cyclohexylmethylstruktur (Verb. 143–149).....	152
5.5.2.	Synthese und Charakterisierung der Benzensulfonamide der Serie 2 (Verb. 78, 88–93) 157	157
5.6.	Synthese der Benzensulfonamide der Serie 3 (Verb. 95 und 96).....	164
5.6.1.	Synthese und Charakterisierung des Arylpropionsäurederivats (Verb. 95).....	164
5.6.2.	Synthese und Charakterisierung des Arylpropionsäurederivats (Verb. 96).....	165
5.7.	Synthese des deuterierten Benzensulfonamidderivates (Verb. 94)	166
5.7.1.	Synthese und Charakterisierung von 4-(² H ₃)Methoxybenzaldehyd (Verb. 150).....	166
5.7.2.	Synthese und Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl){[4-(² H ₃)methoxyphenyl]methyl}amin (Verb. 151).....	167
5.7.3.	Synthese und Charakterisierung von 4-[(Cyclohexylmethyl){[4-(² H ₃)methoxyphenyl]methyl}sulfamoyl]benzoesäure (Verb. 94)	168
6.	Abkürzungsverzeichnis	170
7.	Literaturverzeichnis.....	172
8.	Publikationsliste	183
9.	Eidesstattliche Versicherung	185

1. Zielsetzung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese und Charakterisierung von Inhibitoren der 5-Lipoxygenase (5-LO) und der mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase-1 (mPGES-1) als neue potentielle anti-entzündliche Wirkstoffe. Beide Enzyme befinden sich innerhalb der Arachidonsäurekaskade und sind einerseits an der Prostaglandin E₂ (PGE₂) Biosynthese und andererseits an der Biosynthese der Leukotriene (LTs) beteiligt (siehe Abb. 1). Die mPGES-1 ist ein membranständiges Enzym, das downstream lokalisiert ist, hauptsächlich unterhalb der induzierbaren COX-2, und katalysiert die Reaktion von PGH₂ zu PGE₂. PGE₂ gilt innerhalb der Prostaglandine als prominentester Vertreter bezüglich Entzündungen, Schmerzen und Fieber. Die Leukotriene gehören ebenso wie die Prostaglandine zu den pro-inflammatorisch wirkenden Lipid-Mediatoren und sind unter anderem beteiligt an der Bronchokonstriktion oder erhöhen auch die vaskuläre Permeabilität. Während dieser Arbeit wurden die Struktur-Wirkungsbeziehungen zweier verschiedener Substanzklassen untersucht.

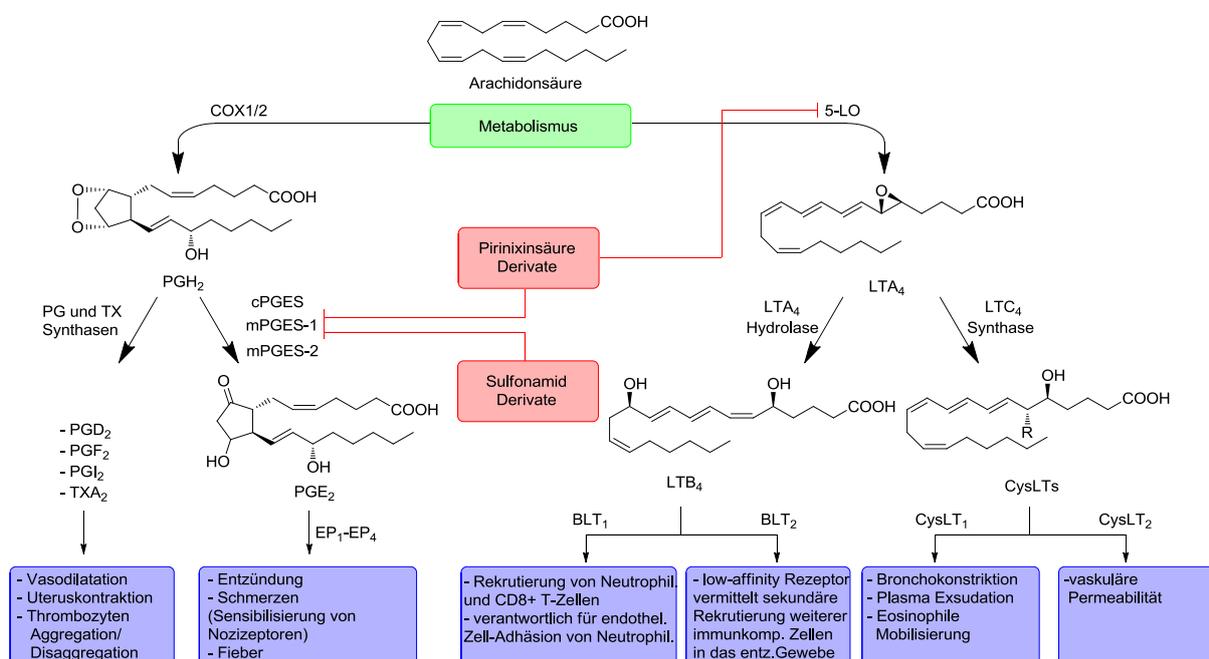


Abb. 1: Übersicht der Arachidonsäurekaskade, mit den potentiellen Targets der in dieser Arbeit untersuchten Leitstrukturen (in Rot) und den physiologischen und pathophysiologischen Wirkungen ausgesuchter Eikosanoide (in Blau).

Leitstruktur I entstammt einem Pirinixinsäure-Derivat (siehe Abb. 2). Die Pirinixinsäure (Verbindung 1) selbst ist sowohl an der mPGES-1 als auch an der 5-LO inaktiv. Initiale Arbeiten haben gezeigt, dass eine Einführung eines *n*-Hexyl Restes in α -Position zu der Carbonsäure zu einer dualen Inhibition der 5-LO und mPGES-1 geführt hat (Verb. 2). Unter Beibehaltung dieses Restes sollte der lipophile Rückraum durch Austausch des 2,3-Xylidin-Gerüsts optimiert werden und hier hat sich insbesondere das 4-(4-Chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin Gerüst als potent erwiesen (Verb. 3). Mit dieser Erkenntnis sollten verschiedene 2-Aminothiazolhaltige Pirinixinsäurederivate synthetisiert werden, und ihre Struktur-Wirkungsbeziehung als duale 5-LO/ mPGES-1 Inhibitoren untersucht werden.

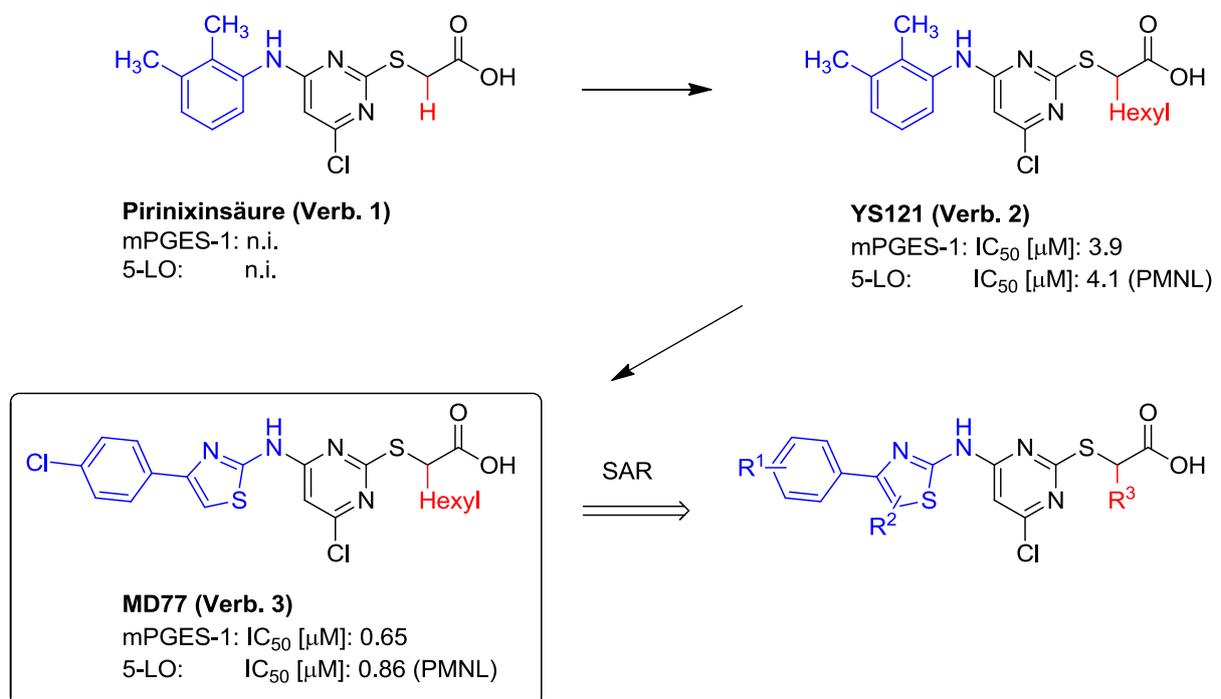


Abb. 2: Entwicklung von der Pirinixinsäure zu den Aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivaten und deren Optimierung an den drei dargestellten Resten.

Leitstruktur II entstammt einem virtuellen Screening Ansatz, in dem neue acidische mPGES-1 Inhibitoren identifiziert werden sollten. Das Benzensulfonamid Derivat FR4 (Verb. 4) stellt dabei eine neuartige Leitstruktur für mPGES-1 Inhibitoren dar, die nicht nur in der Lage sind die humane mPGES-1 zu hemmen, sondern ebenso die murine mPGES-1. Viele in der Literatur beschriebene mPGES-1 Inhibitoren sind zwar in der Lage, die humane mPGES-1 sehr potent zu inhibieren, haben allerdings keinen Effekt gezeigt in ersten präklinischen Versuchen, weil der Spezies

Unterschied zwischen der murinen und humanen mPGES-1 zu groß ist. Dementsprechend liefern die Benzensulfonamide einen interessanten Ansatzpunkt für die Entwicklung neuartiger mPGES-1 Inhibitoren, um die Hürde der präklinischen Entwicklung zu überwinden.

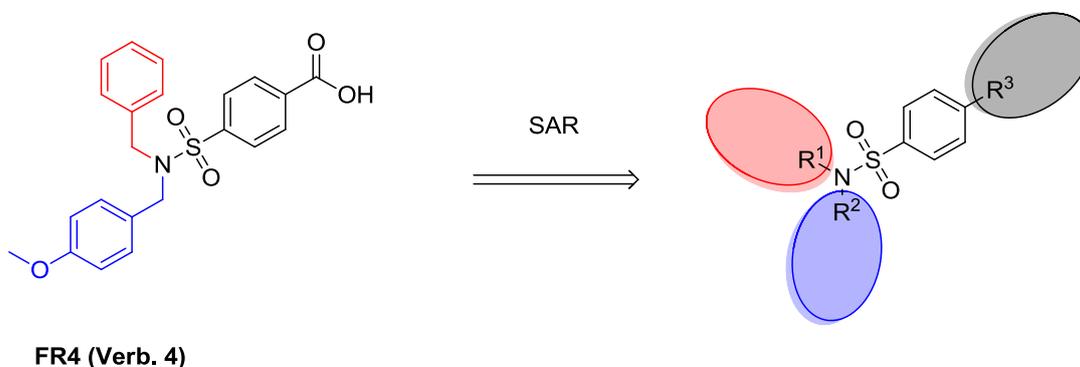


Abb. 3: Leitstruktur II und Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen an den drei dargestellten Resten.

2. Einleitung

Eine Entzündung ist ein physiologischer Prozess innerhalb unseres Körpers, der dazu dient jegliche Art von Noxe, sei es eine Gewebsschädigung oder eine bakterielle bzw. virale Infektion, zu eliminieren. Ist der Körper jedoch nicht in der Lage mit einer akuten Entzündungsreaktion die schädliche Noxe zu eliminieren, kann sich daraus eine chronische Entzündung entwickeln. Ebenso kann eine Dysregulierung des Immunsystems dazu führen, dass Autoantikörper körpereigene Strukturen bzw. Zellen angreifen und somit entzündliche Prozesse auslösen. Lässt sich das Ausmaß der Entzündungsreaktion durch endogene antientzündlich wirksame Mediatoren nicht begrenzen, bzw. hat sich bereits eine chronische Entzündung entwickelt, müssen antientzündlich wirksame Arzneimittel eingesetzt werden, um weitere lokale Zell- bzw. Gewebsschädigungen zu verhindern.

Die am häufigsten eingesetzten Arzneimittel zur Behandlung von sowohl akuten, als auch chronischen Entzündungen, gehören nach wie vor zu der Arzneistoffklasse der Antiphlogistika. Diese lassen sich weiter unterteilen in steroidale und nichtsteroidale Antiphlogistika, die auch als nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR, engl. NSAIDs = non steroidal anti-inflammatory drugs) bezeichnet werden. Laut dem Arzneimittelverordnungs-Report 2013 sind die Antiphlogistika/Antirheumatika mit 40,3 Millionen Verordnungen (Zahl für das Jahr 2012) die am zweithäufigsten verschriebene Arzneistoffklasse innerhalb der Bundesrepublik Deutschland. Die beiden nichtsteroidalen Antiphlogistika Diclofenac und Ibuprofen machen davon allein circa 35 Millionen Verordnungen aus (2012) und sind somit die am meisten verordneten Arzneimittel der Bundesrepublik Deutschland [1]. Beide Arzneistoffe greifen innerhalb der Arachidonsäurekaskade ein, durch Hemmung der Cyclooxygenasen-1 und -2 (COX-1 und COX-2). Trotz der zahlreichen Verordnungen ist der Einsatz der NSAR gerade in der Langzeittherapie limitiert aufgrund schwerwiegender, insbesondere gastrointestinaler und renaler Komplikationen. Konsequenterweise sind neue pharmakologische Strategien für eine antientzündliche Therapie zwingend erforderlich. Sowohl die Entwicklung von dualen 5-LO/mPGES-1-Inhibitoren als auch die Entwicklung von selektiven mPGES-1-Inhibitoren stellen möglicherweise einen solchen neuen Ansatzpunkt dar.

2.1. 5-Lipoxygenase

2.1.1. Struktur und Funktion

Die 5-Lipoxygenase (5-LO) gehört zur Enzymklasse der Oxidoreduktasen (EC 1.13.11.34). Sie ist eine nicht häm-haltige Eisen Dioxygenase, die entscheidend an der Leukotrien-Biosynthese beteiligt ist. Die Arachidonsäure (AA) wird in einem initialen Schritt durch die 5-LO zunächst zur 5(S)-Hydroperoxy-6-*trans*-8,11,14-*cis*-eicosatetraensäure (5-HPETE) umgesetzt, welche in einem zweiten Schritt, ebenfalls von der 5-LO katalysiert, zum instabilen allylischen Epoxid dem Leukotrien A₄ (LTA₄) metabolisiert wird.

Die 5-LO von Säugetieren hat eine Kettenlänge von 672 oder 673 Aminosäuren (AS). Trotz jahrzehntelanger Erfahrung über Aufreinigung und Klonierung der 5-LO [2] ist es erst vor kurzem gelungen eine Kristallstruktur der menschlichen 5-LO aufzunehmen, bei einer Auflösung von 2,4 Å [3]. Im Wesentlichen lässt sich die 5-LO in zwei Bereiche unterteilen; in eine kleinere N-terminale Domäne (AS 1–114), die vorwiegend regulatorische Eigenschaften besitzt, und in der größere C-terminale Domäne (AS 121–673), die unter anderem das aktive Zentrum beinhaltet (siehe Abb. 4).

Die N-terminale Domäne hat typische Eigenschaften einer C2 Domäne [4], [5], weshalb sie in der Literatur auch häufig als „C2-like domain“ zu finden ist. Ihre Sekundärstruktur ist aus einem vorwiegend antiparallel ausgerichteten β-Faltblatt aufgebaut, mit typischen Ligand Bindungsstellen für Ca²⁺ und zellulären Membranen. Der N-terminale Bereich der 5-LO ist überwiegend negativ geladen und es wird vermutet, dass die Bindung von Ca²⁺ in der Lage ist diese negative Ladung zu neutralisieren. [6] Mutagenese-Studien haben herausgefunden, dass drei AS in der Bindungsschleife 2 nämlich, Asn43, Asp44 und Glu46 verantwortlich sind für die Bindung von Ca²⁺, und dadurch die 5-LO Aktivität stimuliert wird. Mutationen in dem Bereich (N43A, D44A und E46A) haben zu einer deutlichen Abschwächung in der Bindung von Ca²⁺ geführt, bzw. wurden deutlich höhere Konzentration an Ca²⁺ benötigt, um die 5-LO Aktivität zu stimulieren. [7] Eine weitere Eigenschaft von C2 Domänen ist ihre Fähigkeit nach der Bindung von Ca²⁺ mit zellulären Membranen zu interagieren [8].

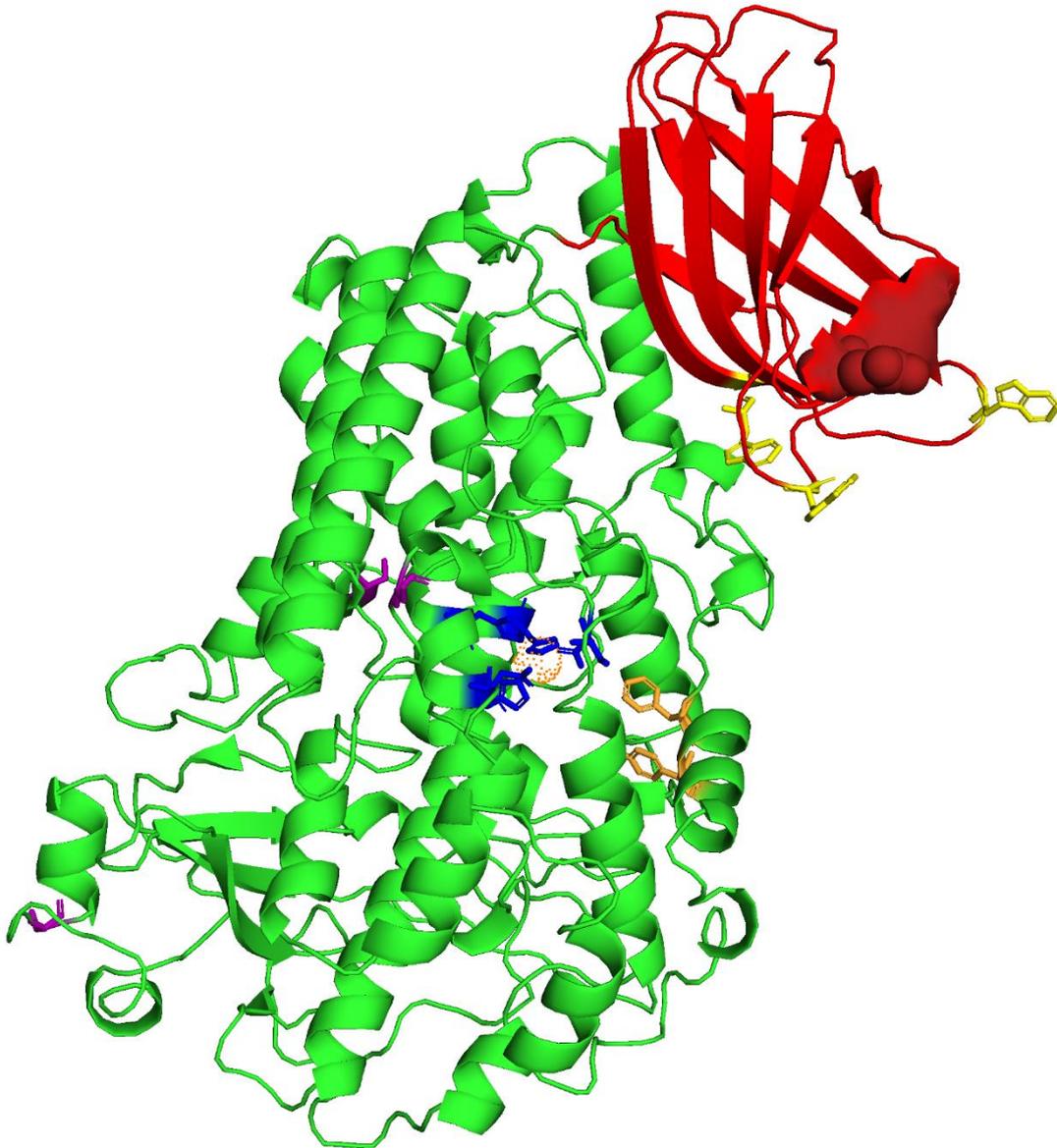


Abb. 4: Kristallstruktur der 5-Lipoxygenase (PDB ID: 3O8Y) mit virtuellen Mutationen an den Positionen E14W und G76W (erstellt von Jens Kunze und Max Pillong). Die N-terminale Domäne ist in Rot dargestellt mit dem Bereich der Calcium-Bindungsstellen und den drei Tryptophanresten (in Gelb dargestellt), die für die Membraninteraktion verantwortlich sind. Die C-terminale Domäne ist in Grün dargestellt mit dem katalytischen Zentrum (in Blau dargestellt) und dem zentralen Eisenatom (in Orange). In Violett sind die Phosphorylierungsstellen dargestellt mit den drei Serinresten (Ser271, Ser523 und Ser663).

Während des Aufreinigungsprozesses der 5-LO hat sich gezeigt, dass die Enzymaktivität nicht alleine von Ca^{2+} und ATP abhängig ist, sondern ebenso von der Fähigkeit mit mikrosomalen Membranen zu interagieren [9]. Die Bindung von Ca^{2+} an

der N-terminalen Domäne führt zu einer Zunahme der Hydrophobizität der 5-LO und bedingt dadurch die Affinität zu bestimmten Phospholipid Membranen. Insbesondere zwitterionische Phosphatidylcholine (PC), welche vermehrt in der nukleären Membran auftreten, weisen eine besonders starke Affinität zu dem N-terminalen Bereich der 5-LO auf. Dies erklärt einerseits die spezifische Bindung der 5-LO an der nukleären Membran, da an der inneren Seite der zellulären Plasmamembran vorwiegend acide Phospholipide, wie Phosphatidylserin oder Phosphatidylinositol vorliegen [10]. Andererseits stellt diese Eigenschaft auch eine Besonderheit der C2-like domain der 5-LO dar, die sie nur mit der cPLA₂ teilt, da typische C2 Domänen bevorzugt mit aciden Phospholipiden interagieren und dementsprechend an der inneren Seite der zellulären Plasmamembran binden [11]. Mutationsstudien haben gezeigt, dass besonders die drei AS Trp13, Trp75 und Trp102 verantwortlich sind für die Bindung der 5-LO an Phosphatidylcholin-reiche Membranen. Neben Ca²⁺ und PC können ebenso noch 1-Oleoyl-2-acetyl-glycerol [12] und Coactosin-like protein (CLP) [13] die 5-LO Aktivität durch die C2-like domain regulieren. Weiterhin hat die Membranfluidität ebenso einen Einfluss auf die Aktivität der 5-LO wie Pande *et al.* gezeigt haben [14]. Eine Zunahme der Anzahl von *cis*-ständigen Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren führt zu einer erhöhten Membranfluidität. Die Zunahme der Fluidität bewirkt eine stärkere Affinität der 5-LO an Phospholipidmembranen und zeitgleich eine stärkere Aktivität [14]. Ebenso gibt dieses Verhalten ein Indiz auf die spezifische Bindung der 5-LO, nach Stimulierung, an die Arachidonsäure (C20:4) angereicherte nukleäre Membran. Zusammenfassend für die N-terminale Domäne der 5-LO ist sie in der Lage mit verschiedenen Phospholipidmembranen zu interagieren, jedoch führt nicht jede Bindung zwangsweise zu einer Aktivierung der 5-LO [15,16].

Die C-terminale Domäne beinhaltet das katalytische Zentrum mit dem Zentralatom Eisen als prosthetische Gruppe. Dabei wird es koordiniert zwischen drei Histidinresten His372, His367 und His550, einem Asparagin, Asn554 und dem C-terminalen Carboxylatrest der Aminosäure Isoleucin, Ile673. Als sechster Ligand wird ein Molekül Wasser vermutet. [15] In Mononuklearen nicht hämhaltigen Eisenenzymen ist die 2-His-1-carboxylat Komplexierung ein relativ häufig vorkommendes Motiv [17]. Mehrere Mutationsstudien haben ergeben, dass in der 5-LO die beiden hochkonservierten Histidine, His372 und His550, sowie das C-

terminale Ile673 für diese Triade verantwortlich sind [18], [19], [20]. Die Orientierung der C-terminalen Aminosäure (Ile673) als dritter Ligand der prosthetischen Gruppe ist dabei stabilisiert durch eine intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Carbonylsauerstoff des Rückgrats der Aminosäure Asn669 und dem Stickstoff aus der Seitenkette von His399. Dieser hochkonservierte Bereich dirigiert das Ile673 in der C-terminalen Schleife in Richtung des Eisenatoms. [21] In paramagnetischen Elektronenresonanz-Spektroskopie (EPR) Studien wurde gezeigt, dass das Eisenatom der 5-LO im Zytosol im inaktiven Zustand als Fe^{2+} vorliegt und während der Aktivierung wird es durch 5-HPETE oder anderen Lipidhydroperoxiden (LOOH) zu Fe^{3+} oxidiert. Während des Katalysezyklus durchläuft das Eisenatom beide Oxidationsstufen. Die beiden Aminosäuren His367 und Asn554 dienen als flexible Liganden, die prinzipiell austauschbar sind. Es wird jedoch vermutet, dass Asn554 für eine hohe katalytische Effizienz der 5-LO verantwortlich ist, durch seine destabilisierende Wirkung auf das Eisenatom in seiner Form als Fe^{3+} . [22]

Aufgrund der voran beschriebenen Mutations- und EPR Studien lässt sich folgender Katalyse Mechanismus, für die Umsetzung der Arachidonsäure zum LTA_4 , mittels der 5-LO formulieren (siehe Abb. 5). Im Zytosol liegt das Eisenatom der 5-LO als Fe^{2+} vor mit Wasser als sechsten Liganden. Aktivierung der 5-LO bewirkt eine Translokation zu der nukleären Membran wo es eine Peroxidase ähnliche Reaktion eingeht, unter Reduktion von LOOH wird das Fe^{2+} durch Elektronenabgabe zum Fe^{3+} oxidiert mit simultaner Übertragung eines Protons. Im aktiven Zustand, an der nukleären Membran, liegt das Eisenatom der 5-LO als Fe^{3+} vor mit einem Hydroxidion als sechsten Liganden. Im nächsten Schritt wird an der aktivierten Methyleneinheit C-7 der Arachidonsäure ein Elektron auf das d-Orbital des Fe^{3+} übertragen, sodass es wieder reduziert wird zum Fe^{2+} unter gleichzeitiger stereospezifischer Abstraktion des proS Protons, das mit dem Hydroxidion wieder zu einem Molekül Wasser reagiert. Dieses mesomeriestabilisierte Pentadienylradikal reagiert nun mit einem Äquivalent Sauerstoff stereospezifisch an der Position C-5 zum entsprechenden 5(S)-Hydroperoxyradikal, welches nun unter Aufnahme eines Elektrons, vom Fe^{2+} , zum 5(S)-Hydroperoxyanion reduziert wird. Zeitgleich wird das zentrale Eisenatom der 5-LO wieder oxidiert zum Fe^{3+} . Deprotonierung führt zum Zwischenprodukt, der 5-HPETE, und schließt den Katalyse Mechanismus, sodass die 5-LO erneut mit Eisen als Fe^{3+} und einem Hydroxidion als sechsten Liganden

vorliegt. Die anschließende Biosynthese vom LTA_4 , ausgehend vom 5-HPETE, wird ebenfalls von der 5-LO katalysiert durch einen zweiten Katalysezyklus. Die initiale Abstraktion eines Protons und eines Elektrons findet nun an der Position C-10 statt, sodass ein mesomeriestabilisiertes Heptatrienylradikal entsteht. Die erhöhte Elektronendichte an Position C-6 der 5-HPETE initiiert den Bindungsbruch der Sauerstoff-Sauerstoff Bindung unter Ausbildung der Epoxid-Struktur im LTA_4 . Elektronenübertragung vom Fe^{2+} führt zur Bildung eines Hydroxidions, das anschließend erneut das Wasser deprotoniert, sodass die 5-LO erneut in ihren Ausgangszustand vorliegt und den nächsten Katalysezyklus durchlaufen kann.

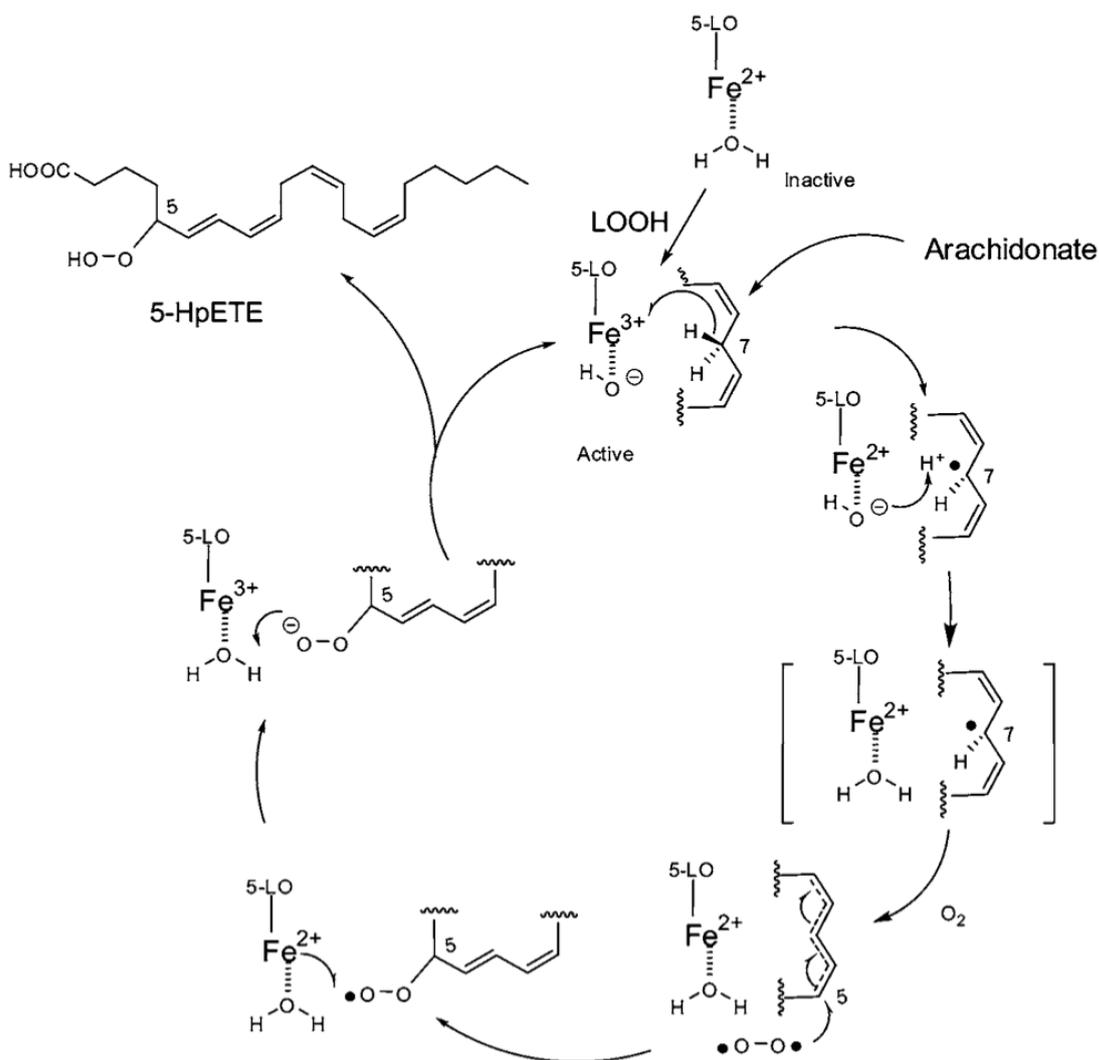


Abb. 5: Katalysezyklus der 5-Lipoxygenase (aus [6]). Der Zyklus beginnt mit dem Eisen der 5-LO als Fe^{2+} vorliegend im inaktiven Zustand. LOOH oxidiert das Eisenatom zum Fe^{3+} , so dass die 5-LO in der aktiven Form vorliegt und die Arachidonsäure zum 5-HPETE umsetzen kann.

Neben dem katalytischen Zentrum enthält die C-terminale Domäne der 5-LO drei verschiedene Phosphorylierungsstellen, die ebenfalls an der Enzymaktivität der 5-LO beteiligt sind: Ser271 wird *in vitro* durch den p38-mitogenaktivierten Proteinkinase Signalweg (p38 MAPK) phosphoryliert, genauer gesagt durch zwei downstream folgende Kinasen, Mitogenaktivierte Proteinkinase aktivierte Proteinkinase 2 (MAPKAPK2) und 3 (MAPKAPK3) [23]; Ser663 wird *in vitro* durch extracellulär-signal regulierte Kinasen (ERK) phosphoryliert [24]; und Ser523 ebenso *in vitro* durch eine katalytische Untereinheit der Proteinkinase A (PKA) phosphoryliert [25]. Während die ersten beiden Phosphorylierungen (Ser271 und Ser663) zu einer Aktivierung der 5-LO führen, indem sie die nukleäre Translokation induzieren, ausgelöst durch Faktoren, die die Kinasen (p38MAPK/ERK) aktivieren, zum Beispiel Zell-Stress oder Phorbol-Ester, führt die Phosphorylierung an Ser523 zu einer direkten Inaktivierung, indem es die 5-LO-Katalyse unterdrückt und gleichzeitig beeinflusst die Phosphorylierung der 5-LO an Ser523 auch die zelluläre Lokalisation. Ser523 befindet sich im Kernlokalisierungssignal (engl. nuclear localization sequence; NLS) der 5-LO, AS 518–530 [26], weshalb die Phosphorylierung an Ser523 auch den nukleären Import der 5-LO behindert und somit die Leukotrienbiosynthese beeinflusst [27].

2.1.2. Physiologie und Pathophysiologie

Die 5-Lipoxygenase wird hauptsächlich in Zellen, die zu der myeloischen Reihe gehören, exprimiert; wie Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, Mastzellen oder dendritische Zellen, aber ebenso in B-Lymphozyten, die zu der lymphoiden Reihe gehören [28]. Des Weiteren hat man auch in anderen Zelltypen eine sehr starke Expressierung der 5-LO festgestellt, wie zum Beispiel in den Langerhans-Zellen in der Haut oder aber auch in den Schaumzellen von arteriosklerotischem Gewebe [29], [30]. Ebenso wurde auch in den Hirnarealen von Ratten 5-LO detektiert mit höchsten Konzentrationen im Hippocampus und Cerebellum [31]. Positiven Einfluss auf die Expressierung der 5-LO haben insbesondere TGF β (Transforming growth factor β) und 1,25-Dihydroxyvitamin D₃, aber auch Retinsäuren und DMSO [32]. Darüber hinaus spielt ebenso der Differenzierungsgrad eine wichtige Rolle, wie man in alveolären Makrophagen festgestellt hat [33]. Neben den Zellen, in denen eine Expressierung der 5-LO nachgewiesen wurde, sind auch einige Zellen bekannt, die

keine 5-LO exprimieren, wie zum Beispiel Thrombozyten, Erythrozyten, T-Lymphozyten oder Endothelzellen [15]. Dabei hat man festgestellt, dass in Zellen, die keine 5-LO exprimieren, die DNA in der Promotor Region methyliert ist und eine Demethylierung mit 5-Aza-2'-deoxycytidin und gleichzeitige Induktion mit TGF- β und 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ zu einer Expressierung der 5-LO führt [34]. Ebenso sind zum Beispiel auch Endothelzellen, obwohl sie keine 5-LO besitzen, in der Lage Leukotriene zu synthetisieren. Dabei kommt es zu Zell-Zell-Interaktion zwischen Monozyten und Endothelzellen, wobei die Monozyten als „Donor-Zellen“ fungieren und die reaktive Vorstufe, das LTA₄, an die Endothelzellen, die sogenannte „Akzeptor-Zelle“ übertragen können, und anschließend das LTA₄ von der Akzeptor-Zelle zu den bioaktiven Leukotrienen umgesetzt werden kann. Diesen Prozess bezeichnet man auch als transzellulären Transportmechanismus [35].

Abhängig vom Zelltyp oder der Aktivierung, ist die 5-LO entweder im Zytosol oder im Zellkern lokalisiert. In ruhenden Zellen von zum Beispiel neutrophilen oder eosinophilen Granulozyten oder aber auch in peritonealen Makrophagen befindet sich die 5-LO im Zytosol, während in Langerhans-Zellen oder alveolaren Makrophagen, die 5-LO vorwiegend im Zellkern zusammen mit Chromatin assoziiert lokalisiert ist [30]. Die unterschiedliche zelluläre Verteilung der 5-LO hat auch einen erheblichen Einfluss auf die Biosynthese der Leukotriene. So konnte gezeigt werden, dass die absolute Menge an LTB₄ in neutrophilen Granulozyten, in denen die 5-LO im Zellkern lokalisiert war, höher ist im Vergleich zu neutrophilen Granulozyten, bei denen die 5-LO im Zytosol war [36]. Neben der Lokalisation der 5-LO gibt es weitere Proteine, die ebenfalls in der Lage sind, die Kapazität an der Biosynthese von Leukotrienen zu beeinflussen. Coactosin-like Protein (CLP) ist ein solches Protein, welches zur Klasse der Strukturproteine, genauer gesagt den Aktinen, gehört. Dabei hat es zwei Funktionen: zum einen erhöht es die Stabilität der 5-LO und zum anderen führt es auch zu einer erhöhten Aktivität der 5-LO. CLP bindet über den N-terminalen Bereich an der 5-LO wie Mutationsstudien gezeigt haben. Dabei sind in der 5-LO besonders Trp102 und im CLP Lys131 verantwortlich. Bindung von CLP alleine führt zu keiner Aktivierung der 5-LO, sondern erst in der Gegenwart von Ca²⁺ kann man eine Zunahme von 5-HPETE/5-HETE detektieren. Die Bindung von CLP mit Ca²⁺ an PC haltige Membranen führt hingegen zu einer 3–5-fachen Erhöhung an LTA₄. [37], [13], [38]

Die 5-Lipoxygenase katalysiert den initialen Schritt in der Leukotrienbiosynthese, ausgehend von der Arachidonsäure (siehe Abb. 6). Die Arachidonsäure wird aus Phospholipidmembranen durch die cytosolische Phospholipase A₂ (cPLA₂) hydrolysiert und dann mithilfe des 5-Lipoxygenase-activating Proteins (FLAP) der 5-LO bereitgestellt. Die 5-LO oxidiert in einem ersten Schritt die Arachidonsäure zunächst zur 5-HPETE, welche anschließend in einem zweiten Schritt zum instabilen LTA₄ umgesetzt wird. Die 5-HPETE kann, neben der Umsetzung zum LTA₄, ebenso zur 5-Hydroxyeicoastetraensäure (5-HETE) reduziert werden, welche anschließend wieder oxidiert wird durch die 5-Hydroxyeicosanoid dehydrogenase (5-HEDH) zur 5-Oxo-Eicosatetraensäure (5-Oxo-ETE). Aus dem LTA₄ kann abhängig vom Zelltyp einerseits mithilfe der Leukotrien A₄ Hydrolase (LTA₄H) die Reaktion zum Leukotrien B₄ (LTB₄) katalysiert werden, andererseits durch Einfluss der Leukotrien C₄ Synthase (LTC₄S), bzw. deren Isoenzymen, der mikrosomalen Glutathion S-Transferase Typ 2 (MGST2) und Typ 3 (MGST3), die Reaktion zum Leukotrien C₄ (LTC₄) katalysiert werden. Nach Freisetzung in den extrazellulären Raum entstehen dann, unter Abspaltung der einzelnen Aminosäuren aus dem LTC₄, die beiden anderen cysteinhaltigen Leukotriene, Leukotrien D₄ (LTD₄) und Leukotrien E₄ (LTE₄).

Die cysteinhaltigen Leukotriene (LTC₄, LTD₄ und LTE₄) wurden ursprünglich als slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) bezeichnet [39] und erst später stellte sich heraus, dass es sich bei den SRS-A um die cysteinhaltigen Leukotriene handelt [40]. LTD₄ und LTE₄ entstehen erst nach Abspaltung von einer bzw. zwei Aminosäuren aus LTC₄ im extrazellulären Raum. Für die cysteinhaltigen Leukotriene wurden zwei unterschiedliche Rezeptorsubtypen identifiziert: der Cysteinyl leukotriene receptor 1 (CysLT₁) und der Cysteinyl leukotriene receptor 2 (CysLT₂) [41], [42]. Beides sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCRs). Sie unterscheiden sich jedoch in ihrem Expressionsmuster und auch in ihrer Affinität zu den cysteinhaltigen Leukotrienen. CysLT₁ Rezeptoren werden hauptsächlich in Eosinophilen, Monozyten, Makrophagen und auf der glatten Muskulatur der Bronchialzellen exprimiert. CysLT₂ Rezeptoren sind hingegen eher ubiquitär vorkommend.

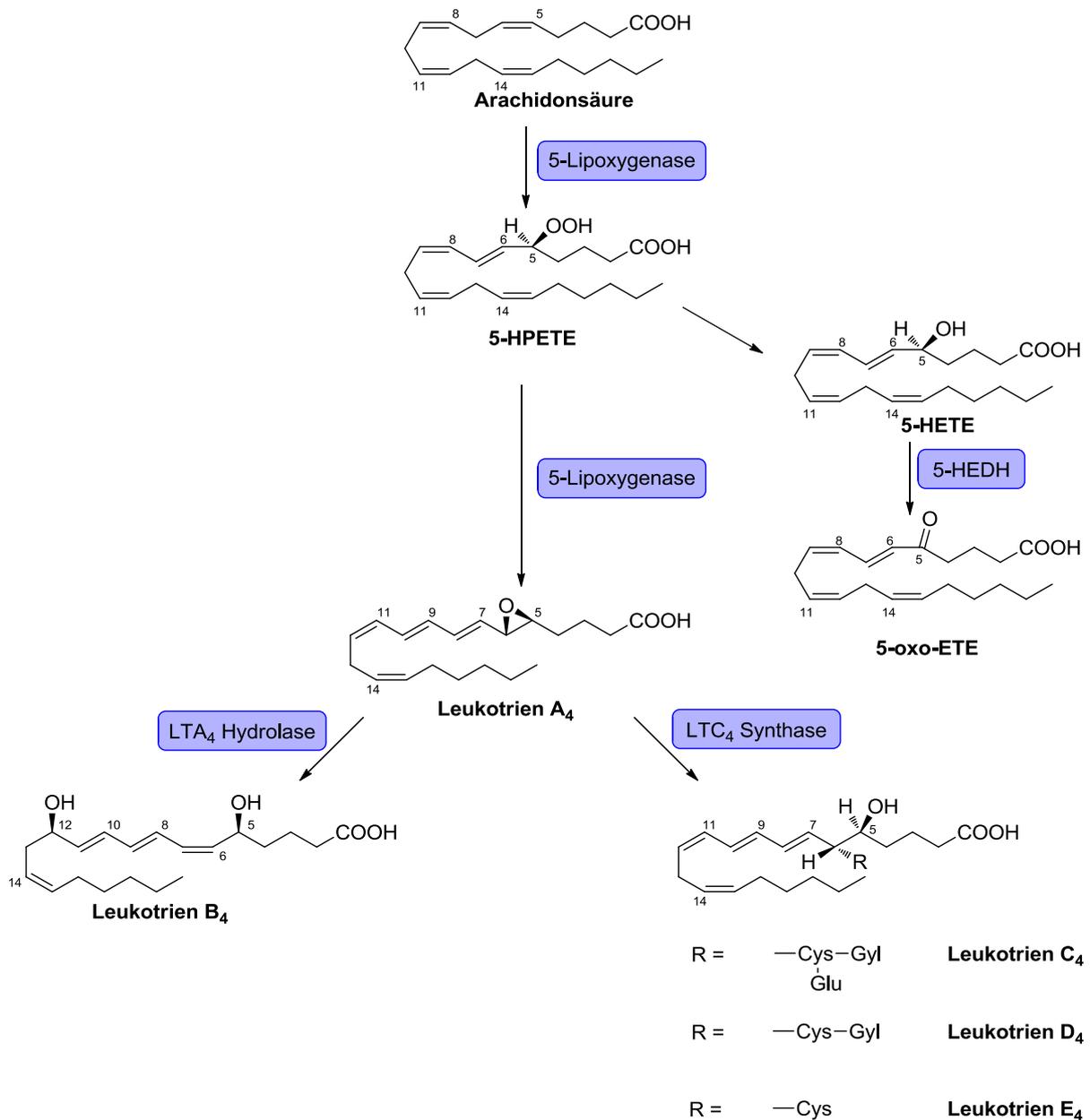


Abb. 6: Überblick über den 5-Lipoxygenase Pathway. Die Arachidonsäure wird initial durch die 5-LO zunächst zur 5(S)-Hydroperoxy-6-trans-8,11,14-cis-eicosatetraensäure (5-HPETE) umgesetzt, welche in einem zweiten Schritt, ebenfalls von der 5-LO katalysiert, weiter zum LTA₄ reagiert.

Die agonistische Aktivität der cysteinhaltigen Leukotriene nimmt am CysLT₁ Rezeptor in der Reihenfolge LTD₄ > LTC₄ > LTE₄ um jeweils einen Faktor von ca. 10 ab [43], wohingegen LTC₄ und LTD₄ in etwa äquipotent am CysLT₂ Rezeptor sind, während LTE₄ eine etwas schwächere Affinität aufweist [44]. Physiologische Wirkungen, die von den cysteinhaltigen Leukotrienen ausgehen, sind eine gesteigerte Konstriktion

der glatten Muskulatur der Bronchialzellen [45], eine gesteigerte vaskuläre Permeabilität [46], eine Zunahme an der Reifung und Wanderung von Dendritischen Zellen, sowie eine Aktivierung von Makrophagen [42], [47]. Selektive CysLT₁-Rezeptor-Antagonisten, wie Montelukast, Pranlukast oder Zafirlukast sind bereits zugelassen zur Behandlung des Asthma bronchiale oder auch bei allergischer Rhinitis.

Die Struktur von Leukotrien B₄, war die erste Struktur der Leukotriene, die isoliert und analysiert werden konnte [48]. LTB₄ wirkt ebenso wie die cysteinhaltigen Leukotriene an zwei unterschiedlichen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, den BLT₁ und BLT₂ Rezeptor. Ebenso besitzen die BLT Rezeptoren unterschiedliche Affinitäten zum LTB₄ und unterscheiden sich auch in ihrem Expressionsmuster. Der BLT₁ Rezeptor wird in der Literatur häufig auch als „high affinity“ Rezeptor für LTB₄ genannt, da LTB₄ am BLT₁ Rezeptor eine circa 20-fach höhere Affinität hat als am BLT₂ Rezeptor [49], [42], [50]]. Der BLT₁ Rezeptor wird vorwiegend in Leukozyten, insbesondere in Granulozyten und Makrophagen exprimiert, wohingegen der BLT₂ Rezeptor ubiquitär in vielen verschiedenen Gewebstypen vorkommt. Die wohl wichtigste physiologische Wirkung von LTB₄ ist seine Eigenschaft als sehr potenter Mediator, der eine Chemotaxis auslösen kann (Chemoattractant). Dabei konnten Aktivitäten festgestellt werden im Konzentrationsbereich zwischen 10 pg/mL bis zu 5 ng/mL [51]. Analog zu den Affinitäten benötigt man auch eine höhere Konzentration an LTB₄ um denselben Maximaleffekt an Chemotaxis über den BLT₂ Rezeptor vermittelt zu bekommen [52], [53]. Trotz der bekannten physiologischen Wirkung von LTB₄ und ihren pathophysiologischen Konsequenzen für mögliche Indikationen, gibt es im Gegensatz zu den CysLT Rezeptor-Antagonisten bisher keine BLT Rezeptor-Antagonisten, die auf dem Arzneimittelmarkt zugelassen sind.

Aufgrund der physiologischen Effekte der Leukotriene war relativ schnell offensichtlich, dass Leukotrien-assoziierte Krankheiten insbesondere zu den entzündlichen und allergisch bedingten Erkrankungen gehören. Dementsprechend lassen sich zwei Therapieoptionen unterscheiden zur Behandlung dieser Leukotrien-assoziierten Krankheiten: zum einen eine Antagonisierung der Leukotrien Wirkung, zum Beispiel durch CysLT oder BLT Rezeptor-Antagonisten oder aber andererseits eine Inhibierung der Leukotrien-Biosynthese, zum Beispiel durch 5-LO-, FLAP-,

LTA₄-Hydrolase- oder LTC₄-Synthase-Inhibitoren. Beide Optionen haben bereits ihren Weg zur Zulassung gefunden, in Form von den CysLT₁-Rezeptor-Antagonisten und dem bisher einzigen, nur in den USA zugelassenen, direkten 5-LO-Inhibitor Zileuton. Eingesetzt werden sie allerdings bisher erst bei einer gemeinsamen Indikation, dem Asthma Bronchiale. Neben dem Asthma Bronchiale gibt es allerdings noch eine Reihe weiterer Erkrankungen, von denen inzwischen gesichert ist, dass eine Leukotrien Antagonisierung bzw. Inhibierung der Leukotrien-Biosynthese einen positiven Einfluss auf die Pathogenese der entsprechenden Erkrankung mit sich bringt.

Zu den allergisch bedingten Krankheiten zählt neben dem Asthma Bronchiale noch die allergische Rhinitis, bei der ebenfalls die CysLT₁-Rezeptor-Antagonisten bereits zur Behandlung zugelassen sind. Die anaphylaktischen Effekte der cysteinhaltigen Leukotriene waren schon lange vor der Entdeckung der Struktur der Leukotriene bekannt und wurden erstmals 1938 als SRS-A beschrieben [54]. Die damals beschriebenen Substanzen zeichneten sich dadurch aus, dass sie einen langsameren Wirkeintritt hatten als Histamin, aber dafür mit einer länger andauernden Wirkung. Die cysteinhaltigen Leukotriene sind zum einen mitverantwortlich für die Bronchokonstriktion und andererseits auch für den Austritt von Blutplasma in das umgebende Gewebe („Plasma leakage“) und dort in ihrer Eigenschaft circa um den Faktor 1000-fach potenter als Histamin [46]. Zudem bewirken sie eine starke Einwanderung von Eosinophilen in das Lungengewebe. [55] Momentan sieht es so aus, als ob die CysLT₁-Rezeptor-Antagonisten eine bedeutendere Rolle zur Therapie des Asthma Bronchiale spielen, als der bisher einzig zugelassene 5-LO-Inhibitor Zileuton. Was unter Umständen auch den relativ hohen Dosen an Zileuton, die man für einen therapeutischen Effekt benötigt, zu Schulde kommt, so dass man nicht völlig den Einsatz von 5-LO-Inhibitoren als Therapeutika zur Behandlung allergisch bedingter Erkrankungen ausschließen kann [42]. Momentane Standard-Therapie zur Behandlung des Asthma-Bronchiale ist der Einsatz von Glucocorticoiden, die jedoch keinen Einfluss auf die Leukotrien-Bildung haben. Insofern birgt die Therapie von Glucocorticoiden in Kombination mit Anti-Leukotrien-Wirkstoffen einen zusätzlichen additiven Effekt [56].

Ein anderes großes Feld betrifft die entzündliche Komponente von kardiovaskulären Erkrankungen, bei denen eine Anti-Leukotrien-Therapie einen vielversprechenden Ansatz darstellt. Hierzu zählen insbesondere die Arteriosklerose, aber auch weitere Erkrankungen wie Aortenaneurysma, Myokardinfarkt oder Schlaganfall [57]. Bereits in den 80er Jahren wurden erhöhte Mengen an LTB₄ in arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen, [58] und ebenso konnte man auch eine erhöhte urinaire Ausscheidung von LTE₄ in Patienten mit einer myokardialen Ischämie feststellen [59]. Trotz der klaren Befunde ist die klinische Entwicklung von Anti-Leukotrien-Wirkstoffen in diesem Bereich unterrepräsentiert im Vergleich zum Asthma Bronchiale und weitere Tiermodelle bzw. klinische Studien sind erforderlich, um das Potential einer Anti-Leukotrien-Therapie bei diesen Krankheiten zu beurteilen [47].

Die Tatsache, dass chronisch entzündliche Erkrankungen ein erhöhtes Risikopotential für bestimmte Krebserkrankungen darstellen, lässt naheliegen, dass die 5-Lipoxygenase ebenso an der Pathogenese von Krebserkrankungen beteiligt ist. In der Tat konnte gezeigt werden, dass verschiedene Aspekte in der Karzinogenese, durch die Bildung von den pro-inflammatorischen Leukotrienen beeinflusst werden, wie zum Beispiel die Proliferation, Differenzierung und Apoptose ebenso wie die Migration und Invasion von Tumorzellen [60], [61], [47]. Mehrere *in vitro* und *in vivo* Untersuchungen haben gezeigt, dass die Beteiligung der pro-inflammatorischen Leukotriene unter anderem eine Rolle spielen bei Bauchspeicheldrüsenkrebs [62], kolorektal Karzinom [63] und Prostatakrebs [64]. Darüber hinaus konnte man vermehrt 5-Lipoxygenase mRNA und Protein in epithelialen Zellen nachweisen, in denen normalerweise keine signifikanten Mengen an 5-LO exprimiert werden, wie zum Beispiel in den Epithelzellen von Speiseröhrenkrebs [65] oder aber auch bei Brustkrebs [66]. Ähnlich wie bei den kardiovaskulären Erkrankungen ist auch hier die klinische Entwicklung von Anti-Leukotrien-Wirkstoffen noch unterrepräsentiert.

Neben diesen drei großen Komplexen, den Atemwegserkrankungen, den kardiovaskulären Erkrankungen und den hyperproliferativen Erkrankungen, gibt es eine Reihe von weiteren chronisch entzündlichen Erkrankungen, in denen die Leukotriene ebenso assoziiert werden mit dem entsprechenden Pathomechanismus. Dazu gehören die rheumatoide Arthritis, die atopische Dermatitis, Psoriasis und die chronisch entzündliche Darmerkrankung Colitis ulcerosa [42], [50], [47]].

Nichtsdestotrotz gilt die Datenlage bei diesen Erkrankungen noch nicht als gesichert, da erste klinische Studien mit dem 5-LO-Inhibitor Zileuton nicht zum gewünschten therapeutischen Effekt geführt haben; weder bei der rheumatoiden Arthritis [67] noch bei Colitis ulcerosa [68].

2.2. Mikrosomale Prostaglandin E₂ Synthase-1

2.2.1. Struktur und Funktion

Die mikrosomale Prostaglandin E₂ Synthase-1 (mPGES-1) gehört zur Enzymklasse der Isomerasen, genauer gesagt zu den intramolekularen Oxidoreduktasen (EC 5.3.99.3) und katalysiert die Umwandlung vom Prostaglandin H₂ (PGH₂) zum Prostaglandin E₂ (PGE₂) (siehe Abb. 7). Sie ist ein membranständiges Protein und gehört zu der Familie der „membrane associated proteins involved in eicosanoid and glutathione metabolism“ (MAPEG-family), zu der ebenso die LTC₄-Synthase, FLAP und die mikrosomalen Glutathion S-Transferase 1–3 (MGST1–3) gehören [69]. Neben der mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase-1 existieren noch zwei weitere Isoenzyme, die ebenso die Reaktion von PGH₂ zu PGE₂ katalysieren: die mikrosomale Prostaglandin E₂ Synthase-2 (mPGES-2) und die cytosolische Prostaglandin E₂ Synthase (cPGES).

Bis dato sind zwei Kristallstrukturen der mPGES-1 publiziert. 2008 wurde eine Kristallstruktur von Jegerschöld et al basierend auf 2D Kristallen mittels Elektronenkristallographie bei einer Auflösung von 3,5 Å aufgenommen. Die Kristallstruktur liegt, abgesehen von dem Kofaktor Glutathion, als Apoenzym in einer geschlossenen Konformation vor und daher in der vermutlich inaktiven Form [70]. 2013 wurde eine Kristallstruktur von AstraZeneca, basierend auf einer Röntgenstrukturanalyse, mit einer Auflösung von 1,2 Å aufgenommen. Die Kristallstruktur gibt einen etwas anderen Bindemodus vom Glutathion wieder und gleichzeitig weist sie eine circa 16 Å tiefe Bindetasche auf, die von der cytosolischen Seite in die Membranregion hineinragt. Sjörgen et al vermuten, dass über diese 16 Å tiefe Bindetasche das Substrat (PGH₂) Zugang hat zum katalytischen Zentrum und dementsprechend die Kristallstruktur die aktive Form der mPGES-1 wiedergibt [71] (siehe Abb. 8).

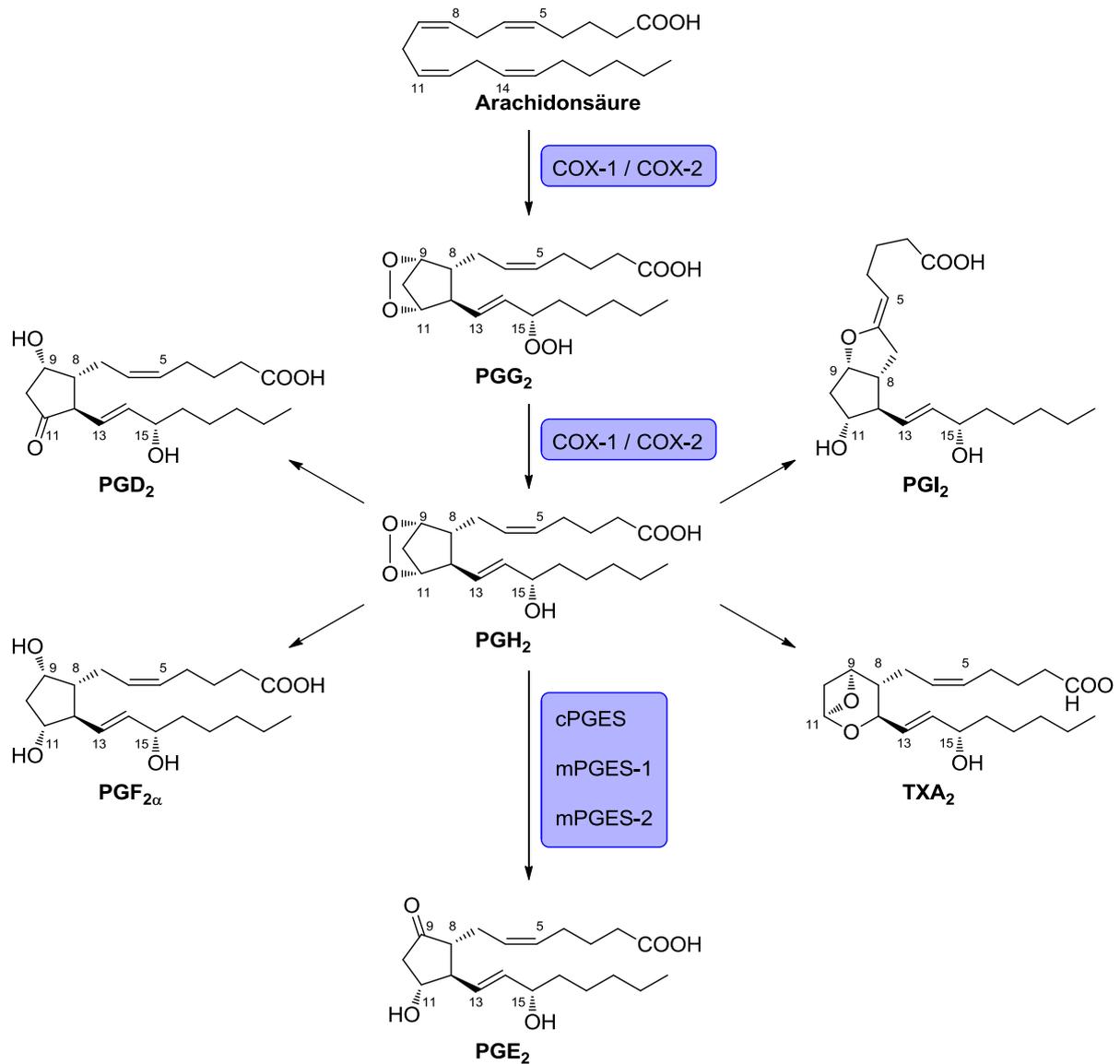


Abb. 7: Überblick über die Prostaglandin Biosynthese. Die Cyclooxygenasen (1 und 2) katalysieren die Umwandlung der Arachidonsäure zum PGH₂, welches dann über verschiedene PG-Synthasen zu den unterschiedlichen Prostaglandinen weiter reagiert. Für die PGE-Synthasen sind bisher drei verschiedene Isoformen bekannt; eine cytosolischen Form (cPGES) und zwei mikrosomale Formen (mPGES-1 und mPGES-2).

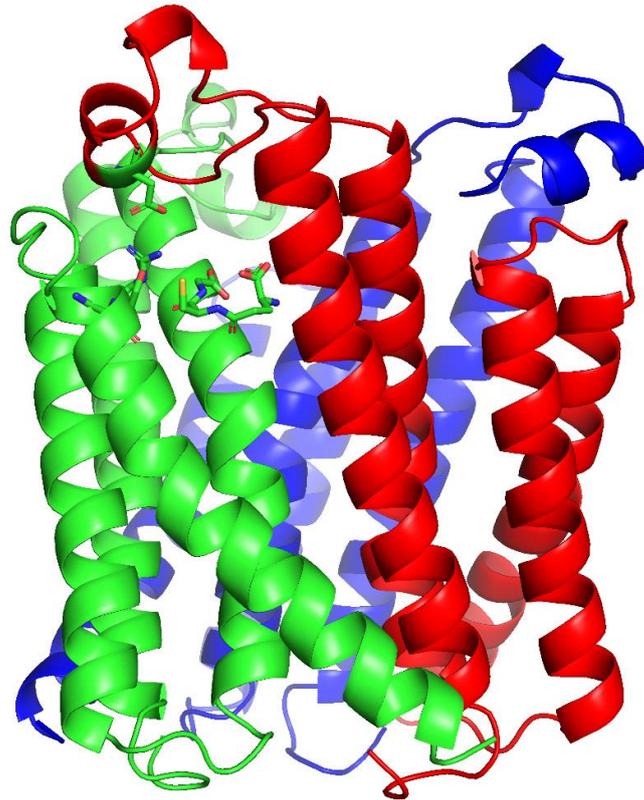


Abb. 8: Kristallstruktur der mikrosomalen Prostaglandin E₂ Synthase-1 (PDB ID: 4AL0). Die drei einzelnen Monomereinheiten sind jeweils farblich verschieden dargestellt. Nach oben gerichtet befindet sich die cytosolische Seite, nach unten die luminal. Der Kofaktor Glutathion wurde mit auskristallisiert (in Sticks dargestellt) und gibt die Position des katalytischen Zentrums wieder.

Die mPGES-1 bildet ein Homotrimer aus drei Monomereinheiten, die eine Kettenlänge von je 152 Aminosäuren haben. Jedes Monomer besteht aus vier transmembranären Helices (TM1–4). Sowohl der N- als auch der C-Terminus befinden sich auf der luminalen Seite des endoplasmatischen Retikulums. Die drei TM2s bilden den inneren Kern der mPGES-1. Nach außen hin, zu der Phospholipid Bilayer Membran gerichtet, ist die mPGES-1 relativ hydrophob mit keinen geladenen Seitenketten, währenddessen nach innen die einzelnen TMs durch mehrere polare Seitenketten stabilisiert werden (Lys26, Asn74, Asp75, Arg110 und Thr114) [71]. Während der genaue Bindemodus vom Substrat PGH₂ an der mPGES-1 noch nicht bekannt ist, ist die Lokalisation vom Kofaktor Glutathion in beiden Kristallstrukturen relativ gut beschrieben. Ebenso gilt die Beteiligung vom Glutathion am Katalysezyklus als gesichert, insofern darf man davon ausgehen, dass das aktive Zentrum in räumlicher Nähe zum Glutathion sein muss. Das Glutathion liegt in der

mPGES-1, ebenso wie in anderen Proteinen der MAPEG-Familie, in einer U-förmigen Anordnung vor [72]. Es wird dabei durch Wasserstoffbrückenbindungen mit den Seitenketten Arg38, Arg73, Asn74, Glu77, His113, Tyr117, Arg126 und Ser127 an der mPGES-1 koordiniert. In dem N-terminalen Bereich der TM2 und TM4 zusammen mit dem C-terminalen Bereich einer benachbarten TM1 befindet sich eine 15 Å tiefe Bindetasche, in der das Glutathion lokalisiert ist. Insgesamt gibt es in der mPGES-1 drei solcher Bindetaschen, die jeweils in der Schnittstelle zwischen den einzelnen Monomeren zu finden sind.

Gezielte Punktmutationen haben ergeben, dass gleich mehrere Aminosäuren an der Aktivität der mPGES-1 beteiligt sind [73], [74], [70]. Eine interessante Rolle im Katalysezyklus nimmt dabei Arg126 ein. Eine Mutation von Arg126 zu Alanin oder Glutamin (R126A, R126Q) reduziert die Bildung von PGE₂ führt aber gleichzeitig zu einer Glutathion abhängigen Bildung von PGF_{2α} [75]. Arg126 bildet in der mPGES-1 einen zweizähligen Liganden mit Asp49 und ist daher vermutlich nicht an der Stabilisierung des Glutathions beteiligt. Die Thiolgruppe des Glutathions wird ähnlich wie in anderen Glutathion S-Transferasen durch Hydroxylgruppen haltige Aminosäuren stabilisiert [76]. Die benachbarte Hydroxylgruppe führt zu einer erhöhten Acidität der Thiolgruppe bzw. Stabilisierung des Thiolat, so dass im neutralen pH-Bereich die Thiolgruppe des Glutathions als Thiolat vorliegt. Aufgrund der bifunktionellen Eigenschaft des Thiolat, es kann sowohl als Base als auch als Nukleophil reagieren, lassen sich zwei mögliche Katalyse-Mechanismen für die mPGES-1 formulieren (siehe Abb. 9). Einerseits kann das Thiolat als Base fungieren und eine Deprotonierung am Kohlenstoff C-9 einleiten. Dies führt zu einem Bindungsbruch der Peroxid Bindung unter Ausbildung der Carbonylgruppe an C-9. Anschließende Reprotonierung des Alkoholats an C-11 liefert PGE₂ unter Rückbildung des Thiolats (siehe Abb. 9a). [77], [71] Der andere in der Literatur häufig propagierte Mechanismus ist auf die nukleophile Eigenschaft des Thiolats zurückzuführen (siehe Abb. 9b). Dabei greift das Thiolat eines der beiden Sauerstoffatome des Endoperoxids nukleophil an unter Bindungsbruch der Peroxid Bindung. Deprotonierung an C-9, vermutlich durch Asp49 katalysiert, führt neben Bindungsbruch der S-O Bindung zur Ausbildung der Carbonylgruppe an C-9 und die simultane Protonierung des Alkoholats an C-11 führt zur Formierung von PGE₂. [70], [77], [71]

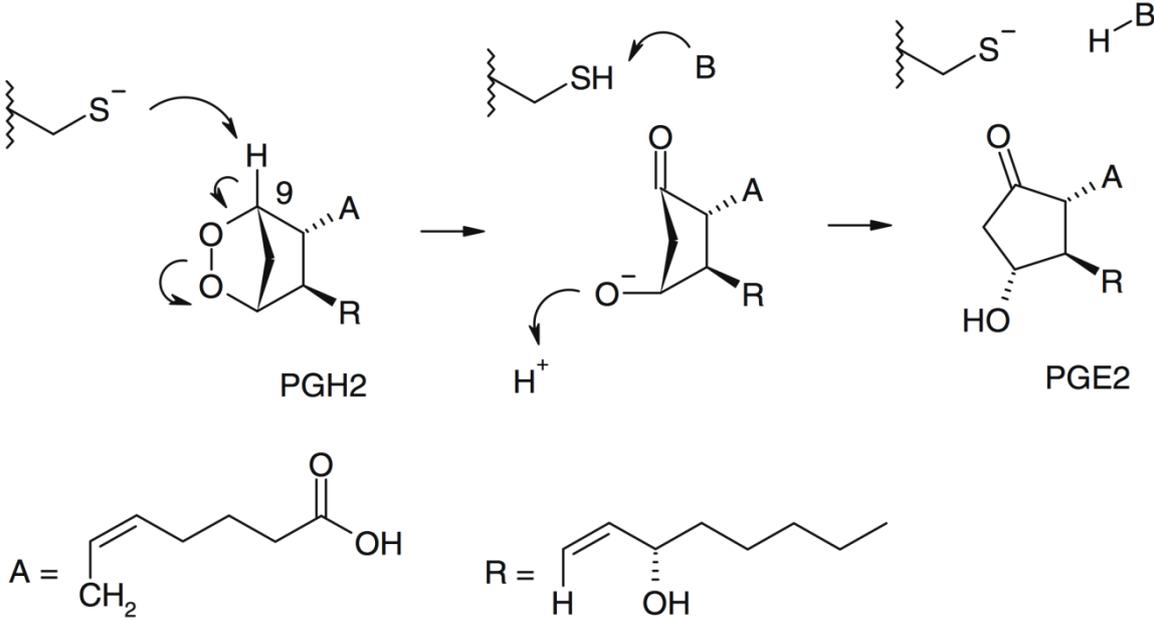


Abb. 9a: Postulierter Katalysezyklus der mPGES-1 (aus [77]), unter Beteiligung des Kofaktors Glutathion, welches hier dargestellt als Base fungiert und eine Deprotonierung am Kohlenstoff C-9 einleitet.

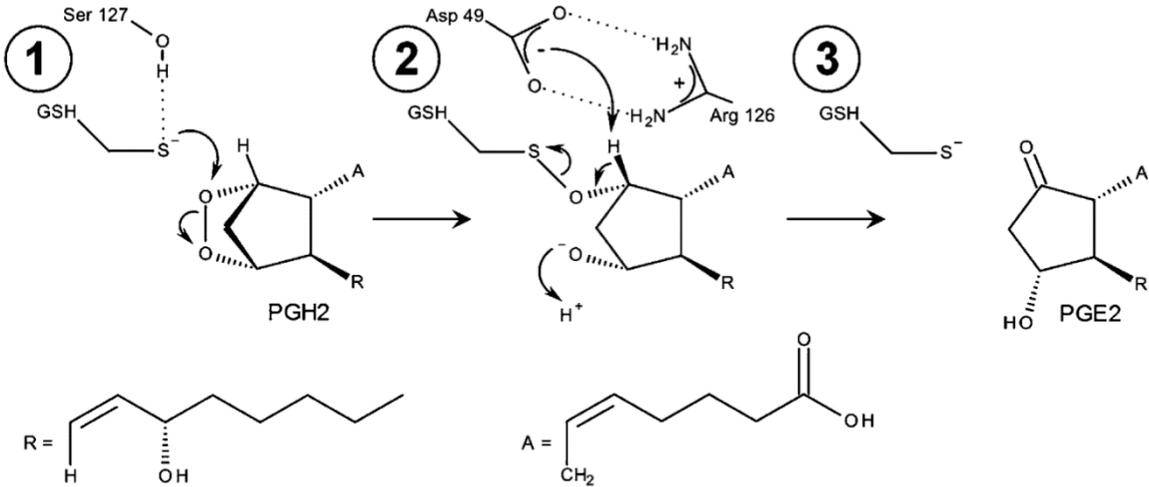


Abb. 9b: Postulierter Katalysezyklus der mPGES-1 (aus [71]), unter Beteiligung des Kofaktors Glutathion, welches hier dargestellt als Nukleophil an dem Endoperoxid angreift.

2.2.2. Physiologie und Pathophysiologie

Die humane mPGES-1 wurde erstmals 1999 von Jakobsson *et al.* identifiziert und als neues Drug-Target charakterisiert [78]. Als membranständiges Protein ist es lokalisiert in den Membranen von Mikrosomen, aus denen es auch aufgereinigt werden konnte [78], [79]. Die mPGES-1 wird unter physiologischen Bedingungen auf einem relativ niedrigen Level exprimiert. Eine geringe konstitutive Expressierung der mPGES-1 konnte nachgewiesen werden in der Lunge, der Milz, der Niere und im Magen von Mäusen [80]. Im Gegensatz zu den anderen beiden Prostaglandin E₂ Synthasen (cPGES, mPGES-2) ist die mPGES-1, analog zu dem Verhältnis von COX-1/COX-2, ein induzierbares Enzym, welches nach Behandlung mit proinflammatorischen Mediatoren, wie Interleukin-1 β (IL 1B), Tumornekrosefaktor- α (TNF α) oder Lipopolysacchariden (LPS), verstärkt exprimiert wird [81], [82]. Ebenso hat man festgestellt, dass die mPGES-1 und die COX-2 funktionell miteinander gekoppelt sind, sowohl in ihrer Expressierung, als auch in der Regulierung der Prostaglandin E₂ Biosynthese [83], [73], [84]. Während PGH₂, welches biosynthetisch der COX-1 entstammt, präferentiell bevorzugt von der cPGES zu PGE₂ metabolisiert wird [85], wird PGH₂ mit dem Ursprung des COX-2 Pathways bevorzugt von der mPGES-1 zu PGE₂ metabolisiert [73]. Die Biosynthese von PGE₂ über mPGES-2 stellt hierbei den biosynthetischen Kompromiss dar, da sie funktionell sowohl mit der COX-1 als auch der COX-2 gekoppelt ist [86]. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die cPGES und mPGES-2 präferentiell verantwortlich sind für die homöostatische Bildung von PGE₂, wohingegen die mPGES-1, funktionell gekoppelt mit dem ebenso induzierbaren Enzym COX-2, verantwortlich ist für die pathophysiologische Bildung von PGE₂. Dies macht die mPGES-1 interessant als Drug-Target um selektiv in die Prostaglandin E₂ Biosynthese einzugreifen.

Prostaglandin E₂ ist ein Lipidmediator und gehört zu der Gruppe der Prostaglandine, die ihren Ursprung aus der Arachidonsäure haben (siehe Abb. 7). Die Arachidonsäure wird in einem initialen Schritt, durch Einbau zweier Moleküle Sauerstoff durch eines der beiden Isoenzyme COX-1 oder COX-2, zunächst zum Prostaglandin G₂ (PGG₂) metabolisiert, welches dann zum instabilen Endoperoxid Prostaglandin H₂ (PGH₂) reduziert wird. Aus PGH₂, lassen sich dann zell- und gewebsspezifisch durch verschiedene Prostaglandin Synthasen die einzelnen

Prostaglandine, wie PGI_2 , PGD_2 , PGF_2 , TXA_2 und PGE_2 herstellen [87], [88]. Für die Biosynthese des PGE_2 spielen demnach nicht nur die Prostaglandin E_2 Synthasen eine wichtige Rolle, sondern ebenso die COX-1 und COX-2. Die beiden Cyclooxygenasen befinden sich an der inneren Membran, auf der luminalen Seite des endoplasmatischen Retikulums [89], [90], [91], [92]. Bisher wird aber davon ausgegangen, dass der Zugang des Substrats, des PGH_2 , zu der mPGES-1 von der cytoplasmatischen Seite her erfolgt. Demnach müsste zunächst ein transmembranärer Prozess des PGH_2 s erfolgen, damit es sich der aktiven Seite der mPGES-1 nähern kann und zum PGE_2 metabolisiert werden kann [82]. Der genaue Beweis für diese Annahme steht jedoch noch aus.

Prostaglandin E_2 gilt als einer der prominentesten Vertreter in Bezug auf Entzündungen, Fieber und Schmerzen, und hat darüber hinaus aber ebenso physiologische Funktionen wie zum Beispiel, im Magen-Darm-Trakt, in der Niere oder im Immunsystem [93]. Als wichtigste physiologische Funktionen sind zu nennen die Hemmung der Säuresekretion des Magens, eine vermehrte Schleimsekretion des Magens, Blutdrucksenkung, Rezeptorsubtyp-abhängig sowohl eine Kontraktion, als auch eine Erschlaffung der glatten Muskulatur von Bronchien, Gastrointestinaltrakt und Gefäßen, sowie eine verstärkte Uteruskontraktion während der Schwangerschaft und eine Hemmung der Lipolyse [94]. Zu den wichtigsten pathophysiologischen Funktionen zählen eine entzündlich induzierte Hyperalgesie [95], [96], [97], eine Sensibilisierung von Nozizeptoren [98] und eine Beteiligung bei der Entstehung von Fieber [99]. Bisher wurden vier verschiedene Rezeptorsubtypen identifiziert (EP1–4) über die PGE_2 seine pharmakologischen Effekte vermittelt [100], [101]. Alle vier Rezeptorsubtypen gehören zu den GPCRs. Gezielte Maus Knockout-Studien (-/-) der einzelnen Rezeptorsubtypen, bzw. gezielte Antagonisierung, ermöglichte es, Aussagen über die spezifischen Funktionen der einzelnen Rezeptorsubtypen zu treffen [101].

Analog zu den Leukotrienen gibt es auch im Prostaglandin E_2 Stoffwechsel zwei prinzipiell unterschiedliche Ansätze, um gezielt pharmakologisch zu interferieren. Zum einen eine direkte Antagonisierung der PGE_2 Wirkung durch entweder selektive oder unselektive EP-Rezeptor-Antagonisten. Jedoch hat bisher noch kein Vertreter dieser Arzneimittelklasse die Zulassung für den Arzneimittelmarkt bekommen und die

weitesten Vertreter befinden sich noch in klinischer Entwicklung. Die zweite Option ist die Inhibierung der PGE₂ Biosynthese; und auch hier gibt es mehrere Möglichkeiten. Zum einen eine unselektive Inhibierung der Biosynthese sämtlicher Prostaglandine durch Hemmung der beiden Isoenzyme COX-1 und COX-2. Die Arzneistoffklasse, die sich hier bereits seit über 50 Jahren auf dem Arzneimittelmarkt etabliert hat, sind die nicht steroidalen Antirheumatika (NSAR; englisch: Non steroidal anti-inflammatory drugs = NSAIDs), welche unselektiv sowohl die COX-1 als auch die COX-2 hemmen [102]. Der neuere Ansatzpunkt, der sich ebenfalls bereits auf dem Arzneimittelmarkt etabliert hat, ist die selektive Inhibierung der COX-2 mit der Arzneistoffklasse der Coxibe. Dennoch ist gerade die Langzeit-Therapie mit NSAIDs oder Coxiben, wie es bei chronisch entzündlichen Erkrankungen notwendig ist, wegen schwerwiegender unerwünschter Arzneimittelwirkungen (UAW) in ihrer Anwendung limitiert [103]. Die unerwünschten Arzneimittelwirkungen lassen sich pharmakologisch, durch die Hemmung der Biosynthese sämtlicher Prostaglandine und somit der Unterdrückung ihrer physiologischen Wirkung, kausal erklären. Die am häufigsten vorkommenden UAW der NSAIDs sind insbesondere gastrointestinale [104] als auch renale [105] Komplikationen, wohingegen bei den Coxiben vorrangig kardiovaskuläre Komplikationen zu nennen sind [106]. Aus diesem Grunde sind neue pharmakologische Optionen zwingend notwendig zur Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen. Die mPGES-1 bietet eine solche Alternative, um gezielt in der PGE₂ Biosynthese einzugreifen, ohne die physiologische Homöostase der anderen Prostaglandine zu beeinflussen.

Trotz der zwingenden Konsequenz mPGES-1-Inhibitoren als neue antientzündliche Wirkstoffe einzusetzen, hat es bisher noch kein mPGES-1-Inhibitor bis zur klinischen Entwicklung geschafft und es gibt bis dato erst präklinische Befunde von selektiven mPGES-1-Inhibitoren. Nichtsdestotrotz sind bisher mehrere therapeutische Optionen für einen mPGES-1-Inhibitor denkbar. In verschiedenen entzündungsbasierten Tiermodellen konnte gezeigt werden, dass in mPGES-1 (-/-) Knockout-Mäusen die Effektivität vergleichbar mit der Behandlung von gewöhnlichen NSAIDs ist [107], [108], [109]. In Schmerzmodellen ist hingegen die Datenlage ein wenig kontroverser. Während bei neuropathischen oder viszeralen Schmerzen der Einsatz von mPGES-1-Inhibitoren einen möglichen Benefit mit sich bringen kann [110], [107], [111], wurde hingegen in einem nozizeptiven Schmerzmodell kein Nutzen einer mPGES-1

Inhibierung beobachtet [111]. Als mögliche therapeutische Indikation eines mPGES-1-Inhibitors könnte sich daraus der Einsatz bei der rheumatoiden Arthritis oder aber auch der Arthrose ergeben. Eine vermehrte Expressierung der mPGES-1 wurde in den entsprechenden Geweben von beiden Erkrankungen festgestellt [112], [113], [114], [115], so dass eine Inhibierung der mPGES-1 mögliche Vorteile in der Pathogenese der beiden Erkrankungen liefern kann. Bei der rheumatoiden Arthritis hat sich gezeigt, dass TNF α -Inhibitoren nicht in der Lage waren die mPGES-1 Expressierung zu reduzieren [116]. Insofern könnte der Einsatz von TNF α -Inhibitoren in Kombination mit mPGES-1-Inhibitoren zusätzliche additive Effekte zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis liefern [116], [81].

Ausgehend von den physiologischen Effekten von PGE₂ ist es offensichtlich, dass mPGES-1-Inhibitoren ebenfalls bei renalen und kardiovaskulären Erkrankungen eine Rolle spielen könnten. Eine konstitutive Expressierung der mPGES-1 wurde in der Niere entlang des Nephrons und des Sammelrohrs detektiert [117], ebenso scheint PGE₂ beteiligt zu sein an der autokrinen Regulation des Wasser- und Salzhaushaltes in der Niere [118], sowie regulatorische Eigenschaften innerhalb des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems zu besitzen [119]. Die Beteiligung der mPGES-1 an Bluthochdruck gilt jedoch noch nicht als gesichert, da bisher unterschiedliche Ergebnisse in mPGES-1 (-/-) Knockout-Mäusen beobachtet wurden [120], [121]. Der Einsatz von mPGES-1-Inhibitoren bei Arteriosklerose oder Schlaganfall scheint hingegen eher positive Effekte mit sich zu bringen. Ebenfalls in mPGES-1 (-/-) Knockout-Mäusen wurden antiatherogene Effekte, eine Stabilisierung von arteriosklerotischen Plaques sowie eine Reduzierung der Anzahl von Schaumzellen beobachtet [122]. Auch in Schlaganfall-Modellen konnte gezeigt werden, dass die mPGES-1 ein kritischer Faktor für die Entstehung von postischämischen, neurologischen Dysfunktionen ist und daher die mPGES-1 ein potenzielles Target zur Behandlung von Schlaganfällen darstellt [123].

Als weiteres großes Indikationsfeld für mPGES-1-Inhibitoren sind verschiedene Krebserkrankungen zu nennen. Der positive Einfluss durch die Langzeiteinnahme von NSAIDs mit einem reduzierten Risiko an Krebs zu erkranken ist seit langem bekannt [124], [125]. Von den verschiedenen Prostaglandinen wurden insbesondere erhöhte Level an PGE₂ in den verschiedenen Tumoren, wie zum Beispiel beim

kolorektalem Karzinom, Bronchialkarzinom, Mammakarzinom oder Kopf-Hals-Karzinom festgestellt [126], [127], [128], [129], [61]. Ebenso wurden bereits seit den 70er Jahren die pathophysiologischen Funktionen von PGE_2 in der Pathogenese von Krebserkrankungen beschrieben. Beispielsweise ist PGE_2 mitverantwortlich für die Stimulierung des Tumorwachstums, vermittelt die Immununterdrückung, inhibiert die Apoptose und stimuliert die Angiogenese [130], [81], [61]]. In verschiedenen Tumoren, wie zum Beispiel beim Nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom oder aber auch beim kolorektalem Karzinom, wurde sowohl eine verstärkte Expressierung der COX-2 festgestellt, als auch eine verstärkte Expressierung der mPGES-1 [131], [132]. Der Vorteil eines mPGES-1-Inhibitors, bei oben genannten Krebserkrankungen, im Gegensatz zu einem selektiven COX-2-Inhibitor ist der spezifischere Eingriff innerhalb der Prostaglandin-Biosynthese und verringert somit die Gefahr von zum Beispiel kardiovaskulären Komplikationen.

2.3. Medizinische Chemie der 5-LO- & mPGES-1-Inhibitoren

2.3.1. 5-LO-Inhibitoren

5-LO-Inhibitoren lassen sich aufgrund ihrer Wirkmechanismen in zumindest drei verschiedene Klassen kategorisieren. Klasse I sind die redox-aktiven Substanzen, die in der Lage sind, das zentrale Eisenatom der 5-Lipoxygenase im aktiven Zustand vom Fe^{3+} zum Fe^{2+} zu reduzieren und somit innerhalb des Katalysezyklus eingreifen. Klasse II sind die Eisen-Ligand-Inhibitoren. Sie enthalten in der Regel ein Hydroxamsäure- oder ein *N*-Hydroxyharnstoff-Motiv, das in der Lage ist, das Eisenatom zu chelatisieren und somit ebenfalls innerhalb des Katalysezyklus eingreifen. Die Klasse III sind sämtliche nicht redox-aktive Verbindungen, die die 5-Lipoxygenase entweder kompetitiv mit der Arachidonsäure von der orthosterischen Bindungsstelle her inhibieren oder aber sich durch einen anderen Bindemodus auszeichnen und die 5-LO allosterisch inhibieren. [133]

Redox-aktive 5-LO-Inhibitoren

Redox-aktive-Inhibitoren können auf unterschiedliche Art und Weise innerhalb des Katalysezyklus der 5-LO eingreifen. Einerseits können sie das zentrale Eisenatom in der aktiven Form als Fe^{3+} zum Fe^{2+} reduzieren, oder aber ebenso radikalische Zwischenstufen reduzieren, so dass das Eisenatom ebenfalls in der inaktiven Form

als Fe^{2+} übrig bleibt. Dieses Konzept hat sich *in vitro* als durchaus erfolgreich erwiesen und es wurden mehrere Substanzen identifiziert die dazu in der Lage sind. Die Substanzen lassen sich grob unterscheiden in natürliche pflanzliche Derivate, wie zum Beispiel die Nordihydroguajaretsäure (Verb. **5**) oder die Kaffeesäure (Verb. **6**) und in synthetische Substanzen wie zum Beispiel AA-861 (Verb. **7**) (siehe Tab. 1). Gemeinsame strukturelle Merkmale, um Struktur-Wirkungs-Beziehungen innerhalb dieser Substanzklasse aufzustellen, sind schwierig darzustellen, und lassen sich meist nur auf ein großes lipophiles Grundgerüst zurückführen. Trotz der sehr guten *in vitro* Ergebnisse weisen die meisten Substanzen nur eine geringe orale Bioverfügbarkeit auf und besitzen zudem nur eine geringe Selektivität gegenüber der 5-LO. Des Weiteren greifen sie, als pharmakologische Konsequenz aus ihrem Wirkmechanismus, auch in andere biologische Redoxsysteme ein und lösen somit unerwünschte Wirkungen aus. Als häufigste unerwünschte Wirkung wurde eine vermehrte Methämoglobin Bildung festgestellt, so dass die klinische Entwicklung dieser Substanzklasse relativ schnell wieder eingestellt wurde. [134], [135], [133]

Eisen-Ligand-Inhibitoren

Die Eisen-Ligand-Inhibitoren besitzen nur schwach ausgeprägte reduzierende Eigenschaften und chelatisieren das zentrale Eisenatom, so dass auf diese Weise der Katalysezyklus unterbrochen wird. Als gemeinsames strukturelles Merkmal besitzen Verbindungen dieser Substanzklasse entweder eine hydrolytisch labile Hydroxamsäure wie zum Beispiel beim BWA4C (Verb. **8**), oder ein metabolisch stabileres *N*-Hydroxyharnstoff Derivat, wie zum Beispiel beim Zileuton (Verb. **9**) oder Atreleuton (Verb. **10**) (siehe Tab. 1). BWA4C ist ein sehr potenter Inhibitor der 5-LO in intakten Zellen, wird aber *in vivo* schnell inaktiviert, so dass er heute nur noch als Referenz Substanz verwendet wird [136]. Zileuton ist zwar *in vitro* etwas weniger potent (IC_{50} zwischen 0.4–0.9 μM) [137], ist dafür aber der erste und bis dato der einzige direkte 5-LO-Inhibitor, der es auf den Arzneimittelmarkt, allerdings auch nur in den USA, geschafft hat. Er ist indiziert zur Behandlung des Asthma Bronchiale, spielt da allerdings nur eine geringfügige Rolle. Einerseits hat die Substanz eine relativ hohe Lebertoxizität, möglicherweise verursacht durch eine irreversible Hemmung der Glutathion-S-Transferase durch einen Metaboliten des Zileuton [138], andererseits hat die Substanz auch ein schlechtes pharmakokinetisches Profil mit

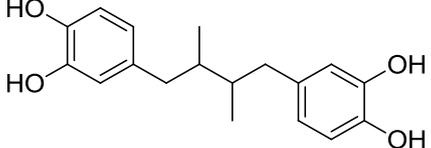
einer kurzen Halbwertszeit [139], [140]. Zudem werden relativ hohe Dosen von bis zu 2400 mg pro Tag benötigt, um den gewünschten pharmakologischen Effekt zu sehen. Weitere *N*-Hydroxyharnstoffe als Eisen-Ligand-Inhibitoren sind bereits in klinischer Entwicklung. Vielversprechendster Kandidat ist das Atreleuton (VIA-2291, früher ABT-761) von VIA Pharmaceuticals. Es zeichnet sich aus durch eine gesteigerte Potenz im human whole blood Assay gegenüber dem Zileuton (IC_{50} : 0.16 μ M) [141] und hat zudem auch eine verbesserte Pharmakokinetik mit einer Halbwertszeit von circa 15 h [142]. Aktuell befindet er sich in klinischer Entwicklung mehrerer Phase II Studien zur Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen (NCT00358826, NCT00352417, NCT00552188) und hat dabei eine deutliche Reduktion der Leukotrien Bildung aufweisen können, sowie eine signifikante Reduktion von Koronarplaques gegenüber Placebo [143].

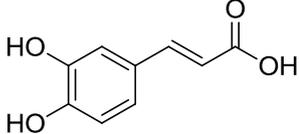
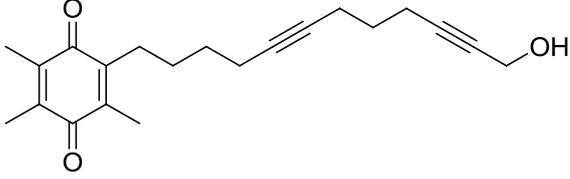
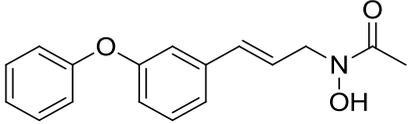
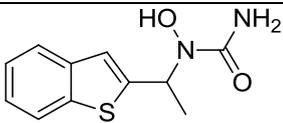
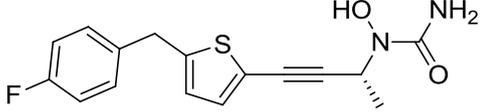
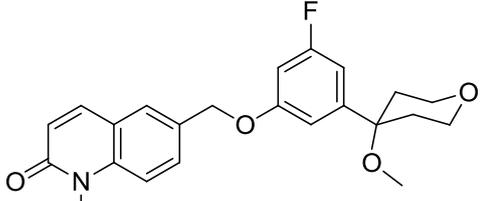
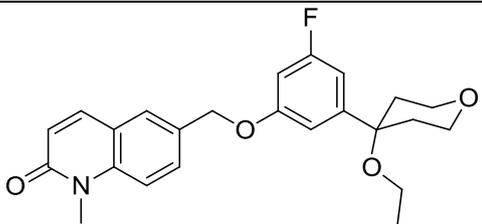
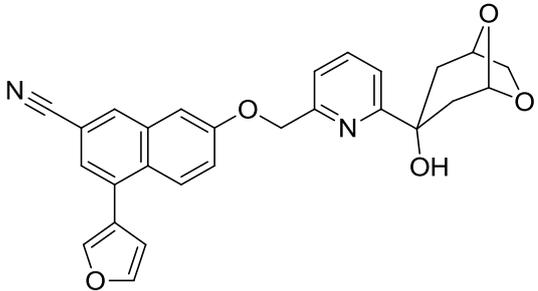
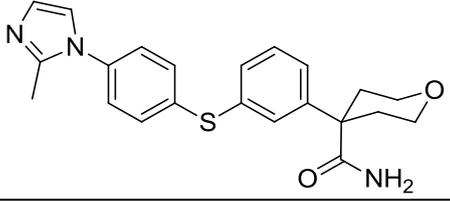
Nicht redox-aktive 5-LO-Inhibitoren

Die Klasse der nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren lässt sich abhängig von ihrem Wirkmechanismus weiter unterteilen in Substanzen, die einerseits in direkter Konkurrenz mit der Arachidonsäure stehen und die 5-LO von der aktiven Bindungsstelle her inhibieren und andererseits in Substanzen mit einem davon unterschiedlichen Wirkmechanismus. Erste Vertreter dieser Klasse waren die beiden 1,2-Dihydrochinolin-2-on Derivate wie das ZD 2138 (Verb. **11**) und das Ethoxyanalogon ZM 230487 (Verb. **12**) sowie das Dioxabicyclooctanyl Derivat L-739,010 (Verb. **13**) (siehe Tab. 1). Diese ersten Vertreter zeichneten sich dadurch aus, dass sie oral aktiv waren und sehr potent die 5-LO Produkt Synthese im Vollblut inhibierten. ZD 2138 war zudem auch in klinischer Testung, um die Effekte der 5-LO-Inhibition auf die frühe und verzögerte allergen-induzierte asthmatische Reaktion zu untersuchen, zeigte da allerdings nicht den gewünschten Effekt [144]. Später zeigte sich, dass die 5-LO-Inhibition dieser drei nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren einerseits von dem Redox-Status der Zelle abhängig ist [145] und andererseits von der Art und Weise wie die 5-LO stimuliert wird. In intakten Zellen erwiesen sich die drei Substanzen als äußerst potent, wenn die 5-LO über Ca^{2+} mittels des Calcium-Ionophors A23187 stimuliert wird; wird die 5-LO hingegen über den Phosphorylierungs-Pathway stimuliert erwiesen sich die Substanzen um den Faktor 10–100 schlechter [146]. Diese Arbeiten legten zugleich den Grundstein für eine

breitere *in vitro* pharmakologische Charakterisierung von neuen nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren. Zu den neueren Vertretern, der nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren, gehören zum Beispiel das CJ-13,610, sowie das Setileuton (MK-0633), die unabhängig vom 5-LO Stimulus potent die 5-LO Produkt Synthese inhibieren (siehe Tab. 1)[133]. Mercks Setileuton war ebenso in klinischer Entwicklung Phase II zur Behandlung des Asthma Bronchiale und der COPD zeigte hier allerdings keine klinisch signifikante Verbesserung der gemessenen Parameter und wies zudem noch erhöhte AST- und ALT-Werte auf, was die weitere klinische Entwicklung dieser Substanz stoppte [147], [148].

Von den bisher genannten nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren unterscheiden sich die beiden Naturstoffe AKBA, ein Inhaltsstoff aus den Weihrauchpflanzen und Hyperforin, ein Inhaltsstoff aus dem Johanniskraut (s. Tab. 1). Der genaue Wirkmechanismus für AKBA ist immer noch nicht belegt, jedoch unterscheidet er sich von den anderen bekannten nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren [149], [150]. Im Vollblut und *in vivo* konnte sich allerdings eine 5-LO Inhibition nicht bestätigen, weshalb die antientzündlichen Effekte der Boswelliasäuren vermutlich durch Interaktion mit anderen Targets ausgelöst werden [151], [150]. Hyperforin ist hingegen ein potenter Inhibitor der 5-LO sowohl *in vitro* als auch *in vivo*, zudem hemmt er noch zusätzlich die COX-1 im niedrig μM -Bereich [152]. Als Mechanismus der 5-LO Inhibition wird vermutet, dass er einerseits mit der C2-like Domäne interferieren kann und somit die Interaktion der 5-LO mit der Kernmembran beeinflusst. Andererseits ist Hyperforin auch in der Lage die nukleäre Translokation der 5-LO zu inhibieren [153].

Nr.	Substanz	Struktur	5-LO zell-frei IC ₅₀ (μM)	5-LO zellulär IC ₅₀ (μM)	5-LO HWB IC ₅₀ (μM)	Ref
Redox-aktive 5-LO-Inhibitoren						
5	Nordihydro-guajaretsäure		28	0.8		[154]

6	Kaffeensäure		3.7	n.b.	n.b.	[155] [156]
7	AA-861			0.8	n.b.	[157]
Eisen-Ligand-Inhibitoren						
8	BWA4C		0.1 – 0.3	0.04	0.1	[136]
9	Zileuton		0.5	0.5–1	0.9	[42] [137]
10	Atreleuton			0.023	0.16	[141]
Nicht redox-aktive 5-LO-Inhibitoren						
11	ZD 2138		-	3 nM	0.02	[158] [159]
12	ZM 230487		-	0.05	-	[145]
13	L-739,010		-	1.6 nM	0.042	[42]
14	CJ-13,610		-	0.07	0.23	[160] [161]

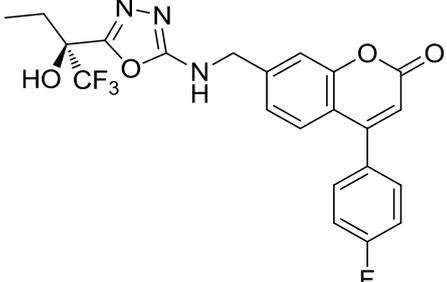
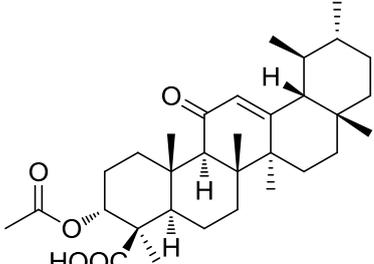
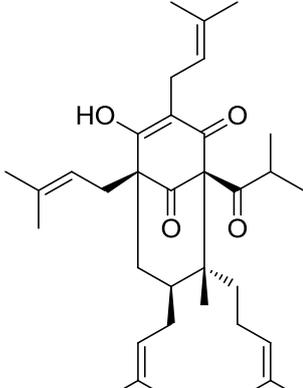
15	Setileuton (MK-0633)		3.9 nM	-	0.052	[162]
16	AKBA		7.0	1.5–15	-	[163] [145]
17	Hyperforin		0.09	1.2	-	[152]

Tabelle 1: Übersichtstabelle Literatur bekannter 5-LO-Inhibitoren. Unterteilt in den drei Klassen, der redoxaktiven, Eisen-Ligand und nicht redox-aktiven 5-LO-Inhibitoren.

2.3.2. mPGES-1-Inhibitoren

Mit der Identifizierung der mPGES-1 und der möglichen therapeutischen Implikation von mPGES-1-Inhibitoren begann auch die intensive Erforschung und Entwicklung von potentiellen mPGES-1-Inhibitoren, sowohl von der akademischen als auch von der industriellen Seite. Initiale Arbeiten identifizierten mehrere endogene Liganden und unselektiv wirkende Substanzen, die in der Lage sind die mPGES-1 zu inhibieren. Inzwischen gibt es eine Reihe synthetischer Derivate, die die mPGES-1 einerseits selektiv, andererseits sehr potent inhibieren. Aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften lassen sich diese Derivate weiter in acide und nicht acide Verbindungen unterscheiden. Trotz der inzwischen großen Anzahl an verschiedenen

selektiven mPGES-1-Inhibitoren hat es bis dato immer noch keiner bis zur klinischen Entwicklung geschafft [82], [164], [165].

Unselektive mPGES-1-Inhibitoren

Aus dem Wirkmechanismus der NSAIDs und der Coxibe war es naheliegend, sie auch zu charakterisieren als potentielle mPGES-1-Inhibitoren. Besonders in der Arzneistoffklasse der Coxibe waren mehrere Vertreter, wie Celecoxib (Verb. **18**), Lumiracoxib (Verb. **19**), Valdecoxib (Verb. **20**) aber auch der selektive COX-2-Inhibitor NS-398 (Verb. **21**) in der Lage die mPGES-1 schwach zu inhibieren (IC_{50} zwischen 20–75 μ M; siehe Tab. 2) [84], [166]. Von den klassischen NSAIDs ist nur der aktive Metabolit des Sulindacs (Verb. **22**) in der Lage die mPGES-1 schwach zu inhibieren ($IC_{50} = 80 \mu$ M) [84]. Eine interessante Entdeckung war, dass eine Derivatisierung der klassischen NSAIDs im Wesentlichen durch den Bioisosteren Ersatz der Carbonsäure durch ein *N*-Acyl-*p*-toluensulfonamid zu einer potenten mPGES-1 Inhibition führte, insbesondere für das Indomethacin- (Verb. **23**) und das Lonazolac-Derivat (Verb. **24**) (siehe Tab. 2) [167].

Selektive mPGES-1-Inhibitoren mit acider Funktion

Indolpropionsäure-Derivate

Ursprüngliche Leitstruktur dieser Substanzklasse war das MK-886 (Verb. **25**), welches sich zunächst als potenter Inhibitor der Leukotrienbildung in intakten Leukozyten erwiesen hat [168], wie sich herausstellte durch Inhibition des 5-Lipoxygenase activating Proteins (FLAP) [169]. Spätere Arbeiten haben gezeigt, dass das MK-886 ebenso in der Lage ist die mPGES-1 zu inhibieren vermutlich aufgrund der strukturellen Verwandtschaft der beiden Enzyme der MAPEG Familie (FLAP & mPGES-1) [170]. Die gezielte Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen konnte die Substanz bis zu einem IC_{50} im zellfreien System von 3 nM an der mPGES-1 optimieren (Verb. **26**), allerdings war sie inaktiv im Vollblut, weshalb weitere *in vivo* Versuche nicht durchgeführt wurden [171].

Oxicame

Ein High-Throughput screening der Firma Pfizer identifizierte eine Serie von Benzothiothiopyran-S-dioxiden als moderate mPGES-1-Inhibitoren, mit dem beispielhaften

Vertreter Verb. **27**. Gezielte Struktur-Wirkungs-Beziehungen führten zu einem Ersatz des Benzo-thiopyran-S-dioxid Gerüsts durch ein Dioxobenzo-thiazinon-Grundgerüst, mit dem potentesten Vertreter, innerhalb dieser Oxecam-Serie, dem PF-9184 (Verb. **28**; siehe Tab. 2) [172]. PF-9184 zeichnet sich durch eine hohe Potenz mit einem IC_{50} von $0.016 \mu\text{M}$ im Enzym basierten Assay und einem IC_{50} von $0.42 \mu\text{M}$ im Zell basierten Assay aus. Ebenso zeigte die Substanz eine hohe Selektivität an der rekombinanten humanen (rh) mPGES-1 gegenüber der rhCOX-1 und rhCOX-2. Nachteilig ist jedoch die geringe Wasserlöslichkeit von kleiner $3 \mu\text{M}$. Strukturelle Modifikationen führten zwar zu einer besseren Wasserlöslichkeit, aber mit einer gleichzeitig bedingten Wirkungsabschwächung [172]. Ebenso ist PF-9184 nicht in der Lage die mPGES-1 der Maus oder der Ratte zu inhibieren, weshalb bis dato keine ersten präklinische *in vivo* Ergebnisse vorliegen [173].

Selektive mPGES-1-Inhibitoren mit nicht acider Funktion

Phenanthren Imidazole

Leitstruktur dieser Substanzklasse ist der JAK Inhibitor Azaphenanthrenon (Verb. **29**), welcher ebenfalls durch einen High-Throughput Screening von Merck Frosst identifiziert wurde [174]. Erste strukturelle Optimierungen führten zum MF63 (Verb. **30**), welches sehr potent die isolierte humane mPGES-1 inhibiert mit einem IC_{50} von $0.001 \mu\text{M}$, zudem auch noch selektiv gegenüber der humanen mPGES-2 und anderen Thromboxan Synthasen ist. Ebenso ist MF63 auch in der Lage die PGE_2 Bildung im zellulären Kontext zu reduzieren, mit einem IC_{50} von $0.42 \mu\text{M}$ in A549 Zellen mit 50% FBS, und sogar im Vollblut erwies es sich als sehr potent mit einem IC_{50} von $1.3 \mu\text{M}$ [175]. Nachteilig an der Substanz ist, dass sie ebenso wie Pfizers PF-9184 nicht in der Lage ist die mPGES-1 der Maus oder der Ratte zu inhibieren, vermutlich aufgrund zu großer Spezies Unterschiede der aktiven Seite der mPGES-1 [176]. Daher wurden einerseits aufwändige Knockin Experimente gemacht mit Mäusen, die die humane mPGES-1 exprimieren und andererseits wurde MF63 *in vivo*'s Aktivität neben diesen Knockin-Mäusen auch in Meerschweinchen überprüft, mit dem Ergebnis, das oral verabreichtes MF63 in der Lage war relativ potent die PGE_2 Bildung zu inhibieren mit einem analgetischen und antipyretischen Effekt ohne den NSAIDs bekannten gastrointestinalen Komplikationen [177]. Eine darauffolgende zweite SAR-Studie lieferte zwei weitere Phenanthrenimidazole (Verb. **31** und **32**), die

erneut die Potenz im Vollblut im Vergleich zum MF63 steigern konnte, zudem auch niedrigere ED_{50} hatte im LPS induzierten Hyperalgesie Modell an den Meerschweinchen [178]. Verb. **32** (MK-7285) zeigt zudem noch eine gesteigerte Pharmakokinetik im Vergleich zum MF63 und hat weiterhin eine gute Bioverfügbarkeit von 63% [178].

Biarylimidazole

Eine weitere Substanzklasse, die ebenfalls durch ein High-Throughput Screening der Firma Merck Frosst identifiziert wurde, sind die Biarylimidazole [179]. Eine gewisse Analogie des Pharmakophors ist zu den Phenanthrenimidazolen zu erkennen und erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen haben die Notwendigkeit des zentralen 2,4-disubstituierten Imidazols bestätigt. Als potentester Vertreter innerhalb dieser Serie ist Verb. **33** hervorgegangen, welches am isolierten Enzym ein IC_{50} von 1 nM aufweist und im Vollblut einen IC_{50} von 1.6 μ M hat und somit ähnlich potent wie das MF63 ist. Die *in vivo* Aktivität wurde noch nicht untersucht bzw. noch nicht publiziert.

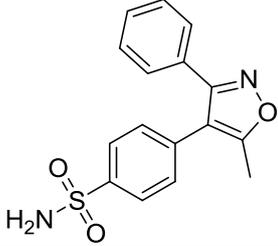
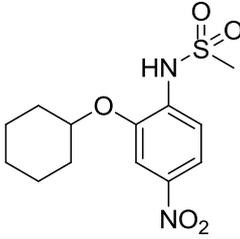
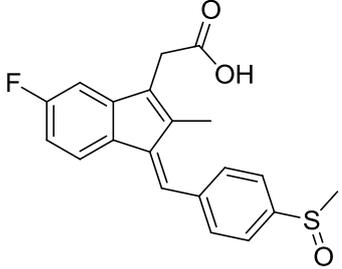
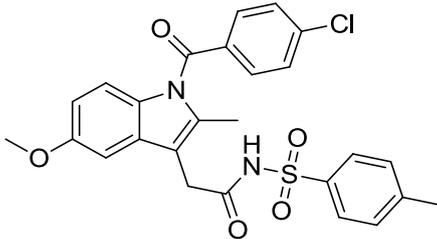
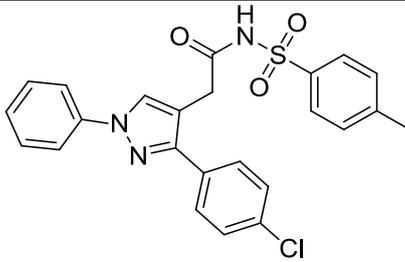
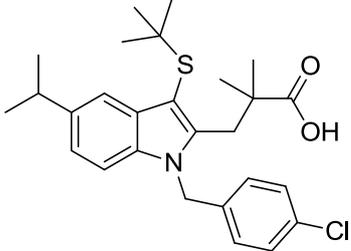
Dreifachsubstituierte Harnstoffderivate

Als dritte Substanzklasse aus dem High-Throughput Screening von Merck Frosst sind die dreifachsubstituierten Harnstoffderivate hervorgegangen [180]. Leitstruktur hier, Verb. **34**, ist ein moderater Inhibitor mit einem IC_{50} von circa 10 μ M im enzymbasierten Assaysystem. Erste strukturelle Modifikationen, insbesondere durch den Austausch des Ethylpyridylrestes aber auch des Biphenylrestes, konnten die Potenz enorm steigern. Potentestes Derivat innerhalb dieser Substanzklasse (Verb. **35**) ist, ähnlich wie bei den Biarylimidazolen, ein Harnstoffderivat mit zwei substituierten Tolan-Bausteinen (Diphenylethin-Derivaten). Verb. **35** inhibiert die humane mPGES-1 im enzymbasierten Assay mit einem IC_{50} von 2 nM und reduziert die PGE_2 Bildung in A549 Zellen mit 50% FBS mit einem IC_{50} von 0.34 μ M. Im Vollblut ist die Substanz etwas weniger potent, im Vergleich zum Biarylimidazol (Verb. **33**) und dem MF63, mit einem IC_{50} von 2.1 μ M. Pharmakokinetische Daten und erste *in vivo* Studien wurden noch nicht berichtet.

Chinazolinon Derivate

Leitstruktur dieser Substanzklasse ist das FR20 (Verb. **36**), welches zunächst durch ein Multistep, Ligandenbasierten Virtual Screening Ansatz identifiziert werden konnte [181]. FR20 inhibiert die humane mPGES-1 in einem zellfreien Assay mit einem IC_{50} von 0.5 μ M. Des Weiteren war keine Inhibierung der beiden COX-Isoformen bis zu 30 μ M zu detektieren. In einer darauffolgenden SAR-Studie konnte die Potenz der Leitstruktur im enzymbasierten Assay bei acht weiteren Derivaten gesteigert werden [182]. Verb. **37** und **38** waren mit die potentesten Vertreter, die im zellfreien Assay einen IC_{50} von 0.18 und 0.21 μ M hatten. Verb. **38** erwies sich als die potenteste Substanz im zellbasierten Assay und führte bei 10 μ M zu einer 97%igen Reduktion des PGE_2 . Ebenso erwies sich Verb. **38** als weniger toxisch im WST-1 Assay im Vergleich zu Verb. **37**. So konnte bis zu 100 μ M kaum eine Veränderung der Zellviabilität festgestellt werden. Nachteilig an den Substanzen ist, dass sie gegenüber der murinen mPGES-1, wie schon andere mPGES-1-Inhibitoren, kaum eine Inhibition gezeigt haben.

Nr.	Substanz	Struktur	mPGES-1			Ref
			zell-frei IC_{50} (μ M)	zellulär IC_{50} (μ M)	HWB IC_{50} (μ M)	
Unselektive mPGES-1-Inhibitoren						
COX-2-Inhibitoren						
18	Celecoxib		22	n.b.	n.b.	[166]
19	Lumiracoxib		33	n.b.	n.b.	[166]

20	Valdecoxib		75	n.b.	n.b.	[166]
21	NS-398		20	n.b.	n.b.	[84]
NSAID-Derivate						
22	Sulindac		80	n.b.	n.b.	[84]
23	Indomethacin-Derivat		6.4	n.b.	n.b.	[167]
24	Lonazolac-Derivat		3.4	n.b.	n.b.	[167]
Selektive mPGES-1-Inhibitoren						
Indolpropionsäurederivate						
25	MK-886		1.6	n.b.	n.b.	[171]

26			3 nM	0.27 (mit 2% FBS) 5.8 (mit 50% FBS)	n.i.	[171]
Oxicame						
27			1.68	3.4	n.b.	[172]
28	PF-9184		16 nM	0.42	5	[172]
Phenanthrenimidazole						
29	Azaphenanthrenon		0.14	1.6	n.b.	[175]
30	MF63		1 nM	0.42	1.3	[175]
31			1 nM	13 nM	0.2	[178]
32	MK-7285		0.9 nM	10 nM	0.14	[178]

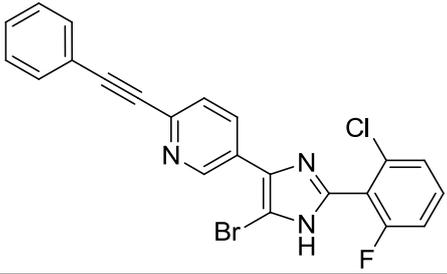
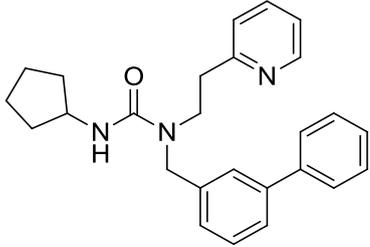
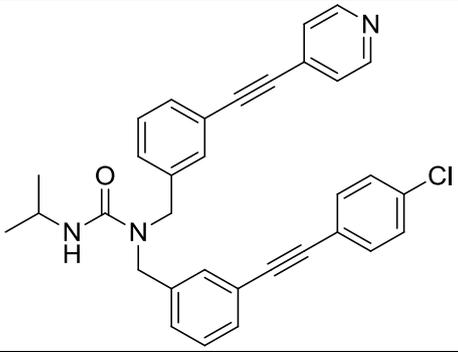
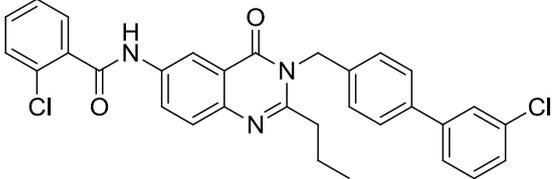
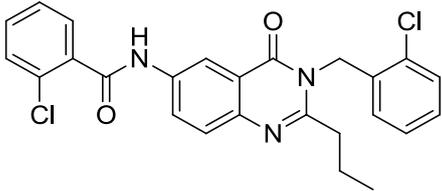
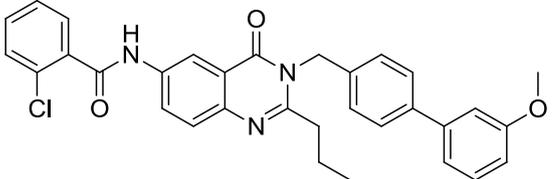
Biarylimidazole						
33			1 nM	0.013 (mit 2% FBS) 0.160 (mit 50% FBS)	1.6	[179]
Dreifachsubstituierte Harnstoffderivate						
34			88% Inhibition @ 10	n.b.	n.b.	[180]
35			2 nM	0.34	2.1	[180]
Chinazolinonderivate						
36	FR20		0.5	n.b.	n.b.	[181]
37			0.18	n.b.	n.b.	[182]
38			0.21	97% Inhibition @ 10	n.b.	[182]

Tabelle 2: Übersichtstabelle Literatur bekannter mPGES-1-Inhibitoren. Unterteilt in unselektiven und selektiven mPGES-1-Inhibitoren.

2.3.3. Duale 5-LO/mPGES-1-Inhibitoren

Mit der Erforschung des humanen Genoms und zusätzlichen virtuellen Screening Methoden, versprach man sich schnell viele, neue, potentielle Drug-Targets zu identifizieren, um sicherere und effizientere Moleküle zu entwickeln [183], [184]. Nach wie vor ist die vorherrschende Meinung in der Arzneimittelforschung, dass man durch die neuen Erkenntnisse selektiver in den vielen verschiedenen Signalkaskaden eingreifen kann und man durch die erhöhte Selektivität auch eine erhöhte Arzneimittelsicherheit erhält, durch die geringere bis nicht vorhandene Interaktion mit anderen Targets. Doch die geringe Rate an Neuzulassungen von Arzneimitteln, als Hauptgründe sind hier zu nennen besonders die mangelnde Wirksamkeit, aber auch die Toxikologie und klinische Sicherheit, lassen dieses Paradigma in Frage stellen. [185], [186] Im letzten Jahrzehnt lässt sich vielmehr zunehmend ein Paradigmenwechsel erkennen, weg von der Meinung „one disease, one target, one drug“ hin zu Multitarget-Drugs [187], [188], [189]. Gerade in chronischen Erkrankungen mit einer hohen Inzidenz, wie zum Beispiel bei Diabetes, Herzerkrankungen, Krebs, Arthritis, Asthma oder Depressionen, spielen multifaktorelle Komponenten eine Rolle, so dass die „magic-bullet-Theorie“ in diesen Erkrankungen nicht ausreichend ist [189]. Gerade innerhalb der Arachidonsäurekaskade hat man gesehen, dass mit dem Konzept der höheren Selektivität, wie man es mit den Coxiben erreicht hat (COX-2 vs. Dual COX-1/Cox-2), es nicht zu einer erhöhten Arzneimittelsicherheit gekommen ist, sondern im Gegenteil die erhöhte Selektivität vermehrte kardiovaskuläre Komplikationen verursacht hat, die zum Rückruf mehrere Coxibe geführt hat. In der Post-Ära der selektiven COX-2-Inhibitoren sind viele neue Konzepte von Multitarget-Drugs innerhalb der Arachidonsäurekaskade in Diskussion [190], [191], [192]. Einer der ersten Ansätze war die duale Inhibition der Prostaglandin- und Leukotrien-Bildung durch duale COX-/LOX-Inhibitoren [193], [194], [195], [196]. Es hat sich gezeigt, dass die duale Blockade der Prostaglandin- und Leukotrien-Bildung effektiver war in der Kombination in einem Kollagen induzierten Arthritis Modell, als die alleinige Inhibition entweder der Prostaglandin-Bildung oder der Leukotrien-Bildung [197], [198]. Neben der erhöhten Effektivität konnte man auch geringere gastrointestinale Komplikationen beobachten, welche eins der Hauptprobleme der NSAIDs darstellen [199], [200]. Die Entwicklung dualer 5-LO-/mPGES-1-Inhibitoren stellt einen neueren Ansatzpunkt dar,

auf der Suche nach neuen antientzündlichen Wirkstoffen mit einer höheren Effektivität und geringeren gastrointestinalen Komplikationen. Ebenso scheint die duale Inhibition auch vorteilhaft bei der Behandlung verschiedener Krebserkrankungen zu sein [201].

Neben einigen Naturstoffderivaten, insbesondere aus der Klasse der Acylphloroglucinole, wie zum Beispiel Myrtucommulon, Hyperforin oder Garcinol (Camboginol), sind inzwischen mehrere synthetische Substanzklassen bekannt und mittels SAR-Studien ihre Aktivität an beiden Enzymen bestimmt worden.

Arylpyrrolizine

Leitstruktur dieser Substanzklasse ist die Substanz Licofelone (Verb. **39**). Diese Verbindung wurde ursprünglich als dualer 5-LO-, COX-1-Inhibitor charakterisiert. Nachträglich wurde sowohl Aktivität an der mPGES-1 ($IC_{50} = 6 \mu\text{M}$) nachgewiesen und vermutlich ebenso über FLAP [202], [203]. Licofelone ist zugleich der einzige duale PG- und LT-Biosynthese-Inhibitor, der aktuell in klinischer Entwicklung ist; in Phase III zur Behandlung der Osteoarthritis. In einer nachfolgenden SAR-Studie wurde versucht, die Arylpyrrolizine hingehend der dualen 5-LO-/mPGES-1-Inhibition zu verbessern und gleichzeitig die Aktivität an der COX-1 und COX-2 zu verringern [204]. Mit dem bioisosteren Ersatz der Carbonsäure durch ein *N*-Acylsulfonamid (Verb. **40**) ließ sich die Potenz an der mPGES-1 steigern, bei in etwa gleichbleibender Aktivität an der 5-LO, COX-1 und COX-2. Kettenverlängerung an der aciden Funktion von den Essigsäurederivaten hin zu den Propionsäurederivaten (Verb. **41**), stellte dabei die potenteste Verbesserung an der mPGES-1 dar mit gleichzeitigem Wirkungsverlust an der COX-2. Nachteilig ist, dass die 5-LO Aktivität in PMNL von dieser Substanz nicht bestimmt wurde.

Benzo[g]indol-3-carboxylat

Die ursprüngliche Leitstruktur dieser Substanzklasse entstammt aus einer Serie von 2-Amino-5-Hydroxyindol-Derivaten, die in der Lage waren die 5-LO sowohl im zellfreien, als auch im zellulären Kontext zu inhibieren [205]. Strukturelle Optimierungen haben gezeigt, dass insbesondere ein anelliertes Benzen an Position [g] des Indol-Grundgerüsts einerseits eine deutliche Potenzsteigerung in PMNL mit sich gebracht hat [206], andererseits war man damit auch in der Lage, die mPGES-1

zu inhibieren [207]. Als potentester dualer Inhibitor innerhalb dieser Benzo[g]indol-3-carboxylaten hat sich die Verbindung **42** erwiesen, welche im zellfreien Assay die mPGES-1 mit einem IC_{50} von 0.6 μM und die 5-LO mit einem IC_{50} von 0.086 μM inhibiert. Im zellulären Kontext inhibiert die Substanz die PGE_2 -Bildung in A549-Zellen mit einem IC_{50} von 2 μM und die LT-Bildung mit einem IC_{50} von 0.23 μM . An der isolierten COX-1 und COX-2 konnte auch eine signifikante Inhibierung der 12-HHT Bildung beobachtet werden. Die antientzündliche Aktivität dieser Substanz wurde auch *in vivo* bestätigt, nämlich in einem Carrageen-induziertem Pfoten-Ödem-Modell in Mäusen und einem Carrageen-induziertem Pleuritis-Modell in Ratten [207].

Triazolbasierte-Derivate

Diese Substanzklasse entstammt einem *in silico* Screening Programm, in dem mehrere Triazolbasierte-Derivate identifiziert wurden als Liganden für die 5-LO-, mPGES-1- und FLAP. Die *in silico* vielversprechendsten Derivate wurden in einer 1,3-dipolaren Huisgen-Cycloaddition synthetisiert und ihre biologische Aktivität *in vitro* charakterisiert [208]. Der potenteste duale 5-LO-, mPGES-1-Inhibitor entstammt aus einer zweiten Serie von Triazolbasierten-Derivaten (Verb. **43**) mit einem IC_{50} von 0.68 μM im zellfreien mPGES-1 Assay, respektive 0.9 μM im zellfreien 5-LO Assay und 2.1 μM im zellbasierten 5-LO Assay [209]. Weitere *in vivo* Experimente stehen noch aus bzw. wurden noch nicht publiziert.

2-Mercaptohexansäuren

Die 2-Mercaptohexansäuren wurden ursprünglich als sehr potente PPAR α Agonisten mit EC_{50} Werten im nanomolaren Bereich identifiziert [210]. Die nachträgliche Charakterisierung als Fettsäuremimetika haben gezeigt, dass sie ebenso in der Lage sind sowohl die 5-LO, als auch die mPGES-1 zu inhibieren. Eine der potentesten Derivate innerhalb dieser Substanzklasse ist die Verbindung **44**, welche im zellfreien Assay die mPGES-1 mit einem IC_{50} von 2.2 μM und die 5-LO mit einem IC_{50} von 3.5 μM inhibiert. Im zellulären Assay wurde die LT-Bildung potenter inhibiert als im zellfreien Assay mit einem IC_{50} von 0.9 μM . Ferner hemmt **44** weder die COX-1, COX-2, cPLA $_2$ noch andere Lipoxygenasen wie die 12-LO oder 15-LO. [211] Die *in vivo* Charakterisierung als antientzündliche Substanz wurde noch nicht bestimmt und

es bleibt zu bedenken ob dafür nicht weitere Derivate synthetisiert werden müssten, die weniger potent an PPAR α sind.

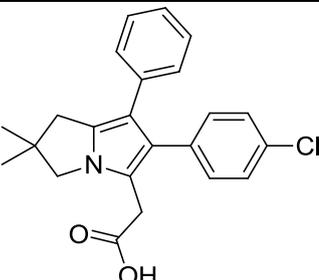
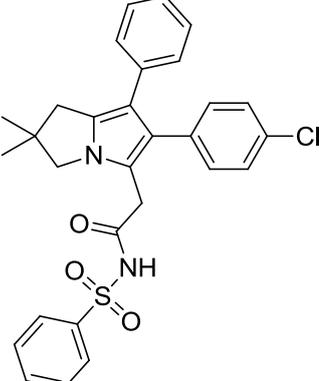
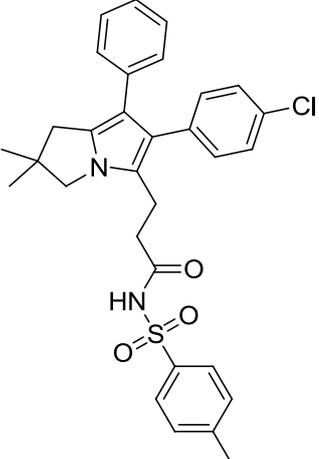
Pirinixinsäure-Derivate

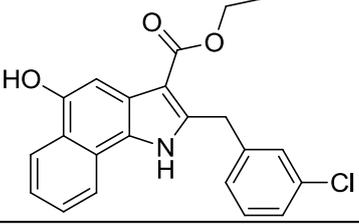
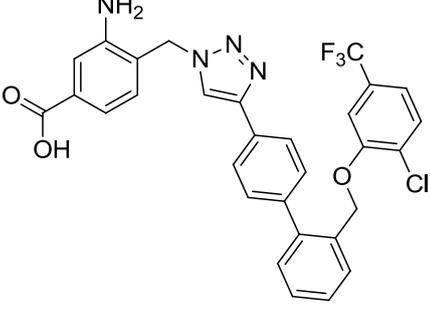
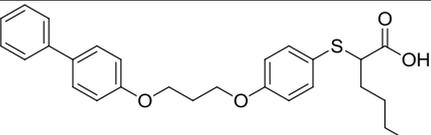
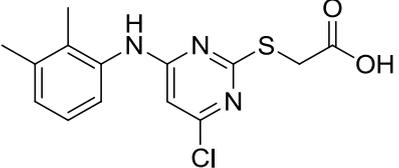
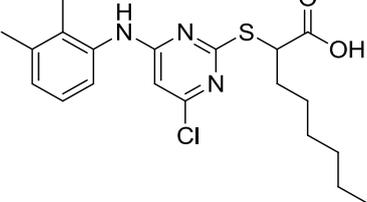
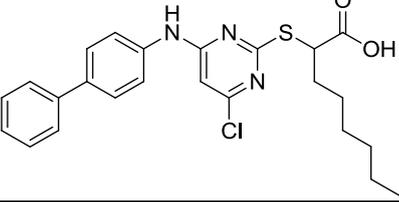
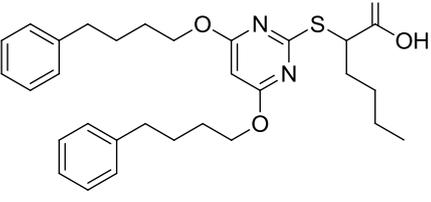
Die Pirinixinsäure (Verb. **1**) ist eine alte Verbindung, die in den 70er Jahren von der Firma Wyeth synthetisiert wurde und charakterisiert wurde als Substanz zur Behandlung der Hypercholesterinämie [212]. Später stellte sich heraus, dass die Effekte über eine duale PPAR α / γ Aktivierung vermittelt wurden [213]. Initiale Arbeiten in unserem Arbeitskreis, insbesondere durch die Einführung eines *n*-Hexylrestes in α -Position zur Carbonsäure, konnten nicht nur die PPAR α / γ Aktivität steigern, sondern ebenso erstmals einen dualen 5-LO/mPGES-1-Inhibitor mit einem Pirinixinsäure-Grundgerüst identifizieren (Verb. **2**, YS121) [214], [215], [216]. Weitere Optimierungen erfolgten insbesondere im lipophilen Rückraum mit einem Biphenyl-Derivat (HZ52, Verb. **45**) oder verschiedenen Phenalkoxy-Derivaten wie zum Beispiel durch MD72 (Verb. **46**), aber auch in α -Position durch Substitution des *n*-Hexylrestes mit einem 1-Naphthylrest (TT39, Verb. **47**) mit IC₅₀-Werten im zellfreien Assay an der mPGES-1 zwischen 0.9–1.6 μ M und an der 5-LO zwischen 1.5–2.3 μ M (siehe Tab. 3) [216], [217], [218]. Im zellbasierten 5-LO Assay waren die Substanzen teilweise deutlich potenter als im zellfreien 5-LO Assay mit IC₅₀-Werten zwischen 0.1–0.7 μ M was auf keine ausschließliche Inhibition der LT-Bildung durch die 5-LO hindeutet, sondern ebenso dafür spricht, dass noch andere Mechanismen an der Inhibition der LT-Bildung beteiligt sind. Bei zwei Vertretern dieser Pirinixinsäure-Derivaten (YS121 und HZ52) wurden die antientzündliche Eigenschaften auch *in vivo* in einem Carrageen-induzierten Pleuritis-Modell nachgewiesen [219], [220].

Zimtsäure-Derivate

Als Vorbild dieser Substanzklasse dienten die Phenalkoxy-Pirinixinsäure-Derivate, bei denen der zentrale 2-Sulfanylpyrimidinring durch einen Benzylidenrest ausgetauscht wurde. Die strukturelle Ähnlichkeit dieser Derivate zu der Kaffeesäure zeigt, dass durch eine Alkylierung sowohl der α -Position der Carbonsäure sowie der Hydroxygruppen plus Variation des Substitutionsmusters am zentralen Benzenring nicht nur potent die LT-Bildung inhibiert wird, sondern ebenso die mPGES-1 inhibiert werden konnte. Potentester Vertreter innerhalb dieser Substanzklasse ist Verbindung

48, welche im zellfreien Assay die mPGES-1 mit einem IC_{50} von $1.1 \mu M$ inhibiert und im zellbasierten 5-LO Assay ein IC_{50} von $0.9 \mu M$ hat [217]. Nachteilig ist, dass die Substanz im zellfreien 5-LO Assay keine Inhibition bis zu $10 \mu M$ zeigt, was ebenso dafür spricht, dass die Inhibition der LT-Bildung nicht auf einer direkten Inhibierung der 5-LO basiert.

Nr.	Substanz	Struktur	mPGES-1		5-LO		Ref
			zell-frei IC_{50} (μM)	zellulär IC_{50} (μM)	zell-frei IC_{50} (μM)	zellulär IC_{50} (μM)	
Arylpyrrolizine							
39	Licofelone		6.7	n.b.	n.b.	0.18	[204]
40			4.5	n.b.	n.b.	0.25	[204]
41			2.1	n.b.	n.b.	n.b.	[204]

Benzo[g]indol-3-carboxylate							
42			0.6	2	0.09	0.23	[206] [207]
Triazolbasierte-Derivate							
43			0.68	n.b.	0.9	2.1	[209]
2-Mercaptohexansäuren							
44			2.2	n.b.	3.5	0.9	[211]
Pirinixinsäuren							
1	Pirinixinsäure (Wy-14643)		i.a. @10	n.b.	i.a. @10	i.a. @10	[216]
2	YS121		3.9	12	6.5	4.1	[216]
45	HZ52		1.6	n.b.	1.5	0.7	[216]
46	MD72		0.9	n.b.	2.2	0.7	[217]

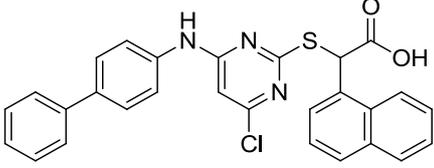
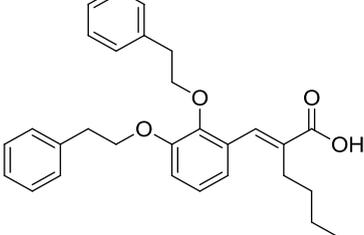
47	TT39		0.94	n.b.	2.3	0.1	[218]
Zimtsäure-Derivate							
48			1.1	n.b.	i.a. @10	0.8	[217]

Tabelle 3: Übersichtstabelle Literatur bekannter dualer 5-LO/mPGES-1-Inhibitoren. Unterteilt in die einzelnen Strukturklassen.

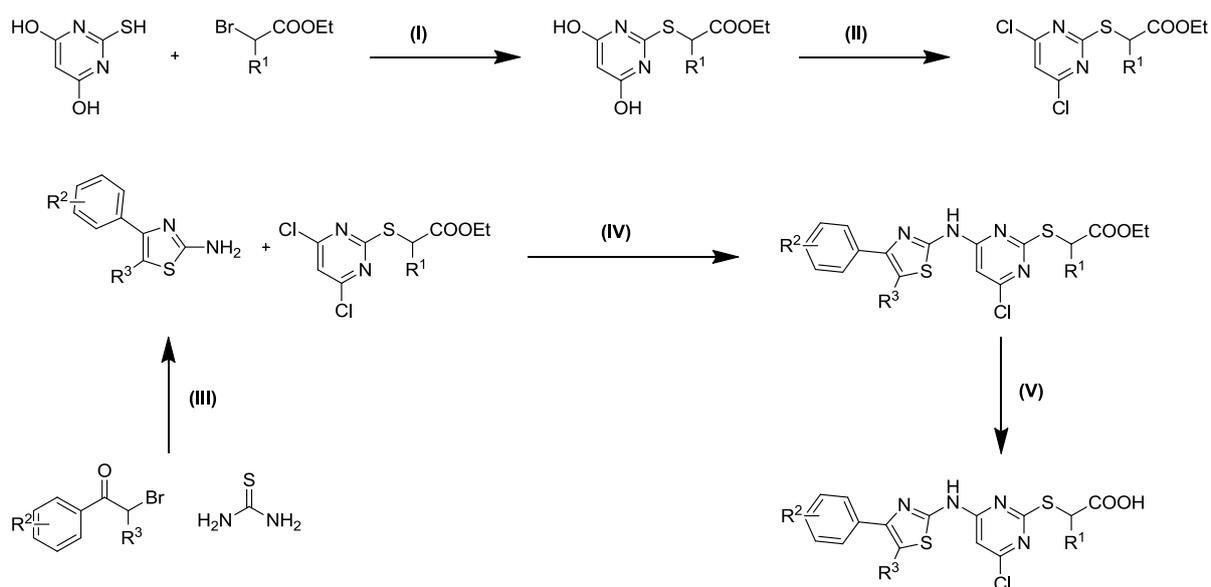
3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Chemische Synthesen

3.1.1. Synthese der Pirinixinsäurederivate

Die Synthese der Pirinixinsäurederivate erfolgte in einer vier bis fünfstufigen Synthese (siehe Schema 1), modifiziert nach den Originalarbeiten von Santilli [212] und d`Atri [221]. Der erste Schritt war eine nukleophile Substitution der kommerziell erwerblichen Thiobarbitursäure mit einem α -substituierten Bromcarbonsäureester. In der gesamten vier bis fünfstufigen Synthese war dies aufgrund mehrerer Faktoren der Schritt mit den durchschnittlich schlechtesten Ausbeuten. In der ursprünglichen Synthese von d`Atri wurde die Reaktion in Ethanol mit einer wässrigen NaOH-Lösung durchgeführt, was die Gefahr der Esterspaltung birgt und zu schlechten Ausbeuten, gerade für das *n*-Hexyl und *n*-Butylderivat (16 bzw. 34% [222]), geführt hat. Eine erste Optimierung wurde von Koeberle und Zettl *et al.* durchgeführt [216], indem die Synthese in DMF mit Triethylamin als Hilfsbase durchgeführt wurde. Dies benötigte allerdings hohe Temperaturen von circa 90 °C, da die deprotonierte Thiobarbitursäure sonst nicht in DMF zu lösen ist. Der Zusatz von Wasser ermöglicht es, die Löslichkeit zu verbessern und gleichzeitig die Reaktion bei Raumtemperatur durchzuführen, so dass die Gefahr, der parallel zu der Substitution ablaufenden Eliminierung, verringert wird. Daher wurde die Reaktion in einem DMF/Wasser Gemisch durchgeführt womit sich die Ausbeute auf circa 45–54% verbessern ließ. Die erhaltenen Thioetherderivate wurden anschließend mit Phosphoroxychlorid (POCl_3) und *N,N*-Diethylanilin als Hilfsbase bei 90 °C für circa 6 h chloriert. Die resultierenden chlorierten Thioetherderivate wurden mit verschiedenen 2-Aminothiazolen unter Bedingungen einer Buchwald-Hartwig-Reaktion aminiert [223]. Die benötigten 2-Aminothiazole waren teilweise käuflich erwerblich. Die restlichen 2-Aminothiazole (siehe Kapitel 5.2.3.) wurden unter den Bedingungen einer klassischen Hantzsch-Thiazolsynthese hergestellt. Ausgehend von den entsprechenden α -Bromacetophenonderivaten, die mit Thioharnstoff versetzt wurden und 3 h bei Raumtemperatur in Methanol gerührt wurden, ließen sich die resultierenden 2-Aminothiazole in guten Ausbeuten isolieren. Die anschließende Buchwald-Hartwig-Aminierung ermöglichte es, primäre Heteroarylamine, wie die 2-Aminothiazole, in meist guten Ausbeuten von durchschnittlich circa 50–60% zu den

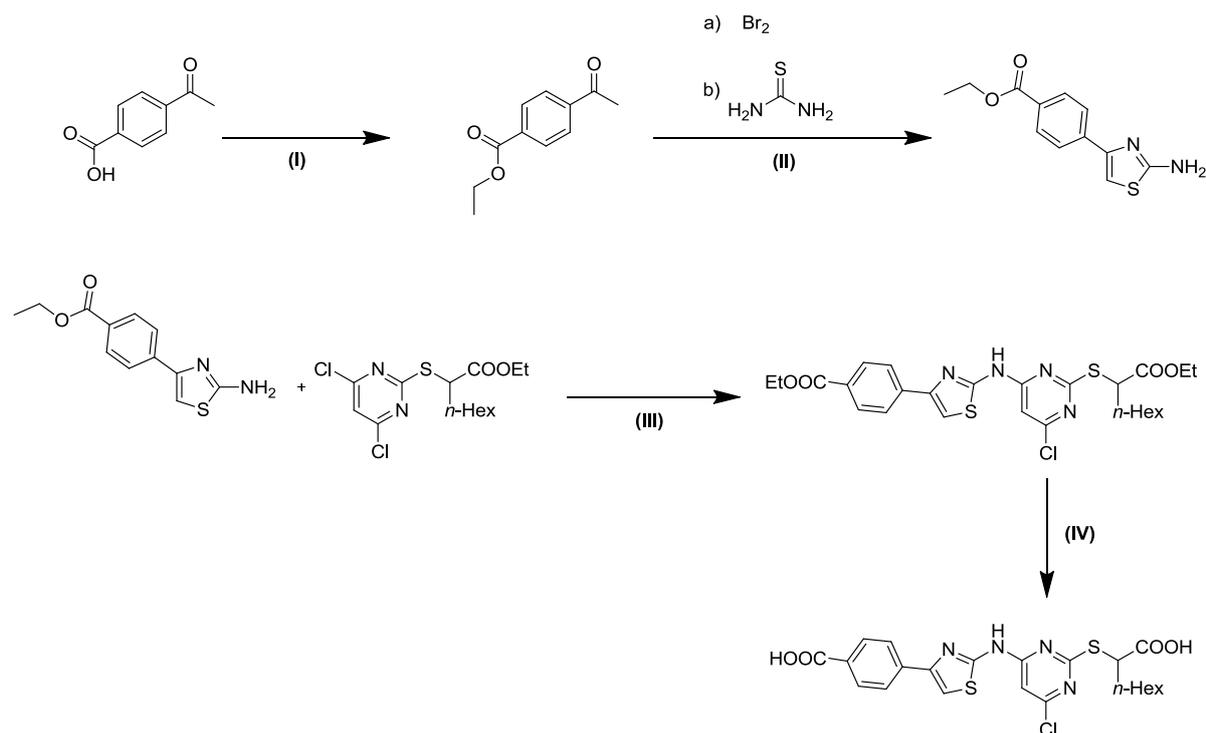
korrespondierenden *N,N*-Diarylaminen umzusetzen. Die Synthese erfolgte mit $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ als Katalysator, Xantphos als zusätzlichen Liganden und Na_2CO_3 als Hilfsbase gemäß der Vorschrift von Yin *et al.* [223]. Die Reaktion rührte in einem Toluol/Wasser-Gemisch bei 90 °C für circa 18 h. Die erhaltenen *N,N*-Diheteroarylamine wurden säulenchromatographisch aufgereinigt und ließen sich danach sehr gut auskristallisieren, so dass viele dieser Ester anschließend nochmal umkristallisiert und zur Elementaranalysen-Reinheit gebracht wurden (siehe Kapitel 5.2.4.). Im letzten Schritt erfolgte die Esterhydrolyse in einem THF/Wasser-Gemisch mit LiOH als Base. Die Reaktion lief bei milden Bedingungen bei circa 45 °C für 24–48 h, so dass die entsprechenden aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate in zumeist guten Ausbeuten isoliert werden konnten.



Schema 1: Synthese der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäure Derivate; Reagenzien und Bedingungen: **(I)** 2-Brom-(R^1)-ethyl acetate (1.2 eq), Thiobarbitursäure (1 eq), TEA (1.5 eq), DMF, 90 °C, 3 h oder DMF/Wasser, RT, 24 h; **(II)** POCl_3 (18 eq), *N,N*-Diethylanilin (1 eq), 90 °C, 6 h; **(III)** α -Bromacetophenon (1 eq), Thioharnstoff (1.5 eq), MeOH, 3 h, RT; **(IV)** $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.02 eq), Xantphos (0.06 eq), Na_2CO_3 (1.4 eq), Toluol/Wasser, 90 °C, 18 h; **(V)** $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (5 eq), THF/Wasser, 45 °C, 24–48 h.

3.1.2. Synthese des Dicarbonsäurederivates (Verb. 66)

In den Arbeiten von Waltenberger *et al.* [224] und Lee *et al.* [225] wurden erstmals Dicarbonsäurederivate identifiziert, die zum einen selektiv die mPGES-1 [225], zum anderen aber auch dual die 5-LO und mPGES-1 inhibieren konnten [224]. Diese Arbeiten begründeten die Motivation, abweichend von den bisherigen Fettsäuremimetika, ein Pirinixinsäurederivat als Dicarbonsäure zu synthetisieren, um die Struktur-Wirkungsbeziehungen auch in dieser Richtung zu vervollständigen. Die Synthese (siehe Schema 2) ging von der kommerziell erwerblichen 4-Acetylbenzoesäure aus. Diese wurde zunächst in Ethanol mit einer katalytischen Menge H_2SO_4 zum entsprechenden 4-Acetylbenzoesäureethylester verestert. Anschließend erfolgte eine Bromierung mit elementarem Brom in Chloroform. Die Reaktion rührte für 3 h bei Raumtemperatur.



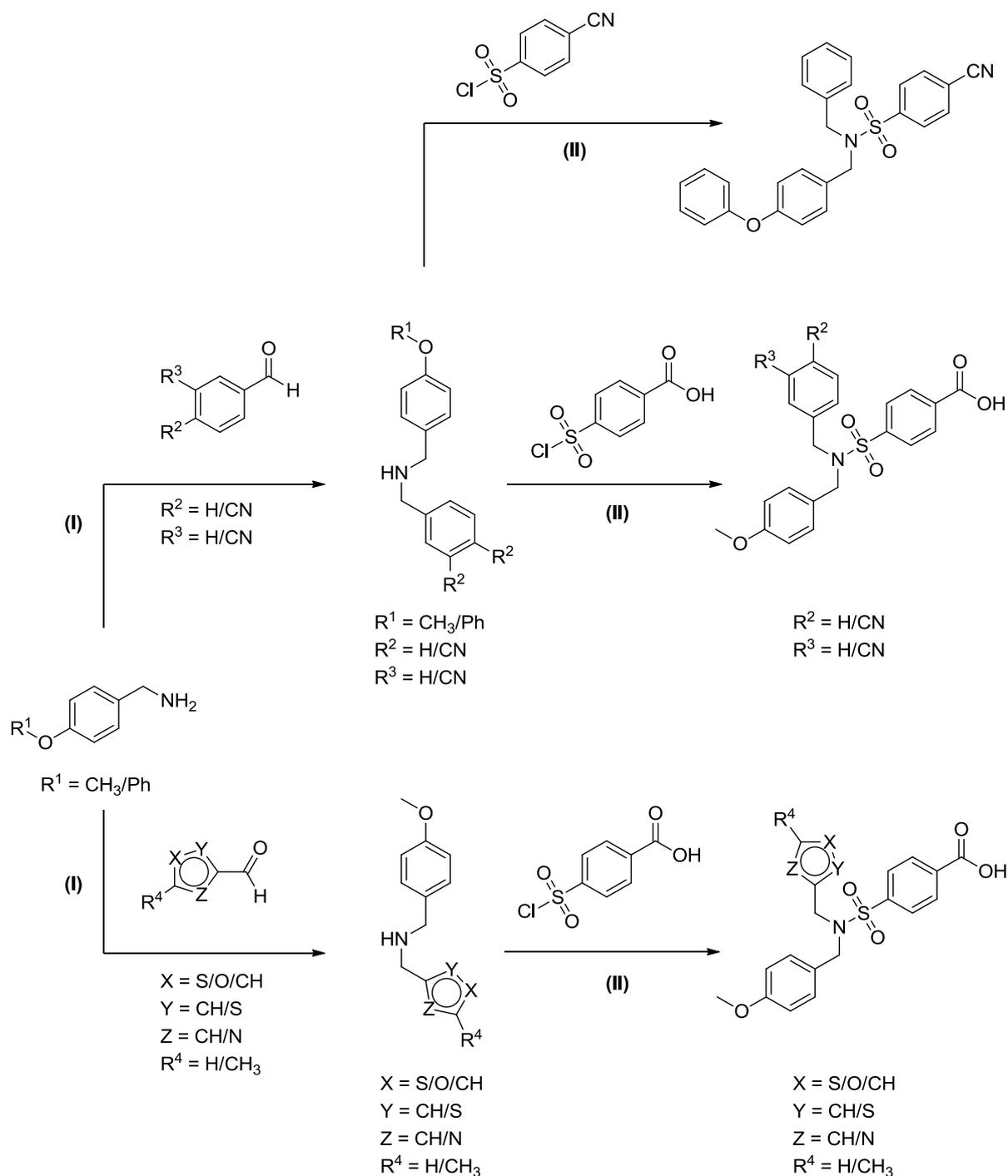
Schema 2: Synthese des dicarbonsäurehaltigen Pirinixinsäure Derivats (Verb. 66); Reagenzien und Bedingungen: **(I)** 4-Acetylbenzoesäure (1 eq), EtOH (21 eq), H_2SO_4 (0.2 eq), reflux, 18 h; **(II)** a) Ethyl 4-acetylbenzoat (1 eq), Br_2 (1.05 eq), CHCl_3 , RT, 3 h; b) α -Bromacetophenon (1 eq), Thioharnstoff (1.5 eq), MeOH, 3 h, RT; **(III)** $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0.02 eq), Xantphos (0.06 eq), Na_2CO_3 (1.4 eq), Toluol/Wasser, 90 °C, 18 h; **(IV)** $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (5 eq), THF/Wasser, 45 °C, 24 h.

Das entstandene α -Bromketon wurde partiell aufgereinigt und direkt mit Thioharnstoff in einer Hantzsch-Thiazolsynthese zum entsprechenden 2-Aminothiazol umgesetzt. Anschließend erfolgten, unter denselben Reaktionsbedingungen wie oben dargestellt, die Buchwald-Hartwig-Aminierung und Esterhydrolyse zum entsprechenden Dicarbonsäurederivat (Verb. **66**).

3.1.3. Synthese der Benzensulfonamidderivate

Die Synthese der Benzensulfonamidderivate erfolgte in einer linearen in der Regel zweistufigen Synthese. Im ersten Schritt wurden sekundäre Amine unter den Bedingungen einer reduktiven Aminierung synthetisiert [226]. Dazu wurde das Aldehyd mit einem primären Amin unter Zusatz von Eisessig in DCE gelöst und unter Schutzgas 3,5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgter Iminbildung wurde Natriumtriacetoxyborhydrid ergänzt, um das Imin zum sekundären Amin zu reduzieren. Anschließend im zweiten Schritt wurden diese sekundären Amine an verschiedenen Benzensulfonsäurechloriden gekoppelt, um die entsprechenden Benzensulfonamide zu erhalten. Dazu wurden die sekundären Amine unter Zusatz von Triethylamin in Ethanol gelöst und das Benzensulfonsäurechlorid unter Eiskühlung langsam hinzugegeben. Die Reaktion rührte weiter bei Raumtemperatur für circa 18 h. In der ersten Serie der Benzensulfonamide wurden verschiedene Aldehyde, Benzaldehydderivate oder heterocyclische Aldehyde, mit jeweils einem Aryletherbenzylamin kombiniert. In der Regel war dies 4-Methoxybenzylamin, abgesehen von einem 4-Phenoxybenzylaminderivat, um eine Variation in erster Linie am Benzylrest der Leitstruktur (FR4, Verb. **4**) zu erhalten (siehe Schema 3).

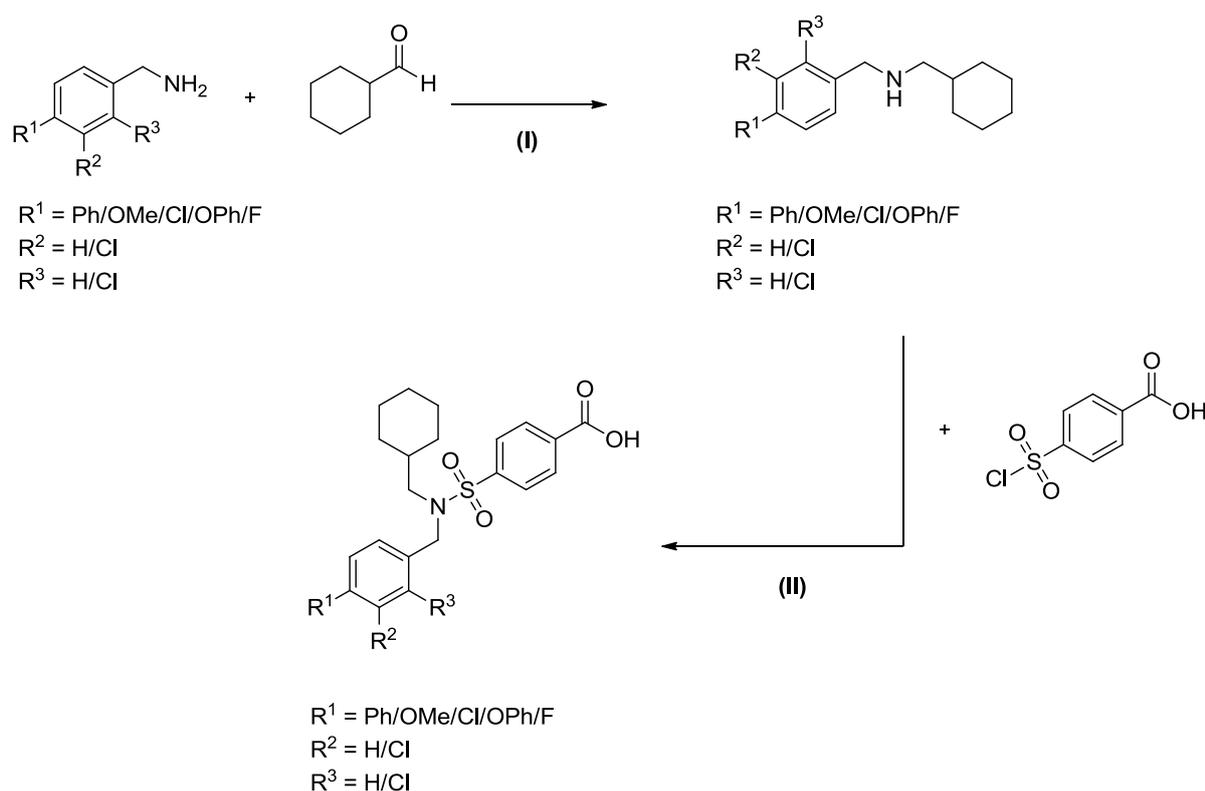
“The most fundamental and lasting objective of synthesis is not production of new compounds, but production of properties.”
George S. Hammond, Norris Award Lecture, 1968



Schema 3: Synthese der Serie 1, der Benzensulfonamide unter Beibehaltung des 4-Methoxybenzyl- bzw. 4-Phenoxybenzylrestes; Reagenzien und Bedingungen: **(I)** Arylaldehyd (1 eq), Benzylamin (1.2 eq), HOAc (2 eq), Natriumtriacetoxyborhydrid (1.4 eq), DCE, RT, 18 h; **(II)** sekundäres Amin (1 eq), Benzensulfonsäurechlorid (1 eq), TEA (3 eq), ETOH, von 0 °C bis RT, 18 h.

In der zweiten Serie der Benzensulfonamide hat sich aus der SAR ergeben (siehe Abschnitt SAR, Kapitel 3.3.2.), dass insbesondere der Cyclohexylmethylrest sich als

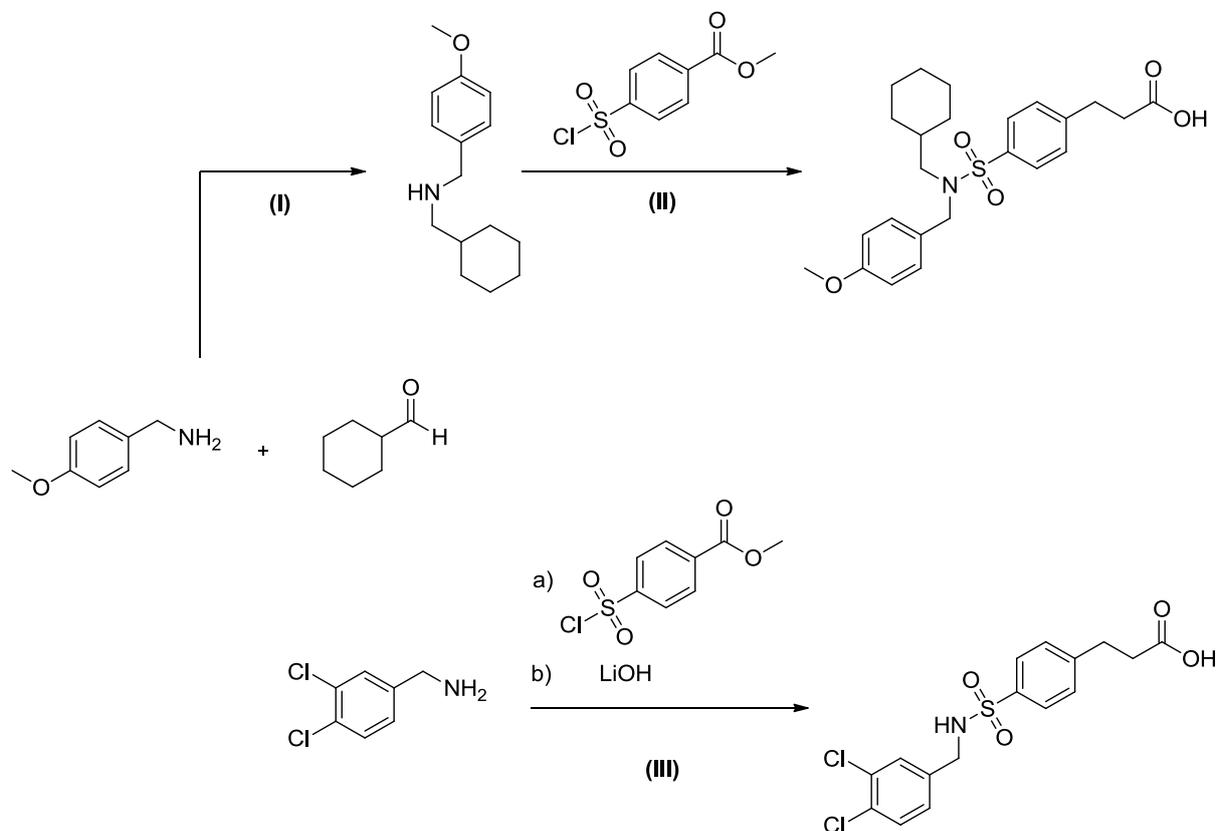
potent erwiesen hat. Dementsprechend wurden verschiedene Benzylamine unter Beibehaltung des Cyclohexylcarbaldehyds miteinander kombiniert, so dass dadurch eine Variation am ursprünglichen 4-Methoxybenzylaminrestes der Leitstruktur FR4 erlangt wurde (siehe Schema 4).



Schema 4: Synthese der Serie 2, der Benzensulfonamide unter Beibehaltung des Cyclohexylmethylrestes; Reagenzien und Bedingungen: **(I)** Cyclohexylcarbaldehyd (1.5 eq), Benzylamin (1.0 eq), HOAc (4 eq), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.7 eq), DCE, RT, 18 h; **(II)** sekundäres Amin (1 eq), Benzensulfonsäurechlorid (1 eq), TEA (3 eq), ETOH, von 0 °C bis RT, 18 h.

In einer letzten Serie (Serie 3) sollte das Benzoesäurederivat gegen ein Arylpropionsäurederivat ausgetauscht werden. Die Synthese dazu erfolgte unter analogen Bedingungen einer reduktiven Aminierung zunächst zum sekundären Amin. Dieses sekundäre Amin wurde ebenso wie das käuflich erwerbliche 3,4-Dichlorbenzylamin mit dem 3-[4-(Chlorsulfonyl)phenyl]propionsäuremethylester zum entsprechenden Sulfonamid kombiniert. Die daraus resultierenden Arylpropionsäuremethylester wurden partiell aufgereinigt und anschließend direkt mit

LiOH in einem THF/Wasser Gemisch zu den entsprechenden Arylpropionsäurederivaten hydrolysiert (siehe Schema 5).

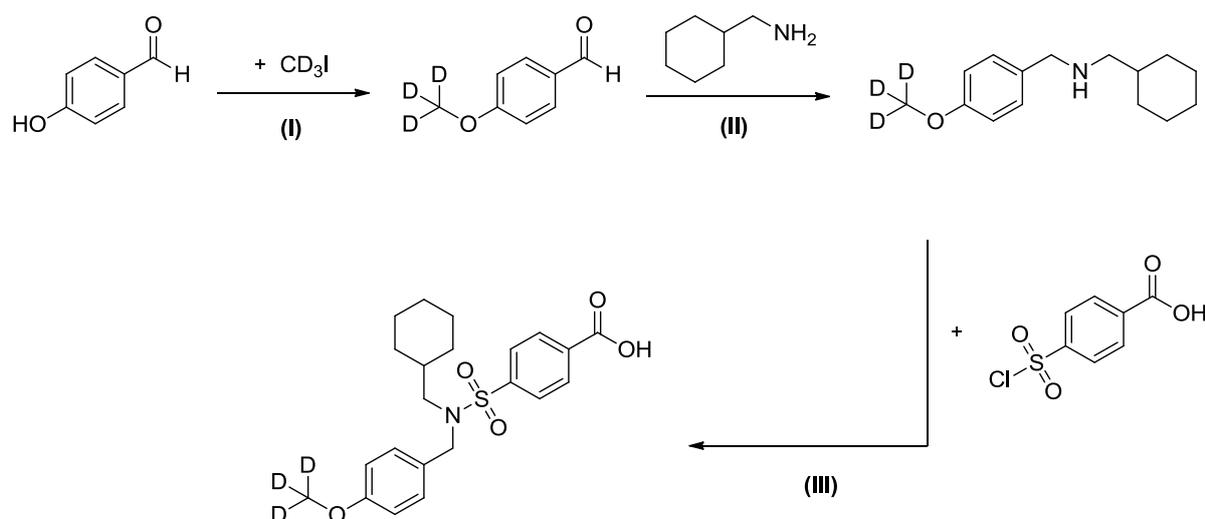


Schema 5: Synthese der Serie 3, der Benzensulfonamide unter Beibehaltung des Arylpropionsäurerestes; Reagenzien und Bedingungen: **(I)** Cyclohexylcarbaldehyd (1 eq), 4-Methoxybenzylamin (1.2 eq), HOAc (2 eq), Natriumtriacetoxyborhydrid (1.4 eq), DCE, RT, 18 h; **(II)** sekundäres Amin (1 eq), Benzensulfonsäurechlorid (1 eq), TEA (3 eq), THF, von 0 °C bis RT, 22 h; **(III) a)** primäres Amin (1 eq), Benzensulfonsäurechlorid (1.2 eq), Pyridin (6 eq), DCM, von 0 °C bis RT 16 h; **b)** LiOH·H₂O (5 eq), THF/Wasser, 45 °C, 24 h.

3.1.4. Synthese des deuterierten Benzensulfonamidderivates (Verb. 94)

In den Vollblut Ergebnissen der ersten Benzensulfonamidderivate hat sich insbesondere Verb. **78** (FR4-Dev6) als potent erwiesen [227], so dass diese Verbindung für erste *in vivo* Untersuchungen der Benzensulfonamide ausgesucht wurde. Für die *in vivo* Versuche sollte ein deuteriertes Derivat der Verb. **78** als interner Standard synthetisiert werden. Als Deuterierungsmöglichkeit hat sich

insbesondere die Methoxygruppe angeboten. Die Synthese erfolgte in einer dreistufigen Synthese, ausgehend vom 4-Hydroxybenzaldehyd, das mit Iodmethan-d₃ in Aceton unter Zusatz von Kaliumcarbonat alkyliert wurde. Anschließend erfolgten eine reduktive Aminierung und die darauffolgende Kopplung mit dem Benzensulfonsäurechlorid unter den oben genannten Bedingungen, zur entsprechenden deuterierten Verbindung **94**.



Schema 6: Synthese des deuterierten Benzensulfonamiderivates (Verb. **94**); Reagenzien und Bedingungen: **(I)** 4-Hydroxybenzaldehyd (1 eq), Iodmethan-d₃ (1 eq), K_2CO_3 (1 eq), Aceton, RT, 24 h; **(II)** Arylaldehyd (1.5 eq), Cyclohexylmethanamin (1 eq), HOAc (4 eq), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.68 eq), DCE, RT, 24 h; **(III)** sekundäres Amin (1 eq), Benzensulfonsäurechlorid (1 eq), TEA (3 eq), EtOH, von 0 °C bis RT, 22 h.

3.2. In vitro pharmakologische Charakterisierung der Substanzen

Sämtliche Endstufen sind in der Regel mehreren Assay-Systemen unterlaufen. Die Pirinixinsäurederivate (Verb. **51–76**) wurden im Arbeitskreis von Prof. Dr. Oliver Werz getestet. Als Standard-Assay, für die SAR, wurden sie an der 5-LO einerseits im zellulären Kontext in PMNL (polymorphkernigen Leukozyten) und andererseits im zellfreien Kontext an der partiell aufgereinigten 5-LO getestet. Die Testung an der mPGES-1 erfolgte standardgemäß ebenso an dem partiell aufgereinigten Enzym.

Bestimmung der 5-LO, 12-LO und 15-LO Produktbildung im zellbasierten Assay

Für die Bestimmung der 5-LO Produktbildung in intakten Zellen, wurden $5 \cdot 10^6$ frisch isolierte humane PMNL in 1 mL PBS suspendiert, welche zusätzlich 1 mg/mL Glukose und 1 mM CaCl_2 enthielt. Die Zellen wurden mit den Substanzen für 15 min bei 37 °C präinkubiert, und die 5-LO Produktbildung wurde anschließend durch die Zugabe von 2.5 μM des Ca^{2+} -Ionophors A23187 und 20 μM Arachidonsäure ausgelöst. Die Reaktion wurde nach 10 min bei 37 °C gestoppt, durch die Zugabe von 1 mL Methanol und 30 μL einer 1 N HCl. Zusätzlich wurden 200 ng PGB_1 und 500 μL PBS ergänzt. Die gebildeten 5-LO Metabolite wurden extrahiert und per HPLC analysiert wie beschrieben [228]. Die 5-LO Produktbildung wird ausgedrückt als ng der 5-LO Produkte pro 10^6 Zellen. Zu den hier erfassten 5-LO Produkten zählen LTB_4 und alle seine *trans*-Isomere, sowie die 5(S),12(S)-Dihydroxy-6,10-*trans*-8,14-*cis*-eikosatetraensäure (5(S),12(S)-DiHETE) und die 5(S)-Hydro(pero)xy-6-*trans*-8,11,14-*cis*-eikosatetraensäure (5-H(p)ETE). Die cysteinhaltigen Leukotriene (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4) wurden nicht erfasst und sämtliche Oxidationsprodukte des LTB_4 wurden nicht bestimmt. 15(S)-H(p)ETE wurde analysiert als 15-LO Produkt und 12(S)-H(p)ETE als 12-LO Produkt. Alle Verbindungen wurden in 3–4 unabhängigen Experimenten analysiert und der Mittelwert \pm SEM wurde bestimmt.

Expression und Aufreinigung der human rekombinanten 5-LO von *Escherichia coli* und Bestimmung der 5-LO Aktivität im zellfreien Assay

E. coli BL21 wurde mit dem pT3-5LO Plasmid transformiert, das rekombinante 5-LO Protein wurde bei 37 °C exprimiert und die 5-LO wurde wie beschrieben aufgereinigt [146]. Die aufgereinigte 5-LO (0.5 μg) wurde mit PBS/EDTA verdünnt, 1 mM ATP wurde hinzugefügt und anschließend mit den Substanzen präinkubiert. Nach 5–10 min bei 4 °C wurden die Proben für 30 s bei 37 °C erwärmt und 2 mM CaCl_2 plus 20 μM Arachidonsäure wurden hinzugegeben, um die 5-LO Produktbildung zu starten. Die Reaktion wurde nach 10 min bei 37 °C durch die Zugabe von 1 mL eiskaltem Methanol gestoppt. Die gebildeten 5-LO Produkte wurden per HPLC analysiert, wie für die intakten Zellen beschrieben. Alle Verbindungen wurden in 3–4 unabhängigen Experimenten analysiert und der Mittelwert \pm SEM wurde bestimmt.

Induktion der mPGES-1 in A549 Zellen, Isolation der Mikrosomen und Bestimmung der PGE_2 Synthase Aktivität in der mikrosomalen Fraktion der A549 Zellen

In A549 Zellen wurde die mPGES-1 Expression durch Behandlung mit IL-1 β induziert. Nach erfolgter Induktion wurde die mikrosomale Fraktion von den restlichen Zellbestandteilen durch Zentrifugation getrennt wie beschrieben [216], [229]. Die mikrosomale Fraktion wurde in einem Kaliumphosphat-Puffer (0.1 M, pH 7.4) verdünnt, welcher Glutathion (2.5 mM) enthielt (Gesamtvolumen 100 μ L). Anschließend wurden entweder die Testsubstanzen oder die Vehikel (DMSO) ergänzt. Nach 15 min Präinkubation wurde die PGE₂ Bildung durch die Zugabe von PGH₂ (20 μ M) ausgelöst. Nach einer Minute bei 4 °C wurde die Reaktion gestoppt durch Zugabe von 100 μ L einer Stopplösung, die 40 mM FeCl₂, 80 mM Zitronensäure und 10 μ M 11 β -PGE₂ enthielt. PGE₂ wurde aufgetrennt durch Festphasenextraktion wie beschrieben [216], [229]. 11 β -PGE₂ diente dabei als interner Standard zur Quantifizierung. Alle Verbindungen wurden in 3–4 unabhängigen Experimenten analysiert und der Mittelwert \pm SEM wurde bestimmt.

Die Benzensulfonamide (Verb. **82–90**) wurden an der mPGES-1 von Florian Rörsch wie beschrieben [227] charakterisiert. Die Verbindungen **89–96** wurden ebenso im Arbeitskreis von Prof. Dr. Oliver Werz an der mPGES-1 und der 5-LO (zell-frei), wie oben beschrieben charakterisiert.

3.3. Struktur-Wirkungsbeziehungen

3.3.1. SAR der Pirinixinsäurederivate

Leitstruktur dieser Substanzklasse ist die Pirinixinsäure (Verb. **1**), welche ursprünglich als dualer PPAR α/γ Agonist identifiziert wurde und keine Inhibition weder an der mPGES-1 noch an der 5-LO gezeigt hat [216], [215]. Initiale Arbeiten haben gezeigt, dass große lipophile Substituenten in α -Position zu der Carbonsäure, insbesondere das *n*-Hexylderivat (YS121, Verb. **2**) zu einer potenten dualen Inhibition der 5-LO und der mPGES-1 geführt haben (IC₅₀ = 3.9 und 4.1 μ M). Mit dieser Erkenntnis sollte unter Beibehaltung des *n*-Hexylrestes der lipophile Rückraum, durch Substitution der Xylidineinheit, weiter optimiert werden. Mit dem Biphenylderivat HZ52 (Verb. **45**) konnte die Potenz an beiden Enzymen erneut gesteigert werden und zusätzlich eine anti-entzündliche Wirksamkeit *in vivo* identifiziert werden. [216], [220] Um einerseits die Potenz der Verb. **45**, andererseits auch die Drug-Likeness weiter zu verbessern, wurden weitere verschiedene

Variationen im lipophilen Rückraum vorgenommen (siehe Abb. 10). Interessanterweise wurde nicht jede Modifikation von beiden Enzymen gleich gut toleriert. Die Veränderung des Substitutionsmusters des Biphenylrestes hin zu einem *meta*-Biphenylderivat (Verb. **49**) war in etwa ähnlich potent wie das HZ52 in PMNL, aber deutlich schwächer an der mPGES-1. Die Einführung eines Benzimidazolderivates (Verb. **50**) führte zu einer deutlichen Abschwächung an der mPGES-1, so dass diese Verbindung als dualer 5-LO/mPGES-1-Inhibitor ungeeignet war. Die Substitution der Xylidineinheit durch ein 4-(4-Chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin Gerüst, erwies sich schließlich als Treffer (MD77, Verb. **3**). Mit der Verbindung konnte einerseits die Potenz an beiden Enzymen erneut, auch gegenüber der Verb. **45**, gesteigert werden, andererseits erwies sie sich auch als guter Ausgangspunkt um ebenso pharmakokinetische Eigenschaften, wie zum Beispiel die Löslichkeit oder die metabolische Stabilität gegenüber dem Biphenylderivat (Verb. **45**) zu verbessern.

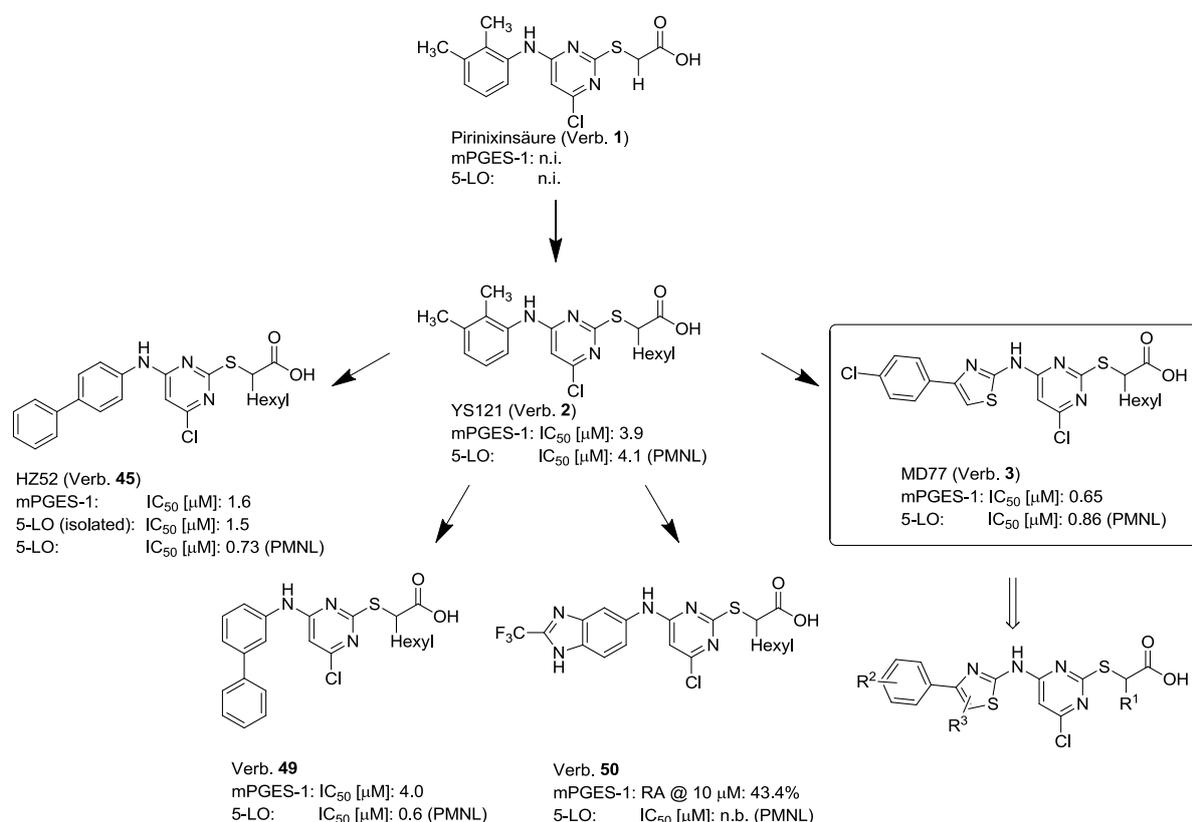


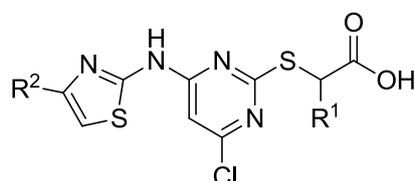
Abb. 10: Überblick von der Pirinixinsäure zu den aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivaten; RA = Restaktivität; n.b. = nicht bestimmt; n.i. = no inhibition (keine Inhibition).

Ausgehend von Verb. **3** sollten die Struktur-Wirkungsbeziehungen in drei verschiedenen Richtungen untersucht werden. Zunächst sollte unter Beibehaltung des 4-Phenylrestes das Substitutionsmuster gemäß einer klassischen Topliss-Optimierung [230] untersucht werden; als zweites sollte unter Beibehaltung des Thiazolringes das Substitutionsmuster am Thiazolring untersucht werden, so dass man zwischen 4-monosubstituierten, 4,5-disubstituierten und rigidisierten Thiazolen unterscheiden kann (siehe Tab. 4 und 5); und als letztes sollte ebenso eine Kettenverkürzung bzw. Substitution der *n*-Alkylkette in α -Position erfolgen, mit der Idee, nachdem der lipophile Rückraum optimiert wurde, auch an der α -Position mehr Drug-Likeness zu gewinnen (siehe Tab. 6).

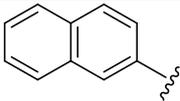
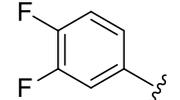
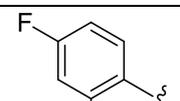
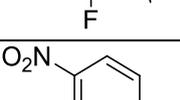
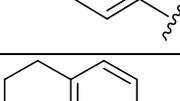
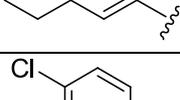
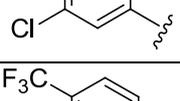
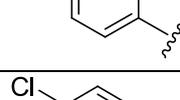
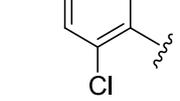
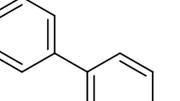
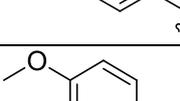
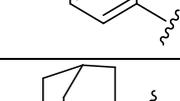
Erster Schritt für die Untersuchung des Substitutionsmuster am 4-Phenylring, ist der Austausch der 4-Chlorphenylgruppe gegen einen einfachen Phenylrest (Verb. **51**). Während das Weglassen der Chlorgruppe auf die mPGES-1 Inhibition keinen großen Einfluss hat und ebenso die 4-Methylverbindung (Verb. **52**) an der mPGES-1 in etwa äquipotent gegenüber der Leitstruktur **3** ist, sind beide Verbindungen deutlich schlechter an der 5-LO im zellfreien Assay. Eine Bromgruppe in *para*-Position (Verb. **53**) war in etwa auch gleich potent dem 4-Chlorderivat (Verb. **3**) an der mPGES-1 und ebenso konnte die Potenz an der 5-LO im zellfreien Assay wieder hergestellt werden. Mit der Einführung einer Trifluormethylgruppe in *para*-Position (Verb. **61**) ließ sich zwar die Potenz an der mPGES-1 verbessern, jedoch war die Substanz wieder weniger wirksam im zellfreien Assay gegenüber der 5-LO als Verb. **3**. Die Substitution des *para*-Chlorsubstituenten mit polarerer Gruppen wie der 4-Methoxyverbindung (Verb. **64**) oder der 4-Nitroverbindung (Verb. **58**) erwiesen sich als weniger potent an beiden Enzymen gegenüber der Leitstruktur; und das Einbringen einer Carbonsäurefunktion in *para*-Position (Verb. **66**) führte sogar zum kompletten Wirkungsverlust an beiden Enzymen bis zu 10 μ M, was für das Konzept der Fettsäuremimetika als duale 5-LO/mPGES-1-Inhibitoren spricht. Ebenso waren auch die beiden zweifach fluorierten Derivate (Verb. **56** und **57**) deutlich weniger potent an beiden Enzymen. Die Einführung eines zweiten Chlorsubstituenten in der Leitstruktur führte zu den zweifach chlorierten Derivaten (Verb. **60** und **62**), die insbesondere an der mPGES-1 deutlich an Potenz gewinnen konnten (3,4-Dichlorphenylderivat (**60**) IC_{50} -mPGES-1: 0.3 μ M), wohingegen an der gereinigten 5-LO kaum eine Potenzsteigerung festzustellen war. Die bisherige Erkenntnis, dass

polare Gruppen an beiden Enzymen weniger toleriert wurden, dahingegen aber große lipophile Substituenten insbesondere die mehrfach chlorierten oder aber auch das 4-Bromsubstituierte Derivat an beiden Enzymen eine in etwa äquipotente Inhibition gezeigt hat, war die Motivation den lipophilen Rückraum weiter zu vergrößern. Die Einführung eines 1-Naphthylrestes (Verb. **54**) war in etwa ebenso potent wie die Leitstruktur im zellfreien 5-LO Assay, allerdings um fast einen Faktor drei schlechter an der mPGES-1. Dahingegen führte die Einführung des 2-Naphthylrestes (Verb. **55**) zu einer Steigerung der Potenz an beiden Enzymen (IC_{50} : 0.3 bzw. 0.4 μ M).

Tabelle 4: *In vitro* pharmakologische Charakterisierung der 4-monosubstituierten 2-aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate an der 5-LO und der mPGES-1.



Substanz	IC_{50} [μ M] 5-LO		IC_{50} [μ M] mPGES-1		
	Zell-basiert	Zell-frei			
4-monosubstituierte 2-Aminothiazole					
	R^1	R^2			
51 (TH020)	<i>n</i> -hexyl		0.6±0.03	2.0±0.04	0.8±0.1
52 (TH023)	<i>n</i> -hexyl		0.2±0.04	3.0±0.7	0.7±0.2
53 (TH026)	<i>n</i> -hexyl		0.3±0.1	0.7±0.4	0.8±0.2
54 (TH027)	<i>n</i> -hexyl		0.4±0.1	0.7±0.2	1.7±0.5
55 (TH034)	<i>n</i> -hexyl		0.2±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
55-R	(<i>R</i>)- <i>n</i> -hexyl		0.4±0.1	0.4±0.1	0.6±0.04

55-S	(S)- <i>n</i> -hexyl		0.9±0.2	0.3±0.1	0.6±0.1
56 (TH044)	<i>n</i> -hexyl		1.5±0.04	2.3±0.7	1.6±0.2
57 (TH054)	<i>n</i> -hexyl		1.5±0.1	2.5±0.8	1.8±0.1
58 (TH056)	<i>n</i> -hexyl		1.4±0.1	1.8±0.4	5.0±1.5
59 (TH063)	<i>n</i> -hexyl		0.4±0.1	2.3±0.8	0.4±0.1
60 (TH083)	<i>n</i> -hexyl		0.4±0.1	0.7±0.04	0.3±0.1
61 (TH084)	<i>n</i> -hexyl		0.6±0.1	1.2±0.2	0.4±0.1
62 (TH102)	<i>n</i> -hexyl		0.8±0.2	1.1±0.1	0.4±0.1
63 (TH104)	<i>n</i> -hexyl		0.3±0.1	0.6±0.1	0.5±0.1
64 (TH121)	<i>n</i> -hexyl		0.8±0.03	1.8±0.4	1.3±0.2
65 (TH105)	<i>n</i> -hexyl		3.3±0.7	5.0±1.1	0.9±0.1
66 (TH152)	<i>n</i> -hexyl		ia @ 10	ia @ 10	ia @ 10

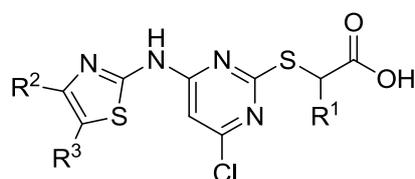
Die Daten sind angegeben als Mittelwerte ± SEM aus mindestens 3 voneinander unabhängigen Versuchen. ia = inaktiv.

Die Einführung eines Biphenylrestes (Verb. **63**) an Position 4 des Thiazolringes (ähnlich dem HZ52, Verb. **45**) konnte zwar die Potenz an beiden Enzymen steigern, sowohl im Vergleich zur Leitstruktur als auch gegenüber dem HZ52, erreichte allerdings insgesamt nicht die Potenz der Verb. **55**. Ebenso war der Adamantylrest (Verb. **65**), der in seiner Größe und Lipophilie vergleichbar mit einem 4-Chlorphenylrest ist, an der mPGES-1 nur geringfügig schlechter als die Leitstruktur, an der partiell aufgereinigten 5-LO hingegen deutlich weniger potent. Zuletzt interessierte uns noch das 5,6,7,8-Tetrahydro-2-naphthylderivat (Verb. **59**) im direkten Vergleich mit dem 2-Naphthylderivat (Verb. **55**), welches an der mPGES-1 äquipotent war ($IC_{50} = 0.4 \mu M$), allerdings an der 5-LO um einen Faktor 7–8 schlechter war, was wiederum im Einklang steht mit der bereits beobachteten Erkenntnis, dass von der 5-LO im lipophilen Rückraum aromatische Substituenten bevorzugt werden, wohingegen an der mPGES-1 der Unterschied zwischen einem Cycloalkylrest und einem aromatischer Rest weniger stark ausgeprägt ist (vgl. auch Verb. **3** und **65**).

In einer zweiten Serie wurde versucht, den großen lipophilen 2-Naphthylrest durch das Einbringen von kleineren Alkyl- oder Phenylresten in Position 5 des Thiazolringes zu substituieren. Das entsprechende 4-Phenyl-5-methylderivat (Verb. **67**) zeigte keinen Unterschied im Vergleich zum 4-monosubstituierten Analogon (Verb. **51**). Dahingegen führte das Einbringen der Methylgruppe in Position 5 bei dem 4-Bromphenylderivat (Verb. **68**) sogar zu einer Abschwächung an beiden Enzymen im Vergleich zum entsprechenden 4-monosubstituierten Derivat (Verb. **53**); und eine Kettenverlängerung in Position 5 zum 4-Phenyl-5-ethylderivat (Verb. **69**) führte auch zu einer Abschwächung der mPGES-1 Inhibition im Vergleich zum 4-Phenyl-5-methylderivat (Verb. **67**). Das entsprechende 4,5-disubstituierte Derivat (Verb. **70**), zeigte sich zwar als potenter insbesondere im zellfreien 5-LO Assay im Vergleich zum 4-monosubstituierten Derivat (Verb. **51**), jedoch erreichte es auch nicht die Potenz des 2-Naphthylrestes (Verb. **55**). Ebenso lässt sich auch hier wieder erkennen, dass der Austausch eines Alkylrestes in Position 5 (Methylgruppe in Verb. **67**) zu einem aromatischen Rest (Phenylgruppe in Verb. **70**), erneut kaum einen Einfluss auf die Potenz an der mPGES-1 hat, jedoch die Aktivität an der 5-LO

deutlich verbesserte, was im Einklang steht mit den bisherigen Erkenntnissen aus der SAR. Mit dem entsprechenden rigidisierten Derivat (Verb. **71**) ließ sich erneut keine Potenzsteigerung zum vergleichbaren 4-monosubstituierten Derivat (Verb. **64**) feststellen, sondern im Gegenteil sogar eine geringe Wirkungsabschwächung an der mPGES-1.

Tabelle 5: *In vitro* pharmakologische Charakterisierung der 4,5-disubstituierten 2-aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate an der 5-LO und der mPGES-1.

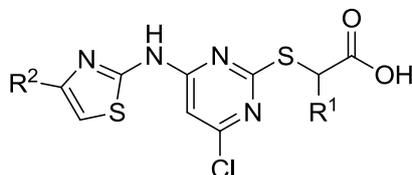


Substanz				IC ₅₀ [μM] 5-LO		IC ₅₀ [μM] mPGES-1
				Zell-basiert	Zell-frei	
4,5-Disubstituierte 2-Aminothiazole						
	R ¹	R ²	R ³			
67 (TH037)	<i>n</i> -hexyl			0.6±0.02	1.9±0.2	0.7±0.2
68 (TH057)	<i>n</i> -hexyl			0.2±0.02	1.6±0.1	1.3±0.1
69 (TH100)	<i>n</i> -hexyl			0.7±0.2	1.8±0.4	1.7±0.3
70 (TH109)	<i>n</i> -hexyl			0.6±0.1	0.7±0.3	0.6±0.1
Rigidisiertes 2-Aminothiazol						
71 (TH062)				0.2±0.03	1.9±0.1	1.9±0.1

Die Daten sind angegeben als Mittelwerte ± SEM aus mindestens 3 voneinander unabhängigen Versuchen.

In einer letzten Serie sollte der Einfluss der *n*-Hexylgruppe in α -Position der Carbonsäure untersucht werden. In vorherigen Arbeiten [215], [216] konnte gezeigt werden, dass eine Verkürzung des *n*-Hexylrestes zu einer Wirkungsabschwächung an beiden Enzymen führt. Ein analoges Verhalten ließ sich bei den Aminothiazolhaltigen-Pirinixinsäurederivaten beobachten. Die Verkürzung des *n*-Hexylrestes (Verb. **3**) hin zu einem *n*-Butylrest (Verb. **72**), bzw. einem Ethylrest (Verb. **73**) oder zu dem α -unsubstituierten Derivat (Verb. **75**), führte zu einer Wirkungsabschwächung, die besonders stark ausgeprägt an der partiell aufgereinigten 5-LO zu registrieren war. Dies führte bis zu einem totalen Wirkungsverlust bei dem α -unsubstituierten Derivat (Verb. **75**) bei 10 μ M. An der mPGES-1 war interessanterweise die Wirkungsabschwächung signifikant weniger stark ausgeprägt und selbst das α -unsubstituierte Derivat (Verb. **75**) zeigte immer noch einen IC_{50} von 2.3 μ M an der mPGES-1. Ebenso wurde das Konzept der α -1-Naphthylderivate evaluiert, welche sich auch als potente duale 5-LO/mPGES-1-Inhibitoren bewiesen haben [218]. In der Tat zeigte Verb. **76** eine in etwa äquipotente Inhibition an der aufgereinigten 5-LO, wohingegen an der mPGES-1 Verb. **76** sogar geringfügig potenter war als Leitstruktur **3**. Mit dem Wissen der ersten Serie, der 4-monosubstituierten Derivate, wurde das Motiv des potentesten Vertreters (Verb. **55**), also dem 2-Naphthylrest im lipophilen Rückraum mit einem Ethylrest in α -Position kombiniert in Verb. **74**; und erneut bestätigte sich die Erkenntnis, dass das 2-Naphthylderivat geringfügig potenter war als die analoge Verb. **73**, insbesondere an der partiell aufgereinigten 5-LO, wohingegen an der mPGES-1 kein Unterschied zu detektieren war. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es durch Optimierung des lipophilen Rückraums gelungen ist, die Potenz an beiden Enzymen so weit zu verbessern, dass auf den sperrigen *n*-Hexylrest in α -Position verzichtet werden kann und dennoch mit Verb. **74** eine potentere Substanz gefunden wurde als der initiale duale 5-LO/mPGES-1-Inhibitor YS121 (Verb. **2**), der in α -Position noch den *n*-Hexylrest trägt.

Tabelle 6: *In vitro* pharmakologische Charakterisierung der α -substituierten 2-aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate an der 5-LO und der mPGES-1.



Substanz	IC ₅₀ [μM] 5-LO		IC ₅₀ [μM] mPGES-1		
	Zell-basiert	Zell-frei			
α-substituierte Pirinixinsäure Derivate					
	R ¹	R ²			
3 (MD77/ TH018)	<i>n</i> -hexyl		0.9±0.2	0.8±0.3	0.7±0.1
72 (TH005)	<i>n</i> -butyl		0.9±0.1	3.8±1.0	1.2±0.2
73 (TH035)	ethyl		3.6±0.8	6.6±1.4	1.4±0.3
74 (TH107)	ethyl		2.9±1.0	2.0±0.5	1.4±0.2
75 (TH012)			>10	>10	2.3±0.2
76 (TH014)			0.4±0.1	0.7±0.4	0.5±0.2

Die Daten sind angegeben als Mittelwerte \pm SEM aus mindestens 3 voneinander unabhängigen Versuchen.

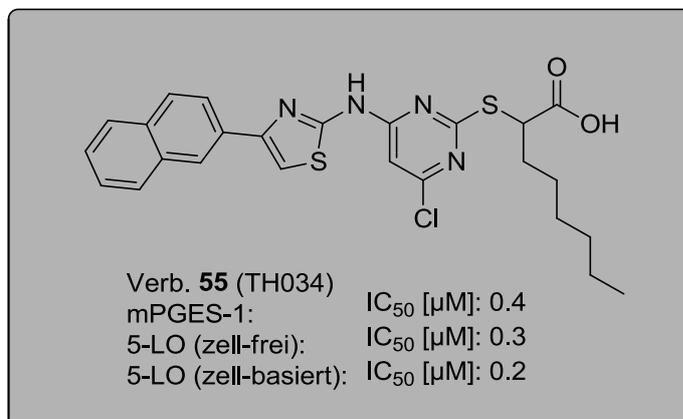
Standardgemäß wurden die Substanzen ebenso in intakten Zellen (PMNL) auf ihre Eigenschaft, die Leukotrienbildung zu inhibieren, untersucht. Einige in der Literatur beschriebene Substanzen erwiesen sich zwar als potent gegenüber der aufgereinigten 5-LO, zeigten dann aber im zellulären Assaysystem keine Inhibierung der Leukotrienbildung. Dies kann mehrere Gründe haben, wie zum Beispiel eine

gehinderte zelluläre Permeabilität, Instabilität der Testsubstanzen im zellulären Kontext oder die Konkurrenz der Substanzen mit endogenen zellulären Faktoren (wie zum Beispiel das Substrat oder Phospholipide). [154], [153]. Von den vorgestellten Aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivaten waren alle Verbindungen in der Lage die Leukotrienbildung auch im zellulären Kontext zu inhibieren, abgesehen von Verb. **66** und **75**, die auch keine Inhibition der Leukotrienbildung im zellfreien Assay gezeigt haben. Lediglich Verbindung **3** und **74** waren geringfügig schlechter im zellulären Kontext als an der partiell aufgereinigten 5-LO. Die meisten Substanzen erwiesen sich sogar als potenter im zellbasierten Assay als im zellfreien. Die potentesten Verbindungen im zellulären 5-LO Assay waren **52**, **55**, **68** und **71** mit einem IC_{50} von je 0.2 μ M. Die größte Diskrepanz zwischen der zellulären und zellfreien Leukotrienbildung Inhibition war hingegen bei den Verbindungen **52**, **68** und **71** zu beobachten, die um einen Faktor 8–15 potenter waren im zellulären Assay.

Weitere *in vitro* pharmakologische und pharmakokinetische Charakterisierung der Verbindung **55** (TH034)

Verb. **55** (TH034) erwies sich zum einen als etwa äquipotent und das nicht nur im zellbasierten und zellfreien 5-LO Assay, sondern auch an der mPGES-1 mit IC_{50} -Werten zwischen 0.2–0.4 μ M. Zudem stellt sie mit die potenteste Verbindung in allen drei vorgestellten Assaysystemen dar, so dass sie für eine weitergehende *in vitro* pharmakologische und pharmakokinetische Charakterisierung ausgesucht wurde. Als Resultat aus der in Schema 1 vorgestellten Synthese handelt es sich bei allen vorgestellten Pirinixinsäurederivate um Racemate. Im Arbeitskreis von Prof. Dr. Michael Lämmerhofer erfolgte daraufhin die Trennung der Enantiomere, um die einzelnen Enantiomere bezüglich ihrer Aktivität in den drei Assaysystemen zu untersuchen. Als Resultat hat sich gezeigt, dass keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der Potenz zwischen dem *R*- (**55-R**) und dem *S*-Enantiomer (**55-S**) zu detektieren war. Dieses Ergebnis steht auch im Einklang mit der Erkenntnis von vorherigen Arbeiten [216]. Ebenso wurde die Substanz im Arbeitskreis von Prof. Dr. Oliver Werz auf weitere Schlüsselenzyme innerhalb der Arachidonsäurekaskade untersucht, mit dem Ergebnis, dass sie weder die 12- oder 15-LO wesentlich inhibiert noch die COX-1 bzw. COX-2. Ebenso zeigt die Substanz keinen Einfluss auf die

5-LO Translokation und inhibiert die Leukotrienbildung in einem LPS-fMLP stimulierten 5-LO Assay mit einem IC_{50} von 0.7 μ M (siehe Abb. 11).



Zellulärer Kontext Verb. **55** (TH034):

PG-Pathway:

COX-1: 40 % Inhibition @ 10 μ M

COX-2: Keine Inhibition @ 10 μ M

LT-Pathway:

5-LO fMLP --> Phosphorylierung: IC_{50} [μ M]: 0.7

5-LO Translokation: -> Keinen Einfluss

12-LO: Keine Inhibition @ 10 μ M (r.a. 168+/-46%)

15-LO: Keine Inhibition @ 10 μ M (r.a. 84+/-19%)

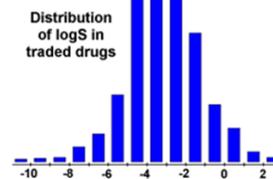
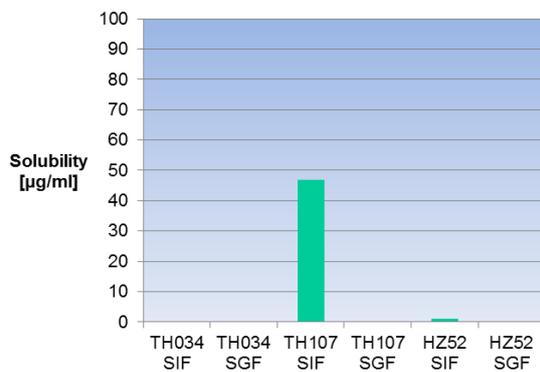
Abb. 11: Zusammenfassung der *in vitro* pharmakologischen Charakterisierung der Verbindung **55** (TH034).

Neben der Verb. **55** (TH034), als Vertreter der 4-monosubstituierten aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate, wurde ebenso Verb. **67** (TH037), als Vertreter der 4,5-disubstituierten aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate hinsichtlich ihrer metabolischen Stabilität untersucht. Als Referenzsubstanz diente 7-Ethoxycoumarin. Als Resultat hat sich gezeigt, dass beide Derivate (10 μ M) nach 1 h Inkubation mit einem aktivierten Lebermikrosomenmix zum einem metabolisch stabil gegenüber einer Phase-I-Reaktion sind (77% für Verb. **55**, 74% für Verb. **67**), im Gegensatz zur Referenzsubstanz. Zum Anderen lässt sich ebenso erkennen, dass für die metabolische Stabilität das Substitutionsmuster am Thiazolring (4-mono- vs. 4,5-disubstituiertes Derivat) keinen wesentlichen Einfluss hat. [229]

Die Untersuchung der Löslichkeit wurde neben der Verb. **55** (TH034) auch an der Verb. **74** (TH107) bestimmt, um den direkten Einfluss der *n*-Alkylkette zu ermitteln. Die Bestimmung der Löslichkeit wurde in zwei verschiedenen Medien durchgeführt. Einer SGF-Lösung bei pH 1,2 (simulated gastric fluid) und einer SIF-Lösung bei pH 6,8 (simulated intestinal fluid). Verb. **55** (TH034) erwies sich als unlöslich in beiden Medien bis zu einem LOD von 50 ng/mL. Verb. **74** (TH107) war in der SGF-Lösung ebenso unlöslich bis zu einem LOD von 50 ng/mL, zeigte jedoch in der SIF-Lösung eine gute Löslichkeit von bis zu 47 µg/mL (siehe Abb. 12). Das entspricht einer Löslichkeit von 102 µM und einem logS von -3.99. Das sind Werte, die man auch typischerweise von Arzneistoffen erhält (siehe Abb. 12, rechts) [231].

Löslichkeitsstudie:

SGF-Lösung bei pH 1,2 (simulated gastric fluid)
SIF-Lösung bei pH 6,8 (simulated intestinal fluid)



HZ52 in SIF: 1 µg/mL
HZ52 in SGF: unterhalb des LOD (50 ng/mL)

TH34 in SIF: unterhalb des LOD (50 ng/mL)
TH34 in SGF: unterhalb des LOD (50 ng/mL)

TH107 in SIF: 47 µg/mL → Sol. (TH107 in SIF): 102 µM → logS (TH107 in SIF): -3.99
TH107 in SGF: unterhalb des LOD (50 ng/mL)

Abb. 12: Löslichkeitsuntersuchungen der Verbindungen **55** (TH034), **74** (TH107) und **45** (HZ52). Rechte Abbildung aus [232]: Verteilungsmuster der logS-Werten von zugelassenen Arzneistoffen; mehr als 80% der zugelassenen Arzneistoffe haben einen logS-Wert größer gleich -4.

Zur Bestimmung der hypothetischen Bindemodi der Verb. **55** (TH034) an beiden Enzymen, wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Gisbert Schneider jeweils eine Docking-Pose erstellt. Die Abbildungen 13a/b und 14a/b geben den hypothetischen Bindemodus der Verb. **55** (TH034) mit dem jeweils größten Docking-Score wieder.

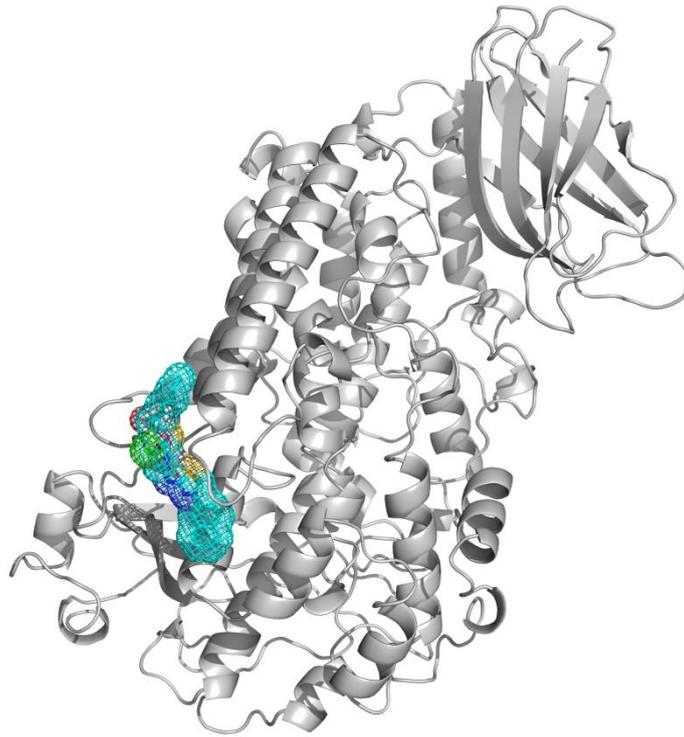


Abb. 13a: Hypothetischer Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an der 5-LO (PDB ID: 3O8Y). Erstellt von Jens Kunze und Max Pillong.

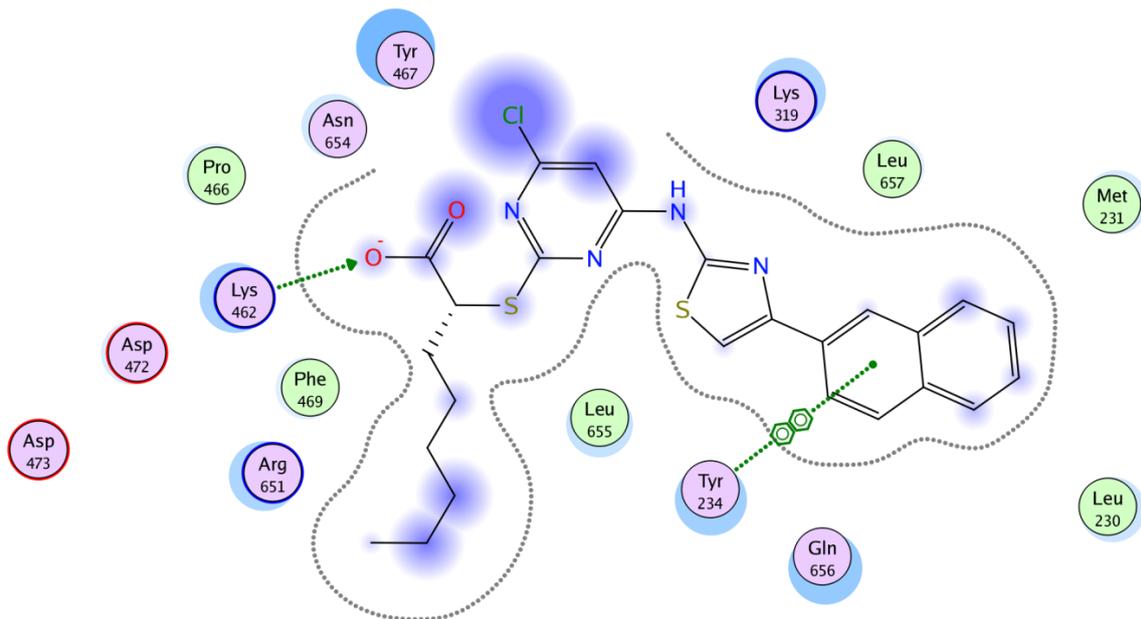


Abb. 13b: Zweidimensionale Ansicht der möglichen Interaktion der Verb. **55** (TH034) mit den Aminosäuren der 5-LO (PDB ID: 3O8Y). Docking erstellt von Jens Kunze und Max Pillong, Bild erstellt mit MOE von Roberto Carrasco Gomez.

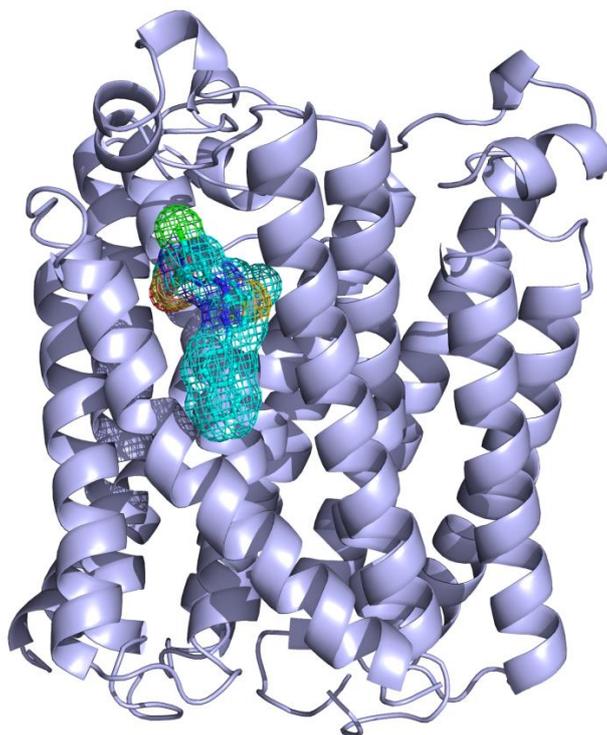


Abb. 14a: Hypothetischer Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an der mPGES-1 (PDB ID: 4AL0).
Erstellt von Jens Kunze und Max Pillong.

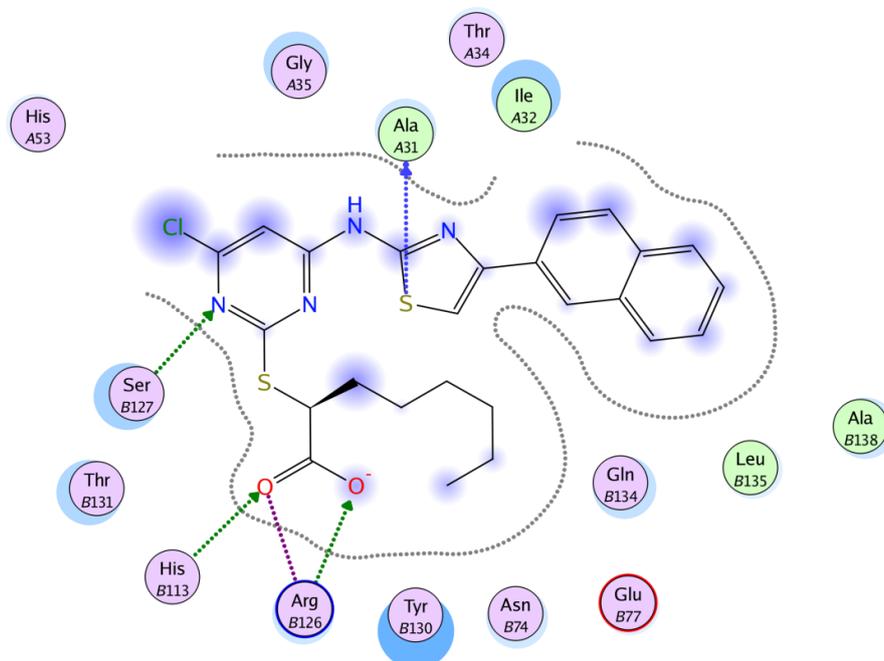


Abb. 14b: Zweidimensionale Ansicht der möglichen Interaktion der Verb. **55** (TH034) mit den Aminosäuren der mPGES-1 (PDB ID: 4AL0). Docking erstellt von Jens Kunze und Max Pillong, Bild erstellt mit MOE von Roberto Carrasco Gomez.

Der mögliche Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an der 5-LO ist gemäß dem Docking an der Spitze der katalytischen Domäne, wohingegen an der mPGES-1 die Verbindung zwischen zwei Helices im aktiven Zentrum an der Stelle des Kofaktors Glutathion lokalisiert ist. [229]

Analog dazu wurde ein zweiter Docking-Ansatz unternommen, bei dem die Bindetaschen der beiden Enzyme aufgrund ihrer topologischen und physikochemischen Eigenschaften miteinander verglichen wurden. An den Bindetaschen mit der größten Übereinstimmung wurde die Verb. **55** (TH034) erneut gedockt, allerdings insgesamt mit niedrigeren Dockingscores. Demnach wäre der Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an der mPGES-1 an einer Seitentasche des aktiven Zentrums (siehe Abb. 15). Die Inhibition der mPGES-1 durch die TH034 bei verschiedenen Substrat Konzentrationen (PGH_2 1 μM bis 100 μM) wurde nicht wesentlich beeinflusst, was den allosterischen Bindemodus an der mPGES-1 befürwortet [229]. An der 5-LO wäre der Bindemodus der TH034 gemäß diesem Docking an einem Tryptophanrest (W13) der C2-like domain (siehe Abb. 15), was in Einklang steht mit der Erkenntnis, dass eine Mutation an dieser Position die katalytische Aktivität der 5-LO deutlich vermindert (siehe Kapitel 2.1.1.). Der genaue Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an beiden Enzymen steht allerdings noch aus.

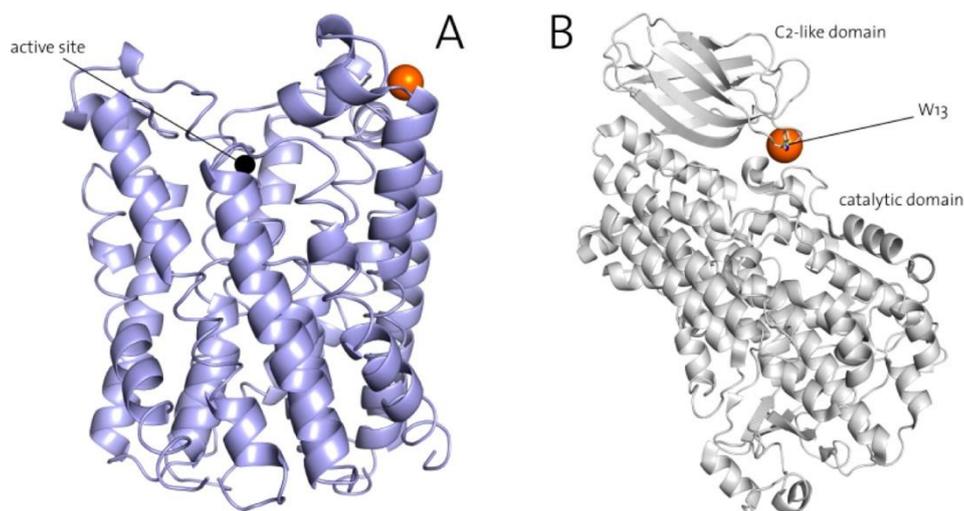


Abb. 15: A: Hypothetischer Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an der mPGES-1 (PDB ID: 4AL0). B: Hypothetischer Bindemodus der Verb. **55** (TH034) an der 5-LO (PDB ID: 3O8Y). Erstellt von Jens Kunze und Max Pillong.

In vivo pharmakologische Charakterisierung der Verb. **55** (TH034)

Nach der Erhebung der *in vitro* pharmakologischen und pharmakokinetischen Daten wurden die antientzündlichen Eigenschaften der Verb. **55** (TH034) in einem Zymosan-induzierten Peritonitis Modell an Mäusen untersucht. Verb. **55** (TH034) zeigte dabei eine deutliche Reduktion der LTC₄ (84%) und PGE₂ (46%) Spiegel im Vergleich zum Vehikel (2% DMSO). Ebenso ließ sich auch eine Reduktion der vaskulären Permeabilität (57%) sowie eine Inhibierung der Infiltration von neutrophilen Granulozyten in das entsprechende Gewebe (45%) detektieren. [229]

3.3.2. SAR der Benzensulfonamidderivate

Leitstruktur dieser Substanzklasse stellt die Verb. **4** (FR4) dar. In einem virtuellen Screening Ansatz hat sie sich als Hit ergeben, als selektiver mPGES-1-Inhibitor mit einem IC₅₀ an der humanen mPGES-1 von 13.81 µM [227].

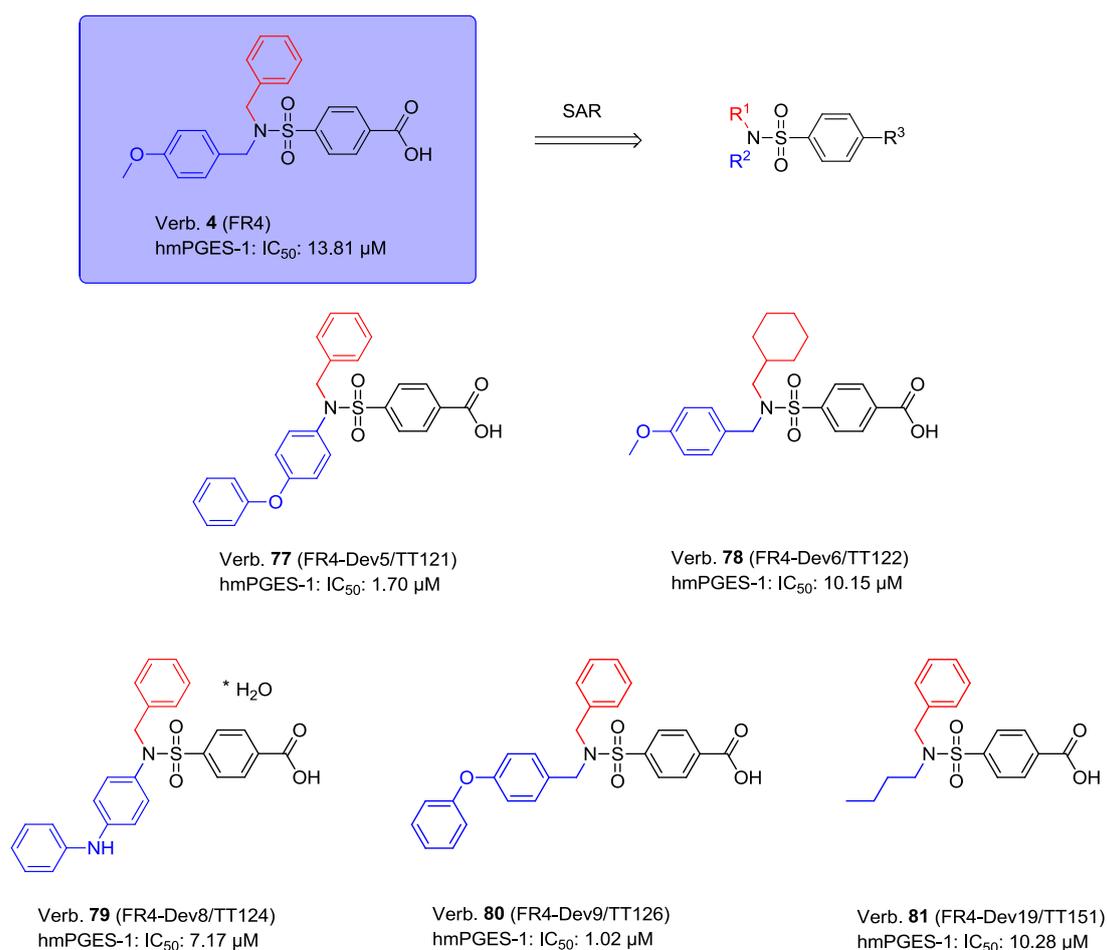


Abb. 16: Überblick der Leitstruktur FR4 (Verb. **4**) und ihrer durchgeführten SAR, an den drei beschriebenen Resten, sowie erste von Dr. Theresa Thieme durchgeführte Optimierungen.

Unter Beibehaltung des Benzensulfonamid-Strukturelementes sollte die Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen in drei Richtungen erfolgen. Rest 1: Variation an der Benzylgruppe; Rest 2: Variation an der 4-Methoxybenzylgruppe; und Rest 3: Variation an der Benzoesäure. Initiale Arbeiten zu diesem Projekt wurden von Dr. Theresa Thieme durchgeführt. Als potenteste Vertreter sind dabei insbesondere die beiden Phenoxyderivate (Verb. **77** und Verb. **80**) hervorgegangen (siehe Abb. 16). Verb. **80** (FR4-Dev9) mit dem zusätzlichen Methylenlinker zwischen dem Phenoxyrest zeigte sich dabei als potentester Vertreter mit einem IC_{50} von 1.02 μ M.

Trotz der besseren Pharmakodynamik von Verb. **80** (FR4-Dev9) sollte zunächst eine weitere Optimierung an der Benzylgruppe (Rest 1) unter Beibehaltung des 4-Methoxybenzylrestes in Verb. **4** (FR4) erfolgen. Der Methoxyrest zeigt gegenüber einem Phenoxyrest eine vermutlich bessere Drug-Likeness, aufgrund des kleineren Molekulargewichts, der geringeren Lipophilie und der damit verbundenen besseren Löslichkeit (siehe Abb. 17).

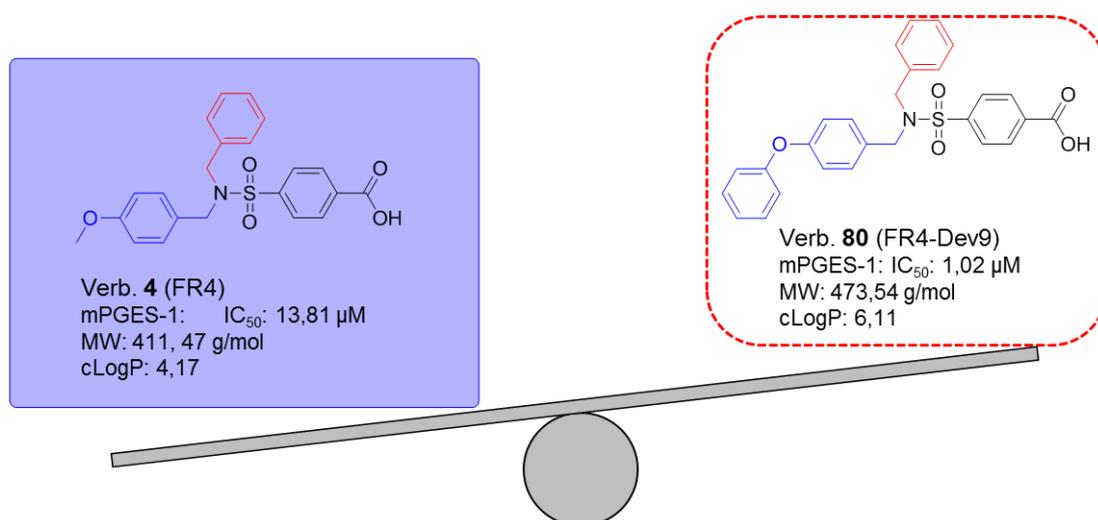
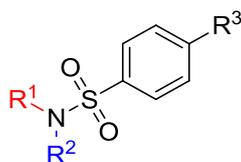


Abb. 17: Abwägung der pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften des Methoxyderivates (Verb. **4**) und des Phenoxyderivates (Verb. **80**).

Aus diesen Beweggründen wurden in einer ersten Serie der Benzensulfonamide unter Beibehaltung des 4-Methoxybenzylrestes Variationen am Rest 1 vorgenommen durch Austausch des Phenylrestes mit verschiedenen Heterocyclen (siehe Tab. 8). Allerdings zeigten weder das Thiophen-3-yl- (Verb. **82**, 11.9% Inhibition @ 5 μ M), noch das Furan-3-yl- (Verb. **83**, 14.2%) oder das 4-Methylthiazol-2-ylderivat

(Verb. **84**, 2,9%) eine Zunahme der mPGES-1 Inhibition gegenüber der Leitstruktur **4** (FR4). Ebenso sollten innerhalb dieser ersten Serie, unter Beibehaltung des 4-Methoxybenzylrestes, verschiedene Benzonitril-derivate untersucht werden in Analogie zu den in den Phenanthrenimidazolen (Verb. **30**, **31** und **32**) vorkommenden Mustern.

Tabelle 8: *In vitro* pharmakologische Charakterisierung an der 5-LO und der mPGES-1, der Serie 1 der Benzensulfonamide unter Beibehaltung eines 4-Methoxybenzyl- bzw. 4-Phenoxybenzylrestes.



Substanz				Inhibition mPGES-1		IC ₅₀ [μM] 5-LO Zell-frei
	R ¹	R ²	R ³	@ 5 μM	IC ₅₀ [μM]	
4 (FR4/ TH038)			-COOH	39.9±8.6%	13.81	n.b.
82 (TH043/ FR4-Dev22)			-COOH	11.9±1.5%	n.b.	n.b.
83 (TH047/ FR4-Dev25)			-COOH	14.2±9.8%	n.b.	n.b.
84 (TH052/ FR4-Dev23)			-COOH	2.9±6.6%	n.b.	n.b.
85 (TH061/ FR4-Dev24)			-COOH	6.0±3.7%	n.b.	n.b.
86 (TH067/ FR4-Dev26)			-COOH	≤0±8.0%	n.b.	n.b.
87 (TH082/ FR4-Dev27)			-CN	1.0±7.8%	n.b.	n.b.

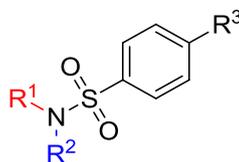
Die Daten sind angegeben als Mittelwerte ± SEM aus mindestens 3 voneinander unabhängigen Versuchen. n.b. = nicht bestimmt.

Allerdings zeigt weder das 3-Cyanophenyl- (Verb. **85**) noch das 4-Cyanophenylderivat (Verb. **86**) eine wesentliche Inhibition. Ebenso zeigte auch der Austausch der Säuregruppe durch eine Cyanogruppe (Verb. **87**), diesmal unter Beibehaltung des potenteren Phenoxyrestes, eine totale Reduktion der mPGES-1 Inhibition, was in Einklang mit dem Pharmakophormodell und der Notwendigkeit der aciden Kopfgruppe steht.

Zeitgleich mit den Ergebnissen aus dieser ersten Serie kamen auch die Ergebnisse aus den Vollblutversuchen, in denen Verb. **78** (FR4-Dev6) deutlich potenter war in der Reduktion der PGE₂ Level, als die beiden Phenoxyderivate (Verb. **77** und **80**) [227]. Dementsprechend sollten in dieser zweiten Serie der Benzensulfonamide Variationen an Rest 2, dem 4-Methoxybenzylrest, vorgenommen werden unter Beibehaltung des Cyclohexylmethylrestes aus Verb. **78** (FR4-Dev6). Im Gegensatz zu der ersten Serie wurde in dieser zweiten Serie weniger Wert auf die Drug-Likeness gelegt. Der 4-Methoxybenzylrest wurde durch große lipophile Reste wie dem Biphenylmethylrest (Verb. **88**) oder erneut durch das entsprechende Phenoxyderivat (Verb. **89**) substituiert. Beide Verbindungen zeigten eine drastische Senkung des IC₅₀-Wertes (Verb. **88** = 0.8 µM, Verb. **89** = 0.54 µM) im Vergleich zur Ausgangssubstanz Verb. **78** (FR4-Dev6, IC₅₀ = 10.15 µM). Ebenso lässt sich erkennen, dass die Kombination aus dem Phenoxyrest (Verb. **80**) und dem Cyclohexylrest (Verb. **78**), in Verb. **89** die Potenz nochmal um circa einen Faktor 2 verbessert werden konnte im Vergleich zur Verb. **80** (FR4-Dev9). Diese Erkenntnis steht im Einklang mit den vorherigen Befunden (**4** vs **78**), dass ein Cyclohexylmethylrest in der Position R₁ zu einer stärkeren Inhibition führt als der Benzylrest. Neben der Vergrößerung des lipophilen Raumes durch aromatische Systeme (Biphenyl- **88** und Phenoxyrest **89**) wurden ausserdem verschiedene halogenierte Benzylderivate synthetisiert, insbesondere chlorierte Derivate, die sich auch in den aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivaten als potente mPGES-1-Inhibitoren gezeigt haben (z. B. in Verb. **3**, **60** oder **62**). Die Substitution der 4-Methoxygruppe in Verb. **78** (FR4-Dev6) durch das entsprechende 4-Chlorderivat (Verb. **90**), konnte die Potenz um circa einen Faktor 5 steigern. Die zweifach halogenierten Derivate (Verb. **91**, **92** und **93**) waren erneut circa um einen Faktor 2 potenter, als das entsprechende einfach chlorierte Derivat (Verb. **90**), kamen in ihrer

Potenz, die mPGES-1 zu inhibieren, jedoch nicht ganz an das entsprechende Phenoxyderivat (Verb. **89**) heran.

Tabelle 9: *In vitro* pharmakologische Charakterisierung an der mPGES-1 und der 5-LO, der Serie 2 der Benzensulfonamide unter Beibehaltung eines Cyclohexylmethylrestes.



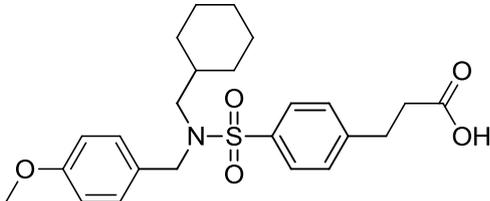
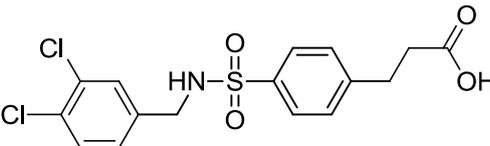
Substanz				Inhibition mPGES-1		IC ₅₀ [μM] 5-LO Zell-frei
	R ¹	R ²	R ³	@ 5 μM	IC ₅₀ [μM]	
78 (FR4-Dev6/ TT122/ TH119)			-COOH	67.9±3.4%	10.2	n.b.
88 (TH108/ FR4-Dev28)			-COOH	76.0±0.6%	0.8	n.b.
89 (TH133/ FR4-Dev30)			-COOH	79.2±2.5% ^a	0.53± 0.05 ^b	3.67± 0.62 ^b
90 (TH129/ FR4-Dev29)			-COOH	48.4±5.4% ^a	1.88± 0.13 ^b	RA 82.5± 10.4% ^b
91 (TH132)			-COOH	n.b.	0.71±0.00	8.76±0.98
92 (TH141)			-COOH	n.b.	0.97±0.14	6.69±0.25
93 (TH142)			-COOH	n.b.	0.87±0.24	RA 90.7± 7.8%
94 (TH151)			-COOH	n.b.	n.b.	n.b.

Die Daten sind angegeben als Mittelwerte ± SEM aus mindestens 3 voneinander unabhängigen Versuchen. n.b. = nicht bestimmt; RA = Restaktivität @ 10 μM; ^a = Daten erhoben von Florian Rorsch wie beschrieben [227]; ^b = Daten erhoben im Arbeitskreis Wertz wie unter Assaybeschreibung (Kapitel 3.2.) beschrieben.

Die Verbindungen **89**, **91** und **92** waren ebenso in der Lage die Leukotrienbildung im zellfreien Assay zu inhibieren mit IC_{50} -Werten zwischen 3.67 und 8.76 μM , jedoch circa um einen Faktor 7–12 schlechter als an der mPGES-1. Verbindung **93** zeigt wohl die größte Selektivität an der mPGES-1 mit einem IC_{50} von 0.87 μM und einer Restaktivität der aufgereinigten 5-LO von 90.7%.

In einer dritten Serie sollte die Drug-Likeness erneut stärker berücksichtigt werden. Dies sollte in einem zweistufigen Schritt erfolgen. Zunächst durch Kettenverlängerung des Benzoesäurederivats (Verb. **78**/FR4-Dev6) hin zu einem Arylpropionsäurederivat (Verb. **95**), ähnliches Motiv wie es bei den Indolpropionsäurederivaten zu finden ist (Verb. **25** und **26**). In einem zweiten Schritt sollte dann der lipophile Cyclohexylmethylrest eliminiert werden, hin zu einem sekundären Benzensulfonamidderivat (Verb. **96**), diesmal mit dem potenteren 3,4-Dichlorbenzylrest. Jedoch zeigten beide Substanzen (Verb. **95** und **96**) nur eine geringe Inhibition der mPGES-1 bei 10 μM von 42.61% respektive 12.03%, was erneut die Notwendigkeit eines großen lipophilen Restes an R_1 untermauert.

Tabelle 10: *In vitro* pharmakologische Charakterisierung an der mPGES-1 und der 5-LO, der Serie 3 der Benzensulfonamide unter Beibehaltung eines Arylpropionsäurerestes.

Substanz		Inhibition mPGES-1		IC_{50} [μM] 5-LO Zell- frei
		@ 10 μM	IC_{50} [μM]	
95 (TH145)		42.61±3.03%	n.b.	RA 77.5±7.0%
96 (TH155)		12.03±3.96%	n.b.	RA 87.8±4.2%

Die Daten sind angegeben als Mittelwerte \pm SEM aus mindestens 3 voneinander unabhängigen Versuchen. n.b. = nicht bestimmt; RA = Restaktivität @ 10 μM .

Wie in Kapitel 2 (→Einleitung; mPGES-1-Inhibitoren) dargestellt, haben viele der in Entwicklung befindlichen selektiven mPGES-1-Inhibitoren das Problem, dass sie zwar in der Lage sind, die humane mPGES-1 potent zu inhibieren, allerdings keine Wirksamkeit gegenüber der mPGES-1 der Maus oder der Ratte gezeigt haben. Pawelzik *et al.* haben erstmals den Spezies Unterschied in ihren Arbeiten beschrieben und konnten dafür hauptsächlich drei AS verantwortlich machen. Die AS Thr-131, Leu-135 und Ala-138 in der TM4 der humanen mPGES-1, sind in der mPGES-1 der Ratte durch die größeren und sperrigeren AS Val-131, Phe-135 und Phe-138 ausgetauscht. Diese AS wurden als Türhüter beschrieben, die den Zugang vieler Literatur bekannter mPGES-1-Inhibitoren zum aktiven Zentrum versperren, so dass sie nicht in der Lage sind die mPGES-1, dieser beiden Spezies (Ratte und Maus) zu inhibieren. [176] Weder das Phenanthrenimidazol MF63 (Verb. **30**), noch Pfizers Verbindung PF-9184 (Verb. **28**) oder die Chinazolinonderivate (Verb. **36–38**) sind in der Lage die murine mPGES-1 zu inhibieren [177], [173], [181]. Motiviert von diesem bisher ungedeckten medizinischen Bedürfnis, wurde die Leitstruktur der Benzensulfonamide (Verb. **4**, FR4) ebenso an der murinen mPGES-1 in zwei verschiedenen Zelllinien (RAW und NIH Zellen) getestet. Sie zeigte bei 5 µM eine schwache Inhibierung beider muriner Enzyme (29.8% respektive 10.6%). Diese Inhibition bei 5 µM der murinen mPGES-1 konnte in Verbindung **88** optimiert werden (44.4% respektive 51.9% Inhibition) [227]. Die Testung weiterer, potenterer Benzensulfonamide (Verb. **89–93**) an der murinen mPGES-1 steht noch aus.

4. Zusammenfassung

Die Behandlung chronisch entzündlicher Erkrankungen stellt nach wie vor eine Herausforderung dar, sowohl in Bezug auf die Effektivität der eingesetzten Arzneimittel als auch in deren Sicherheit. Um eine chronische entzündliche Erkrankung adäquat zu therapieren, benötigt man in der Regel eine Langzeit-Therapie mit antientzündlich wirksamen Arzneimitteln. Jedoch sind die am häufigsten eingesetzten antientzündlich wirksamen Arzneistoffe, also sowohl die Glucocorticoide, mit ihren pleiotropen antientzündlichen Effekten, als auch die Arzneistoffklasse der NSAIDs, für eine Langzeittherapie ungeeignet, aufgrund ihres unerwünschten Arzneimittelwirkungsprofils. Dementsprechend ist die zwingende Konsequenz neue pharmakologische Optionen zu verfolgen, um dieses ungedeckte medizinische Bedürfnis zu stillen.

Während dieser Arbeit wurden die Struktur-Wirkungsbeziehungen zweier verschiedener Substanzklassen untersucht, mit ihrem Potential entweder dual die 5-Lipoxygenase (5-LO) und die mikrosomale Prostaglandine E₂ Synthase-1 (mPGES-1) zu inhibieren, oder aber selektiv die mPGES-1 zu inhibieren. Beide Optionen stellen neuartige Ansätze für die Entwicklung neuer antientzündlicher Wirkstoffe dar, jedoch hat es bis dato weder ein dualer 5-LO/mPGES-1-Inhibitor noch ein selektiver mPGES-1-Inhibitor bis zur Zulassung auf den Arzneimittelmarkt geschafft. Diese Arbeit soll dazu beitragen neuartige Substanzen zu identifizieren und deren pharmakologische Aktivität an den beiden genannten Enzymen zu charakterisieren.

Die erste Substanzklasse, deren Struktur-Wirkungsbeziehungen während dieser Arbeit untersucht wurden, gehört zu den Pirinixinsäure-Derivaten. Die Pirinixinsäure selbst ist inaktiv sowohl an der mPGES-1 als auch an der 5-LO und initiale Arbeiten haben gezeigt, dass insbesondere ein *n*-Hexylrest in α -Position zu der Carbonsäure zu einer dualen Inhibition geführt hat [216]. Während dieser Arbeit ist es gelungen, den ursprünglichen ersten dualen 5-LO/mPGES-1-Inhibitor mit einem Pirinixinsäure-Grundgerüst (Verb. **2**, YS121, IC₅₀: 5-LO (purif.) = 6.5 μ M, mPGES-1 = 3.9 μ M), durch Austausch der Xylidin-Einheit mit einem 4-(Naphthalen-2-yl)thiazol-2-amin Gerüst in Verb. **55** (TH034, IC₅₀: 5-LO (purif.) = 0.3 μ M, mPGES-1 = 0.4 μ M) um einen Faktor 10 an der mPGES-1 und einen Faktor 22 an der partiell aufgereinigten

5-LO zu optimieren. Gleichzeitig stellt die Verbindung **55** (TH034) den potentesten dualen 5-LO/mPGES-1-Inhibitor innerhalb der Pirinixinsäure-Derivate dar. Zusätzlich weist die TH034 (Verb. **55**), im Gegensatz zu vielen anderen Pirinixinsäurederivaten, keine Diskrepanz mehr zwischen der zellbasierten und zellfreien Leukotrien-Bildung Inhibition auf, so dass man davon ausgehen kann, dass die LT-Bildung Inhibition hauptsächlich auf einer Inhibition der 5-LO beruht. Durch die Aufstellung der Struktur-Wirkungsbeziehungen (siehe Abb. 18) konnte gezeigt werden, dass insbesondere das 4-(Naphthalen-2-yl)thiazol-2-amin Gerüst in der Lage war beide Enzyme gleichermaßen potent zu inhibieren.

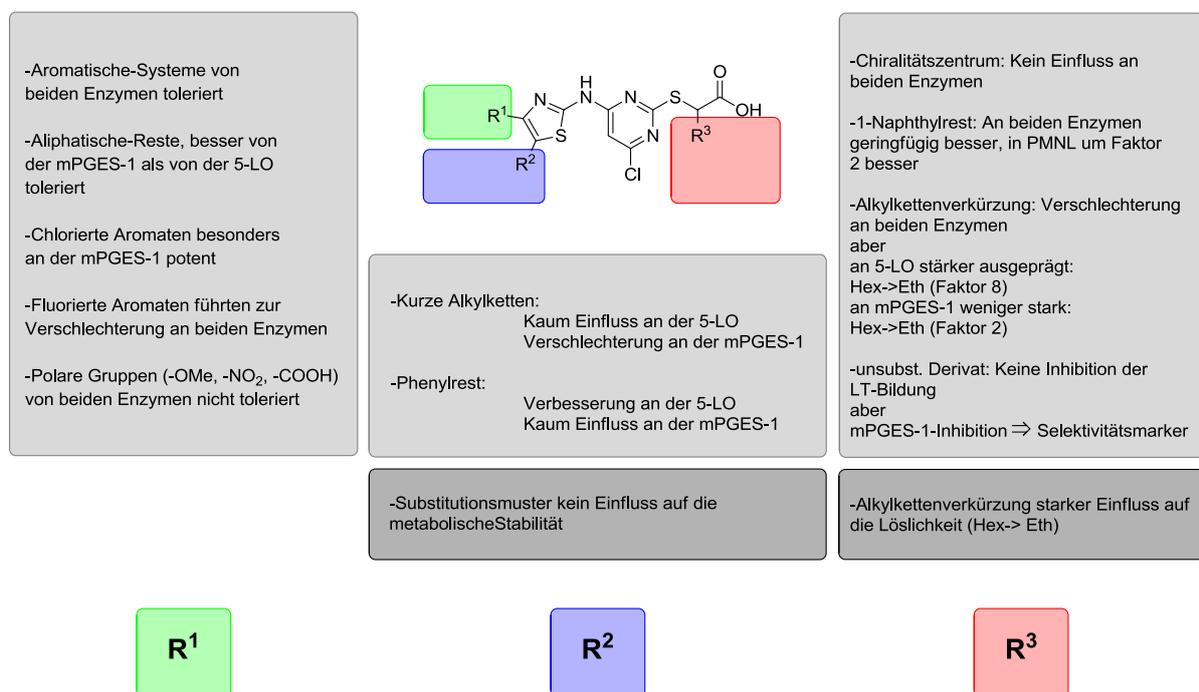


Abb. 18: Zusammenfassung der SAR, der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate; Hellgrau = pharmakodynamische Daten; dunkelgrau = pharmakokinetische Daten.

Durch diese Optimierung des lipophilen Rückraums ist es gelungen, auf den sperrigen *n*-Hexylrest in α -Position zu verzichten und mit dem kürzeren *n*-Ethylderivat (Verb. **74**, TH107, IC₅₀: 5-LO (purif.) = 2.0 μ M, mPGES-1 = 1.4 μ M) eine Verbindung zu identifizieren, die immer noch um circa einen Faktor 3 potenter gegenüber dem YS121 (Verb. **2**) ist und nur geringfügig weniger potent an der partiell aufgereinigten 5-LO ist, gegenüber dem HZ52 (Verb. **45**, IC₅₀: 5-LO (purif.) = 1.5 μ M, mPGES-1 = 1.6 μ M). Durch die Reduktion der *n*-Alkylkette lässt sich die Lipophilie der Substanzen stark reduzieren, so dass die Löslichkeit der TH107 (Verb.

74, 47 µg/mL) in einer SIF-Lösung wesentlich verbessert werden konnte gegenüber den beiden *n*-Hexylderivaten TH034 (Verb. **55**, < 50 ng/mL) und HZ52 (Verb. **45**, 1 µg/mL). Eine ebenso interessante Erkenntnis aus der SAR ist der Befund, dass das α -unsubstituierte Derivat (Verb. **75**, TH012, IC₅₀: 5-LO (purif.) > 10 µM, mPGES-1 = 2.3 µM) immer noch in der Lage ist, die mPGES-1 potenter zu inhibieren als die YS121 (Verb. **2**). Die Pirinixinsäure (Verb. **1**) hingegen ist bis zu 10 µM an beiden Enzymen inaktiv. Dies hebt erneut die Potenz des 2-Aminothiazolgerüsts an der mPGES-1 hervor und gibt in Verbindung **75** gleichzeitig die Möglichkeit eines Selektivitätsmarkers, weg von der dualen 5-LO/mPGES-1 Inhibition hin zu einer selektiven mPGES-1 Inhibition. Für das potenteste Derivat (Verb. **55**, TH034) konnte ebenso gezeigt werden, dass die Stereochemie keinen wesentlichen Einfluss auf die Inhibition der beiden Enzyme hat. Ebenso war die TH034 (Verb. **55**) nicht in der Lage weder die 12-LO oder die 15-LO Produkt-Bildung zu inhibieren, noch die COX-1 oder die COX-2 wesentlich zu hemmen, was für die Selektivität der Inhibition gegenüber der 5-LO und der mPGES-1 spricht. Die Substanz erwies sich als metabolisch stabil gegenüber einer Phase-I-Reaktion mit bis zu 77% Wiederfindung nach einer Stunde Inkubationszeit mit aktivierten Lebermikrosomen. Nach der Erhebung der *in vitro* pharmakologischen und pharmakokinetischen Daten wurden die antientzündlichen Eigenschaften der TH034 (Verb. **55**) ebenso *in vivo* in einem Zymosan-induzierten Peritonitis-Modell an Mäusen untersucht. Verb. **55** zeigte dabei, dass sich die *in vitro* pharmakologischen Daten ebenso *in vivo* bestätigen konnten, durch eine Reduktion der LTC₄ (84%) und PGE₂ (46%) Spiegel bei einer Konzentration von 10 mg/kg.

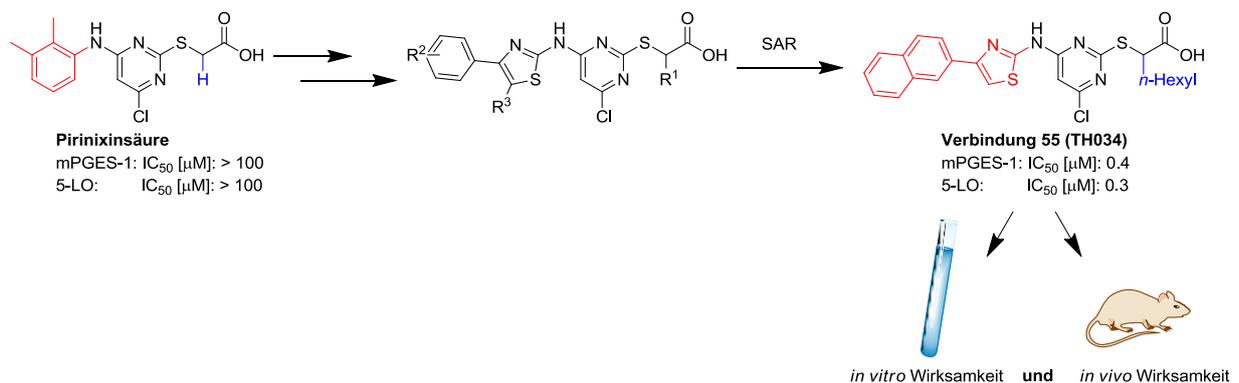


Abb. 19: Entwicklung von der inaktiven Pirinixinsäure bis zu der Verbindung **55** (TH034) und deren *in vitro* und *in vivo* pharmakologischen Charakterisierung.

Die zweite Substanzklasse, deren Struktur-Wirkungsbeziehungen während dieser Arbeit untersucht wurden, sind die Benzensulfonamide als selektive mPGES-1-Inhibitoren. Die Leitstruktur dieser Substanzklasse (Verb. **4**, FR4) entstammt einem virtuellen Screening Ansatz und ist in der Lage die humane mPGES-1 mit einem IC_{50} von 13.81 μ M zu inhibieren. Die Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen hat gezeigt, dass in Position R_1 (siehe Abb. 20) ein aliphatischer Cyclohexylmethylrest die mPGES-1 potenter inhibieren konnte als Benzylderivate, bzw. Heteroarylmethylderivate.

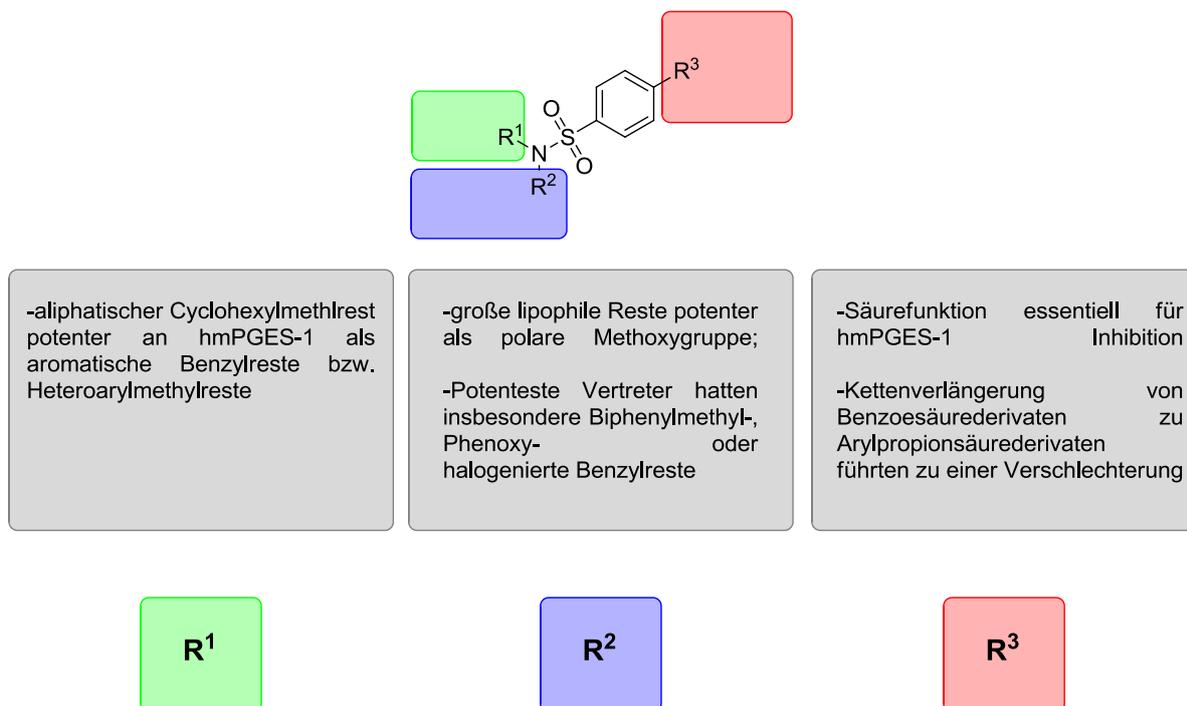


Abb. 20: Zusammenfassung der SAR, der Benzensulfonamide.

An Position R_2 haben sich ähnlich wie bei den aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivaten, insbesondere große lipophile Reste, wie ein Biphenylmethylrest (Verb. **88**), einem Phenoxyrest (Verb. **89**) oder aber auch den halogenierten Benzylresten (Verb. **90–93**), als potenter erwiesen gegenüber der polareren Methoxygruppe in FR4 (Verb. **4**), respektive Verb. **78**. Ebenso konnte die Notwendigkeit der Carbonsäurefunktion in Position R_3 gezeigt werden, sowie die Begünstigung der Benzoesäurefunktion gegenüber der Arylpropionsäurefunktion in Verbindung **95** und **96**. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Kombination

dieser Befunde die Leitstruktur FR4 (Verb. **4**) sich in Verb. **89**, dem potentesten Vertreter dieser Benzensulfonamide, um einen Faktor 26 steigern ließ, mit einem IC_{50} von $0.53 \mu\text{M}$. Die Besonderheit dieser Benzensulfonamide als selektive mPGES-1-Inhibitoren liegt in der Erkenntnis, dass einzelne Vertreter in der Lage sind, neben der humanen mPGES-1 auch die murine mPGES-1 zu inhibieren. Dies stellt ein Novum der bisher in der Literatur bekannten mPGES-1-Inhibitoren dar, da bisher kaum Substanzen charakterisiert sind, die diese duale Spezies Inhibition besitzen. Die Benzensulfonamidderivate als selektive mPGES-1-Inhibitoren stellen daher einen interessanten Ansatzpunkt dar, für die weitere *in vitro* und *in vivo* pharmakologische Charakterisierung.

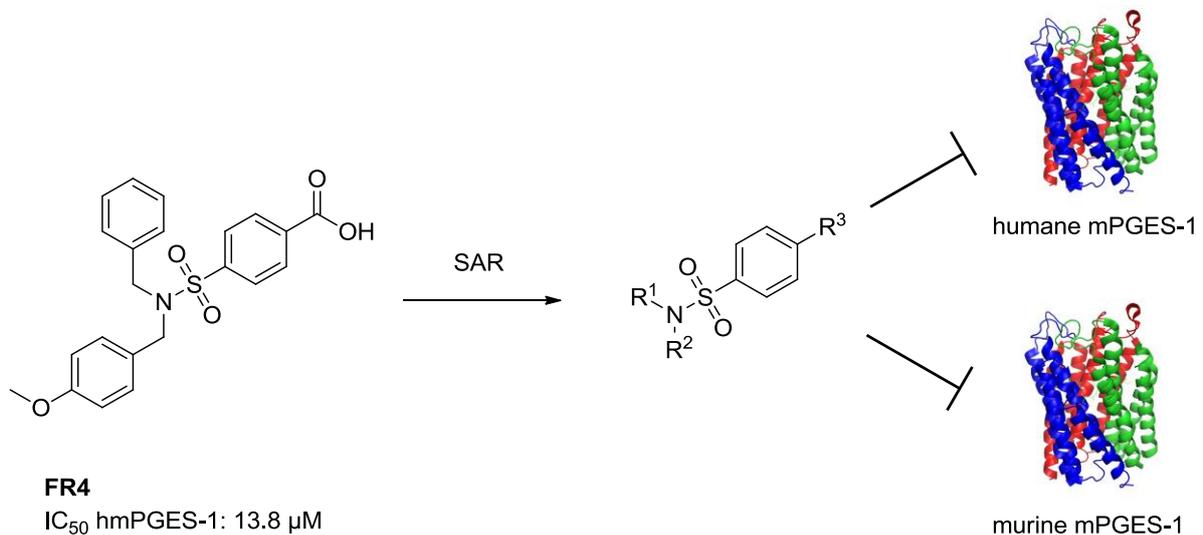


Abb. 21: Besonderheit der Benzensulfonamidderivate, dass einzelne Vertreter in der Lage sind sowohl die humane als auch die murine mPGES-1 zu inhibieren.

5. Experimenteller Teil

Alle im Kapitel 3 (Ergebnisse und Diskussion) mit „TH“ gekennzeichneten Verbindungen wurden während dieser Arbeit synthetisiert und deren Synthese und Charakterisierung werden in diesem Kapitel beschrieben.

5.1. Allgemeine Angaben

Verwendete Chemikalien:

Die als Edukte verwendeten Chemikalien wurden von den Chemikalienherstellern *Sigma-Aldrich*, *Alfa Aesar*, *Acros Organics*, *TCl Europe* oder *Apollo Scientific* bezogen und ohne weitere Aufreinigung für die Synthese verwendet. Die Lösungsmittel für die Synthesen wurden von *Sigma-Aldrich*, *Fluka*, *Acros Organics* oder *Carl Roth GmbH & Co* in p.a. Qualität ohne vorherige Absolutierung verwendet.

Dünnschichtchromatographie:

Die Dünnschichtchromatographien wurden auf DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (der Firma Merck KGaA) mit einer Schichtdicke von 200 µm oder auf DC-Fertifolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄ (der Firma Macherey-Nagel GmbH & Co. KG) mit einer Schichtdicke von 0.2 mm durchgeführt. Visualisiert wurden die DCs mit einer UV-Lampe der Wellenlänge 254 nm bzw. 366 nm oder mit Ninhydrin als Sprühreagenz.

Säulenchromatographie:

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60, der Firma Macherey-Nagel GmbH & Co. KG mit einer Partikelgröße von 0.04–0.063 mm (230–400 mesh) verwendet.

Lösungsmittel für die Chromatographie:

Als Lösungsmittel für die Chromatographie wurden *n*-Hexan, Dichlormethan, Methanol oder Ethylacetat in technischer Qualität verwendet.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR):

Die ¹H und ¹³C NMR Spektren wurden in DMSO-d₆ oder CDCl₃ an einem AM 250 (BBI-Probenkopf), DPX 250 (BBO-Probenkopf), AV 300 (BBO-Probenkopf) oder AV

400 (BBI-Probenkopf) Spektrometer der Firma Bruker bei Raumtemperatur gemessen. Als interner Standard zur Bestimmung der chemischen Verschiebung (angegeben in ppm) wurde DMSO-d₆ (¹H-NMR: 2.50 ppm; ¹³C-NMR: 39.52 ppm) oder CDCl₃ (¹H-NMR: 7.26 ppm; ¹³C-NMR: 77.16 ppm) verwendet. Die Kopplungskonstanten *J* in den ¹H-NMR Spektren wurden bestimmt und in Hertz (Hz) angegeben und beziehen sich, sofern nicht anders spezifiziert, auf die vicinale ³J_{HH}-Kopplung. Die Auswertung der NMR-Spektren erfolgte mit der Software „MestRe Nova“. Die Multiplizitäten wurden angegeben als s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett von Dublett, t = Triplet, q = Quadruplett, m = Multiplett.

Massenspektrometrie (MS):

Die Massenspektren wurden von einem Fisons Instruments VG Platform II Spektrometer (ESI-MS System) oder an einer PerSeptive Biosystems Mariner Biospectrometry Workstation (Nano-Spray ESI-MS System) erhalten. Gemessen wurde entweder im Positiv- und/oder Negativ-Ionen Modus.

Elementaranalysen (EA):

Die Elementaranalysen wurden in den Mikroanalytischen Laboren des Instituts der organischen Chemie und chemischen Biologie der Goethe-Universität an einem Foss Heraeus CHN-O-rapid elemental analyzer durchgeführt.

5.2. Synthesen der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate (Verb. 3, 51–65, 67–76)

Syntheschema 1 (siehe Kapitel 3.1.1.)

5.2.1. Synthese und Charakterisierung der Thioetherderivate (Verb. 96–98)

Stufe I: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der Thioetherderivate

Die Thiobarbitursäure (1 eq) wurde entweder unter leichtem Erwärmen (40–50 °C) in ca. 20 mL DMF gelöst und bei 90 °C erfolgte die Zugabe von Triethylamin (1.0–1.5 eq) oder aber bei Raumtemperatur in einem DMF/Wasser-Gemisch. Direkt im Anschluss erfolgte die tropfenweise Zugabe des α-substituierten Bromcarbonsäureesters (E1, 1.17–1.20 eq) und die Reaktion lief entweder bei 90 °C für 3 h oder bei RT für 24 h. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 150 mL

Wasser gequench und das Produkt wurde drei Mal mit Ethylacetat extrahiert. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde am Rotationsverdampfer unter Vakuum entfernt und das Rohprodukt direkt aus *n*-Hexan/Ethylacetat umkristallisiert, um die entsprechenden Thioetherderivate als leicht gelbliche Feststoffe zu erhalten.

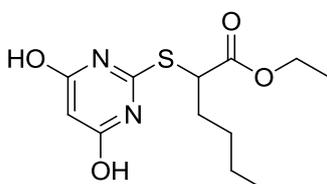
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4,6-dihydroxypyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoat **96** (TH009):



Synthese Stufe I; Thiobarbitursäure (3.57 g; 24.73 mmol), Triethylamin (5.1 mL; 36.79 mmol), Ethyl-2-brombutanoat (5.69 g; 29.17 mmol); DMF (28 mL), Reaktion: 90 °C / 3 h; Produkt: Weißlich-gelber Feststoff; Ausbeute: 21 % (1.35 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.95 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.37 Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.10 Hz), 1.78–1.98 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 4.14 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.10 Hz), 4.48 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.94 Hz), 5.23 (s, 1H, Pyr-H₅), 11.77 (s, 2H, -OH).

Charakterisierung von Ethyl-2-[(4,6-dihydroxypyrimidin-2-yl)sulfanyl]hexanoat **97** (TH160):

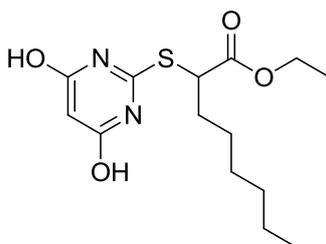


Synthese Stufe I; Thiobarbitursäure (6.02 g; 41.76 mmol), Triethylamin (5.79 mL; 41.80 mmol), Ethyl-2-bromhexanoat (10.90 g; 46.76 mmol); DMF (50 mL), Wasser (q.s.) Reaktion: RT / 24 h; Produkt: Weißlich-gelber Feststoff; Ausbeute: 54 % (6.44 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Butyl-CH₃, *J* = 6.92 Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.10 Hz), 1.29–1.35 (m, 4H, Butyl-CH₂), 1.72–1.96 (m, 2H,

Ethyl-CH₂), 4.13 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, $J = 7.07$ Hz), 4.51 (t, 1H, S-CH, $J = 7.11$ Hz), 5.23 (s, 1H, Pyr-H₅), 11.79 (s, 2H, -OH).

Charakterisierung von Ethyl-2-[(4,6-dihydroxypyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **98** (TH017):



Synthese Stufe I; Thiobarbitursäure (14.61 g; 101.35 mmol), Triethylamin (21.19 mL; 151.99 mmol), Ethyl-2-bromooctanoat (29.80 g; 118.65 mmol); DMF (75 mL), Wasser (q.s.), Reaktion: RT / 24 h; Produkt: Weißlich-gelber Feststoff; Ausbeute: 40 % (12.80 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, $J = 6.59$ Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, $J = 7.09$ Hz), 1.24–1.32 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.73–1.94 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.13 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, $J = 7.05$ Hz), 4.51 (t, 1H, S-CH, $J = 7.08$ Hz), 5.23 (s, 1H, Pyr-H₅), 11.75 (s, 2H, -OH). **¹³C-NMR (50.32 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 13.91 (O-Ethyl-CH₃), 21.89 (Hexyl-CH₂), 26.28 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 30.92 (Hexyl-CH₂), 31.59 (Hexyl-CH₂), 46.46 (S-CH), 61.07 (O-Ethyl-CH₂), 85.65 (Pyr-C₅), 162.69 (Pyr-C₂), 167.80 (Pyr-C_{4/6}), 170.87 (-COOEt). **MS (ESI+):** $m/e = 315.1$ [M + H]⁺.

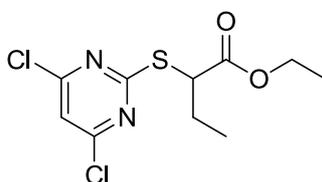
5.2.2. Synthese und Charakterisierung der chlorierten Thioetherderivate (Verb. 99–101)

Stufe II: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der chlorierten Thioetherderivate

Die Vorstufen **96–98** (1 eq) und *N,N*-Diethylanilin (1 eq) wurden in Phosphoroxchlorid (18 eq) gelöst und die Reaktion refluxierte bei 90 °C für ca. 5 h.

Am Ende der Reaktion wurde das überschüssige Phosphoroxychlorid mittels einer Vakuumdestillation entfernt. Der Rückstand wurde auf zerkleinertes Eis überführt und das Produkt wurde mit Ethylacetat (2 * 200 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde zweimal mit 2 N HCl, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt und Rohprodukt wurde weiter durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt, um die entsprechenden chlorierten Thioetherderivate zu erhalten.

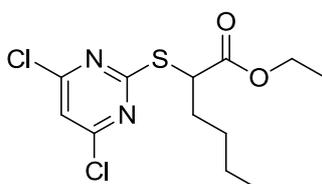
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoat **99** (TH013):



Synthese Stufe II; Verb. **96** (TH009) (1.35 g; 5.23 mmol), Phosphoroxychlorid (8.6 mL; 94.23 mmol), *N,N*-Diethylanilin (0.84 mL; 5.23 mmol); Produkt: dünnflüssiges gelbes Öl; Ausbeute: 89 % (1.37 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.01 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.38 Hz), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.10 Hz), 1.82–2.03 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.11 Hz), 4.34 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.93 Hz), 7.75 (s, 1H, Pyr-H₅). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.28 (Ethyl-CH₃), 13.93 (O-Ethyl-CH₃), 24.14 (Ethyl-CH₂), 26.30 (Hexyl-CH₂), 49.31 (S-CH), 61.13 (O-Ethyl-CH₂), 117.14 (Pyr-C₅), 160.90 (Pyr-C_{4/6}), 170.41 (-COOEt), 171.08 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 317.0 [M + Na]⁺

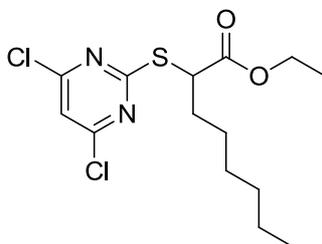
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]hexanoat **100** (TH002):



Synthese Stufe II; Verb. **97** (TH159) (1.04 g; 3.65 mmol), Phosphoroxchlorid (5.85 mL; 64.09 mmol), *N,N*-Diethylanilin (0.60 mL; 3.74 mmol); Produkt: dünnflüssiges gelbes Öl; Ausbeute: 94 % (1.10 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.88 (t, 3H, Butyl-CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.08 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 5.0 Hz), 1.37 (m, 4H, Butyl-CH₂), 1.75–1.99 (m, 2H, S-CH-CH₂), 4.14 (q, 2H, O-CH₂, *J* = 7.5 Hz), 4.35 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.5 Hz), 7.74 (s, 1H, Ph-H).

Charakterisierung von Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-ylsulfanyl)octanoat **101** (TH021):



Synthese Stufe II; Verb. **98** (TH017) (10.88 g; 34.61 mmol), Phosphoroxchlorid (58.10 mL; 636.58 mmol), *N,N*-Diethylanilin (5.55 mL; 34.59 mmol); Produkt: dünnflüssiges gelbes Öl; Ausbeute: 89 % (10.83 g).

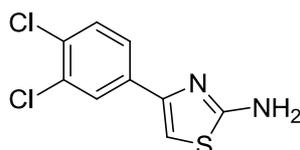
¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.56 Hz), 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.09 Hz), 1.25–1.39 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.76–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.14 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.07 Hz), 4.36 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.12 Hz), 7.75 (s, 1H, Pyr-H₅). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.80 (Hexyl-CH₃), 13.94 (O-Ethyl-CH₃), 21.86 (Hexyl-CH₂), 26.30 (Hexyl-CH₂), 27.94 (Hexyl-CH₂), 30.63 (Hexyl-CH₂), 30.83 (Hexyl-CH₂), 47.80 (S-CH), 61.17 (O-Ethyl-CH₂), 117.19 (Pyr-C₅), 160.93 (Pyr-C_{4/6}), 170.55 (-COOEt), 171.01 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 351.3 [M + H]⁺

5.2.3. Synthese und Charakterisierung der 2-Aminothiazole (Verb. 102–106)

Stufe III: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der 2-Aminothiazole

Zu einer Lösung des entsprechenden 2-Bromacetophenonderivates (E1, 1 eq) in 25 mL Methanol wurde Thioharnstoff hinzugegeben (1.5 eq) und die Reaktion wurde 3 h bei RT gerührt. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in einer 5%igen NaHCO₃-Lösung suspendiert und mit Dichlormethan (3 mal 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde weiter durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt, um die entsprechenden 2-Aminothiazole zu erhalten.

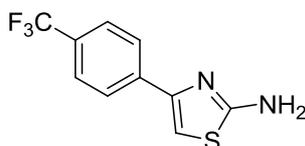
Charakterisierung von 4-(3,4-Dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin **102** (TH070):



Synthese Stufe III; E1: 2-Brom-1-(3,4-dichlorphenyl)ethanon (656 mg; 2.45 mmol), Thioharnstoff (279 mg; 3.67 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 97 % (0.58 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.16 (s, 2H, -NH₂), 7.24 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.63 (d, 1H, Ph-H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.79 (dd, 1H, Ph-H₆, *J* = 7.50 Hz), 8.02 (s, 1H, Ph-H₂).
¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 103.75 (Thiazol-C₅), 125.48 (Ph-C₆), 127.10 (Ph-C₂), 129.20 (Ph-C₅), 130.65 (Ph-C₃), 131.21 (Ph-C₁), 135.39 (Ph-C₄), 147.15 (Thiazol-C₄), 168.40 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+)**: *m/e* = 244.6 [M + H]⁺.

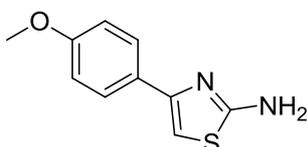
Charakterisierung von 4-[4-(Trifluormethyl)phenyl]-1,3-thiazol-2-amin **103** (TH071):



Synthese Stufe III; E1: 2-Brom-1-[4-(trifluormethyl)phenyl]ethanon (547 mg; 2.05 mmol), Thioharnstoff (234 mg; 3.07 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 95 % (0.49 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.14 (s, 2H, -NH₂), 7.24 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.71 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 9.00 Hz), 8.00 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 9.00 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 104.30 (Thiazol-C₅), 125.39 (-CF₃), 125.96 (Ph-C₄), 126.92 (Ph-C₃/C₅), 127.34 (Ph-C₂/C₆), 138.54 (Ph-C₁), 148.26 (Thiazol-C₄), 168.42 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 244.7 [M+H]⁺.

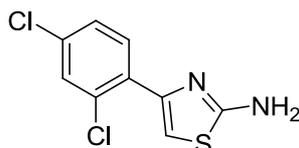
Charakterisierung von 4-(4-Methoxyphenyl)-1,3-thiazol-2-amin **104** (TH087):



Synthese Stufe III; E1: 2-Brom-1-(4-methoxyphenyl)ethanon (888 mg; 3.88 mmol), Thioharnstoff (443 mg; 5.82 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 81 % (0.64 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.76 (s, 3H, -O-CH₃), 6.81 (s, 1H, Thiazol-H₅), 6.92 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 6.96 (s, 2H, -NH₂), 7.72 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 55.05 (O-CH₃), 99.40 (Thiazol-C₅), 113.80 (Ph-C₃/C₅), 126.81 (Ph-C₂/C₆), 127.75 (Ph-C₁), 149.63 (Thiazol-C₄), 158.51 (Ph-C₄), 168.10 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 206.8 [M+H]⁺.

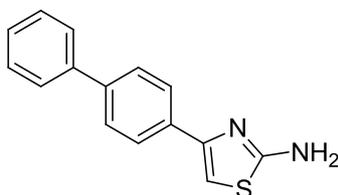
Charakterisierung von 4-(2,4-Dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin **105** (TH089):



Synthese Stufe III; E1: 2-Brom-1-(2,4-dichlorphenyl)ethanon (656 mg; 2.45 mmol), Thioharnstoff (279 mg; 3.67 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 60 % (0.36 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.11 (s, 3H, Thiazol-H₅, -NH₂), 7.45 (dd, 1H, Ph-H₅, ³J = 8.54 Hz), 7.64 (d, 1H, Ph-H₃, ⁴J = 2.14 Hz), 7.87 (d, 1H, Ph-H₆, ³J = 8.54 Hz). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 106.97 (Thiazol-C₅), 127.29 (Ph-C₅), 129.62 (Ph-C₁), 131.28 (Ph-C₆), 131.99 (Ph-C₃), 132.28 (Ph-C₂), 132.32 (Ph-C₄), 145.16 (Thiazol-C₄), 167.26 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+):** m/e = 244.7 [M + H]⁺.

Charakterisierung von 4-(Biphenyl-4-yl)-1,3-thiazol-2-amin **106** (TH090):



Synthese Stufe III; E1: 1-(Biphenyl-4-yl)-2-bromethanon (1090 mg; 3.96 mmol), Thioharnstoff (453 mg; 5.94 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 86 % (0.86 g).

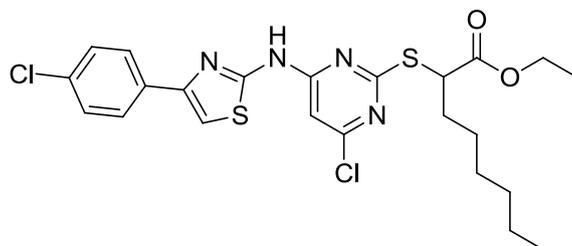
¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.06 (s, 3H, Thiazol-H₅, -NH₂), 7.35 (t, 1H, Biph-H'₄, J = 7.50 Hz), 7.46 (t, 2H, Biph-H'₃/H'₅, J = 7.50 Hz), 7.65–7.71 (m, 4H, Biph-H₃/H₅/H'₂/H'₆), 7.89 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, J = 9.00 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 101.72 (Thiazol-C₅), 126.05 (Biph-C₃/C₅), 126.39 (Biph-C'₂/C'₆), 126.64 (Biph-C₁/C₆), 127.33 (Biph-C'₄), 128.90 (Biph-C'₃/C'₅), 134.00 (-Biph-C₁), 138.64 (Biph-C'₁), 139.68 (Biph-C₄), 149.43 (Thiazol-C₄), 168.17 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+):** m/e = 253.9 [M+H]⁺.

5.2.4. Synthese und Charakterisierung der *N,N*-Diheteroarylamine (Verb. 107–132)

Stufe IV: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der *N,N*-Diheteroarylamine

In einem Dreihalsrundkolben wurden die chlorierten Ethyl-[(pyrimidin-2-yl)sulfanyl]acetat Derivate (E1, 1 eq), die entsprechenden 2-Aminothiazole (E2, 1.2 eq), Xantphos (0.06 eq) und Na₂CO₃ (1.4 eq) in Toluol (8 mL) gelöst. Der Dreihalsrundkolben wurde evakuiert und wieder zurückgefüllt mit Argon bevor Pd₂(dba)₃ (0.02 eq) und Wasser (20 mL) hinzugegeben wurden. Die Reaktion lief bei 90 °C für 18 h. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit THF (6 mL) und Toluol (6 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde von der wässrigen Phase getrennt, über Celite abfiltriert und anschließend am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) weiter aufgereinigt und schließlich aus *n*-Hexan/Ethylacetat umkristallisiert, um die entsprechenden *N,N*-Diheteroarylamine zu erhalten.

Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-{[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **107** (TH016):

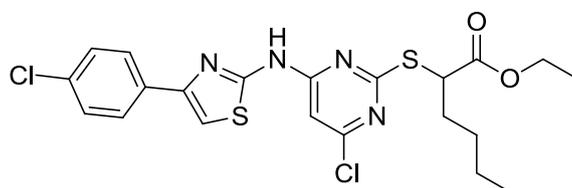


Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (804 mg; 2.28 mmol), E2: 4-(4-Chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (576 mg; 2.73 mmol), Pd₂(dba)₃ (42 mg; 0.04 mmol), Xantphos (80 mg; 0.14 mmol), Na₂CO₃ (339 mg; 3.19 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 66 % (0.80 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.56 Hz), 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.13 Hz), 1.25–1.41 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.07 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.07 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.50 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.60 Hz), 7.78 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.93 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.60 Hz), 12.23 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.79

(Hexyl-CH₃), 13.95 (O-Ethyl-CH₃), 21.87 (Hexyl-CH₂), 26.30 (Hexyl-CH₂), 28.06 (Hexyl-CH₂), 30.84 (Hexyl-CH₂), 31.33 (Hexyl-CH₂), 46.99 (S-CH), 61.08 (O-Ethyl-CH₂), 102.07 (Pyr-C₅), 109.30 (Thiazol-C₅), 127.33 (Ph-C_{2/6}), 128.72 (Ph-C_{3/5}), 132.28 (Ph-C₄), 132.98 (Ph-C₁), 147.98 (Thiazol-C₄), 157.72 (Pyr-C₄), 157.87 (Pyr-C₂), 169.59 (-COOEt), 170.86 (Pyr-C₆). **MS (ESI+)**: m/e = 525.5 [M]. **Anal. (C₂₃H₂₆Cl₂N₄O₂S₂ [525.51])** C, H, N, S: ber. C 52.57, H 4.99, N 10.66, S 12.20; gef. C 52.62, H 4.98, N 10.52, S 12.31; Abw. C +0.05, H -0.01, N -0.14, S +0.11.

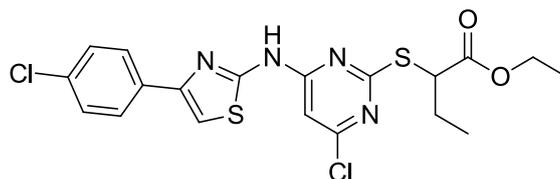
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]hexanoat **108** (TH003):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]hexanoat (**100**) (1010 mg; 3.12 mmol), E2: 4-(4-Chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (787 mg; 3.74 mmol), Pd₂(dba)₃ (63 mg; 0.07 mmol), Xantphos (108 mg; 0.19 mmol), Na₂CO₃ (473 mg; 4.46 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 27 % (0.42 g).

¹H-NMR (400.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.88 (t, 3H, Butyl-CH₃, J = 8.0 Hz), 1.20 (t, 3H, Ethyl-CH₃, J = 8.0 Hz), 1.31–1.42 (m, 4H, Butyl-CH₂), 1.86–1.99 (m, 2H, S-CH-CH₂), 4.15 (q, 2H, Ethyl-CH₂, J = 8.0 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, J = 8.0 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.51 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, J = 8.0 Hz), 7.80 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.92 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, J = 8.0 Hz), 12.22 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (100.61 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.65 (Butyl-CH₃), 13.98 (O-Ethyl-CH₃), 21.65 (Butyl-CH₂), 28.59 (Butyl-CH₂), 31.03 (Butyl-CH₂), 47.02 (S-CH), 61.12 (O-Ethyl-CH₂), 102.04 (Pyr-C₅), 109.36 (Thiazol-C₅), 127.35 (Ph-C_{2/6}), 128.76 (Ph-C_{3/5}), 132.31 (Ph-C₁), 132.98 (Ph-C₄), 148.00 (Thiazol-C₄), 157.66 (Pyr-C₆), 157.79 (Pyr-C₄), 169.63 (-COOEt), 170.90 (Pyr-C₂). **MS (ESI+)**: m/e = 497.5 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₁H₂₂Cl₂N₄O₂S₂ [497.46])** C, H, N, S: ber. C 50.70, H 4.46, N 11.26, S 12.89; gef. C 50.70, H 4.51, N 11.30, S 12.88; Abw. C ±0.00, H +0.05, N +0.04, S -0.01.

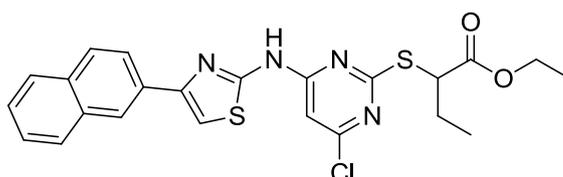
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoat **109** (TH015):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoat (**99**) (1244 mg; 4.21 mmol), E2: 4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (1065 mg; 5.05 mmol), Pd₂(dba)₃ (77 mg; 0.08 mmol), Xantphos (146 mg; 0.25 mmol), Na₂CO₃ (625 mg; 5.90 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 19 % (0.37 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.03 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.21 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.5 Hz), 1.91–1.99 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 4.17 (q, 2H, Ethyl-CH₂, *J* = 7.5 Hz), 4.58 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.5 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.51 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 10.0 Hz), 7.80 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.94 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 10.0 Hz), 12.23 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (100.61 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.30 (Ethyl-CH₃), 14.00 (O-Ethyl-CH₃), 24.91 (Ethyl-CH₂), 48.49 (S-CH), 61.14 (O-Ethyl-CH₂), 102.05 (Pyr-C₅), 109.41 (Thiazol-C₅), 127.36 (Ph-C_{2/6}), 128.77 (Ph-C_{3/5}), 132.32 (Ph-C₁), 132.99 (Ph-C₄), 148.01 (Thiazol-C₄), 157.69 (Pyr-C₄), 157.79 (Pyr-C₂), 169.68 (-COOEt), 170.73 (Pyr-C₆). **MS (ESI⁺):** *m/e* = 469.5 [M+H]⁺. **Anal. (C₁₉H₁₈Cl₂N₄O₂S₂ [468.01])** C, H, N, S: ber. C 48.62, H 3.87, N 11.94, S 13.66; gef. C 48.65, H 3.95, N 11.90, S 13.72; Abw. C +0.03, H +0.08, N -0.04, S +0.06.

Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoat **110** (TH101):

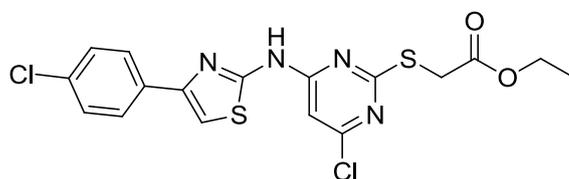


Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoat (**99**) (300 mg; 1.02 mmol), E2: 4-(Naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-amin (276 mg;

1.22 mmol), Pd₂(dba)₃ (19 mg; 0.02 mmol), Xantphos (35 mg; 0.06 mmol), Na₂CO₃ (151 mg; 1.42 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 81 % (0.39 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.03 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.37 Hz), 1.21 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.08 Hz), 1.90–2.06 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 4.17 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.09 Hz), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.93 Hz), 6.84 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.49–7.56 (m, 2H, Naph-H_{6/7}), 7.87 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.91–7.98 (m, 3H, Naph-H_{3/5/8}), 8.06 (d, 1H, Naph-H₄, *J* = 7.06 Hz), 8.44 (s, 1H, Naph-H₁), 12.28 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.31 (Ethyl-CH₃), 14.02 (O-Ethyl-CH₃), 24.94 (Ethyl-CH₂), 48.51 (S-CH), 61.15 (O-Ethyl-CH₂), 102.05 (Pyr-C₅), 109.36 (Thiazol-C₅), 123.94 (Naph-C₃), 124.30 (Naph-C₁), 126.18 (Naph-C₆), 126.53 (Naph-C₇), 127.60 (Naph-C₅), 128.17 (Naph-C₈), 128.28 (Naph-C₄), 131.57 (Naph-C₂), 132.55 (Naph-C_{4a}), 133.12 (Naph-C_{8a}), 149.15 (Thiazol-C₄), 157.73 (Pyr-C₆), 157.77 (Pyr-C₄), 169.71 (-COOEt), 170.75 (Pyr-C₂). **MS (ESI-):** *m/e* = 483.3 [M-H].

Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]acetat **111** (TH008):

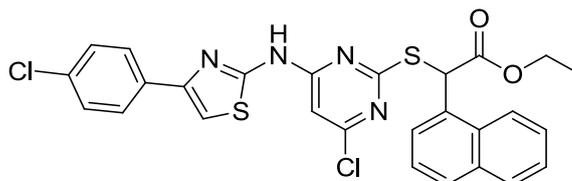


Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]acetat (700 mg; 2.62 mmol), E2: 4-(4-Chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (662 mg; 3.14 mmol), Pd₂(dba)₃ (48 mg; 0.05 mmol), Xantphos (91 mg; 0.16 mmol), Na₂CO₃ (389 mg; 3.67 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 45 % (0.52 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 6.00 Hz), 4.12 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 6.00 Hz), 4.15 (s, 2H, S-CH₂), 6.80 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.50 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 9.00 Hz), 7.78 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.93 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 9.00 Hz), 12.20 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (100.61 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.05 (O-Ethyl-CH₃), 32.96 (S-CH₂), 61.15 (O-Ethyl-CH₂), 101.82 (Pyr-C₅), 109.29 (Thiazol-C₅), 127.36 (Ph-C_{2/6}), 128.74 (Ph-C_{3/5}), 132.30 (Ph-C₁), 132.97 (Ph-C₄), 148.01 (Thiazol-C₄), 157.68 (Pyr-C₄), 157.79 (Pyr-C₂), 168.39 (-COOEt), 170.15 (Pyr-C₆). **MS (ESI+):** *m/e* = 441.4

[M+H]⁺. **Anal. (C₁₇H₁₄Cl₂N₄O₂S₂ [441.35])** C, H, N, S: ber. C 46.26, H 3.20, N 12.69, S 14.53; gef. C 46.29, H 3.20, N 12.74, S 14.53; Abw. C +0.03, H ±0.00, N +0.05, S ±0.00.

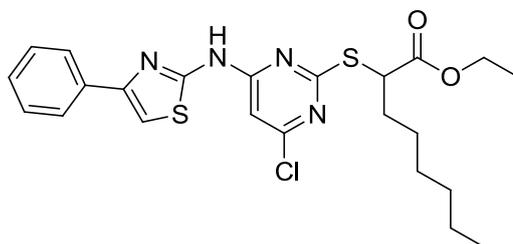
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-{[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]-2-(naphthalen-1-yl)acetat **112** (TH010):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]-2-(naphthalen-1-yl)acetat (1030 mg; 2.62 mmol), E2: 4-(4-Chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (662 mg; 3.14 mmol), Pd₂(dba)₃ (48 mg; 0.05 mmol), Xantphos (91 mg; 0.16 mmol), Na₂CO₃ (389 mg; 3.67 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 58 % (0.85 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.12 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.07 Hz), 4.09–4.25 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 6.46 (s, 1H, S-CH), 6.88 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.49 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.62 Hz), 7.53–7.70 (m, 4 H, Naph-H_{2/3/6/7}), 7.76 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.92 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.62 Hz), 8.02 (t, 2H, Naph- H_{4/5}, *J* = 8.00 Hz), 8.20 (d, 1H, Naph- H₈, *J* = 8.26 Hz), 12.29 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.97 (O-Ethyl-CH₃), 49.14 (S-CH), 61.99 (O-Ethyl-CH₂), 102.38 (Pyr-C₅), 109.41 (Thiazol-C₅), 123.09 (Naph-C₁), 125.73 (Naph-C₃), 126.46 (Naph-C₇), 126.96 (Naph-C₈), 127.29 (Naph-C₆), 127.41 (Ph-C_{2/6}), 128.82 (Ph-C_{3/5}), 129.10 (Naph-C₄), 129.51 (Naph-C₅), 129.88 (Naph-C₂), 130.42 (Naph-C_{4a}), 132.39 (Ph-C₁), 132.99 (Ph-C₄), 133.72 (Naph-C_{8a}), 148.09 (Thiazol-C₄), 157.82 (Pyr-C₆), 157.96 (Pyr-C₄), 169.54 (Pyr-C₂), 169.63 (-COOEt). **MS (ESI+):** *m/e* = 567.6 [M]. **Anal. (C₂₇H₂₀Cl₂N₄O₂S₂ [567.51])** C, H, N, S: ber. C 57.14, H 3.55, N 9.87, S 11.30; gef. C 56.94, H 3.48, N 9.75, S 11.46; Abw. C -0.20, H -0.07, N -0.12, S +0.16.

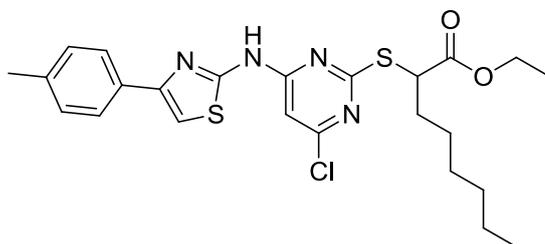
Charakterisierung von Ethyl-2-({4-chlor-6-[(4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat **113** (TH019):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (900 mg; 2.56 mmol), E2: 4-Phenyl-1,3-thiazol-2-amin (542 mg; 3.07 mmol), Pd₂(dba)₃ (47 mg; 0.05 mmol), Xantphos (89 mg; 0.15 mmol), Na₂CO₃ (380 mg; 3.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 50 % (0.63 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.86 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 5.00 Hz), 1.23-1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84-2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.17 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.62 (t, 1H, S-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 6.84 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.35 (t, 1H, Ph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 7.46 (t, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 7.74 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.93 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 12.22 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.81 (Hexyl-CH₃), 13.96 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.32 (Hexyl-CH₂), 28.08 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.32 (Hexyl-CH₂), 46.98 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 102.00 (Pyr-C₅), 108.60 (Thiazol-C₅), 125.63 (Ph-C₄), 127.85 (Ph-C_{2/6}), 128.72 (Ph-C_{3/5}), 134.09 (Ph-C₁), 149.24 (Thiazol-C₄), 157.58 (Pyr-C₄), 157.69 (Pyr-C₂), 169.63 (-COOEt), 170.90 (Pyr-C₆). **MS (ESI+):** *m/e* = 491.7 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₃H₂₇ClN₄O₂S₂ [491.07])** C, H, N, S: ber. C 56.25, H 5.54, N 11.41, S 13.06; gef. C 56.39, H 5.63, N 11.60, S 12.91; Abw. C +0.14, H +0.09, N +0.19, S -0.15.

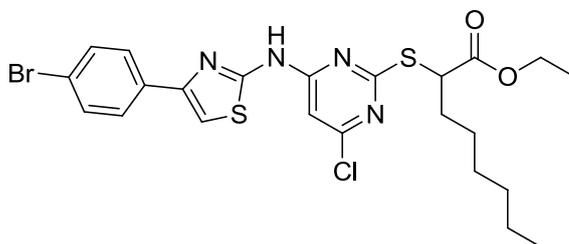
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-methylphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **114** (TH022):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (800 mg; 2.28 mmol), E2: 4-(4-Methylphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (520 mg; 2.73 mmol), Pd₂(dba)₃ (42 mg; 0.05 mmol), Xantphos (79 mg; 0.14 mmol), Na₂CO₃ (338 mg; 3.19 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 46 % (0.53 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.23-1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84-2.01 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.34 (s, 3H, Ph-CH₃), 4.16 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.61 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.26 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 7.65 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.81 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 12.19 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 13.96 (O-Ethyl-CH₃), 20.76 (Ph-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.31 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 30.85 (Hexyl-CH₂), 31.32 (Hexyl-CH₂), 46.97 (S-CH), 61.11 (O-Ethyl-CH₂), 101.97 (Pyr-C₅), 107.72 (Thiazol-C₅), 125.57 (Ph-C₁), 129.28 (Ph-C₂ + -C₆), 131.44 (Ph-C₃ + -C₅), 137.18 (Ph-C₄), 149.32 (Thiazol-C₄), 157.47 (Pyr-C₄), 157.67 (Pyr-C₂), 169.61 (-COOEt), 170.91 (Pyr-C₆). **MS (ESI+):** *m/e* = 505.6 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₄H₂₉ClN₄O₂S₂ [505.10])** C, H, N, S: ber. C 57.07, H 5.79, N 11.09, S 12.70; gef. C 56.87, H 5.72, N 11.09, S 12.54; Abw. C -0.20, H -0.07, N ±0.00, S -0.16.

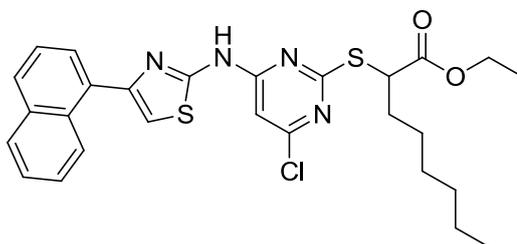
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-{[4-(4-bromphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **115** (TH024):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (350 mg; 1.00 mmol), E2: 4-(4-Bromphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (305 mg; 1.20 mmol), Pd₂(dba)₃ (18 mg; 0.02 mmol), Xantphos (35 mg; 0.06 mmol), Na₂CO₃ (148 mg; 1.39 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 38 % (0.22 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 9.00 Hz), 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 6.00 Hz), 1.21–1.45 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.14 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 6.00 Hz), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 9.00 Hz), 6.81 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.64 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 9.00 Hz), 7.80 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.86 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 9.00 Hz), 12.23 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 13.97 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.32 (Hexyl-CH₂), 28.08 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.29 (Hexyl-CH₂), 46.99 (S-CH), 61.11 (O-Ethyl-CH₂), 102.03 (Pyr-C₅), 109.46 (Thiazol-C₅), 120.91 (Ph-C₄), 127.64 (Ph-C_{2/6}), 131.67 (Ph-C_{3/5}), 133.30 (Ph-C₁), 148.03 (Thiazol-C₄), 157.64 (Pyr-C₄), 157.75 (Pyr-C₂), 169.62 (-COOEt), 170.89 (Pyr-C₆). **MS (ESI):** *m/e* = 569.7 [M-H]. **Anal. (C₂₃H₂₆BrClN₄O₂S₂ [569.97])** C, H, N, S: ber. C 48.47, H 4.60, N 9.83, S 11.25; gef. C 48.67, H 4.62, N 9.86, S 11.25; Abw. C +0.20, H +0.02, N +0.03, S ±0.00.

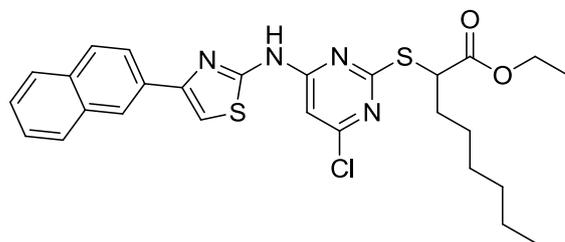
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(naphthalen-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **116** (TH025):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (650 mg; 1.85 mmol), E2: 4-(Naphthalen-1-yl)-1,3-thiazol-2-amin (502 mg; 2.22 mmol), Pd₂(dba)₃ (34 mg; 0.04 mmol), Xantphos (64 mg; 0.11 mmol), Na₂CO₃ (275 mg; 2.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 58 % (0.58 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 5.00 Hz), 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.26–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.85–2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.62 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.53 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.54–7.60 (m, 3H, Naph-H_{3/6/7}), 7.72 (d, 1H, Naph-H₂, *J* = 6.78 Hz), 7.95–8.01 (m, 2H, Naph-H_{4/5}), 8.40 (m, 1H, Naph-H₈), 12.26 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 13.98 (O-Ethyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.33 (Hexyl-CH₂), 28.10 (Hexyl-CH₂), 30.88 (Hexyl-CH₂), 31.35 (Hexyl-CH₂), 47.01 (S-CH), 61.12 (O-Ethyl-CH₂), 102.01 (Pyr-C₅), 112.40 (Thiazol-C₅), 125.44 (Naph-C₂), 125.79 (Naph-C₇), 125.95 (Naph-C₆), 126.24 (Naph-C₃), 127.16 (Naph-C₄), 128.26 (Naph-C₈), 128.48 (Naph-C₅), 130.52 (Naph-C_{8a}), 132.47 (Naph-C_{4a}), 133.48 (Naph-C₁), 149.36 (Thiazol-C₄), 157.30 (Pyr-C₄), 157.75 (Pyr-C₂), 169.67 (-COOEt), 170.92 (Pyr-C₆). **MS (ESI-):** *m/e* = 539.9 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₇H₂₉ClN₄O₂S₂ [540.14])** C, H, N, S: ber. C 59.93, H 5.40, N 10.35, S 11.85; gef. C 59.95, H 5.30, N 10.48, S 11.63; Abw. C +0.02, H -0.10, N +0.13, S -0.22.

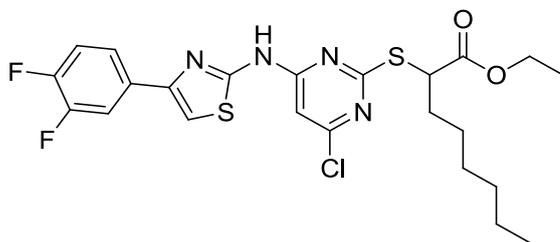
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **117** (TH029):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 4-(Naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-amin (309 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 55 % (0.34 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.22–1.44 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.83–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.15 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.48–7.56 (m, 2H, Naph-H_{6/7}), 7.86 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.90–7.98 (m, 3H, Naph-H_{3/5/8}), 8.06 (d, 1H, Naph-H₄), 8.44 (s, 1H, Naph-H₁), 12.28 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 13.98 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.32 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.33 (Hexyl-CH₂), 47.01 (S-CH), 61.11 (O-Ethyl-CH₂), 102.03 (Pyr-C₅), 109.32 (Thiazol-C₅), 123.92 (Naph-C₃), 124.27 (Naph-C₁), 126.17 (Naph-C₆), 126.51 (Naph-C₇), 127.58 (Naph-C₅), 128.14 (Naph-C₈), 128.27 (Naph-C₄), 131.54 (Naph-C₂), 132.53 (Naph-C_{4a}), 133.09 (Naph-C_{8a}), 149.13 (Thiazol-C₄), 157.71 (Pyr-C₄), 157.75 (Pyr-C₂), 169.65 (-COOEt), 170.90 (Pyr-C₆). **MS (ESI-):** *m/e* = 539.9 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₇H₂₉ClN₄O₂S₂ [541.13])** C, H, N, S: ber. C 59.93, H 5.40, N 10.35, S 11.85; gef. C 59.82, H 5.29, N 10.36, S 11.65; Abw. C -0.11, H -0.11, N +0.01, S -0.20.

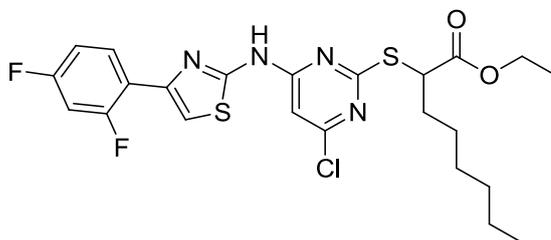
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-{[4-(3,4-difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **118** (TH031):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 4-(3,4-Difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (290 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 65 % (0.40 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.25–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–2.01 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.16 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.52 (dd, 1H, Ph-H₅), 7.77 (m, 1H, Ph-H₂), 7.83 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.88–7.97 (m, 1H, Ph-H₆), 12.22 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.81 (Hexyl-CH₃), 13.96 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.32 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.29 (Hexyl-CH₂), 47.00 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 102.04 (Pyr-C₅), 109.66 (Thiazol-C₅), 114.45 (Ph-C₂), 117.89 (Ph-C₅), 122.36 (Ph-C₆), 131.80 (Ph-C₁), 147.02 (Thiazol-C₄), 147.68 (Ph-C₄), 150.93 (Ph-C₃), 157.62 (Thiazol-C₂), 157.76 (Pyr-C₄), 157.81 (Pyr-C₂), 169.60 (-COOEt), 170.88 (Pyr-C₆). **MS (ESI+):** *m/e* = 527.8 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₃H₂₅ClF₂N₄O₂S₂ [527.05])** C, H, N, S: ber. C 52.41, H 4.78, N 10.63, S 12.17; gef. C 52.50, H 4.82, N 10.40, S 11.98; Abw. C +0.09, H +0.04, N -0.23, S -0.19.

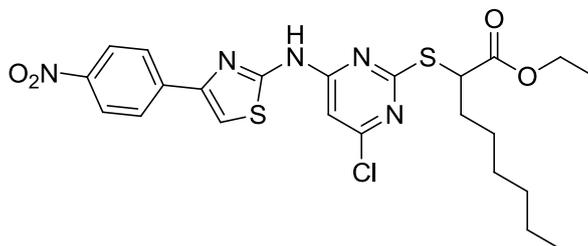
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(2,4-difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **119** (TH036):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 4-(2,4-Difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (289 mg; 1.36 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 23 % (0.14 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.24–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.14 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.56 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.20 (m, 1H, Ph-H₃), 7.37 (m, 1H, Ph-H₅), 7.56 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.05 (m, 1H, Ph-H₆), 12.21 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 13.98 (O-Ethyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.33 (Hexyl-CH₂), 28.10 (Hexyl-CH₂), 30.88 (Hexyl-CH₂), 31.29 (Hexyl-CH₂), 47.03 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 102.07 (Pyr-C₅), 104.67 (Ph-C₃), 111.97 (Ph-C₅), 112.49 (Thiazol-C₅), 118.65 (Ph-C₁), 130.36 (Ph-C₁), 142.17 (Thiazol-C₄), 157.25 (Thiazol-C₂), 157.68 (Pyr-C₄), 157.82 (Pyr-C₆), 158.87 (Ph-C₂), 162.18 (Ph-C₄), 169.62 (-COOEt), 170.91 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 527.9 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₃H₂₅ClF₂N₄O₂S₂ [527.05])** C, H, N, S: ber. C 52.41, H 4.78, N 10.63, S 12.17; gef. C 52.33, H 4.74, N 10.66, S 12.46; Abw. C -0.08, H -0.04, N +0.03, S +0.29.

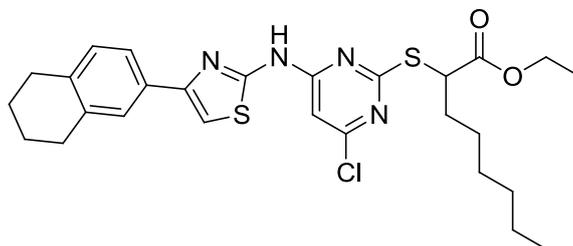
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-nitrophenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **120** (TH049):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (295 mg; 0.83 mmol), E2: 4-(4-Nitrophenyl)-1,3-thiazol-2-amin (223 mg; 1.01 mmol), Pd₂(dba)₃ (15 mg; 0.02 mmol), Xantphos (15 mg; 0.05 mmol), Na₂CO₃ (125 mg; 1.18 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 45 % (0.20 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.86 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.18–1.23 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.27–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.17 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 8.09 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.18 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 10.00 Hz), 8.32 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 10.00 Hz), 12.32 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.84 (Hexyl-CH₃), 13.99 (O-Ethyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.34 (Hexyl-CH₂), 28.09 (Hexyl-CH₂), 30.88 (Hexyl-CH₂), 31.29 (Hexyl-CH₂), 47.05 (S-CH), 61.13 (O-Ethyl-CH₂), 102.14 (Pyr-C₅), 113.08 (Thiazol-C₅), 124.21 (Ph-C_{3/5}), 126.51 (Ph-C_{2/6}), 140.08 (Ph-C₁), 146.48 (Ph-C₄), 147.06 (Thiazol-C₄), 157.66 (Pyr-C₄), 157.86 (Pyr-C₂), 158.19 (Thiazol-C₂), 169.63 (-COOEt), 170.89 (Pyr-C₆). **MS (ESI-):** *m/e* = 535.1 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₃H₂₆ClN₅O₄S₂ [536.07])** C, H, N, S: ber. C 51.53, H 4.89, N 13.06, S 11.96; gef. C 51.52, H 4.67, N 13.00, S 11.82; Abw. C -0.01, H -0.22, N -0.06, S -0.14.

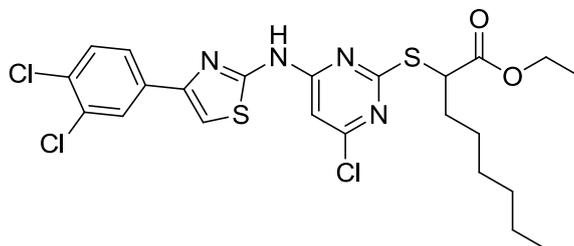
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **121** (TH055):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 4-(5,6,7,8-Tetrahydronaphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-amin (315 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 39 % (0.25 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.25 Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.21–1.40 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.74 (m, 4H, Naphthyl-H_{6/7}), 1.84–1.96 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.75 (m, 4H, Naphthyl-H_{5/8}), 4.14 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.79 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.09 (d, 1H, Naph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 7.59 (m, 3H, Naph-H_{1/3}, Thiazol-H₅), 12.17 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.81 (Hexyl-CH₃), 13.97 (O-Ethyl-CH₃), 21.89 (Hexyl-CH₂), 22.69 (Naph-C_{6/7}), 26.32 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 28.57 (Naph-C₅), 28.86 (Naph-C₈), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.37 (Hexyl-CH₂), 47.00 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 101.96 (Pyr-C₅), 107.52 (Thiazol-C₅), 122.88 (Naph-C₃), 126.24 (Naph-C₄), 129.24 (Naph-C₁), 131.42 (Naph-C₁), 136.49 (Naph-C_{4a}), 136.81 (Naph-C_{8a}), 149.52 (Thiazol-C₄), 157.39 (Thiazol-C₂), 157.71 (Pyr-C_{4/2}), 169.66 (-COOEt), 170.90 (Pyr-C₆). **MS (ESI):** *m/e* = 544.2 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₇H₃₃ClN₄O₂S₂ [545.16])** C, H, N, S: ber. C 59.49, H 6.10, N 10.28, S 11.76; gef. C 59.18, H 5.92, N 10.29, S 11.58; Abw. C -0.31, H -0.18, N +0.01, S -0.18.

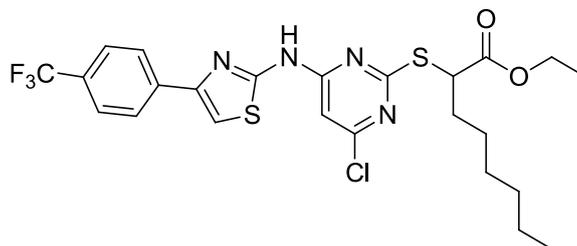
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-{[4-(3,4-dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **122** (TH072):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 4-(3,4-Dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (**102**) (335 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 71 % (0.45 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.86 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.27–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84–1.98 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.16 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 6.67 Hz), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.72 (d, 1H, Ph-H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.90 (d, 1H, Ph-H₆, *J* = 7.50 Hz), 7.94 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.15 (s, 1H, Ph-H₂), 12.32 (s, 1H, -NH).
¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 13.96 (O-Ethyl-CH₃), 21.89 (Hexyl-CH₂), 26.31 (Hexyl-CH₂), 28.05 (Hexyl-CH₂), 30.85 (Hexyl-CH₂), 31.29 (Hexyl-CH₂), 47.02 (S-CH), 61.11 (O-Ethyl-CH₂), 102.09 (Pyr-C₅), 110.07 (Thiazol-C₅), 125.66 (Ph-C₆), 127.32 (Ph-C₂), 130.09 (Ph-C₅), 131.01 (Ph-C₃), 131.55 (Ph-C₁), 134.65 (Ph-C₄), 146.60 (Thiazol-C₄), 157.64 (Pyr-C₆), 157.82 (Pyr-C₄), 157.93 (Thiazol-C₂), 169.63 (-COOEt), 170.87 (Pyr-C₂). **MS (ESI):** *m/e* = 557.4 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₃H₂₅Cl₃N₄O₂S₂ [558.05])** C, H, N, S: ber. C 49.33, H 4.50, N 10.01, S 11.45; gef. C 48.98, H 4.38, N 10.02, S 11.16; Abw. C -0.35, H -0.12, N +0.01, S -0.29.

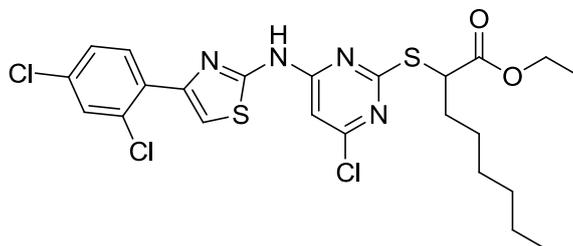
Charakterisierung von Ethyl-2-[[4-chlor-6-({4-[4-(trifluormethyl)phenyl]-1,3-thiazol-2-yl}amino)pyrimidin-2-yl]sulfanyl]octanoat **123** (TH073):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 4-[4-(Trifluormethyl)phenyl]-1,3-thiazol-2-amin (**103**) (334 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 65 % (0.42 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.25 Hz), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 6.25 Hz), 1.23–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–2.04 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.16 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 6.67 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.82 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 7.96 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.14 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 12.29 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.80 (Hexyl-CH₃), 13.96 (O-Ethyl-CH₃), 21.89 (Hexyl-CH₂), 26.31 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 30.85 (Hexyl-CH₂), 31.30 (Hexyl-CH₂), 47.01 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 102.06 (Pyr-C₅), 111.21 (Thiazol-C₅), 125.73 (-CF₃), 126.19 (Ph-C₄), 127.65 (Ph-C_{3/5}), 128.07 (Ph-C_{2/6}), 137.81 (Ph-C₁), 147.63 (Thiazol-C₄), 157.67 (Pyr-C₆), 157.80 (Pyr-C₄), 157.98 (Thiazol-C₂), 169.63 (-COOEt), 170.88 (Pyr-C₂). **MS (ESI):** *m/e* = 557.5 [M-H]. **Anal. (C₂₄H₂₆ClF₃N₄O₂S₂ [558.11])** C, H, N, S: ber. C 51.56, H 4.69, N 10.02, S 11.47; gef. C 51.38, H 4.47, N 9.97, S 11.56; Abw. C -0.18, H -0.22, N -0.05, S +0.09.

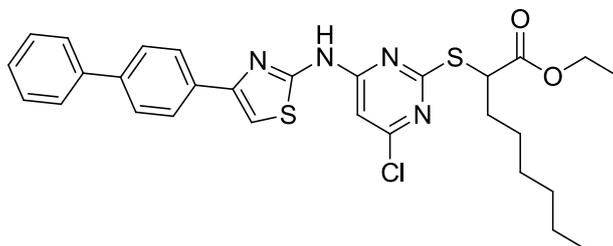
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(2,4-dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **124** (TH094):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (300 mg; 0.85 mmol), E2: 4-(2,4-Dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (**105**) (251 mg; 1.03 mmol), Pd₂(dba)₃ (16 mg; 0.02 mmol), Xantphos (30 mg; 0.05 mmol), Na₂CO₃ (127 mg; 1.20 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 34 % (0.13 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.17–1.23 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.25–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84–2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.16 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 6.67 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.55 (dd, 1H, Ph-H₅, ³*J* = 8.50 Hz), 7.74 (d, 1H, Ph-H₃, ⁴*J* = 2.15 Hz), 7.76 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.90 (d, 1H, Ph-H₆, *J* = 8.50 Hz), 12.26 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.81 (Hexyl-CH₃), 13.95 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.30 (Hexyl-CH₂), 28.07 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.28 (Hexyl-CH₂), 47.01 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 102.04 (Pyr-C₅), 113.90 (Thiazol-C₅), 127.57 (Ph-C₅), 129.78 (Ph-C₁), 131.76 (Ph-C₆), 131.79 (Ph-C₃), 132.25 (Ph-C₂), 132.90 (Ph-C₄), 144.82 (Thiazol-C₄), 157.00 (Thiazol-C₂), 157.66 (Pyr-C₄), 157.81 (Pyr-C₂), 169.62 (-COOEt), 170.89 (Pyr-C₆). **MS (ESI-):** *m/e* = 557.2 [M-H]⁻.

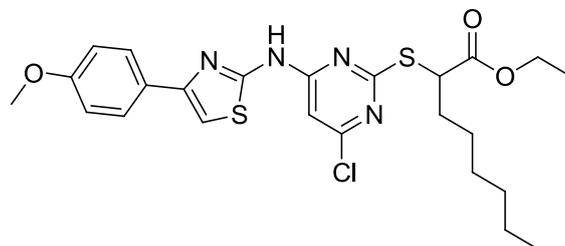
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-phenylphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **125** (TH092):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (300 mg; 0.85 mmol), E2: 4-(4-Phenylphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (**106**) (259 mg; 1.03 mmol), Pd₂(dba)₃ (16 mg; 0.02 mmol), Xantphos (30 mg; 0.05 mmol), Na₂CO₃ (127 mg; 1.20 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 36 % (0.18 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.37 Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.31 Hz), 1.23–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.80–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.16 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.07 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.07 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.36 (t, 1H, Biph-H₄, *J* = 7.25 Hz), 7.47 (t, 2H, Biph-H₃/H₅, *J* = 7.34 Hz), 7.70–7.76 (m, 4H, Biph-H₃/H₅/H₂/H₆), 7.78 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.00 (d, 2H, Biph-H₂/H₆, *J* = 8.42 Hz), 12.21 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 13.97 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.32 (Hexyl-CH₂), 28.08 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.34 (Hexyl-CH₂), 47.00 (S-CH), 61.11 (O-Ethyl-CH₂), 102.03 (Pyr-C₅), 108.81 (Thiazol-C₅), 126.21 (Biph-C₃/C₅), 126.47 (Biph-C₂/C₆), 126.95 (Biph-C₂/C₆), 127.51 (Biph-C₄), 128.94 (Biph-C₃/C₅), 133.20 (Biph-C₁), 139.38 (Biph-C₁), 139.52 (Biph-C₄), 148.88 (Thiazol-C₄), 157.65 (Thiazol-C₂), 157.71 (Pyr-C₄), 157.74 (Pyr-C₂), 169.64 (-COOEt), 170.90 (Pyr-C₆). **MS (ESI+):** *m/e* = 567.3 [M+H]⁺.

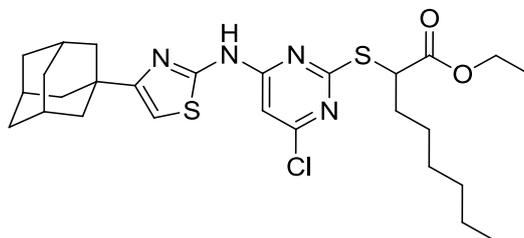
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-methoxyphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **126** (TH116):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (300 mg; 0.85 mmol), E2: 4-(4-Methoxyphenyl)-1,3-thiazol-2-amin (211 mg; 1.03 mmol), Pd₂(dba)₃ (16 mg; 0.02 mmol), Xantphos (30 mg; 0.05 mmol), Na₂CO₃ (127 mg; 1.20 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 74 % (0.33 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.53 Hz), 1.19 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.08 Hz), 1.23–1.44 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.80–2.03 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 3.79 (s, 3H, -O-CH₃), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.06 Hz), 4.61 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.99 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.00 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.89 Hz), 7.55 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.84 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.85 Hz), 12.17 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.89 (Hexyl-CH₃), 14.03 (O-Ethyl-CH₃), 21.97 (Hexyl-CH₂), 26.38 (Hexyl-CH₂), 28.14 (Hexyl-CH₂), 30.92 (Hexyl-CH₂), 31.39 (Hexyl-CH₂), 47.02 (S-CH), 55.17 (-O-CH₃), 61.17 (O-Ethyl-CH₂), 102.02 (Pyr-C₅), 106.63 (Thiazol-C₅), 114.13 (Ph-C_{3/5}), 126.98 (Ph-C₁), 127.03 (Ph-C_{2/6}), 149.19 (Thiazol-C₄), 157.46 (Thiazol-C₂), 157.62 (Pyr-C₆), 157.71 (Pyr-C₄), 159.06 (Ph-C₄), 169.67 (-COOEt), 170.96 (Pyr-C₂). **MS (ESI⁺):** *m/e* = 521.83 [M+H]⁺.

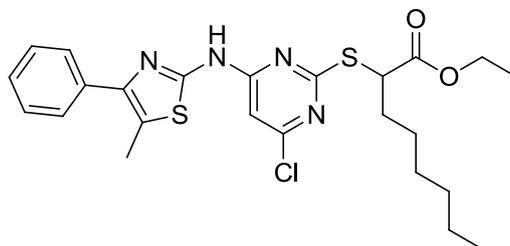
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-{[4-(adamantan-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **127** (TH096):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (250 mg; 0.71 mmol), E2: 4-(Adamantan-1-yl)-1,3-thiazol-2-amin (200 mg; 0.85 mmol), Pd₂(dba)₃ (13 mg; 0.01 mmol), Xantphos (25 mg; 0.04 mmol), Na₂CO₃ (106 mg; 1.00 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 66 % (0.26 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.00 Hz), 1.18 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.10 Hz), 1.23–1.39 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.71–2.03 (m, 17H, Hexyl-CH₂, Adamantyl-H_{2/3/4/5/6/7/8/9/10}), 4.13 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.09 Hz), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.14 Hz), 6.76 (s, 2H, Pyr-H₅, Thiazol-H₅), 12.04 (s, 1H, -NH).
¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 13.85 (Hexyl-CH₃), 13.98 (O-Ethyl-CH₃), 21.93 (Hexyl-CH₂), 26.33 (Hexyl-CH₂), 27.92 (Adamantyl-C_{3/5/7}), 28.11 (Hexyl-CH₂), 30.89 (Hexyl-CH₂), 31.39 (Hexyl-CH₂), 35.89 (Adamantyl-C_{4/6/10}), 36.33 (Adamantyl-C_{2/8/9}), 41.62 (Adamantyl-C₁), 46.93 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 101.78 (Pyr-C₅), 105.18 (Thiazol-C₅), 156.84 (Thiazol-C₂), 157.54 (Pyr-C₆), 157.70 (Pyr-C₄), 161.03 (Thiazol-C₄), 169.64 (-COOEt), 170.94 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 549.88 [M+H]⁺.

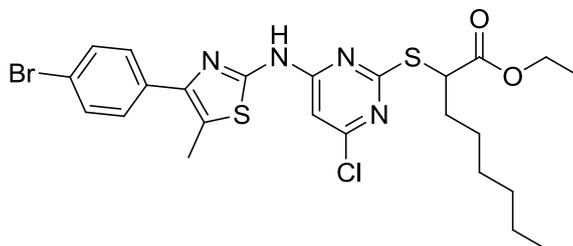
Charakterisierung von Ethyl-2-({4-chlor-6-[(5-methyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl)octanoat **128** (TH030):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 5-Methyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-amin (260 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 45 % (0.26 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CDCl₃) δ: 0.81 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.21 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.24–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.77–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.48 (s, 3H, Methyl-thiazol-CH₃), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.50 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 5.47 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.26 (t, 1H, Ph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 7.36 (t, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.57 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.79 (Thiazol-CH₃), 13.83 (Hexyl-CH₃), 13.96 (O-Ethyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.38 (Hexyl-CH₂), 28.05 (Hexyl-CH₂), 30.88 (Hexyl-CH₂), 31.42 (Hexyl-CH₂), 46.91 (S-CH), 61.09 (O-Ethyl-CH₂), 101.78 (Pyr-C₅), 121.70 (Thiazol-C₅), 127.32 (Ph-C₄), 127.91 (Ph-C₂/C₆), 128.37 (Ph-C₃/C₅), 134.62 (Ph-C₁), 144.58 (Thiazol-C₄), 153.55 (Thiazol-C₂), 157.53 (Pyr-C₄), 157.62 (Pyr-C₂), 169.56 (-COOEt), 170.93 (Pyr-C₆). **MS (ESI):** *m/e* = 503.9 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₄H₂₉ClN₄O₂S₂ [504.14])** C, H, N, S: ber. C 57.07, H 5.79, N 11.09, S 12.70; gef. C 56.96, H 5.65, N 10.90, S 12.57; Abw. C -0.11, H -0.14, N -0.19, S -0.13.

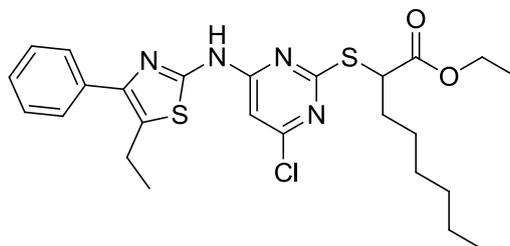
Charakterisierung von Ethyl-2-[(4-{[4-(4-bromphenyl)-5-methyl-1,3-thiazol-2-yl]amino}-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat **129** (TH051):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (407 mg; 1.16 mmol), E2: 4-(4-Bromphenyl)-5-methyl-1,3-thiazol-2-amin (368 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (168 mg; 1.59 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 50 % (0.34 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CDCl₃) δ: 0.81 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.22 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.24–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.78–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.44 (s, 3H, Methyl-thiazol-CH₃), 4.15 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.49 (t, 1H, S-CH, *J* = 5.00 Hz), 5.65 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.42 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 10.00 Hz), 7.49 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 10.00 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 12.00 (Thiazol-CH₃), 14.05 (Hexyl-CH₃), 14.22 (O-Ethyl-CH₃), 22.55 (Hexyl-CH₂), 27.09 (Hexyl-CH₂), 28.87 (Hexyl-CH₂), 31.55 (Hexyl-CH₂), 31.90 (Hexyl-CH₂), 47.83 (S-CH), 61.52 (O-Ethyl-CH₂), 101.40 (Pyr-C₅), 122.15 (Thiazol-C₅), 122.87 (Ph-C₄), 129.95 (Ph-C_{2/6}), 132.08 (Ph-C_{3/5}), 133.28 (Ph-C₁), 143.51 (Thiazol-C₄), 156.42 (Pyr-C₄), 156.77 (Pyr-C₂), 159.23 (Thiazol-C₂), 170.52 (Pyr-C₆), 172.02 (-COOEt). **MS (ESI-):** *m/e* = 582.1 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₄H₂₈BrClN₄O₂S₂ [583.99])** C, H, N, S: ber. C 49.36, H 4.83, N 9.59, S 10.98; gef. C 49.42, H 4.90, N 9.50, S 10.89; Abw. C +0.06, H +0.07, N -0.09, S -0.09.

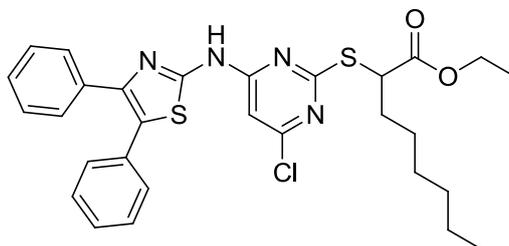
Charakterisierung von Ethyl-2-({4-chlor-6-[(5-Ethyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat **130** (TH068):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 5-Ethyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-amin (279 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 85 % (0.50 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (m, 3H, Hexyl-CH₃), 1.20 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.23–1.41 (m, 11H, Hexyl-CH₂, Ethyl-thiazol-CH₃), 1.85–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.94 (q, 2H, Ethyl-thiazol-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.17 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.50 Hz), 4.71 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.78 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.37 (t, 1H, Ph-H₄, *J* = 7.10 Hz), 7.47 (t, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 7.62 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 12.09 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.80 (Hexyl-CH₃), 13.94 (O-Ethyl-CH₃), 16.27 (Thiazol-CH₂-CH₃), 19.85 (Thiazol-CH₂-CH₃), 21.88 (Hexyl-CH₂), 26.30 (Hexyl-CH₂), 28.06 (Hexyl-CH₂), 30.87 (Hexyl-CH₂), 31.60 (Hexyl-CH₂), 46.84 (S-CH), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 101.77 (Pyr-C₅), 127.46 (Thiazol-C₅), 128.03 (Ph-C₂/C₆), 128.40 (Ph-C₃/C₅), 129.46 (Ph-C₄), 134.74 (Ph-C₁), 144.12 (Thiazol-C₄), 153.89 (Thiazol-C₂), 157.66 (Pyr-C₄/C₆), 169.65 (-COOEt), 170.93 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 520.0 [M+H]⁺.

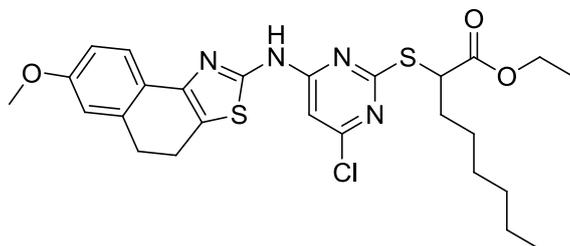
Charakterisierung von Ethyl-2-({4-chlor-6-[(4,5-diphenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat **131** (TH033):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (396 mg; 1.13 mmol), E2: 4,5-Diphenyl-1,3-thiazol-2-amin (341 mg; 1.35 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (39 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (178 mg; 1.58 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 23 % (0.15 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.80 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.71 Hz), 1.13 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.09 Hz), 1.17–1.39 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–1.97 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.04–4.17 (m, 2H, O-Ethyl-CH₂), 4.65 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.22 Hz), 6.80 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.30–7.47 (m, 10H, Ph-H), 12.30 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.76 (Hexyl-CH₃), 13.85 (O-Ethyl-CH₃), 21.81 (Hexyl-CH₂), 26.33 (Hexyl-CH₂), 28.01 (Hexyl-CH₂), 30.78 (Hexyl-CH₂), 31.58 (Hexyl-CH₂), 46.85 (S-CH), 61.06 (O-Ethyl-CH₂), 102.08 (Pyr-C₅), 126.05 (Thiazol-C₅), 127.77 (Ph'-C₄), 128.00 (Ph-C₄), 128.25 (Ph'-C_{2/6}), 128.35 (Ph-C_{2/6}), 128.91 (Ph'-C_{3/5}), 129.19 (Ph-C_{3/5}), 131.59 (Ph-C₁), 134.44 (Ph'-C₁), 144.13 (Thiazol-C₄), 155.41 (Thiazol-C₂), 157.57 (Pyr-C₆), 157.81 (Pyr-C₄), 169.68 (-COOEt), 170.84 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 567.70 [M+H]⁺.

Charakterisierung von Ethyl-2-[[4-chlor-6-((7-methoxy-4,5-dihydronaphtho[1,2-d][1,3]thiazol-2-yl)amino)pyrimidin-2-yl]sulfanyl]octanoat **132** (TH053):



Synthese Stufe IV; E1: Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (400 mg; 1.14 mmol), E2: 7-Methoxy-4*H*,5*H*-naphtho[1,2-d][1,3]thiazol-2-amin (317 mg; 1.37 mmol), Pd₂(dba)₃ (21 mg; 0.02 mmol), Xantphos (40 mg; 0.07 mmol), Na₂CO₃ (169 mg; 1.59 mmol); Produkt: brauner Feststoff; Ausbeute: 30 % (0.19 g).

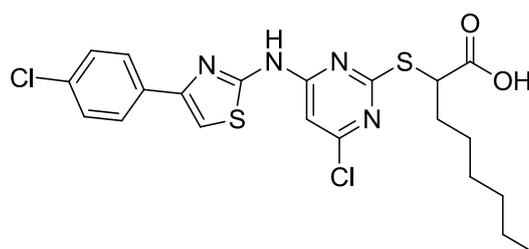
¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.94 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.29 (t, 3H, O-Ethyl-CH₃, *J* = 6.25 Hz), 1.35–1.50 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.92–2.09 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 3.02–3.08 (m, 4H, Naph-*H*_{4/5}), 3.86 (s, 3H, O-CH₃), 4.25 (q, 2H, O-Ethyl-CH₂, *J* = 6.67 Hz), 4.67 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.89–6.97 (m, 3H, Pyr-*H*₅, Naph-*H*_{6/8}), 7.67 (d, 1H, Naph-*H*₉, *J* = 7.50 Hz), 12.21 (s, 1H, N-*H*). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.84 (Hexyl-CH₃), 13.98 (O-Ethyl-CH₃), 20.69 (Naph-C₄), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.39 (Hexyl-CH₂), 28.06 (Hexyl-CH₂), 28.55 (Naph-C₅), 30.90 (Hexyl-CH₂), 31.41 (Hexyl-CH₂), 46.97 (S-CH), 55.07 (O-CH₃), 61.10 (O-Ethyl-CH₂), 101.88 (Pyr-C₅), 111.84 (Naph-C₈), 114.02 (Naph-C₆), 121.59 (Thiazol-C₅), 123.24 (Naph-C₉), 124.00 (Naph-C_{9a}), 136.52 (Naph-C_{5a}), 143.83 (Thiazol-C₄), 155.58 (Thiazol-C₂), 157.49 (Pyr-C₄), 157.64 (Pyr-C₂), 158.46 (Naph-C₇), 169.57 (-COOEt), 170.93 (Pyr-C₆). **MS (ESI-):** *m/e* = 546.1 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₆H₃₁ClN₄O₃S₂ [547.13])** C, H, N, S: ber. C 57.08, H 5.71, N 10.24, S 11.72; gef. C 56.93, H 5.56, N 10.12, S 11.43; Abw. C -0.15, H -0.15, N -0.12, S -0.29.

5.2.5. Synthese und Charakterisierung der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate (Verb. 3, 51–65, 67–76)

Stufe V: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate

In einem 100 mL Einhalskolben wurde der entsprechende Ester (Verb. **107–132**) (E1, 1 eq) in 10 mL THF gelöst. Zu der Lösung wurden LiOH·H₂O (5 eq), vorher gelöst in 2 mL Wasser, hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 24–48 h bei 45 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in Wasser mit einem kleinen Zusatz an Methanol (q.s.) gelöst. Die wässrige Phase wurde mit 2N HCl angesäuert und der ausgefallene Feststoff wurde drei Mal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich aus Ethylacetat umkristallisiert, um die entsprechenden aminothiazolhaltigen Pirinixinsäurederivate zu erhalten.

Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **3** (TH018):

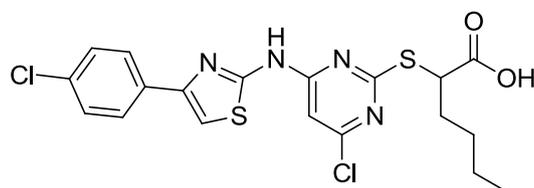


Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (580 mg; 1.10 mmol), LiOH·H₂O (138 mg; 3.31 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 65 % (0.36 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.54 Hz), 1.26–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.80–2.03 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.96 Hz), 6.81 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.50 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.60 Hz), 7.78 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.92 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.60 Hz), 12.21 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ:

13.83 (Hexyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.35 (Hexyl-CH₂), 28.18 (Hexyl-CH₂), 30.92 (Hexyl-CH₂), 31.76 (Hexyl-CH₂), 47.32 (S-CH), 101.90 (Pyr-C₅), 109.33 (Thiazol-C₅), 127.35 (Ph-C_{2/6}), 128.75 (Ph-C_{3/5}), 132.30 (Ph-C₄), 132.99 (Ph-C₁), 147.98 (Thiazol-C₄), 157.68 (Pyr-C₄), 157.81 (Pyr-C₂), 170.10 (Pyr-C₆), 172.21 (-COOH). **MS (ESI-):** $m/e = 495.6$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₂₂Cl₂N₄O₂S₂ [497.46])** C, H, N, S: ber. C 50.70, H 4.46, N 11.26, S 12.89; gef. C 50.49, H 4.41, N 11.18, S 13.05; Abw. C -0.21, H -0.05, N -0.08, S +0.16.

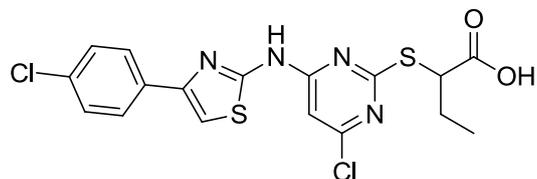
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]hexansäure **72** (TH005):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]hexanoate (370 mg; 0.74 mmol), LiOH·H₂O (94 mg; 2.23 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 74 % (0.26 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.86 (t, 3H, Butyl-CH₃, $J = 7.50$ Hz), 1.28–1.44 (m, 4H, Butyl-CH₂), 1.87–1.99 (m, 2H, S-CH-CH₂), 4.57 (t, 1H, S-CH, $J = 7.50$ Hz), 6.80 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.49 (d, 2H, Ph-H_{3,5}, $J = 8.76$ Hz), 7.78 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.92 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, $J = 8.76$ Hz), 12.19 (s, 1H, NH). **¹³C-NMR (69.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.69 (Butyl-CH₃), 21.73 (Butyl-CH₂), 28.62 (Butyl-CH₂), 31.42 (Butyl-CH₂), 47.23 (S-CH), 101.94 (Pyr-C₅), 109.34 (Thiazol-C₅), 127.36 (Ph-C_{2/C6}), 128.76 (Ph-C_{3/C5}), 132.32 (Ph-C₁), 132.99 (Ph-C₄), 148.00 (Thiazol-C₄), 157.69 (Pyr-C₆), 157.83 (Pyr-C₄), 170.05 (Pyr-C₂), 172.22 (-COOH). **MS (ESI+):** $m/e = 469.3$ [M+H]⁺. **Anal. (C₁₉H₁₈Cl₂N₄O₂S₂ [469.41])** C, H, N, S: ber. C 48.62, H 3.87, N 11.94, S 13.66; gef. C 48.79, H 3.94, N 12.06, S 13.50; Abw. C +0.17, H +0.07, N +0.12, S -0.16.

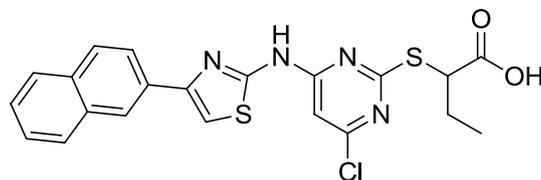
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]butansäure **73** (TH035):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]butansäure (304 mg; 0.65 mmol), LiOH·H₂O (136 mg; 3.24 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 89 % (0.25 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.03 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.95–2.10 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 5.00 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.52 (d, 2H, Ph-H_{3,5}, *J* = 7.50 Hz), 7.81 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.94 (d, 2H, Ph-H_{2,6}, *J* = 7.50 Hz), 12.22 (s, 1H, -NH), 13.04 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.23 (Ethyl-CH₃), 25.20 (Ethyl-CH₂), 48.67 (S-CH), 101.93 (Pyr-C₅), 109.35 (Thiazol-C₅), 127.36 (Ph-C_{2/6}), 128.76 (Ph-C_{3/5}), 132.32 (Ph-C₁), 133.00 (Ph-C₄), 148.01 (Thiazol-C₄), 157.71 (Pyr-C₄), 157.84 (Pyr-C₂), 170.08 (Pyr-C₆), 172.00 (-COOH). **MS (ESI-):** *m/e* = 439.6 [M-H]. **Anal. (C₁₇H₁₄Cl₂N₄O₂S₂ [441.35])** C, H, N, S: ber. C 46.26, H 3.20, N 12.69, S 14.53; gef. C 46.01, H 3.35, N 12.69, S 14.41; Abw. C -0.25, H +0.15, N ±0.00, S -0.12.

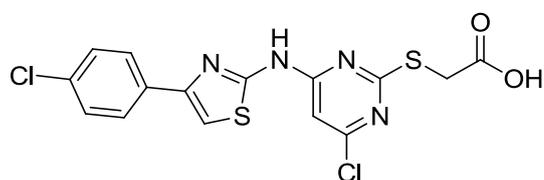
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]butansäure **74** (TH107):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]butanoate (394 mg; 0.81 mmol), LiOH·H₂O (170 mg; 4.05 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 94 % (0.35 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.04 (t, 3H, Ethyl-CH₃, *J* = 7.36 Hz), 1.91–2.07 (m, 2H, Ethyl-CH₂), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.74 Hz), 6.84 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.49–7.56 (m, 2H, Naph-H_{6,7}), 7.87 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.91–7.98 (m, 3H, Naph-H_{3,5,8}), 8.06 (d, 1H, Naph-H₄, *J* = 7.05 Hz), 8.44 (s, 1H, Naph-H₁), 12.27 (s, 1H, -NH), 13.01 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.27 (Ethyl-CH₃), 25.23 (Ethyl-CH₂), 48.70 (S-CH), 101.94 (Pyr-C₅), 109.33 (Thiazol-C₅), 123.95 (Naph-C₃), 124.30 (Naph-C₁), 126.19 (Naph-C₆), 126.53 (Naph-C₇), 127.60 (Naph-C₅), 128.17 (Naph-C₈), 128.29 (Naph-C₄), 131.57 (Naph-C₂), 132.55 (Naph-C_{4a}), 133.12 (Naph-C_{8a}), 149.13 (Thiazol-C₄), 157.74 (Pyr-C₆), 157.82 (Pyr-C₄), 170.11 (Pyr-C₂), 172.06 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 455.3 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₁₇ClN₄O₂S₂ [456.97])** C, H, N, S: ber. C 55.20, H 3.75, N 12.26, S 14.03; gef. C 54.83, H 3.73, N 11.97, S 13.94; Abw. C -0.37, H -0.02, N -0.29, S -0.09.

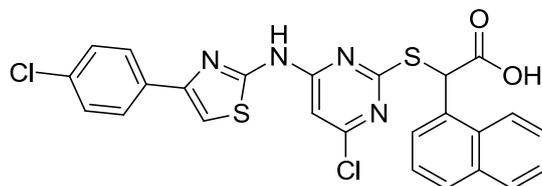
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]Essigsäure **75** (TH012):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]acetat (125 mg; 0.28 mmol), LiOH·H₂O (36 mg; 0.85 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 56 % (0.07 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 4.09 (s, 2H, S-CH₂), 6.79 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.49 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 7.76 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.92 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 12.18 (s, 1H, NH), 12.84 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 33.20 (S-CH₂), 101.70 (Pyr-C₅), 109.35 (Thiazol-C₅), 127.35 (Ph-C_{2/6}), 128.75 (Ph-C_{3/5}), 132.28 (Ph-C₁), 132.97 (Ph-C₄), 147.94 (Thiazol-C₄), 157.64 (Pyr-C₆), 157.84 (Pyr-C₄), 169.59 (-COOH), 170.45 (Pyr-C₂). **MS (ESI):** *m/e* = 411.3 [M-H]⁻. **Anal. (C₁₅H₁₀Cl₂N₄O₂S₂ [413.30])** C, H, N, S: ber. C 43.59, H 2.44, N 13.56, S 15.52; gef. C 43.37, H 2.53, N 13.31, S 15.39; Abw. C -0.22, H +0.09, N -0.25, S -0.13.

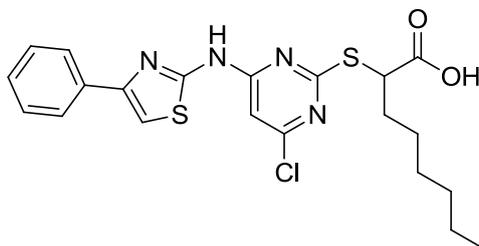
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]-2-(naphthalen-1-yl)essigsäure **76** (TH014):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-chlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]-2-(naphthalen-1-yl)acetat (300 mg; 0.53 mmol), LiOH·H₂O (67 mg; 1.59 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 43 % (0.13 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 6.44 (s, 1H, S-CH), 6.87 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.49 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.53 Hz), 7.55–7.68 (m, 4 H, Naph-H_{2/3/6/7}), 7.75 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.92 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.53 Hz), 8.00 (t, 2H, Naph-H_{4/5}, *J* = 9.43 Hz), 8.20 (d, 1H, Naph-H₈, *J* = 8.26 Hz), 12.26 (s, 1H, -NH), 13.37 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 49.57 (S-CH), 102.21 (Pyr-C₅), 109.37 (Thiazol-C₅), 123.28 (Naph-C₁), 125.63 (Naph-C₃), 126.27 (Naph-C₇), 126.98 (Naph-C₈), 127.02 (Naph-C₆), 127.37 (Ph-C_{2/6}), 128.77 (Ph-C_{3/5}), 128.99 (Naph-C₄), 129.13 (Naph-C₅), 130.54 (Naph-C₂), 131.13 (Naph-C_{4a}), 132.34 (Ph-C₁), 132.98 (Ph-C₄), 133.66 (Naph-C_{8a}), 148.01 (Thiazol-C₄), 157.77 (Thiazol-C₂), 157.86 (Pyr-C₆), 157.95 (Pyr-C₄), 169.79 (Pyr-C₂), 170.79 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 537.8 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₅H₁₆Cl₂N₄O₂S₂ [539.46])** C, H, N, S: ber. C 55.66, H 2.99, N 10.39, S 11.89; gef. C 55.44, H 3.05, N 10.31, S 11.73; Abw. C -0.22, H +0.06, N -0.08, S -0.16.

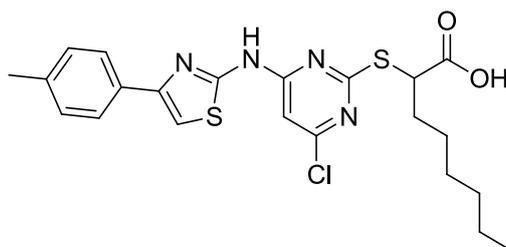
Charakterisierung von 2-({4-Chlor-6-[(4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octansäure **51** (TH020):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-({4-chlor-6-[(4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat (600 mg; 1.22 mmol), LiOH·H₂O (154 mg; 3.66 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 7 % (0.04 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.27–1.44 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.85–2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.61 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.34 (t, 1H, Ph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 7.46 (t, 2H, Ph-H_{3,5}, *J* = 7.50 Hz), 7.74 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.93 (d, 2H, Ph-H_{2,6}, *J* = 7.50 Hz), 12.23 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 21.91 (Hexyl-CH₂), 26.33 (Hexyl-CH₂), 28.18 (Hexyl-CH₂), 30.91 (Hexyl-CH₂), 31.81 (Hexyl-CH₂), 47.42 (S-CH), 101.84 (Pyr-C₅), 108.56 (Thiazol-C₅), 125.63 (Ph-C₄), 127.85 (Ph-C_{2/6}), 128.72 (Ph-C_{3/5}), 134.10 (Ph-C₁), 149.21 (Thiazol-C₄), 157.71 (Pyr-C₆), 157.77 (Pyr-C₄), 170.17 (Pyr-C₂), 172.23 (-COOH). **MS (ESI+):** *m/e* = 463.4 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₁H₂₃ClN₄O₂S₂ [463.02])** C, H, N, S: ber. C 54.47, H 5.01, N 12.10, S 13.85; gef. C 54.21, H 5.08, N 11.97, S 13.57; Abw. C -0.26, H +0.07, N -0.13, S -0.28.

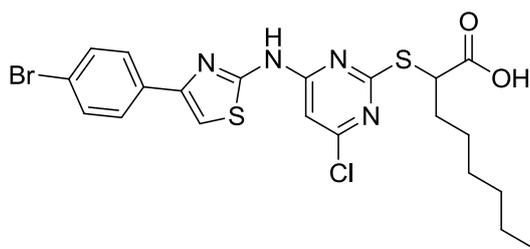
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-{{4-(4-methylphenyl)-1,3-thiazol-2-yl}amino)}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **52** (TH023):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-methylphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (312 mg; 0.62 mmol), LiOH·H₂O (77 mg; 1.85 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 49 % (0.14 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.27–1.44 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.85–2.05 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.34 (s, 3H, Ph-CH₃), 4.61 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.26 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 7.65 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.82 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 12.20 (s, 1H, -NH), 13.02 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 20.77 (Ph-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.34 (Hexyl-CH₂), 28.16 (Hexyl-CH₂), 30.90 (Hexyl-CH₂), 31.70 (Hexyl-CH₂), 47.17 (S-CH), 101.87 (Pyr-C₅), 107.71 (Thiazol-C₅), 125.58 (Ph-C₁), 129.29 (Ph-C_{2/6}), 131.44 (Ph-C_{3/5}), 137.18 (Ph-C₄), 149.29 (Thiazol-C₄), 157.69 (Pyr-C₆), 157.74 (Pyr-C₄), 170.01 (Pyr-C₂), 172.24 (-COOH). **MS (ESI+):** *m/e* = 477.8 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₂H₂₅ClN₄O₂S₂ [477.04])** C, H, N, S: ber. C 55.39, H 5.28, N 11.74, S 13.44; gef. C 55.35, H 5.45, N 11.79, S 13.53; Abw. C -0.04, H +0.17, N +0.05, S +0.09.

Charakterisierung von 2-[(4-[[4-(4-Bromphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **53** (TH026):

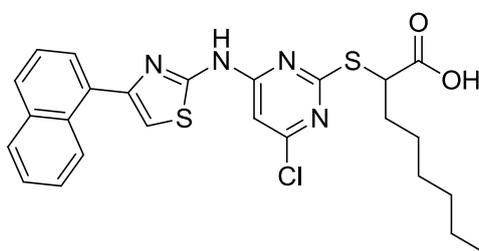


Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-[[4-(4-bromophenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (200 mg; 0.35 mmol), LiOH·H₂O (44 mg; 1.05 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 26 % (0.05 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.67 Hz), 1.26–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.83–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.74 Hz), 6.81 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.64 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.39 Hz), 7.79 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.86 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.39 Hz), 12.22 (s, 1H, -NH), 12.98 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.87 (Hexyl-CH₃), 21.96 (Hexyl-CH₂), 26.38 (Hexyl-CH₂),

28.21 (Hexyl-CH₂), 30.95 (Hexyl-CH₂), 31.75 (Hexyl-CH₂), 47.30 (S-CH), 101.93 (Pyr-C₅), 109.45 (Thiazol-C₅), 120.95 (Ph-C₄), 127.69 (Ph-C_{2/6}), 131.71 (Ph-C_{3/5}), 133.35 (Ph-C₁), 148.06 (Thiazol-C₄), 157.70 (Pyr-C₆), 157.85 (Pyr-C₄), 170.11 (Pyr-C₂), 172.25 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 539.8$ [M-2H]²⁻. **Anal. (C₂₁H₂₂BrClN₄O₂S₂ [541.91])** C, H, N, S: ber. C 46.54, H 4.09, N 10.34, S 11.83; gef. C 46.48, H 4.16, N 10.06, S 11.80; Abw. C -0.06, H +0.07, N -0.28, S -0.03.

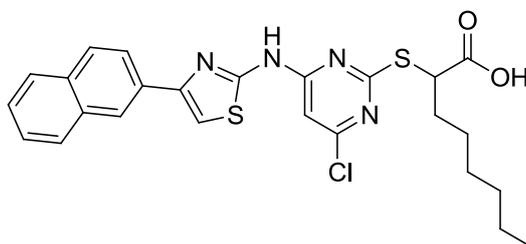
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(naphthalen-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **54** (TH027):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chloro-6-[[4-(naphthalen-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino]pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (400 mg; 0.74 mmol), LiOH·H₂O (155 mg; 3.70 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 90 % (0.34 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, $J = 6.58$ Hz), 1.27–1.45 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.86–2.03 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.64 (t, 1H, S-CH, $J = 6.85$ Hz), 6.84 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.54 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.54–7.61 (m, 3H, Naph-H_{3,6,7}), 7.72 (d, 1H, Naph-H₂, $J = 7.13$ Hz), 7.96–8.01 (m, 2H, Naph-H_{4,5}), 8.39–8.42 (m, 1H, Naph-H₈), 12.26 (s, 1H, -NH), 13.00 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.89 (Hexyl-CH₃), 21.98 (Hexyl-CH₂), 26.39 (Hexyl-CH₂), 28.23 (Hexyl-CH₂), 30.97 (Hexyl-CH₂), 31.76 (Hexyl-CH₂), 47.23 (S-CH), 101.96 (Pyr-C₅), 112.41 (Thiazol-C₅), 125.50 (Naph-C₂), 125.85 (Naph-C₇), 126.00 (Naph-C₆), 126.29 (Naph-C₃), 127.21 (Naph-C₄), 128.31 (Naph-C₈), 128.53 (Naph-C₅), 130.57 (Naph-C_{8a}), 132.52 (Naph-C_{4a}), 133.53 (Naph-C₁), 157.80 (Pyr-C₆), 157.83 (Pyr-C₄), 170.12 (Pyr-C₂), 172.30 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 511.8$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₅H₂₅ClN₄O₂S₂ [513.07])** C, H, N, S: ber. C 58.52, H 4.91, N 10.92, S 12.50; gef. C 58.29, H 5.01, N 10.71, S 12.57; Abw. C -0.23, H +0.10, N -0.21, S +0.07.

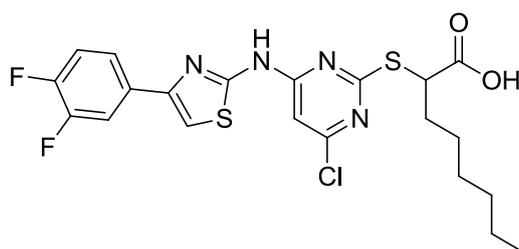
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **55** (TH034):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(naphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (309 mg; 0.57 mmol), LiOH·H₂O (119 mg; 2.86 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 58 % (0.17 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.26–1.48 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.86–2.03 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.63 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.85 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.50–7.58 (m, 2H, Naph-H_{6,7}), 7.89 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.92–8.00 (m, 3H, Naph-H_{3,5,8}), 8.08 (d, 1H, Naph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 8.46 (s, 1H, Naph-H₁), 12.30 (s, 1H, -NH), 13.03 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.37 (Hexyl-CH₂), 28.17 (Hexyl-CH₂), 30.92 (Hexyl-CH₂), 31.74 (Hexyl-CH₂), 47.23 (S-CH), 101.94 (Pyr-C₅), 109.27 (Thiazol-C₅), 123.95 (Naph-C₃), 124.30 (Naph-C₁), 126.16 (Naph-C₆), 126.50 (Naph-C₇), 127.59 (Naph-C₅), 128.15 (Naph-C₈), 128.26 (Naph-C₄), 131.58 (Naph-C₂), 132.55 (Naph-C_{4a}), 133.12 (Naph-C_{8a}), 149.15 (Thiazol-C₄), 157.75 (Pyr-C₆), 157.82 (Pyr-C₄), 170.08 (Pyr-C₂), 172.22 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 511.8 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₅H₂₅ClN₄O₂S₂ [513.07])** C, H, N, S: ber. C 58.52, H 4.91, N 10.92, S 12.50; gef. C 58.23, H 4.92, N 10.84, S 12.63; Abw. C -0.29, H +0.01, N -0.08, S +0.13.

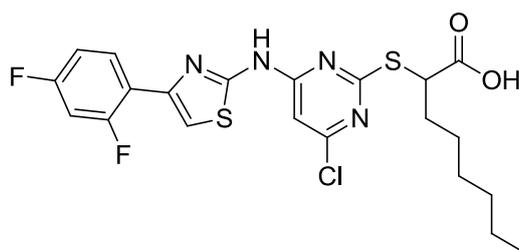
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(3,4-difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **56** (TH044):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(3,4-difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (301 mg; 0.57 mmol), LiOH·H₂O (120 mg; 2.86 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 87 % (0.25 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.27–1.44 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.85–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.83 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.52 (dd, 1H, Ph-H₅), 7.77 (m, 1H, Ph-H₂), 7.83 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.88–7.97 (m, 1H, Ph-H₆), 12.21 (s, 1H, -NH), 12.99 (s, 1H, -COOH).
¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.34 (Hexyl-CH₂), 28.15 (Hexyl-CH₂), 30.90 (Hexyl-CH₂), 31.66 (Hexyl-CH₂), 47.19 (S-CH), 101.93 (Pyr-C₅), 109.65 (Thiazol-C₅), 114.45 (Ph-C₂), 117.90 (Ph-C₅), 122.35 (Ph-C₆), 131.81 (Ph-C₁), 147.02 (Thiazol-C₄), 147.69 (Ph-C₄), 150.94 (Ph-C₃), 157.63 (Thiazol-C₂), 157.82 (Pyr-C₆), 157.84 (Pyr-C₄), 170.00 (Pyr-C₂), 172.21 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 497.12 [M-H]. **Anal. (C₂₁H₂₁ClF₂N₄O₂S₂ [499.00])** C, H, N, S: ber. C 50.55, H 4.24, N 11.23, S 12.85; gef. C 50.60, H 4.39, N 11.15, S 12.55; Abw. C +0.05, H +0.15, N -0.08, S -0.30.

Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(2,4-difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **57** (TH054):

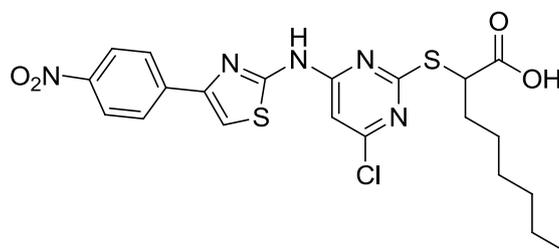


Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(2,4-difluorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (92 mg; 0.18 mmol), LiOH·H₂O (37 mg; 0.87 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 86 % (0.08 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.25–1.41 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.82–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.57 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.20 (m, 1H, Ph-H₃), 7.37 (m, 1H, Ph-H₅), 7.56 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.05 (m, 1H, Ph-H₆), 12.19 (s, 1H, -NH), 12.95 (s, 1H, -COOH).
¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 13.85 (Hexyl-CH₃), 21.96 (Hexyl-CH₂), 26.36

(Hexyl-CH₂), 28.20 (Hexyl-CH₂), 30.95 (Hexyl-CH₂), 31.67 (Hexyl-CH₂), 47.24 (S-CH), 101.98 (Pyr-C₅), 104.69 (Ph-C₃), 111.99 (Ph-C₅), 112.49 (Thiazol-C₅), 118.68 (Ph-C₁), 130.38 (Ph-C₁), 142.17 (Thiazol-C₄), 157.28 (Thiazol-C₂), 157.70 (Pyr-C₆), 157.88 (Pyr-C₄), 158.88 (Ph-C₂), 162.19 (Ph-C₄), 170.03 (Pyr-C₂), 172.24 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 497.9$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₂₁ClF₂N₄O₂S₂ [499.00])** C, H, N, S: ber. C 50.55, H 4.24, N 11.23, S 12.85; gef. C 50.23, H 4.12, N 11.03, S 12.51; Abw. C -0.32, H -0.12, N -0.20, S -0.34.

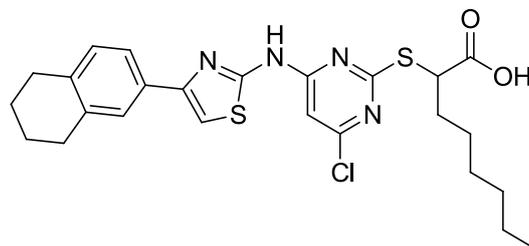
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-nitrophenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **58** (TH056):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chloro-6-[[4-(4-nitrophenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (170 mg; 0.32 mmol), LiOH·H₂O (108 mg; 2.57 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 88 % (0.14 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, $J = 7.50$ Hz), 1.26–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.87–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.58 (t, 1H, S-CH, $J = 7.50$ Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 8.09 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.17 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, $J = 10.00$ Hz), 8.32 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, $J = 10.00$ Hz), 12.31 (s, 1H, -NH), 13.00 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.85 (Hexyl-CH₃), 21.94 (Hexyl-CH₂), 26.36 (Hexyl-CH₂), 28.17 (Hexyl-CH₂), 30.92 (Hexyl-CH₂), 31.65 (Hexyl-CH₂), 47.25 (S-CH), 102.03 (Pyr-C₅), 113.08 (Thiazol-C₅), 124.24 (Ph-C₃/C₅), 126.53 (Ph-C₂/C₆), 140.01 (Ph-C₁), 146.50 (Ph-C₄), 147.07 (Thiazol-C₄), 157.68 (Pyr-C₆), 157.92 (Pyr-C₄), 158.22 (Thiazol-C₂), 170.04 (Pyr-C₂), 172.21 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 506.9$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₂₂ClN₅O₄S₂ [508.01])** C, H, N, S: ber. C 49.65, H 4.36, N 13.79, S 12.62; gef. C 49.68, H 4.34, N 13.53, S 12.45; Abw. C +0.03, H -0.02, N -0.26, S -0.17.

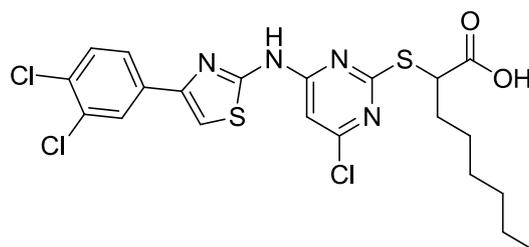
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-{[4-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **59** (TH063):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chloro-6-{[4-(5,6,7,8-tetrahydronaphthalen-2-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (228 mg; 0.42 mmol), LiOH·H₂O (145 mg; 3.46 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 45 % (0.10 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.25 Hz), 1.26–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.75 (m, 4H, Naphthyl-H_{6/7}), 1.86–1.98 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.73–2.76 (m, 4H, Naphthyl-H_{5/8}), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.25 Hz), 6.79 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.10 (d, 1H, Naph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 7.60 (m, 3H, Naph-H_{1/3}, Thiazol-H₅), 12.18 (s, 1H, -NH), 12.96 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.84 (Hexyl-CH₃), 21.93 (Hexyl-CH₂), 22.70 (Naph-C_{6/7}), 26.35 (Hexyl-CH₂), 28.18 (Hexyl-CH₂), 28.58 (Naph-C₅), 28.87 (Naph-C₈), 30.92 (Hexyl-CH₂), 31.74 (Hexyl-CH₂), 47.20 (S-CH), 101.86 (Pyr-C₅), 107.52 (Thiazol-C₅), 122.88 (Naph-C₃), 126.25 (Naph-C₄), 129.25 (Naph-C₁), 131.41 (Naph-C₁), 136.48 (Naph-C_{4a}), 136.80 (Naph-C_{8a}), 149.47 (Thiazol-C₄), 157.41 (Thiazol-C₂), 157.70 (Pyr-C₆), 157.75 (Pyr-C₄), 170.05 (Pyr-C₂), 172.24 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 516.0 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₅H₂₉ClN₄O₂S₂ [517.11])** C, H, N, S: ber. C 58.07, H 5.65, N 10.83, S 12.40; gef. C 57.85, H 5.64, N 10.54, S 12.30; Abw. C -0.22, H -0.01, N -0.29, S -0.10.

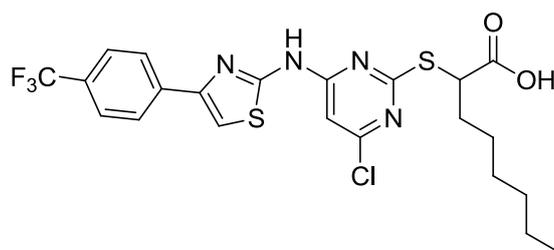
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-{[4-(3,4-dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **60** (TH083):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-([4-(3,4-dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino)pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (162 mg; 0.29 mmol), LiOH·H₂O (60 mg; 1.43 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 44 % (0.07 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.25–1.44 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84–2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.59 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.81 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.71 (d, 1H, Ph-H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.90 (dd, 1H, Ph-H₆, *J* = 7.50 Hz), 7.93 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.15 (s, 1H, Ph-H₂), 12.23 (s, 1H, -NH), 13.00 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.82 (Hexyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.35 (Hexyl-CH₂), 28.16 (Hexyl-CH₂), 30.91 (Hexyl-CH₂), 31.71 (Hexyl-CH₂), 47.27 (S-CH), 101.95 (Pyr-C₅), 110.64 (Thiazol-C₅), 125.66 (Ph-C₆), 127.33 (Ph-C₂), 130.09 (Ph-C₅), 130.99 (Ph-C₃), 131.56 (Ph-C₁), 134.68 (Ph-C₄), 146.63 (Thiazol-C₄), 157.64 (Pyr-C₆), 157.88 (Pyr-C₄), 157.95 (Thiazol-C₂), 170.07 (Pyr-C₂), 172.18 (-COOH). **MS (ESI-):** *m/e* = 529.4 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₂₁Cl₃N₄O₂S₂ [530.02])** C, H, N, S: ber. C 47.42, H 3.98, N 10.53, S 12.06; gef. C 47.42, H 4.14, N 10.25, S 11.99; Abw. C ±0.00, H +0.16, N -0.28, S -0.07.

Charakterisierung von 2-[[4-Chlor-6-([4-[4-(trifluormethyl)phenyl]-1,3-thiazol-2-yl]amino)pyrimidin-2-yl]sulfanyl]octansäure **61** (TH084):

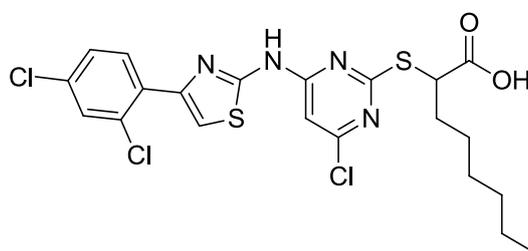


Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[[4-chlor-6-([4-[4-(trifluormethyl)phenyl]-1,3-thiazol-2-yl]amino)pyrimidin-2-yl]sulfanyl]octanoat (200 mg; 0.36 mmol), LiOH·H₂O (81 mg; 3.13 mmol); Produkt: leicht gelblicher Feststoff; Ausbeute: 25 % (0.05 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.81 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.37 Hz), 1.24–1.41 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.82–2.01 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.57 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.80 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.78 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.47 Hz), 7.88 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.09 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.47 Hz), 12.22 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.05 (Hexyl-CH₃), 22.15 (Hexyl-CH₂), 26.56 (Hexyl-CH₂), 28.36 (Hexyl-CH₂), 31.13

(Hexyl-CH₂), 31.86 (Hexyl-CH₂), 47.47 (S-CH), 102.18 (Pyr-C₅), 111.34 (Thiazol-C₅), 125.93 (-CF₃), 126.45 (Ph-C₄), 127.93 (Ph-C_{3/5}), 128.36 (Ph-C_{2/6}), 137.99 (Ph-C₁), 147.89 (Thiazol-C₄), 157.88 (Thiazol-C₂), 158.17 (Pyr-C₆), 158.23 (Pyr-C₄), 170.26 (Pyr-C₂), 172.55 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 529.4$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₂H₂₂ClF₃N₄O₂S₂ [531.01])** C, H, N, S: ber. C 49.76, H 4.18, N 10.55, S 12.08; gef. C 49.37, H 4.12, N 10.33, S 11.84; Abw. C -0.39, H -0.06, N -0.22, S -0.24.

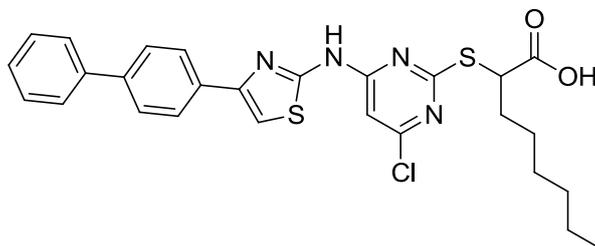
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(2,4-dichlorphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **62** (TH102):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chloro-6-[[4-(2,4-dichlorophenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (162 mg; 0.29 mmol), LiOH·H₂O (61 mg; 1.45 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 91 % (0.14 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, $J = 6.70$ Hz), 1.24–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.84–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.59 (t, 1H, S-CH, $J = 6.93$ Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.53 (dd, 1H, Ph-H₅, $^3J = 8.61$ Hz), 7.72 (d, 1H, Ph-H₃, $^4J = 2.15$ Hz), 7.75 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.89 (d, 1H, Ph-H₆, $J = 8.50$ Hz), 12.23 (s, 1H, -NH), 12.96 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.85 (Hexyl-CH₃), 21.95 (Hexyl-CH₂), 26.35 (Hexyl-CH₂), 28.19 (Hexyl-CH₂), 30.94 (Hexyl-CH₂), 31.68 (Hexyl-CH₂), 47.23 (S-CH), 101.95 (Pyr-C₅), 113.90 (Thiazol-C₅), 127.60 (Ph-C₅), 129.81 (Ph-C₁), 131.80 (Ph-C₆), 131.83 (Ph-C₃), 132.28 (Ph-C₂), 132.93 (Ph-C₄), 144.85 (Thiazol-C₄), 157.03 (Thiazol-C₂), 157.70 (Pyr-C₆), 157.89 (Pyr-C₄), 170.06 (Pyr-C₂), 172.23 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 531.0$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₂₁Cl₃N₄O₂S₂ [531.91])** C, H, N, S: ber. C 47.42, H 3.98, N 10.53, S 12.06; gef. C 47.68, H 4.08, N 10.20, S 12.31; Abw. C +0.26, H +0.10, N -0.33, S +0.25.

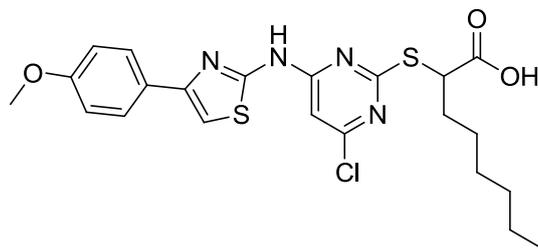
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-[[4-(4-phenylphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **63** (TH104):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chlor-6-[[4-(4-phenylphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (175 mg; 0.31 mmol), LiOH·H₂O (65 mg; 1.54 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 81 % (0.14 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.38 Hz), 1.23–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.83–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.07 Hz), 6.82 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.36 (t, 1H, Biph-H₄, *J* = 7.25 Hz), 7.47 (t, 2H, Biph-H₃/H₅, *J* = 7.34 Hz), 7.70–7.76 (m, 4H, Biph-H₃/H₅/H₂/H₆), 7.78 (s, 1H, Thiazol-H₅), 8.00 (d, 2H, Biph-H₂/H₆, *J* = 8.42 Hz), 12.20 (s, 1H, -NH), 12.96 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.34 (Hexyl-CH₂), 28.16 (Hexyl-CH₂), 30.91 (Hexyl-CH₂), 31.71 (Hexyl-CH₂), 47.19 (S-CH), 101.91 (Pyr-C₅), 108.77 (Thiazol-C₅), 126.21 (Biph-C₃/C₅), 126.47 (Biph-C₂/C₆), 126.95 (Biph-C₂/C₆), 127.51 (Biph-C₄), 128.94 (Biph-C₃/C₅), 133.20 (Biph-C₁), 139.38 (Biph-C₁), 139.52 (Biph-C₄), 148.86 (Thiazol-C₄), 157.68 (Thiazol-C₂), 157.71 (Pyr-C₆), 157.79 (Pyr-C₄), 170.04 (Pyr-C₂), 172.23 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 537.1 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₇H₂₇ClN₄O₂S₂ [538.13])** C, H, N, S: ber. C 60.15, H 5.05, N 10.39, S 11.90; gef. C 60.27, H 5.16, N 10.02, S 11.95; Abw. C +0.12, H +0.11, N -0.37, S -0.05.

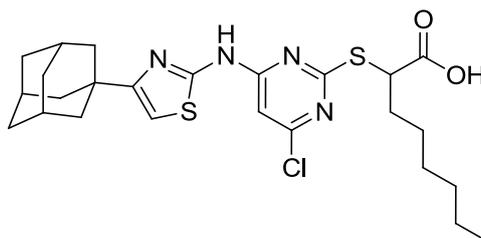
Charakterisierung von 2-[(4-Chlor-6-{[4-(4-methoxyphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **64** (TH121):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-chloro-6-{[4-(4-methoxyphenyl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}pyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (310 mg; 0.60 mmol), LiOH·H₂O (125 mg; 2.97 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 85 % (0.25 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.41 Hz), 1.26–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.83–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 3.79 (s, 3H, -O-CH₃), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.87 Hz), 6.81 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.00 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 8.89 Hz), 7.56 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.84 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 8.79 Hz), 12.18 (s, 1H, -NH), 13.00 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.88 (Hexyl-CH₃), 21.97 (Hexyl-CH₂), 26.39 (Hexyl-CH₂), 28.21 (Hexyl-CH₂), 30.96 (Hexyl-CH₂), 31.75 (Hexyl-CH₂), 47.20 (S-CH), 55.16 (-O-CH₃), 101.90 (Pyr-C₅), 106.59 (Thiazol-C₅), 114.13 (Ph-C_{3/5}), 126.97 (Ph-C₁), 127.02 (Ph-C_{2/6}), 149.15 (Thiazol-C₄), 157.49 (Thiazol-C₂), 157.72 (Pyr-C₆), 157.77 (Pyr-C₄), 159.05 (Ph-C₄), 170.06 (Pyr-C₂), 172.28 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 491.3 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₂H₂₅ClN₄O₃S₂ [493.04])** C, H, N, S: ber. C 53.59, H 5.11, N 11.36, S 13.01; gef. C 53.50, H 5.09, N 11.05, S 12.62; Abw. C -0.09, H -0.02, N -0.31, S -0.39.

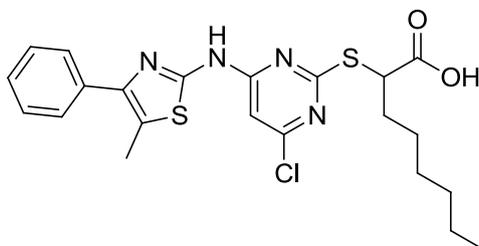
Charakterisierung von 2-[(4-{[4-(Adamantan-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl]amino}-6-chloropyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **65** (TH105):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-[(4-(adamantan-1-yl)-1,3-thiazol-2-yl)amino]-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (250 mg; 0.46 mmol), LiOH·H₂O (95 mg; 2.28 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 82 % (0.19 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.35 Hz), 1.24–1.41 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.72–2.03 (m, 17H, Hexyl-CH₂, Adamantyl-H_{2/3/4/5/6/7/8/9/10}), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.91 Hz), 6.76 (s, 2H, Pyr-H₅, Thiazol-H₅), 12.32 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.86 (Hexyl-CH₃), 21.97 (Hexyl-CH₂), 26.27 (Hexyl-CH₂), 27.92 (Adamantyl-C_{3/5/7}), 28.46 (Hexyl-CH₂), 31.07 (Hexyl-CH₂), 32.66 (Hexyl-CH₂), 35.83 (Adamantyl-C_{4/6/10}), 36.33 (Adamantyl-C_{2/8/9}), 41.58 (Adamantyl-C₁), 49.07 (S-CH), 101.23 (Pyr-C₅), 104.99 (Thiazol-C₅), 157.12 (Thiazol-C₂), 157.48 (Pyr-C₆), 157.75 (Pyr-C₄), 160.74 (Thiazol-C₄), 171.26 (Pyr-C₂), 172.11 (-COOH). **MS (ESI+):** *m/e* = 519.8 [M-H]⁺. **Anal. (C₂₅H₃₃ClN₄O₂S₂ [521.14])** C, H, N, S: ber. C 57.62, H 6.38, N 10.75, S 12.31; gef. C 57.37, H 6.27, N 10.45, S 12.36; Abw. C -0.25, H -0.11, N -0.30, S +0.05.

Charakterisierung von 2-({4-Chlor-6-[(5-methyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octansäure **67** (TH037):

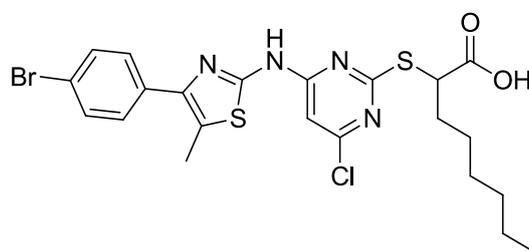


Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-({4-chloro-6-[(5-methyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat (211 mg; 0.42 mmol), LiOH·H₂O (88 mg; 2.08 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 54 % (0.11 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 5.00 Hz), 1.19–1.42 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.86–2.00 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.57 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.50 Hz), 6.75 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.34 (t, 1H, Ph-H₄, *J* = 7.50 Hz), 7.45 (t, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.50 Hz), 7.65 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 7.50 Hz), 12.04 (s, 1H, -NH), 12.97 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.79 (Thiazol-CH₃), 13.83 (Hexyl-CH₃), 21.92 (Hexyl-CH₂), 26.44 (Hexyl-CH₂), 28.14 (Hexyl-CH₂), 30.93

(Hexyl-CH₂), 31.77 (Hexyl-CH₂), 47.17 (S-CH), 101.69 (Pyr-C₅), 121.62 (Thiazol-C₅), 127.32 (Ph-C₄), 127.90 (Ph-C₂/C₆), 128.37 (Ph-C₃/C₅), 134.61 (Ph-C₁), 144.47 (Thiazol-C₄), 153.65 (Thiazol-C₂), 157.59 (Pyr-C₆), 157.66 (Pyr-C₄), 169.98 (Pyr-C₂), 172.24 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 477.62$ [M+H]⁺. **Anal. (C₂₂H₂₅ClN₄O₂S₂ [477.04])** C, H, N, S: ber. C 55.39, H 5.28, N 11.74, S 13.44; gef. C 55.51, H 5.43, N 11.49, S 13.18; Abw. C +0.12, H +0.15, N -0.25, S -0.26.

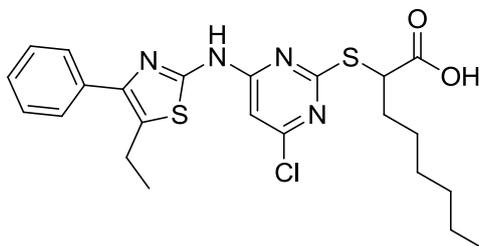
Charakterisierung von 2-[(4-[[4-(4-Bromphenyl)-5-methyl-1,3-thiazol-2-yl]amino]-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octansäure **68** (TH057):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-[(4-[[4-(4-bromphenyl)-5-methyl-1,3-thiazol-2-yl]amino]-6-chlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (300 mg; 0.51 mmol), LiOH·H₂O (173 mg; 4.12 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 78 % (0.22 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, $J = 7.50$ Hz), 1.26–1.43 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.87–1.99 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.56 (t, 1H, S-CH, $J = 7.50$ Hz), 6.75 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.61 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, $J = 10.00$ Hz), 7.66 (d, 2H, Ph-H_{3/5}, $J = 10.00$ Hz), 12.07 (s, 1H, -NH), 12.97 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 11.79 (Thiazol-CH₃), 13.85 (Hexyl-CH₃), 21.94 (Hexyl-CH₂), 26.46 (Hexyl-CH₂), 28.16 (Hexyl-CH₂), 30.95 (Hexyl-CH₂), 31.78 (Hexyl-CH₂), 47.24 (S-CH), 101.70 (Pyr-C₅), 120.54 (Thiazol-C₅), 122.46 (Ph-C₄), 129.91 (Ph-C₂/C₆), 131.96 (Ph-C₃/C₅), 133.84 (Ph-C₁), 143.30 (Thiazol-C₄), 153.81 (Thiazol-C₂), 157.55 (Pyr-C₆), 157.72 (Pyr-C₄), 170.03 (Pyr-C₂), 172.24 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 553.9$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₂H₂₄BrClN₄O₂S₂ [555.94])** C, H, N, S: ber. C 47.53, H 4.35, N 10.08, S 11.54; gef. C 47.72, H 4.40, N 9.77, S 11.27; Abw. C +0.19, H +0.05, N -0.31, S -0.27.

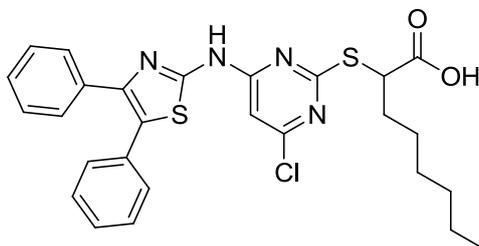
Charakterisierung von 2-({4-Chlor-6-[(5-ethyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octansäure **69** (TH100):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-({4-chlor-6-[(5-ethyl-4-phenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat (488 mg; 0.94 mmol), LiOH·H₂O (113 mg; 2.69 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 87 % (0.40 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.26–1.44 (m, 11H, Hexyl-CH₂, Ethyl-thiazol-CH₃), 1.84–2.02 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.92 (q, 2H, Ethyl-thiazol-CH₂, *J* = 7.45 Hz), 4.67 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.85 Hz), 6.76 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.36 (t, 1H, Ph-H₄, *J* = 7.19 Hz), 7.46 (t, 2H, Ph-H_{3/5}, *J* = 7.35 Hz), 7.60 (d, 2H, Ph-H_{2/6}, *J* = 6.84 Hz), 12.06 (s, 1H, -NH), 12.97 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 16.30 (Thiazol-CH₂-CH₃), 19.88 (Thiazol-CH₂-CH₃), 21.93 (Hexyl-CH₂), 26.41 (Hexyl-CH₂), 28.17 (Hexyl-CH₂), 30.94 (Hexyl-CH₂), 31.87 (Hexyl-CH₂), 47.14 (S-CH), 101.70 (Pyr-C₅), 127.48 (Thiazol-C₅), 128.06 (Ph-C_{2/6}), 128.43 (Ph-C_{3/5}), 129.45 (Ph-C₄), 134.76 (Ph-C₁), 144.03 (Thiazol-C₄), 154.02 (Thiazol-C₂), 157.68 (Pyr-C₆), 157.70 (Pyr-C₄), 170.11 (Pyr-C₂), 172.29 (-COOH). **MS (ESI-):** *m/e* = 491.19 [M]. **Anal. (C₂₃H₂₇ClN₄O₂S₂ [491.07])** C, H, N, S: ber. C 56.25, H 5.54, N 11.41, S 13.06; gef. C 56.22, H 5.52, N 11.19, S 13.35; Abw. C -0.03, H -0.02, N -0.22, S +0.29.

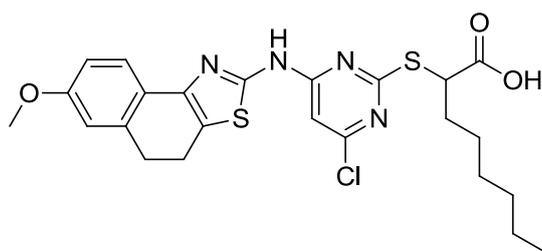
Charakterisierung von 2-({4-Chlor-6-[(4,5-diphenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octansäure **70** (TH109):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-({4-chlor-6-[(4,5-diphenyl-1,3-thiazol-2-yl)amino]pyrimidin-2-yl}sulfanyl)octanoat (138 mg; 0.24 mmol), LiOH·H₂O (51 mg; 1.22 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 66 % (0.09 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.79 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.67 Hz), 1.16–1.36 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.81–1.97 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.60 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.05 Hz), 6.79 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.30–7.47 (m, 10H, Ph-H), 12.31 (s, 1H, -NH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.83 (Hexyl-CH₃), 21.90 (Hexyl-CH₂), 26.46 (Hexyl-CH₂), 28.16 (Hexyl-CH₂), 30.86 (Hexyl-CH₂), 31.88 (Hexyl-CH₂), 47.12 (S-CH), 101.98 (Pyr-C₅), 126.08 (Thiazol-C₅), 127.82 (Ph'-C₄), 128.02 (Ph-C₄), 128.31 (Ph'-C_{2/6}), 128.41 (Ph-C_{2/6}), 128.93 (Ph'-C_{3/5}), 129.21 (Ph-C_{3/5}), 131.60 (Ph-C₁), 134.49 (Ph'-C₁), 144.19 (Thiazol-C₄), 155.48 (Thiazol-C₂), 157.58 (Pyr-C₆), 157.85 (Pyr-C₄), 170.14 (Pyr-C₂), 172.22 (-COOH). **MS (ESI-):** *m/e* = 537.1 [M-H]. **Anal. (C₂₇H₂₇ClN₄O₂S₂ [538.13])** C, H, N, S: ber. C 60.15, H 5.05, N 10.39, S 11.90; gef. C 59.96, H 5.14, N 10.12, S 11.57; Abw. C -0.19, H +0.09, N -0.27, S -0.33.

Charakterisierung von 2-{{4-Chlor-6-({7-methoxy-4*H*,5*H*-naphtho[1,2-*d*][1,3]thiazol-2-yl)amino}pyrimidin-2-yl}sulfanyl}octansäure **71** (TH062):



Synthese Stufe V; E1: Ethyl-2-{{4-chlor-6-{{7-methoxy-4*H*,5*H*-naphtho[1,2-*d*][1,3]thiazol-2-yl}amino)pyrimidin-2-yl}sulfanyl}octanoat (173 mg; 0.32 mmol), LiOH·H₂O (108 mg; 2.57 mmol); Produkt: gelber Feststoff; Ausbeute: 15 % (0.03 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.83 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 7.50 Hz), 1.25–1.41 (m, 8H, Hexyl-CH₂), 1.85–1.97 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 2.88–2.96 (m, 4H, Naph-*H*_{4/5}), 3.76 (s, 3H, O-CH₃), 4.55 (t, 1H, S-CH, *J* = 6.25 Hz), 6.78–6.86 (m, 3H, Pyr-*H*₅, Naph-*H*_{6/8}), 7.57 (d, 1H, Naph-*H*₉, *J* = 7.50 Hz), 12.10 (s, 1H, N-*H*), 12.92 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 13.85 (Hexyl-CH₃), 20.69 (Naph-C₄), 21.94 (Hexyl-CH₂), 26.45 (Hexyl-CH₂), 28.16 (Hexyl-CH₂), 28.55 (Naph-C₅), 30.95 (Hexyl-CH₂), 31.78 (Hexyl-CH₂), 47.20 (S-CH), 55.06 (O-CH₃), 101.81 (Pyr-C₅), 111.82 (Naph-C₈), 114.01 (Naph-C₆), 121.51 (Thiazol-C₅), 123.24 (Naph-C₉), 123.97 (Naph-C_{9a}), 136.52 (Naph-C_{5a}), 143.72 (Thiazol-C₄), 155.65 (Thiazol-C₂), 157.55 (Pyr-C₆), 157.76 (Pyr-C₄), 158.45 (Naph-C₇), 169.97 (Pyr-C₂), 172.25 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 518.0 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₄H₂₇ClN₄O₃S₂ [519.08])** C, H, N, S: ber. C 55.53, H 5.24, N 10.79, S 12.35; gef. C 55.49, H 5.16, N 10.49, S 12.10; Abw. C -0.04, H -0.08, N -0.30, S -0.25.

5.3. Synthese des Dicarbonsäurederivates (Verb. 66)

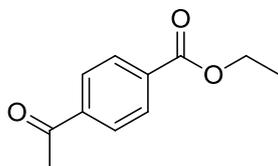
Syntheschema 2 (siehe Kapitel 3.1.2.)

5.3.1. Synthese und Charakterisierung des Ethyl-4-acetylbenzoat (Verb. 133)

Stufe I: Arbeitsvorschrift für die Synthese des Ethyl-4-acetylbenzoat **133** (TH120)

4-Acetylbenzoesäure (1.09 g, 6.64 mmol, 1 eq) wurde in Ethanol (7.5 mL, 129 mmol, 21 eq) mit einer katalytischen Menge an konz. Schwefelsäure (132 mg, 1.35 mmol, 0.2 eq) gelöst. Die Reaktion lief unter Reflux für ca. 18 h. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in Wasser suspendiert und mit Ethylacetat (drei Mal 25 mL) extrahiert. Die organische Phase wurde zwei Mal mit einer gesättigten NaHCO₃-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt, um das entsprechende

Ethyl-4-Acetylbenzoat als einen leicht gelblichen Feststoff zu erhalten; Ausbeute: 69 % (0.87 g).



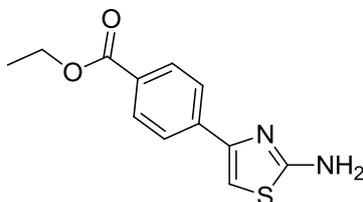
$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 1.34 (t, 3H, -O-Ethyl- CH_3 , $J = 7.14$ Hz), 2.63 (s, 3H, - CH_3), 4.35 (q, 2H, -O-Ethyl- CH_2 , $J = 7.10$ Hz), 8.07 (s, 4H, Ph- $\text{H}_{2/3/5/6}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (62.90 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 14.07 (-O-Ethyl- CH_3), 26.99 (- CH_3), 61.18 (-O-Ethyl- CH_2), 128.41 (Ph- $\text{C}_{3/5}$), 129.37 (Ph- $\text{C}_{2/6}$), 133.47 (Ph- C_1), 140.06 (Ph- C_4), 165.06 (-COOEt), 197.66 (-COCH₃).

5.3.2. Synthese und Charakterisierung von Ethyl-4-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)benzoat (Verb. 134)

Stufe II: Arbeitsvorschrift für die Synthese des Ethyl-4-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)benzoat **134** (TH144)

Ethyl-4-Acetylbenzoat (0.86 g, 4.48 mmol, 1 eq) (**133**) wurde in 30 mL Chloroform gelöst und elementares Brom (0.24 mL, 4.70 mmol, 1.05 eq) wurde langsam tropfenweise hinzugegeben. Die Reaktion lief bei Raumtemperatur für 3 h. Das Produkt wurde partiell aufgereinigt, durch Waschen der organischen Phase mit einer gesättigten $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde aus Ethanol umkristallisiert und der erhaltene Feststoff (0.44 g, 1.62 mmol, 1 eq) wurde in 25 mL Methanol gelöst. Thioharnstoff (0.19 g, 2.43 mmol, 1.5 eq) wurde der Lösung hinzugegeben und die Reaktion rührte bei Raumtemperatur für 3 h. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde in einer 5%igen NaHCO_3 -Lösung suspendiert und mit Dichlormethan (3 mal 25 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde weiter durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt, um das

entsprechende Ethyl-4-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)benzoat als leicht gelblichen Feststoff zu erhalten; Gesamtausbeute: 13 % (0.14 g).



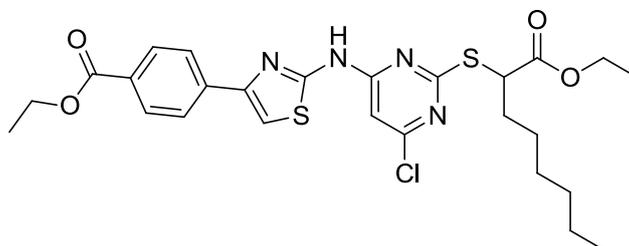
¹H-NMR (400.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 1.32 (t, 3H, -O-Ethyl-CH₃, *J* = 7.12 Hz), 4.31 (q, 2H, -O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.10 Hz), 7.14 (s, 2H, -NH₂), 7.23 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.91–7.96 (m, 4H, Ph-H_{2/3/5/6}). **¹³C-NMR (100.61 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 14.19 (-O-Ethyl-CH₃), 60.60 (-O-Ethyl-CH₂), 104.43 (Thiazol-C₅), 125.55 (Ph-C_{3/5}), 128.11 (Ph-C₁), 129.46 (Ph-C_{2/6}), 139.09 (Ph-C₄), 148.74 (Thiazol-C₄), 165.53 (-COOEt), 168.36 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 249.14 [M+H]⁺

5.3.3. Synthese und Charakterisierung von Ethyl-4-[2-({6-chlor-2-[(1-ethoxy-1-oxooctan-2-yl)sulfanyl]pyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoat (Verb. 135)

Stufe III: Arbeitsvorschrift für die Synthese von Ethyl-4-[2-({6-chlor-2-[(1-ethoxy-1-oxooctan-2-yl)sulfanyl]pyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoat **135** (TH146)

In einem 100 mL Dreihalsrundkolben wurden Ethyl-2-[(4,6-dichlorpyrimidin-2-yl)sulfanyl]octanoat (**101**) (0.15 g, 0.42 mmol, 1 eq), Ethyl-4-(2-amino-1,3-thiazol-4-yl)benzoat (**134**) (0.13 g, 0.51 mmol, 1.2 eq), Xantphos (0.014 g, 0.025 mmol, 0.06 eq) und Na₂CO₃ (0.06 g, 0.59 mmol, 1.4 eq) in Toluol (8 mL) gelöst. Der Dreihalsrundkolben wurde evakuiert und wieder zurückgefüllt mit Argon bevor Pd₂(dba)₃ (0.007 g, 8.43 μmol, 0.02 eq) und Wasser (18 mL) hinzugegeben wurden. Die Reaktion lief bei 90 °C für 18 h. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit THF (6 mL) und Toluol (6 mL) verdünnt. Die organische Phase wurde von der wässrigen Phase getrennt, über Celite abfiltriert und anschließend am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat) weiter aufgereinigt und schließlich aus *n*-Hexan/Ethylacetat umkristallisiert, um das

entsprechende Ethyl-4-[2-({6-chlor-2-[(1-ethoxy-1-oxooctan-2-yl)sulfanyl]pyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoat als weißen Feststoff zu erhalten; Ausbeute 89 % (0.21 g).



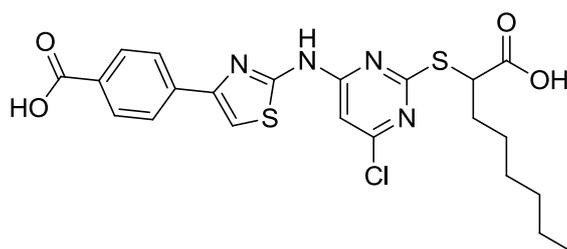
¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84 (t, 3H, Hexyl-CH₃, *J* = 6.46 Hz), 1.16–1.41 (m, 14H, aliphatisch-O-Ethyl-CH₃, aromatisch-O-Ethyl-CH₃, Hexyl-CH₂), 1.80–2.03 (m, 2H, Hexyl-CH₂), 4.15 (q, 2H, aliphatisch-O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.10 Hz), 4.32 (q, 2H, aromatisch-O-Ethyl-CH₂, *J* = 7.12 Hz), 4.58 (t, 1H, S-CH, *J* = 7.12 Hz), 6.81 (s, 1H, Pyr-H₅), 7.93 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.99–8.07 (m, 4H, Ph-H_{2/3/5/6}), 12.29 (s, 1H, -NH).
¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 13.86 (Hexyl-CH₃), 14.01 (aliphatisch-O-Ethyl-CH₃), 14.01 (aromatisch-O-Ethyl-CH₃), 21.93 (Hexyl-CH₂), 26.35 (Hexyl-CH₂), 28.11 (Hexyl-CH₂), 30.89 (Hexyl-CH₂), 31.33 (Hexyl-CH₂), 47.06 (S-CH), 60.73 (aromatisch-O-Ethyl-CH₂), 61.15 (aromatisch-O-Ethyl-CH₂), 102.10 (Pyr-C₅), 111.25 (Thiazol-C₅), 125.77 (Ph-C_{3/5}), 128.85 (Ph-C_{2/6}), 129.73 (Ph-C₁), 138.32 (Ph-C₄), 148.09 (Thiazol-C₄), 157.70 (Pyr-C₆), 157.84 (Pyr-C₄), 157.93 (Thiazol-C₂), 165.45 (aromatisch-COOEt), 169.67 (aliphatisch-COOEt), 170.92 (Pyr-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 563.34 [M].

5.3.4. Synthese und Charakterisierung von 4-[2-({2-[(1-Carboxyheptyl)sulfanyl]-6-chlorpyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoesäure (Verb. 66)

Stufe IV: Arbeitsvorschrift für die Synthese von 4-[2-({2-[(1-Carboxyheptyl)sulfanyl]-6-chlorpyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoesäure **66** (TH152)

In einem 100 mL Einhalskolben wurde Ethyl-4-[2-({6-chlor-2-[(1-ethoxy-1-oxooctan-2-yl)sulfanyl]pyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoat (Verb. **135**) (0.20 g, 0.36 mmol, 1 eq) in 10 mL THF gelöst. Zu der Lösung wurde LiOH·H₂O (0.08 g, 1.79 mmol, 5 eq), vorher in 2 mL Wasser gelöst, hinzugegeben. Die Reaktion wurde für 24 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter

reduziertem Druck entfernt und der Rückstand wurde in Wasser mit einem kleinen Zusatz an Methanol (q.s.) gelöst. Die wässrige Phase wurde angesäuert mit 2N HCl und der ausgefallene Feststoff wurde drei Mal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich aus Ethylacetat umkristallisiert, um die entsprechende 4-[2-({2-[(1-Carboxyheptyl)sulfanyl]-6-chlorpyrimidin-4-yl}amino)-1,3-thiazol-4-yl]benzoesäure als gelblichen-braunen Feststoff zu erhalten; Ausbeute: 91 % (0.17 g).



$^1\text{H-NMR}$ (300.03 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.84 (t, 3H, Hexyl- CH_3 , $J = 6.55$ Hz), 1.21–1.45 (m, 8H, Hexyl- CH_2), 1.82–2.02 (m, 2H, Hexyl- CH_2), 4.59 (t, 1H, S- CH , $J = 6.95$ Hz), 6.81 (s, 1H, Pyr- H_5), 7.91 (s, 1H, Thiazol- H_5), 7.98–8.05 (m, 4H, Ph- $\text{H}_{2/3/5/6}$), 12.26 (s, 1H, - NH), 12.97 (s, 2H, - COOH). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 13.85 (Hexyl- CH_3), 21.95 (Hexyl- CH_2), 26.37 (Hexyl- CH_2), 28.19 (Hexyl- CH_2), 30.93 (Hexyl- CH_2), 31.71 (Hexyl- CH_2), 47.24 (S- CH), 101.97 (Pyr- C_5), 110.95 (Thiazol- C_5), 125.65 (Ph- $\text{C}_{3/5}$), 129.77 (Ph- C_1), 129.89 (Ph- $\text{C}_{2/6}$), 138.00 (Ph- C_4), 148.23 (Thiazol- C_4), 157.71 (Pyr- C_6), 157.86 (Pyr- C_4), 157.90 (Thiazol- C_2), 167.01 (aromatisch- COOH), 170.06 (Pyr- C_2), 172.24 (aliphatisch- COOH). **MS (ESI):** $m/e = 505.6$ $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$. **Anal.** ($\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{S}_2$ [507.03]) C, H, N, S: ber. C 52.11, H 4.57, N 11.05, S 12.65. gef. C 51.97, H 4.64, N 10.66, S 12.94. Abw. C -0.14, H +0.07, N -0.39, S +0.29.

5.4. Synthese der Benzensulfonamide der Serie 1 (Verb. 4, 82–87)

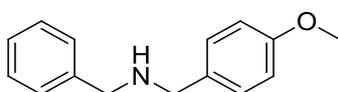
Syntheschema 3 (siehe Kapitel 3.1.3.)

5.4.1. Synthese und Charakterisierung der sekundären Amine mit Aryletherbenzylaminstruktur (Verb. 136–142)

Stufe I: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der sekundären Amine mit Aryletherbenzylaminstruktur

In einem 100 mL 2-Halskolben wurden das entsprechende Arylaldehyd (E1, 1 eq), das Benzylaminderivat (E2, 1.5–2 eq) und Essigsäure (2 eq) in 20 mL 1,2-Dichlorethan gelöst. Die Reaktion wurde evakuiert und zurückgefüllt mit Argon und rührte dann für 3.5 h bei Raumtemperatur. Nach der Iminbildung wurde Natriumtriacetoxyborhydrid (1.4 eq) hinzugegeben und die Reaktion rührte bei Raumtemperatur für 25 h. Die Reaktion wurde gequench durch die Zugabe von 20 mL einer gesättigten NaHCO₃-Lösung und das Produkt wurde drei Mal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet über MgSO₄ und anschließend am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde weiter aufgereinigt durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat), um die entsprechenden sekundären Amine mit Aryletherbenzylaminstruktur zu erhalten.

Charakterisierung von Benzyl[(4-methoxyphenyl)methyl]amin **136** (TH032):

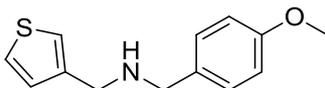


Synthese Stufe I; E1: Benzaldehyd (0.3 g, 2.83 mmol, 1 eq), E2: (4-Methoxyphenyl)methanamin (0.78 g, 5.65 mmol, 2 eq), Essigsäure (0.32 ml, 5.65 mmol, 2 eq), Natriumtriacetoxyborhydrid (0.84 g, 3.95 mmol, 1.4 eq); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 29 % (0.19 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.60 (s, 2H, N-CH₂-), 3.65 (s, 2H, N-CH₂-), 3.73 (s, 3H, O-CH₃), 6.87 (d, 2H, OMe-Ph-H_{3/5}, *J* = 8.57 Hz), 7.19–7.35 (m, 7H, OMe-Ph-H_{2/6}, Ph-H_{2/3/4/5/6}). ¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 51.57 (NH-CH₂), 52.04 (NH-CH₂), 54.97

(O-CH₃), 113.50 (Ph-C₃/C₅), 126.42 (Ph'-C₄), 127.85 (Ph'-C₂/C₆), 128.04 (Ph'-C₃/C₅), 129.01 (Ph-C₂/C₆), 132.73 (Ph-C₁), 140.89 (Ph'-C₁), 158.00 (Ph-C₄). **MS (ESI+):** $m/e = 228.21$ [M+H]⁺.

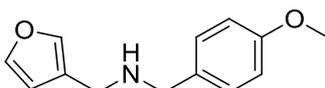
Charakterisierung von [(4-Methoxyphenyl)methyl](thiophen-3-ylmethyl)amin **137** (TH039):



Synthese Stufe I; E1: Thiophen-3-carbaldehyd (0.40 g; 3.56 mmol), E2: (4-Methoxyphenyl)methanamin (0.73 g; 5.35 mmol), E3: Essigsäure (0.39 mL; 7.13 mmol), E4: Natriumtriacetoxyborhydrid (1.06 g; 4.99 mmol); Produkt: leicht gelbliches Öl; Ausbeute: 24 % (0.21 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.59 (s, 2H, -N-CH₂), 3.62 (s, 2H, -N-CH₂), 3.71 (s, 3H, O-Methyl-CH₃), 6.86 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, $J = 7.50$ Hz), 7.07 (dd, 1H, Thiophen-H₄, $J = 5.00$ Hz), 7.23 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, $J = 7.50$ Hz), 7.26 (s, 1H, Thiophen-H₂), 7.44 (dd, 1H, Thiophen-H₅, $J = 5.00$ Hz). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 47.31 (-NH-CH₂), 51.64 (-NH-CH₂), 54.97 (O-CH₃), 113.49 (Ph-C₃/C₅), 121.18 (Thiophen-C₂), 125.66 (Thiophen-C₅), 127.86 (Thiophen-C₄), 129.05 (Ph-C₂/C₆), 132.68 (Ph-C₁), 142.08 (Thiophen-C₃), 158.00 (Ph-C₄). **MS (ESI+):** $m/e = 234.40$ [M+H]⁺.

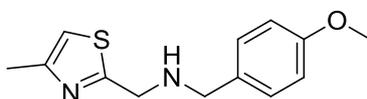
Charakterisierung von (Furan-3-ylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]amin **138** (TH041):



Synthese Stufe I; E1: Furan-3-carbaldehyd (0.40 g; 4.16 mmol), E2: (4-methoxyphenyl)methanamin (0.86 g; 6.24 mmol), E3: Essigsäure (0.46 mL; 8.33 mmol), E4: Natriumtriacetoxyborhydrid (1.24 g; 5.83 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 19 % (0.18 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.49 (s, 2H, -N-CH₂), 3.61 (s, 2H, -N-CH₂), 3.74 (s, 3H, O-CH₃), 6.48 (m, 1H, Furan-H₄), 6.88 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.25 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz), 7.52 (s, 1H, Furan-H₂), 7.59 (m, 1H, Furan-H₅). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 42.65 (NH-CH₂), 51.55 (NH-CH₂), 54.93 (O-CH₃), 110.77 (Furan-C₄), 113.44 (Ph-C₃/C₅), 124.34 (Furan-C₃), 129.07 (Ph-C₂/C₆), 132.60 (Ph-C₁), 139.64 (Furan-C₂), 142.99 (Furan-C₅), 157.95 (Ph-C₄). **MS (ESI+):** *m/e* = 218.37 [M+H]⁺.

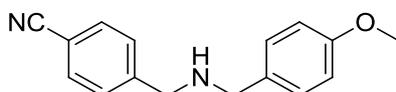
Charakterisierung von [(4-Methoxyphenyl)methyl][(4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)methyl]amin **139** (TH045):



Synthese Stufe I; E1: 4-Methyl-1,3-thiazol-2-carbaldehyd (0.40 g; 3.15 mmol), E2: (4-Methoxyphenyl)methanamin (0.65 g; 4.71 mmol), E3: Essigsäure (0.35 mL; 6.29 mmol), E4: Natriumtriacetoxyborhydrid (0.93 g; 4.40 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 27 % (0.23 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.32 (s, 3H, Thiazol-CH₃), 3.03 (s, 1H, -NH), 3.69 (s, 2H, -N-CH₂), 3.74 (s, 3H, O-Methyl-CH₃), 3.88 (s, 2H, -N-CH₂), 6.90 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.12 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.28 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 16.86 (-4-Methylthiazol), 49.35 (-NH-CH₂), 51.69 (-NH-CH₂), 54.99 (O-CH₃), 113.54 (Ph-C₃/C₅), 113.57 (Thiazol-C₂), 129.12 (Ph-C₂/C₆), 132.19 (Ph-C₁), 151.51 (Thiazol-C₄), 158.13 (Ph-C₄), 172.24 (Thiazol-C₂). **MS (ESI+):** *m/e* = 248.7 [M+H]⁺.

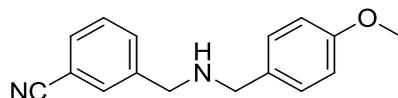
Charakterisierung von 4-([(4-Methoxyphenyl)methyl]amino)methylbenzonitrile **140** (TH064):



Synthese Stufe I; E1: 4-Formylbenzonnitril (0.40 g; 3.05 mmol), E2: (4-Methoxyphenyl)methanamin (0.50 g; 3.66 mmol), E3: Essigsäure (0.35 mL; 6.10 mmol), E4: Natriumtriacetoxyborhydrid (0.91 g; 4.27 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 45 % (0.35 g).

¹H-NMR (400.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.73 (s, 1H, -NH), 3.61 (s, 2H, -N-CH₂), 3.74 (s, 2H, -N-CH₂), 3.74 (s, 3H, O-CH₃), 6.88 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, J = 8.00 Hz), 7.25 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, J = 8.00 Hz), 7.55 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, J = 8.00 Hz), 7.78 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, J = 8.00 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 51.48 (-NH-CH₂), 51.51 (-NH-CH₂), 54.95 (O-CH₃), 109.15 (Ph-C₁), 113.49 (Ph'-C₃/C₅), 119.00 (-CN), 128.67 (Ph-C₃/C₅), 129.04 (Ph'-C₂/C₆), 131.99 (Ph-C₂/C₆), 132.40 (Ph'-C₁), 147.10 (Ph-C₄), 158.03 (Ph'-C₄). **MS (ESI+):** m/e = 253.1 [M+H]⁺.

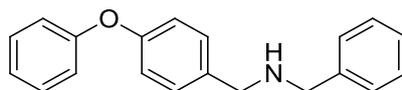
Charakterisierung von 3-({[(4-Methoxyphenyl)methyl]amino}methyl)benzonnitril **141** (TH050):



Synthese Stufe I; E1: 3-Formylbenzonnitril (0.40 g; 3.05 mmol), E2: (4-Methoxyphenyl)methanamin (0.50 g; 3.66 mmol), E3: Essigsäure (0.34 mL; 6.10 mmol), E4: Natriumtriacetoxyborhydrid (0.91 g; 4.27 mmol); Produkt: gelbes Öl; Ausbeute: 79 % (0.60 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.67 (s, 1H, -NH), 3.58 (s, 2H, -N-CH₂), 3.69 (s, 2H, -N-CH₂), 3.72 (s, 3H, O-CH₃), 6.86 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, J = 7.50 Hz), 7.23 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, J = 7.50 Hz), 7.50 (t, 1H, Ph-H₅, J = 7.50 Hz), 7.65 (m, 2H, Ph-H₄/H₆), 7.76 (s, 1H, Ph-H₂). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 51.10 (-NH-CH₂), 51.51 (-NH-CH₂), 54.96 (O-CH₃), 111.04 (Ph-C₁), 113.50 (Ph'-C₃/C₅), 118.94 (-CN), 129.01 (Ph'-C₂/C₆), 129.22 (Ph-C₅), 130.24 (Ph-C₆), 131.21 (Ph-C₂), 132.45 (Ph'-C₁), 132.77 (Ph-C₄), 142.75 (Ph-C₃), 158.04 (Ph'-C₄). **MS (ESI+):** m/e = 253.0 [M+H]⁺.

Charakterisierung von Benzyl[(4-phenoxyphenyl)methyl]amin **142** (TH065):



Synthese Stufe I; E1: Benzaldehyd (0.50 g; 4.71 mmol), E2: (4-Phenoxyphenyl)methanamin (1.13 g; 5.65 mmol), E3: Essigsäure (0.54 mL; 9.42 mmol), E4: Natriumtriacetoxyborhydrid (1.40 g; 6.60 mmol); Produkt: leicht gelbliches Öl; Ausbeute: 69 % (0.94 g).

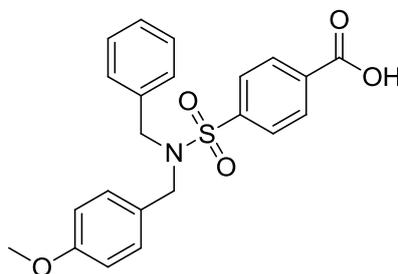
¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.58 (s, 1H, -NH), 3.67 (s, 2H, -N-CH₂), 3.70 (s, 2H, -N-CH₂), 6.96–7.01 (m, 4H, Ph-H₃/H₅, -O-Ph-H₂/H₆), 7.13 (t, 1H, -O-Ph-H₄, *J* = 5.00 Hz), 7.23 (t, 1H, Ph'-H₄, *J* = 5.00 Hz), 7.30–7.41 (m, 8H, Ph-H₂/H₆, -O-Ph-H₃/H₅, Ph'-H₂/H₃/H₅/H₆). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 51.53 (-NH-CH₂), 52.14 (-NH-CH₂), 118.22 (-O-Ph-C₂/C₆), 118.50 (Ph-C₃/C₅), 123.11 (-O-Ph-C₄), 126.45 (Ph'-C₄), 127.86 (Ph'-C₂/C₆), 128.05 (Ph'-C₃/C₅), 129.46 (-O-Ph-C₃/C₅), 129.93 (Ph-C₂/C₆), 136.06 (Ph-C₁), 140.79 (Ph'-C₁), 155.06 (Ph-C₄), 157.00 (-O-Ph-C₁). **MS (ESI⁺):** *m/e* = 290.1 [M+H]⁺.

5.4.2. Synthese und Charakterisierung der Benzensulfonamide der Serie 1 (Verb. 4, 82–87)

Stufe II: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der Benzensulfonamide der Serie 1

In einem 100 mL Kolben wurden das sekundäre Amin (E1, 1 eq) mit Triethylamin (E2, 3 eq) in 20–40 mL Ethanol gelöst. Die Reaktion wurde runtergekühlt auf 0 °C und das entsprechende Benzensulfonylchloridderivat (E3, 1 eq) wurde langsam hinzugegeben. Die Reaktion lief für 17 h bei Raumtemperatur. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde gelöst in einer 1N NaOH-Lösung und das Produkt wurde ausgefällt durch die Zugabe einer 2N HCl-Lösung. Der Niederschlag wurde mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Dichlormethan/*n*-Hexan umkristallisiert, um die entsprechenden Benzensulfonamide als weiße Feststoffe zu erhalten.

Charakterisierung von 4-(*N*-Benzyl-*N*-(4-methoxybenzyl)sulfamoyl)benzoesäure **4** (TH038):



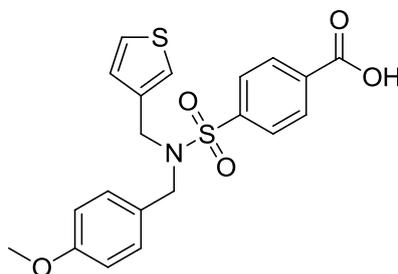
Synthese Stufe II; E1: Benzyl[(4-methoxyphenyl)methyl]amin **136** (0.16 g; 0.70 mmol), E2: Triethylamin (0.29 mL; 2.11 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.16 g; 0.70 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 47 % (0.14 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.70 (s, 3H, -O-CH₃), 4.27 (s, 2H, N-CH₂), 4.32 (s, 2H, N-CH₂), 6.78 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, *J* = 5.00 Hz), 7.00 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, *J* = 5.00 Hz), 7.11 (m, 2H, Ph''-H₂/H₆), 7.23–7.25 (m, 3H, Ph''-H₃/H₄/H₅), 7.97 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 8.12 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz), 13.52 (s, 1H, -COOH).

¹³C-NMR (100.61 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 50.55 (NH-CH₂), 50.76 (NH-CH₂), 55.03 (O-CH₃), 113.67 (Ph'-C₃/C₅), 127.18 (Ph-C₃/C₅), 127.39 (Ph''-C₄), 127.50 (Ph'-C₁), 128.07 (Ph''-C₂/C₆), 128.23 (Ph''-C₃/C₅), 129.71 (Ph'-C₂/C₆), 130.17 (Ph-C₂/C₆), 134.40 (Ph-C₁), 136.04 (Ph''-C₁), 143.33 (Ph-C₄), 158.66 (Ph'-C₄), 166.15 (-COOH).

MS (ESI): *m/e* = 410.6 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₂H₂₁NO₅S [411.47])** C, H, N, S: ber. C 64.22, H 5.14, N 3.40, S 7.79; gef. C 63.98, H 5.07, N 3.23, S 7.95; Abw. C -0.24, H -0.07, N -0.17, S +0.16.

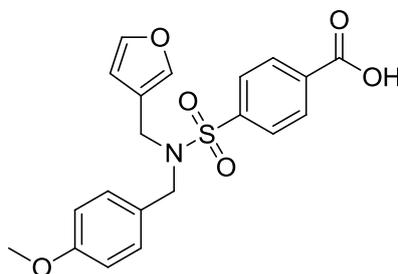
Charakterisierung von 4-[[[(4-Methoxyphenyl)methyl](thiophen-3-ylmethyl)sulfamoyl]benzoesäure **82** (TH043):



Synthese Stufe II; E1: [(4-Methoxyphenyl)methyl](thiophen-3-ylmethyl)amin **137** (0.22 g; 0.92 mmol), E2: Triethylamin (0.38 mL; 2.76 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.20 g; 0.92 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 81 % (0.31 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.73 (s, 3H, -O-CH₃), 4.28 (s, 2H, N-CH₂), 4.30 (s, 2H, N-CH₂), 6.72 (d, 1H, Thiophen-H₄, *J* = 5.00 Hz), 6.84 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 7.08 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz), 7.18 (s, 1H, Thiophen-H₂), 7.40 (dd, 1H, Thiophen-H₅), 7.94 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 7.50 Hz), 8.10 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 7.50 Hz), 13.50 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 45.56 (NH-CH₂), 50.15 (NH-CH₂), 55.02 (O-CH₃), 113.72 (Ph'-C₃/C₅), 124.18 (Thiophen-C₂), 126.52 (Thiophen-C₅), 127.10 (Ph-C₃/C₅), 127.57 (Ph'-C₁), 127.72 (Thiophen-C₄), 129.56 (Ph'-C₂/C₆), 130.09 (Ph-C₂/C₆), 134.24 (Ph-C₁), 136.59 (Thiophen-C₃), 143.38 (Ph-C₄), 158.65 (Ph'-C₄), 166.11 (-COOH). **MS (ESI-):** *m/e* = 416.13 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₀H₁₉NO₅S₂ [417.50])** C, H, N, S: ber. C 57.54, H 4.59, N 3.35, S 15.36; gef. C 57.21, H 4.54, N 3.18, S 15.60; Abw. C -0.33, H -0.05, N -0.17, S +0.24.

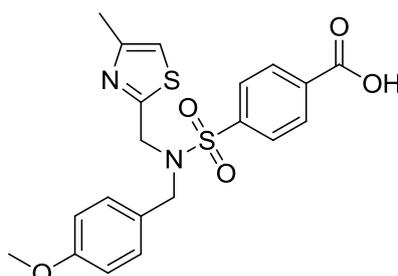
Charakterisierung von 4-[(Furan-3-ylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]sulfamoyl]benzoesäure **83** (TH047):



Synthese Stufe II; E1(Furan-3-ylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]amin **138** (0.17 g; 0.78 mmol), E2: Triethylamin (0.33 mL; 2.34 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.17 g; 0.78 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 4 % (0.01 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.71 (s, 3H, -O-CH₃), 4.12 (s, 2H, N-CH₂), 4.25 (s, 2H, N-CH₂), 5.98 (m, 1H, Furan-H₄), 6.85 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, J = 7.50 Hz), 7.12 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, J = 7.50 Hz), 7.37 (m, 1H, Furan-H₂), 7.48 (m, 1H, Furan-H₅), 7.94 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, J = 7.50 Hz), 8.09 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, J = 7.50 Hz), 13.48 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 41.25 (N-CH₂), 49.75 (N-CH₂), 55.03 (O-CH₃), 110.42 (Furan-C₄), 113.78 (Ph'-C₃/C₅), 119.67 (Furan-C₃), 127.12 (Ph-C₃/C₅), 127.76 (Ph'-C₁), 129.55 (Ph'-C₂/C₆), 130.08 (Ph-C₂/C₆), 134.33 (Ph-C₁), 141.49 (Furan-C₂), 143.45 (Furan-C₅), 143.55 (Ph-C₄), 158.72 (Ph'-C₄), 166.10 (-COOH). **MS (ESI-):** m/e = 400.6 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₀H₁₉NO₆S [401.43])** C, H, N, S: ber. C 59.84, H 4.77, N 3.49, S 7.99; gef. C 59.78, H 4.60, N 3.40, S 7.85; Abw. C -0.06, H -0.17, N -0.09, S -0.14.

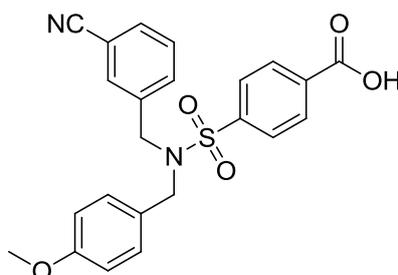
Charakterisierung von 4-[[4-Methoxyphenyl)methyl][(4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)methyl]sulfamoyl]benzoesäure **84** (TH052):



Synthese Stufe II; E1: [(4-Methoxyphenyl)methyl][(4-methyl-1,3-thiazol-2-yl)methyl]amin **139** (0.21 g; 0.83 mmol), E2: Triethylamin (0.35 mL; 2.49 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.18 g; 0.83 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 38 % (0.14 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 2.20 (s, 3H, -Thiazol-CH₃), 3.73 (s, 3H, -O-CH₃), 4.41 (s, 2H, N-CH₂), 4.56 (s, 2H, N-CH₂), 6.87 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, J = 7.50 Hz), 7.11 (s, 1H, Thiazol-H₅), 7.17 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, J = 7.50 Hz), 7.95 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, J = 7.50 Hz), 8.10 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, J = 7.50 Hz), 13.50 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 16.43 (Thiazol-CH₃), 47.57 (N-CH₂), 51.00 (N-CH₂), 55.07 (O-CH₃), 113.84 (Ph'-C₃/C₅), 115.08 (Thiazol-C₅), 127.13 (Ph-C₃/C₅), 127.28 (Ph'-C₁), 130.00 (Ph-C₂/C₆, Ph'-C₂/C₆), 134.48 (Ph-C₁), 142.91 (Ph-C₄), 151.50 (Thiazol-C₄), 158.92 (Ph'-C₄), 164.52 (Thiazol-C₂), 166.13 (-COOH). **MS (ESI):** m/e = 431.7 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₀H₂₀N₂O₅S₂ [432.08])** C, H, N, S: ber. C 55.54, H 4.66, N 6.48, S 14.83; gef. C 55.37, H 4.57, N 6.41, S 14.56; Abw. C -0.17, H -0.09, N -0.07, S -0.27.

Charakterisierung von 4-([(3-Cyanophenyl)methyl][(4-methoxyphenyl)methyl]sulfamoyl} benzoesäure **85** (TH061):

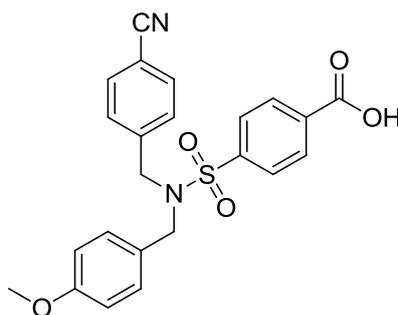


Synthese Stufe II; E1: 3-([(4-Methoxyphenyl)methyl]amino)methylbenzonnitril **141** (0.30 g; 1.19 mmol), E2: Triethylamin (0.50 mL; 3.57 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.26 g; 1.19 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 36 % (0.19 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.70 (s, 3H, -O-CH₃), 4.33 (s, 2H, N-CH₂), 4.37 (s, 2H, N-CH₂), 6.76 (d, 2H, Ph'-H₃/H₅, J = 10.00 Hz), 7.06 (d, 2H, Ph'-H₂/H₆, J = 10.00 Hz), 7.30 (m, 1H, Ph''-H₂), 7.44 (m, 2H, Ph''-H₄/H₅), 7.62 (m, 1H, Ph''-H₆),

8.01 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 7.50$ Hz), 8.14 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 7.50$ Hz), 13.51 (s, 1H, -COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 50.65 (N- CH_2), 51.97 (N- CH_2), 55.04 (O- CH_3), 110.93 (Ph''- C_3), 113.64 (Ph'- C_3/C_5), 118.47 (-CN), 127.27 (Ph- C_3/C_5), 127.42 (Ph'- C_1), 129.28 (Ph''- C_5), 130.02 (Ph'- C_2/C_6), 130.27 (Ph- C_2/C_6), 130.82 (Ph''- C_4), 131.31 (Ph''- C_2), 132.70 (Ph''- C_6), 134.59 (Ph- C_1), 138.43 (Ph''- C_1), 142.63 (Ph- C_4), 158.78 (Ph'- C_4), 166.09 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 435.7$ [M-H] $^-$. **Anal.** ($\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ [436.48]) C, H, N, S: ber. C 63.29, H 4.62, N 6.42, S 7.35; gef. C 63.06, H 4.64, N 6.34, S 7.55; Abw. C -0.23, H +0.02, N -0.08, S +0.20.

Charakterisierung von 4-[[[(4-Cyanophenyl)methyl]amino][(4-methoxyphenyl)methyl]sulfamoyl]benzoesäure **86** (TH067):

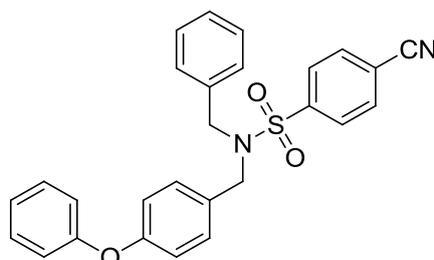


Synthese Stufe II; E1: 4-([[(4-methoxyphenyl)methyl]amino]methyl)benzonnitrile **140** (0.34 g; 1.35 mmol), E2: Triethylamin (0.56 mL; 4.04 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.30 g; 1.35 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 12 % (0.07 g).

$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 3.69 (s, 3H, -O- CH_3), 4.30 (s, 2H, N- CH_2), 4.41 (s, 2H, N- CH_2), 6.74 (d, 2H, Ph'- H_3/H_5 , $J = 10.00$ Hz), 7.02 (d, 2H, Ph'- H_2/H_6 , $J = 10.00$ Hz), 7.27 (d, 2H, Ph''- H_2/H_6 , $J = 10.00$ Hz), 7.68 (d, 2H, Ph''- H_3/H_5 , $J = 10.00$ Hz), 8.01 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 7.50$ Hz), 8.15 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 7.50$ Hz), 13.54 (s, 1H, -COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 50.95 (N- CH_2), 51.79 (N- CH_2), 55.02 (O- CH_3), 109.78 (Ph''- C_4), 113.63 (Ph'- C_3/C_5), 118.66 (-CN), 127.20 (Ph'- C_1), 127.27 (Ph- C_3/C_5), 128.59 (Ph''- C_2/C_6), 130.00 (Ph'- C_2/C_6), 130.24 (Ph- C_2/C_6), 131.93 (Ph''- C_3/C_5), 134.56 (Ph- C_1), 142.58 (Ph''- C_1), 142.63 (Ph- C_4), 158.72 (Ph'- C_4), 166.11 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 435.4$ [M-H] $^-$. **Anal.**

(**C₂₃H₂₀N₂O₅S [436.48]**) C, H, N, S: ber. C 63.29, H 4.62, N 6.42, S 7.35; gef. C 63.06, H 4.60, N 6.25, S 7.24; Abw. C -0.23, H -0.02, N -0.17, S -0.11.

Charakterisierung von *N*-Benzyl-4-cyano-*N*-[(4-phenoxyphenyl)methyl]benzen-1-sulfonamid **87** (TH082):



Synthese Stufe II; E1: Benzyl[(4-phenoxyphenyl)methyl]amin **142** (0.40 g; 1.38 mmol), E2: Triethylamin (0.58 mL; 4.15 mmol), E3: 4-Cyanobenzen-1-sulfonylchlorid (0.28 g; 1.38 mmol); Produkt: weißer Feststoff; Ausbeute: 70 % (0.44 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 4.34 (s, 2H, N-CH₂), 4.39 (s, 2H, N-CH₂), 6.80–6.90 (m, 4H, Ph''-H₃/H₅, Ph'''-H₂/H₆, *J* = 10.00 Hz), 7.09–7.24 (m, 8H, Ph'-H₂/H₄/H₆, Ph''-H₂/H₆, Ph'''-H₃/H₄/H₅), 7.36–7.42 (t, 2H, Ph'-H₃/H₅, *J* = 7.96 Hz), 8.02–8.05 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, *J* = 8.73 Hz), 8.08–8.11 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, *J* = 8.73 Hz). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 51.14 (N-CH₂), 51.65 (N-CH₂), 115.22 (Ph-C₄), 117.67 (-CN), 118.20 (Ph'''-C₂/C₆), 118.62 (Ph''-C₃/C₅), 123.28 (Ph'''-C₄), 127.36 (Ph'-C₄), 127.71 (Ph'-C₂/C₆), 128.18 (Ph'-C₃/C₅, Ph''-C₂/C₆), 129.97 (Ph-C₂/C₆), 130.19 (Ph'''-C₁/C₅), 130.93 (Ph''-C₁), 133.51 (Ph-C₃/C₅), 136.02 (Ph'-C₁), 143.61 (Ph-C₁), 155.72 (Ph''-C₄), 156.80 (Ph'''-C₁). **MS (ESI):** *m/e* = 453.5 [M-H]⁻. **Anal.** (**C₂₇H₂₂N₂O₅S [454.14]**) C, H, N, S: ber. C 71.34, H 4.88, N 6.16, S 7.05; gef. C 71.54, H 4.90, N 6.01, S 7.15; Abw. C +0.20, H +0.02, N -0.15, S +0.10.

5.5. Synthese der Benzensulfonamide der Serie 2 (Verb. 78, 88–93)

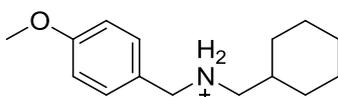
Syntheschema 4 (siehe Kapitel 3.1.3.)

5.5.1. Synthese und Charakterisierung der sekundären Amine mit Cyclohexylmethylstruktur (Verb. 143–149)

Stufe I: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der sekundären Amine mit Cyclohexylmethylstruktur

In einem 100 mL 2-Halskolben wurden Cyclohexylcarbaldehyd (E1, 1.5 eq), das Benzylaminderivat (E2, 1.0 eq) und Essigsäure (4 eq) in 20 mL 1,2-Dichlorethan gelöst. Die Reaktion wurde evakuiert und zurückgefüllt mit Argon und rührte dann für 3.5 h bei Raumtemperatur. Nach der Iminbildung wurde Natriumtriacetoxyborhydrid (2.6 eq) hinzugegeben und die Reaktion rührte bei Raumtemperatur für 25 h. Die Reaktion wurde gequencht durch die Zugabe von 20 mL einer 1N NaOH-Lösung und das Produkt wurde extrahiert mit Diethylether. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten NaCl-Lösung gewaschen und anschließend über MgSO₄ getrocknet. Das Produkt kristallisierte im Kühlschrank bei 4–8 °C nach ca. 24 h aus, wurde abfiltriert und getrocknet, um die entsprechenden sekundären Amine mit Cyclohexylmethylstruktur zu erhalten.

Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]azanium **143** (TH115):

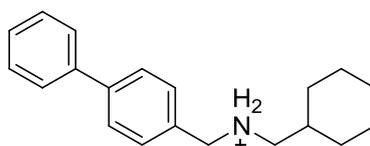


Synthese Stufe I; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.85 g; 7.85 mmol), E2: (4-Methoxyphenyl)methanamin (0.69 g; 5.05 mmol), Essigsäure (1.16 mL; 20.21 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.87 g; 13.54 mmol), DCE (40 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 46 % (0.54 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.81–0.95 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.06–1.26 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.56–1.77 (m, 6H, Cyclohexyl-*H*), 2.65 (d, 2H, -N-CH₂, *J* = 6.42 Hz), 3.77 (s, 3H, -OCH₃), 4.03 (s, 2H, -N-CH₂), 6.97 (d, 2H, Ph-*H*_{3/5},

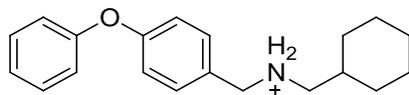
$J = 8.82$ Hz), 7.49 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.82$ Hz), 9.08 (s, 2H, $-N^+H_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (62.90 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.00 (Cyclohexyl- $\text{C}_{3/5}$), 25.51 (Cyclohexyl- C_4), 30.12 (Cyclohexyl- $\text{C}_{2/6}$), 34.14 (Cyclohexyl- C_1), 49.67 ($-\text{NH}-\text{CH}_2$), 51.65 ($-\text{NH}-\text{CH}_2$), 55.16 ($-\text{OCH}_3$), 113.87 (Ph- C_3/C_5), 123.62 (Ph- C_1), 131.78 (Ph- C_2/C_6), 159.61 (Ph- C_4). **MS (ESI+):** $m/e = 234.6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl)[(4-phenylphenyl)methyl]azanium **144** (TH091):



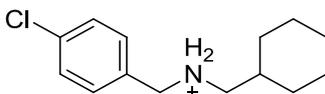
Synthese Stufe I; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.47 g; 4.20 mmol), E2: [1,1'-Biphenyl]-4-ylmethanamin (0.52 g; 2.81 mmol), Essigsäure (0.63 mL; 10.91 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (1.62 g; 7.31 mmol), DCE (20 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 20 % (0.15 g).

$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.86–0.99 (m, 2H, Cyclohexyl- H), 1.09–1.28 (m, 3H, Cyclohexyl- H), 1.63–1.80 (m, 6H, Cyclohexyl- H), 2.74 (d, 2H, $-\text{N}-\text{CH}_2$, $J = 6.26$ Hz), 4.16 (s, 2H, $-\text{N}-\text{CH}_2$), 7.39 (t, 1H, Ph'- H_4 , $J = 7.24$ Hz), 7.49 (t, 2H, Ph'- H_3/H_5 , $J = 7.33$ Hz), 7.64–7.76 (m, 6H, Ph- $H_2/H_3/H_5/H_6$, Ph'- H_2/H_6), 9.15 (s, 2H, $-N^+H_2$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.01 (Cyclohexyl- $\text{C}_{3/5}$), 25.52 (Cyclohexyl- C_4), 30.08 (Cyclohexyl- $\text{C}_{2/6}$), 34.25 (Cyclohexyl- C_1), 50.01 ($-\text{NH}-\text{CH}_2$), 52.19 ($-\text{NH}-\text{CH}_2$), 126.70 (Ph'- C_2/C_6), 126.77 (Ph- C_3/C_5), 127.76 (Ph'- C_4), 128.99 (Ph'- C_4/C_6), 130.80 (Ph- C_2/C_6), 131.01 (Ph- C_1), 139.39 (Ph- C_4), 140.61 (Ph'- C_1). **MS (ESI+):** $m/e = 280.29$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl)[(4-phenoxyphenyl)methyl]azanium **145** (TH131):

Synthese Stufe I; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.68 g; 6.07 mmol), E2: (4-Phenoxyphenyl)methanamin (0.81 g; 4.06 mmol), Essigsäure (0.92 mL; 16.06 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.39 g; 10.76 mmol), DCE (40 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 11 % (0.13 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84–0.98 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.08–1.27 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.64–1.79 (m, 6H, Cyclohexyl-*H*), 2.70 (d, 2H, -N-CH₂, *J* = 5.91 Hz), 4.09 (s, 2H, -N-CH₂), 7.01–7.05 (m, 4H, Ph-*H*₃/*H*₅ Ph'-*H*₂/*H*₆), 7.17 (t, 1H, Ph'-*H*₄, *J* = 7.42 Hz), 7.42 (t, 2H, Ph'-*H*₃/*H*₅, *J* = 7.90 Hz), 7.59 (d, 2H, Ph-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.59 Hz), 9.14 (s, 2H, -N⁺H₂). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 25.00 (Cyclohexyl-C_{3/5}), 25.52 (Cyclohexyl-C₄), 30.09 (Cyclohexyl-C_{2/6}), 34.22 (Cyclohexyl-C₁), 49.71 (-NH-CH₂), 52.03 (-NH-CH₂), 118.31 (Ph'-C₂/C₆), 118.89 (Ph-C₃/C₅), 123.82 (Ph'-C₄), 126.72 (Ph-C₁), 130.13 (Ph'-C₃/C₅), 132.22 (Ph-C₂/C₆), 156.19 (Ph-C₄), 157.24 (Ph'-C₁). **MS (ESI+):** *m/e* = 296.2 [M+H]⁺.

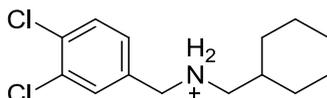
Charakterisierung von [(4-Chlorphenyl)methyl](cyclohexylmethyl)azanium **146** (TH126):

Synthese Stufe I; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.85 g; 7.58 mmol), E2: (4-Chlorphenyl)methanamin (0.72 g; 5.05 mmol), Essigsäure (1.16 mL; 20.21 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.87 g; 13.54 mmol), DCE (40 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 53 % (0.64 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.84–0.98 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.08–1.27 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.59–1.80 (m, 6H, Cyclohexyl-*H*), 2.69 (d, 2H, -N-CH₂, *J* = 6.44 Hz), 4.12 (s, 2H, -N-CH₂), 7.50 (d, 2H, Ph-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.52 Hz), 7.64 (d, 2H, Ph-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.52 Hz), 9.33 (s, 2H, -N⁺H₂). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ:

24.95 (Cyclohexyl-C_{3/5}), 25.47 (Cyclohexyl-C₄), 30.06 (Cyclohexyl-C_{2/6}), 34.15 (Cyclohexyl-C₁), 49.42 (-NH-CH₂), 52.06 (-NH-CH₂), 128.44 (Ph-C_{3/C₅}), 130.09 (Ph-C₄), 132.16 (Ph-C_{2/C₆}), 133.57 (Ph-C₁). **MS (ESI+):** $m/e = 238.6$ [M+H]⁺.

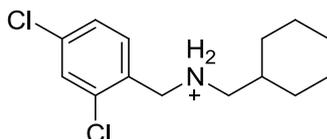
Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl)[(3,4-dichlorphenyl)methyl]azanium **147** (TH130):



Synthese Stufe I; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.72 g; 6.39 mmol), E2: (3,4-Dichlorphenyl)methanamin (0.75 g; 4.26 mmol), Essigsäure (0.98 mL; 17.04 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.42 g; 11.42 mmol), DCE (40 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 37 % (0.43 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.85–0.98 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.09–1.27 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.58–1.78 (m, 6H, Cyclohexyl-*H*), 2.72 (s, 2H, -N-CH₂), 4.13 (s, 2H, -N-CH₂), 7.57 (m, 1H, Ph-*H*₆), 7.72 (d, 1H, Ph-*H*₅, $J = 8.23$ Hz), 7.93 (m, 1H, Ph-*H*₂), 9.20 (s, 2H, -N⁺H₂). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 24.97 (Cyclohexyl-C_{3/5}), 25.48 (Cyclohexyl-C₄), 30.04 (Cyclohexyl-C_{2/6}), 34.23 (Cyclohexyl-C₁), 49.00 (-NH-CH₂), 52.35 (-NH-CH₂), 130.58 (Ph-C₆), 130.63 (Ph-C₄), 130.95 (Ph-C₅), 131.55 (Ph-C₃), 132.34 (Ph-C₂), 133.03 (Ph-C₁). **MS (ESI+):** $m/e = 272.2$ [M+H]⁺.

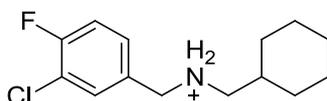
Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl)[(2,4-dichlorphenyl)methyl]azanium **148** (TH138):



Synthese Stufe I; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.75 g; 6.72 mmol), E2: (2,4-Dichlorphenyl)methanamin (0.77 g; 4.38 mmol), Essigsäure (0.98 mL; 17.04 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (2.42 g; 11.42 mmol), DCE (40 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 33 % (0.39 g).

$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.86–0.99 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.08–1.27 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.63–1.81 (m, 6H, Cyclohexyl-*H*), 2.79 (d, 2H, -N- CH_2 , $J = 6.49$ Hz), 4.21 (s, 2H, -N- CH_2), 7.54 (dd, 1H, Ph- H_5 , $^3J = 8.35$ Hz), 7.73 (s, 1H, Ph- H_3 , $^4J = 1.93$ Hz), 7.84 (d, 1H, Ph- H_6 , $J = 8.35$ Hz), 9.30 (s, 2H, -N $^+$ H_2). **$^{13}\text{C-NMR}$ (62.90 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.01 (Cyclohexyl- $\text{C}_{3/5}$), 25.53 (Cyclohexyl- C_4), 30.07 (Cyclohexyl- $\text{C}_{2/6}$), 34.21 (Cyclohexyl- C_1), 46.88 (-NH- CH_2), 52.80 (-NH- CH_2), 127.60 (Ph- C_5), 128.97 (Ph- C_3), 129.14 (Ph- C_6), 133.38 (Ph- C_4), 134.46 (Ph- C_1), 134.78 (Ph- C_2). **MS (ESI+)**: $m/e = 272.4$ [M+H] $^+$.

Charakterisierung von [(3-Chlor-4-fluorphenyl)methyl](cyclohexylmethyl)azanium **149** (TH140):



Synthese Stufe 1; E1: Cyclohexylcarbaldehyd (0.54 g; 4.79 mmol), E2: (3-Chlor-4-fluorphenyl)methanamin (0.51 g; 3.20 mmol), Essigsäure (0.72 mL; 12.53 mmol), Natriumtriacetoxyborhydrid (1.79 g; 8.45 mmol), DCE (40 mL); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 17 % (0.13 g).

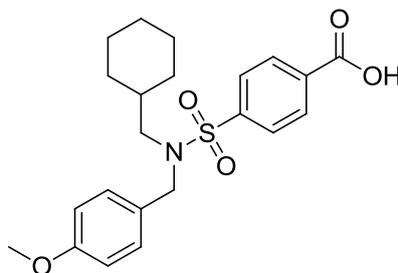
$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.84–1.03 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.08–1.26 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.64–1.78 (m, 6H, Cyclohexyl-*H*), 2.70 (d, 2H, -N- CH_2 , $J = 6.48$ Hz), 4.11 (s, 2H, -N- CH_2), 7.48 (t, 1H, Ph- H_5 , $^3J = 8.91$ Hz), 7.57–7.63 (m, 1H, Ph- H_6), 7.87 (dd, 1H, Ph- H_2 , $^3J = 7.23$ Hz, $^4J = 1.95$ Hz), 9.09 (s, 2H, -N $^+$ H_2). **$^{13}\text{C-NMR}$ (62.90 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.02 (Cyclohexyl- $\text{C}_{3/5}$), 25.54 (Cyclohexyl- C_4), 30.09 (Cyclohexyl- $\text{C}_{2/6}$), 34.33 (Cyclohexyl- C_1), 49.16 (-NH- CH_2), 52.41 (-NH- CH_2), 116.92 (Ph- C_5 , 2J (C,F) = 21.00 Hz), 119.36 (Ph- C_3 , 2J (C,F) = 17.85 Hz), 130.06 (Ph- C_6 , 3J (C,F) = 3.70 Hz), 131.31 (Ph- C_2 , 3J (C,F) = 7.81 Hz), 132.62 (Ph- C_1), 157.40 (Ph- C_4 , 1J (C,F) = 248.27 Hz). **MS (ESI+)**: $m/e = 256.4$ [M+H] $^+$.

5.5.2. Synthese und Charakterisierung der Benzensulfonamide der Serie 2 (Verb. 78, 88–93)

Stufe II: Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Synthese der Benzensulfonamide der Serie 2

In einem 100 mL Kolben wurden das sekundäre Amin (E1, 1 eq) mit Triethylamin (E2, 3 eq) in 20–40 mL Ethanol gelöst. Die Reaktion wurde runtergekühlt auf 0 °C und das entsprechende Benzensulfonylchloridderivat (E3, 1 eq) wurde langsam hinzugegeben. Die Reaktion lief für 22 h bei Raumtemperatur. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in einer 1N NaOH-Lösung gelöst und das Produkt wurde durch die Zugabe einer 2N HCl-Lösung ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Dichlormethan/*n*-Hexan umkristallisiert, um die entsprechenden Benzensulfonamide als weiße Feststoffe zu erhalten.

Charakterisierung von 4-[(Cyclohexylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]sulfamoyl]benzoesäure **78** (TH119):

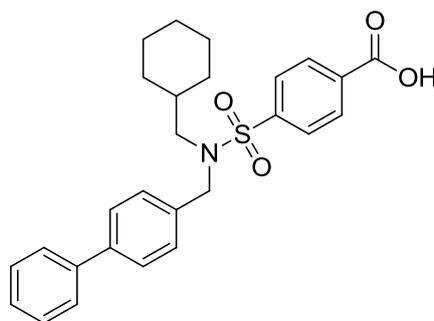


Synthese Stufe II; E1: (Cyclohexylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]azanium **143** (0.50 g; 2.14 mmol), E2: Triethylamin (0.90 mL; 6.43 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.47 g; 2.14 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 43 % (0.39 g).

¹H-NMR (300.03 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.61–0.72 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.86–1.04 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.24–1.32 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.43–1.55 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.89 (d, 2H, N-CH₂, *J* = 7.42 Hz), 3.73 (s, 3H, -OCH₃), 4.24 (s, 2H, N-CH₂), 6.87 (d, 2H, Ph'-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.56 Hz), 7.18 (d, 2H, Ph'-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.56 Hz),

7.94 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 8.56$ Hz), 8.12 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.56$ Hz), 13.46 (s, 1H, -COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 25.15 (Cyclohexyl- C_3/C_5), 25.84 (Cyclohexyl- C_4), 30.02 (Cyclohexyl- C_2/C_6), 35.47 (Cyclohexyl- C_1), 51.76 (N- CH_2), 54.51 (N- CH_2), 55.08 (-OCH₃), 113.69 (Ph'- C_3/C_5), 127.18 (Ph- C_3/C_5), 128.46 (Ph'- C_1), 129.58 (Ph'- C_2/C_6), 130.17 (Ph- C_2/C_6), 134.29 (Ph- C_1), 143.03 (Ph- C_4), 158.73 (Ph'- C_4), 166.16 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 416.22$ [M-H]⁻. **Anal.** ($\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{NO}_5\text{S}$ [417.52]) C, H, N, S: ber. C 63.29, H 6.52, N 3.35, S 7.68; gef. C 63.32, H 6.34, N 3.27, S 7.59; Abw. C +0.03, H -0.18, N -0.08, S -0.09.

Charakterisierung von 4-(*N*-([1,1'-Biphenyl]-4-ylmethyl)-*N*-(cyclohexylmethyl)sulfamoyl)benzoesäure **88** (TH108):

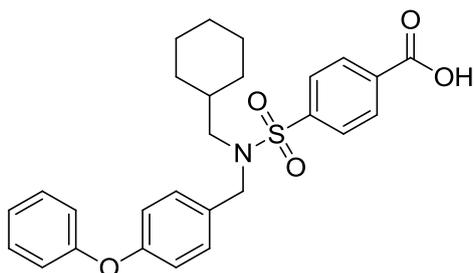


Synthese Stufe II; E1: (Cyclohexylmethyl)[(4-phenylphenyl)methyl]azanium **144** (0.12 g; 0.43 mmol), E2: Triethylamin (0.18 mL; 1.28 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.94 g; 0.43 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 78 % (0.15 g).

$^1\text{H-NMR}$ (300.03 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.64–0.75 (m, 2H, -Cyclohexyl- H), 0.86–1.04 (m, 3H, -Cyclohexyl- H), 1.25–1.31 (m, 1H, -Cyclohexyl- H), 1.47–1.55 (m, 5H, -Cyclohexyl- H), 2.96 (d, 2H, N- CH_2 , $J = 7.33$ Hz), 4.37 (s, 2H, N- CH_2), 7.34–7.39 (m, 3H, Biph- H_2/H_6 , Biph'- H_4), 7.46 (t, 2H, Biph'- H_3/H_5 , $J = 7.46$ Hz), 7.61–7.66 (m, 4H, Biph- H_3/H_5 , Biph'- H_2/H_6), 7.97 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 8.58$ Hz), 8.13 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.58$ Hz), 13.48 (s, 1H, -COOH). $^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 25.14 (Cyclohexyl- C_3/C_5), 25.82 (Cyclohexyl- C_4), 30.03 (Cyclohexyl- C_2/C_6), 35.54 (Cyclohexyl- C_1), 52.05 (N- CH_2), 54.95 (N- CH_2), 126.52 (Biph'- C_2/C_6), 126.58 (Biph'- C_3/C_5), 127.21 (Ph- C_3/C_5), 127.45 (Biph'- C_4), 128.72 (Biph- C_2/C_6), 128.91 (Biph- C_3/C_5), 130.20 (Ph- C_2/C_6), 134.37 (Ph- C_1), 136.11 (Biph- C_1), 139.34

(Biph'-C₁), 139.67 (Biph-C₄), 142.95 (Ph-C₄), 166.16 (-COOH). **MS (ESI-):** $m/e = 462.4$ [M-H]. **Anal. (C₂₇H₂₉NO₄S [463.59])** C, H, N, S: ber. C 69.95, H 6.31, N 3.02, S 6.92; gef. C 69.55, H 6.27, N 2.74, S 6.87; Abw. C -0.40, H -0.04, N -0.28, S -0.05.

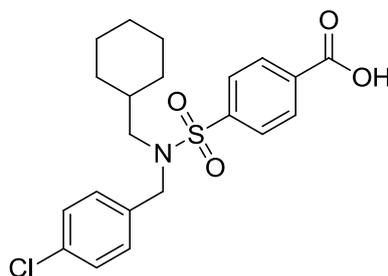
Charakterisierung von 4-[(Cyclohexylmethyl)((4-phenoxyphenyl)methyl)sulfamoyl]benzoesäure **89** (TH133):



Synthese Stufe II; E1: (Cyclohexylmethyl)[(4-phenoxyphenyl)methyl]azanium **145** (0.13 g; 0.44 mmol), E2: Triethylamin (0.18 mL; 1.32 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.97 g; 0.44 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 40 % (0.09 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.62–0.75 (m, 2H, -Cyclohexyl-H), 0.85–1.07 (m, 3H, -Cyclohexyl-H), 1.21–1.30 (m, 1H, -Cyclohexyl-H), 1.45–1.57 (m, 5H, -Cyclohexyl-H), 2.95 (d, 2H, N-CH₂, $J = 7.11$ Hz), 4.29 (s, 2H, N-CH₂), 6.92–7.00 (m, 4H, Ph'-H₃/H₅, Ph''-H₄/H₆), 7.12 (t, 1H, Ph''-H₄, $J = 7.38$ Hz), 7.30–7.42 (m, 4H, Ph'-H₂/H₆, Ph''-H₃/H₅), 7.94 (d, 2H, Ph-H₃/H₅, $J = 8.55$ Hz), 8.12 (d, 2H, Ph-H₂/H₆, $J = 8.55$ Hz), 13.49 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 25.17 (Cyclohexyl-C₃/C₅), 25.82 (Cyclohexyl-C₄), 29.99 (Cyclohexyl-C₂/C₆), 35.65 (Cyclohexyl-C₁), 51.90 (N-CH₂), 55.01 (N-CH₂), 118.10 (Ph''-C₂/C₆), 118.79 (Ph'-C₃/C₅), 123.24 (Ph''-C₄), 127.15 (Ph-C₃/C₅), 129.91 (Ph'-C₂/C₆), 130.08 (Ph''-C₃/C₅), 130.11 (Ph-C₂/C₆), 132.06 (Ph'-C₁), 134.33 (Ph-C₁), 142.83 (Ph-C₄), 155.80 (Ph'-C₄), 156.87 (Ph''-C₁), 166.11 (-COOH). **MS (ESI-):** $m/e = 478.5$ [M-H]. **Anal. (C₂₇H₂₉NO₅S [479.59])** C, H, N, S: ber. C 67.62, H 6.09, N 2.92, S 6.69; gef. C 67.40, H 6.00, N 2.87, S 7.07; Abw. C -0.22, H -0.09, N -0.05, S +0.38.

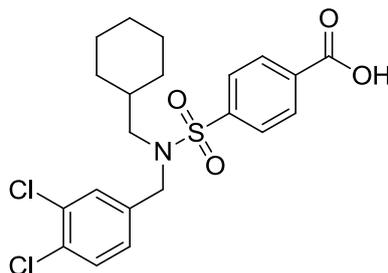
Charakterisierung von 4-[[[(4-Chlorphenyl)methyl](cyclohexylmethyl)sulfamoyl]benzoesäure **90** (TH129):



Synthese Stufe II; E1: [(4-Chlorphenyl)methyl](cyclohexylmethyl)azanium **146** (0.56 g; 2.36 mmol), E2: Triethylamin (0.99 mL; 7.07 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.52 g; 2.36 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 41 % (0.40 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.61–0.74 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.83–1.05 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.21–1.28 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.42–1.54 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.92 (d, 2H, N-CH₂, *J* = 7.46 Hz), 4.30 (s, 2H, N-CH₂), 7.33 (d, 2H, Ph'-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.78 Hz), 7.40 (d, 2H, Ph'-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.78 Hz), 7.96 (d, 2H, Ph-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.47 Hz), 8.13 (d, 2H, Ph-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.78 Hz), 13.48 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 25.08 (Cyclohexyl-C₃/C₅), 25.76 (Cyclohexyl-C₄), 29.95 (Cyclohexyl-C₂/C₆), 35.52 (Cyclohexyl-C₁), 51.76 (N-CH₂), 55.20 (N-CH₂), 127.19 (Ph-C₃/C₅), 128.21 (Ph'-C₃/C₅), 129.91 (Ph'-C₂/C₆), 130.16 (Ph-C₂/C₆), 132.09 (Ph'-C₄), 134.41 (Ph-C₁), 136.15 (Ph'-C₁), 142.66 (Ph-C₄), 166.09 (-COOH). **MS (ESI):** *m/e* = 420.19 [M-H]⁻. **Anal. (C₂₁H₂₄ClNO₄S [421.94])** C, H, N, S: ber. C 59.78, H 5.73, N 3.32, S 7.60; gef. C 59.98, H 5.69, N 3.22, S 7.41; Abw. C +0.20, H -0.04, N -0.10, S -0.19.

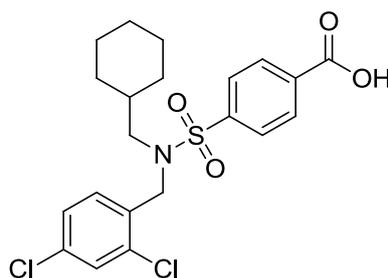
Charakterisierung von 4-[(Cyclohexylmethyl)((3,4-dichlorphenyl)methyl)sulfamoyl]benzoesäure **91** (TH132):



Synthese Stufe II; E1: (Cyclohexylmethyl)((3,4-dichlorphenyl)methyl)azanium **147** (0.40 g; 1.47 mmol), E2: Triethylamin (0.61 mL; 4.41 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.32 g; 1.47 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 43 % (0.29 g).

$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.64–0.77 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.85–1.02 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.22–1.28 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.44–1.56 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.92 (d, 2H, N- CH_2 , $J = 7.27$ Hz), 4.30 (s, 2H, N- CH_2), 7.33 (dd, 1H, Ph'- H_6 , $^3J = 8.33$ Hz, $^4J = 1.99$ Hz), 7.52 (d, 1H, Ph'- H_2 , $^4J = 1.94$ Hz), 7.62 (d, 1H, Ph- H_5 , $^3J = 8.29$ Hz), 7.82 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 8.40$ Hz), 8.06 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.40$ Hz). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.13 (Cyclohexyl- C_3/C_5), 25.82 (Cyclohexyl- C_4), 30.01 (Cyclohexyl- C_2/C_6), 35.63 (Cyclohexyl- C_1), 51.33 (N- CH_2), 55.53 (N- CH_2), 126.48 (Ph- C_3/C_5), 128.32 (Ph'- C_6), 129.81 (Ph'- C_5), 129.85 (Ph'- C_4), 129.89 (Ph- C_2/C_6), 130.46 (Ph'- C_3), 130.81 (Ph'- C_2), 134.30 (Ph- C_1), 138.95 (Ph'- C_1), 139.82 (Ph- C_4), 166.83 (-COOH). **MS (ESI-):** $m/e = 454.13$ [M-H]. **Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{NO}_4\text{S}$ [455.07])** C, H, N, S: ber. C 55.27, H 5.08, N 3.07, S 7.03; gef. C 54.91, H 4.90, N 2.84, S 6.99; Abw. C -0.36, H -0.18, N -0.23, S -0.04.

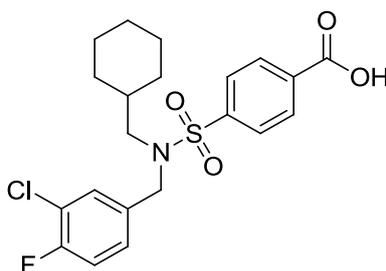
Charakterisierung von 4-[(Cyclohexylmethyl)((2,4-dichlorphenyl)methyl)sulfamoyl]benzoesäure **92** (TH141):



Synthese Stufe II; E1: (Cyclohexylmethyl)((2,4-dichlorphenyl)methyl)azanium **148** (0.29 g; 1.08 mmol), E2: Triethylamin (0.45 mL; 3.23 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.28 g; 1.08 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 83 % (0.41 g).

¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.64–0.77 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.88–1.05 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.12–1.20 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.48–1.56 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.97 (d, 2H, N-CH₂, *J* = 7.22 Hz), 4.39 (s, 2H, N-CH₂), 7.46 (dd, 1H, Ph'-*H*₅, ³*J* = 8.38 Hz, ⁴*J* = 1.95 Hz), 7.52 (d, 1H, Ph'-*H*₆, ³*J* = 8.41 Hz), 7.60 (d, 1H, Ph-*H*₃, ⁴*J* = 1.91 Hz), 7.96 (d, 2H, Ph-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.56 Hz), 8.13 (d, 2H, Ph-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.56 Hz), 13.48 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (62.90 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 25.17 (Cyclohexyl-*C*₃/*C*₅), 25.74 (Cyclohexyl-*C*₄), 30.02 (Cyclohexyl-*C*₂/*C*₆), 36.09 (Cyclohexyl-*C*₁), 49.97 (N-CH₂), 55.71 (N-CH₂), 127.30 (Ph-*C*₃/*C*₅), 127.36 (Ph'-*C*₅), 128.69 (Ph'-*C*₃), 130.18 (Ph-*C*₂/*C*₆), 131.62 (Ph'-*C*₆), 132.97 (Ph'-*C*₁), 133.28 (Ph'-*C*₄), 133.57 (Ph'-*C*₂), 134.55 (Ph-*C*₁), 142.11 (Ph-*C*₄), 166.08 (-COOH). **MS (ESI+):** *m/e* = 456.6 [M+H]⁺. **Anal. (C₂₁H₂₃Cl₂NO₄S [456.38])** C, H, N, S: ber. C 55.27, H 5.08, N 3.07, S 7.03; gef. C 54.87, H 4.98, N 2.84, S 7.02; Abw. C -0.40, H -0.10, N -0.23, S -0.01.

Charakterisierung von 4-[[[(3-Chlor-4-fluorphenyl)methyl](cyclohexylmethyl)sulfamoyl]benzoesäure **93** (TH142):



Synthese Stufe II; E1: [(3-Chlor-4-fluorphenyl)methyl](cyclohexylmethyl)azanium **149** (0.08 g; 0.31 mmol), E2: Triethylamin (0.13 mL; 0.92 mmol), E3: 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.07 g; 0.31 mmol); Produkt: Weißer Feststoff; Ausbeute: 20 % (0.03 g).

$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.65–0.78 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.85–1.07 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.20–1.34 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.44–1.57 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.95 (d, 2H, N- CH_2 , $J = 7.37$ Hz), 4.31 (s, 2H, N- CH_2), 7.31–7.43 (m, 3H, Ph'- $\text{H}_2/ \text{H}_5/\text{H}_6$), 7.95 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 8.50$ Hz), 8.13 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.50$ Hz), 13.50 (s, 1H, -COOH). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.17 (Cyclohexyl- C_3/C_5), 25.85 (Cyclohexyl- C_4), 29.99 (Cyclohexyl- C_2/C_6), 35.63 (Cyclohexyl- C_1), 51.20 (N- CH_2), 55.39 (N- CH_2), 116.80 (Ph'- C_5 , $^2J(\text{C},\text{F}) = 21.01$ Hz), 119.18 (Ph'- C_3 , $^2J(\text{C},\text{F}) = 17.79$ Hz), 127.25 (Ph- C_3/C_5), 128.85 (Ph'- C_6 , $^3J(\text{C},\text{F}) = 7.66$ Hz), 130.04 (Ph'- C_1), 130.26 (Ph- C_2/C_6), 134.56 (Ph- C_1), 135.25 (Ph'- C_2 , $^3J(\text{C},\text{F}) = 3.77$ Hz), 142.62 (Ph- C_4), 156.53 (Ph- C_4 , $^1J(\text{C},\text{F}) = 246.10$ Hz), 166.16 (-COOH). **MS (ESI)**: $m/e = 438.5$ [M-H] $^-$. **Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClFNO}_4\text{S}$ [439.93])** C, H, N, S: ber. C 57.33, H 5.27, N 3.18, S 7.29; gef. C 56.94, H 5.14, N 2.98, S 7.29; Abw. C -0.39, H -0.13, N -0.20, S ± 0.00 .

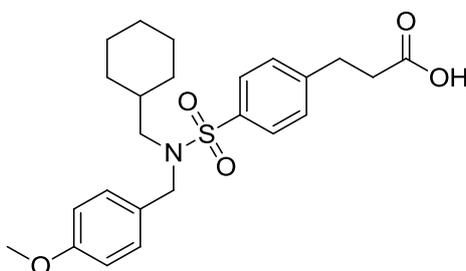
5.6. Synthese der Benzensulfonamide der Serie 3 (Verb. 95 und 96)

Syntheschema 5 (siehe Kapitel 3.1.3.)

5.6.1. Synthese und Charakterisierung des Arylpropionsäurederivats (Verb. 95)

Stufe II: Arbeitsvorschrift für die Synthese von 3-{4-[(Cyclohexylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]sulfamoyl]phenyl}propansäure **95** (TH145)

In einem 100 mL Kolben wurden (Cyclohexylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]azanium **143** (0.20 g, 0.86 mmol) mit Triethylamin (0.36 mL, 2.57 mmol) in 20 mL THF gelöst. Die Reaktion wurde runtergekühlt auf 0 °C und Methyl 3-(4-chlorsulfonyl)phenyl)propanoat (0.23 g, 0.86 mmol) wurde langsam hinzugegeben. Die Reaktion lief für 22 h bei Raumtemperatur. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde gelöst in einer 1N NaOH-Lösung und das Produkt wurde durch die Zugabe einer 2N HCl-Lösung ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Dichlormethan/*n*-Hexan umkristallisiert, um 3-{4-[(Cyclohexylmethyl)[(4-methoxyphenyl)methyl]sulfamoyl]phenyl}propansäure als weißen Feststoff zu erhalten; Ausbeute: 21 % (0.08 g).



¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 0.57–0.70 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.83–1.04 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.25–1.29 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.42–1.54 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.59 (t, 2H, -CH₂-COOH, *J* = 7.49 Hz), 2.83 (d, 2H, N-CH₂, *J* = 7.31 Hz), 2.92 (t, 2H, -Ph-CH₂, *J* = 7.49 Hz), 3.73 (s, 3H, -OCH₃), 4.19 (s, 2H, N-CH₂), 6.86 (d, 2H, Ph'-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.68 Hz), 7.15 (d, 2H, Ph'-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.66 Hz), 7.47 (d, 2H, Ph-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.31 Hz), 7.73 (d, 2H, Ph-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.31 Hz), 12.20 (s, 1H, -COOH). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 25.19 (Cyclohexyl-C₃/C₅), 25.89 (Cyclohexyl-C₄), 30.08 (Cyclohexyl-C₂/C₆), 34.62 (Ph-CH₂), 35.53 (Cyclohexyl-C₁), 45.73 (-CH₂-COOH), 51.83 (N-CH₂), 54.55 (N-CH₂), 55.08 (-OCH₃), 113.65

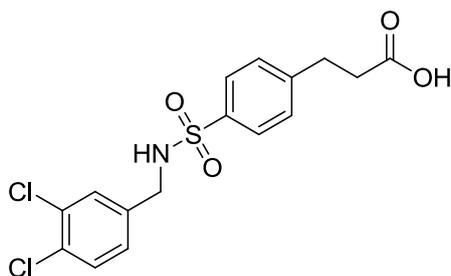
(Ph'-C₃/C₅), 126.99 (Ph-C₂/C₆), 128.80 (Ph'-C₁), 129.21 (Ph-C₃/C₅), 129.55 (Ph'-C₂/C₆), 137.09 (Ph-C₄), 146.21 (Ph-C₁), 158.66 (Ph'-C₄), 173.48 (-COOH).
MS (ESI): $m/e = 444.7$ [M-H]⁻. **Anal. (C₂₄H₃₁NO₅S [445.57])** C, H, N, S: ber. C 64.69, H 7.01, N 3.14, S 7.20; gef. C 64.43, H 7.07, N 3.11, S 7.23; Abw. C -0.26, H +0.06, N -0.03, S +0.03.

5.6.2. Synthese und Charakterisierung des Arylpropionsäurederivats (Verb. 96)

Stufe III: Arbeitsvorschrift für die Synthese von 3-(4-((3,4-Dichlorphenyl)methyl)sulfamoyl)phenyl)propansäure **96** (TH155)

a) In einem 50 mL Einhalskolben wurden (3,4-Dichlorphenyl)methanamin (0.11 g, 0.60 mmol) und Pyridin (0.30 mL, 3.71 mmol) in 10 mL trockenem Dichlormethan gelöst. Die Reaktion wurde runtergekühlt auf 0 °C und Methyl-3-(4-chlorsulfonyl)phenyl)propanoat (0.20 g, 0.76 mmol) wurde langsam hinzugegeben. Die Reaktion lief für 16 h bei Raumtemperatur. Der Ansatz wurde mit 5%iger aq. HCl gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt.

b) Der Rückstand wurde in 10 mL THF gelöst. Zu der Lösung wurden LiOH·H₂O (0.13 g, 3.01 mmol) hinzugegeben und die Reaktion rührte bei 60 °C für 24 h. Das Lösungsmittel wurde am Ende der Reaktion am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und das Produkt wurde mit 2N HCl ausgefällt und mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde gewaschen mit einer gesättigten NaCl-Lösung und über MgSO₄ getrocknet. Anschließend wurde die organische Phase am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand wurde aus Dichlormethan/*n*-Hexan umkristallisiert, um 3-(4-((3,4-Dichlorphenyl)methyl)sulfamoyl)phenyl)propansäure als weißen Feststoff zu erhalten; Gesamtausbeute: 32 % (0.08 g).



$^1\text{H-NMR}$ (300.03 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 2.57 (t, 2H, $-\text{CH}_2\text{-COOH}$, $J = 7.60$ Hz), 2.88 (t, 2H, $-\text{Ph-CH}_2$, $J = 7.58$ Hz), 4.01 (d, 2H, N-CH_2 , $J = 6.38$ Hz), 7.20 (dd, 1H, $\text{Ph}'\text{-H}_6$, $^3J = 8.34$ Hz, $^4J = 2.05$ Hz), 7.38–7.41 (m, 3H, $\text{Ph-H}_2/\text{H}_6$, $\text{Ph}'\text{-H}_2$), 7.51 (d, 1H, $\text{Ph}'\text{-H}_5$, $J = 8.27$ Hz), 7.65 (d, 2H, $\text{Ph-H}_3/\text{H}_5$, $J = 8.37$ Hz), 8.21 (t, 1H, $-\text{NH}$, $J = 6.40$ Hz), 12.22 (s, 1H, $-\text{COOH}$). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 30.06 (N-CH_2), 34.61 (Ph-CH_2), 44.82 ($\text{CH}_2\text{-COOH}$), 126.51 ($\text{Ph-C}_2/\text{C}_6$), 127.86 ($\text{Ph}'\text{-C}_6$), 128.95 ($\text{Ph-C}_3/\text{C}_5$), 129.47 ($\text{Ph}'\text{-C}_2$), 129.56 ($\text{Ph}'\text{-C}_3$), 130.32 ($\text{Ph}'\text{-C}_5$), 130.73 ($\text{Ph}'\text{-C}_4$), 138.42 ($\text{Ph}'\text{-C}_1$), 139.03 (Ph-C_4), 145.90 (Ph-C_1), 173.53 ($-\text{COOH}$). **MS (ESI-):** $m/e = 368.08$ $[\text{M-H}]^-$. **Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_4\text{S}$ [387.01])** C, H, N, S: ber. C 49.49, H 3.89, N 3.61, S 8.26; gef. C 49.11, H 3.58, N 3.30, S 8.10; Abw. C -0.38, H -0.31, N -0.31, S -0.16.

5.7. Synthese des deuterierten Benzensulfonamidderivates (Verb. 94)

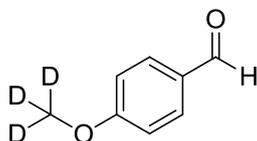
Syntheschema 6 (siehe Kapitel 3.1.4.)

5.7.1. Synthese und Charakterisierung von 4-($^2\text{H}_3$)Methoxybenzaldehyd (Verb. 150)

Stufe I: Arbeitsvorschrift für die Synthese von 4-($^2\text{H}_3$)Methoxybenzaldehyd **150** (TH117)

In einem 100 mL Einhalskolben wurden 4-Hydroxybenzaldehyd (0.84 g, 6.90 mmol) und K_2CO_3 (0.95 g, 6.90 mmol) vorgelegt. Anschließend wurde Iodmethan- d_3 (1.00 g, 6.90 mmol) langsam hinzuge tropft. Die Reaktion lief bei Raumtemperatur für 24 h. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat gelöst und anschließend zwei Mal mit 50 mL H_2O und zwei Mal mit 50 mL einer gesättigten NaCl -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet und

schließlich am Rotationsverdampfer unter verminderten Druck entfernt. Der Rückstand wurde weiter säulenchromatographisch (*n*-Hexan/Ethylacetat) aufgereinigt, um 4-(²H₃)Methoxybenzaldehyd als gelbliches Öl zu erhalten; Ausbeute: 43 % (0.41 g).

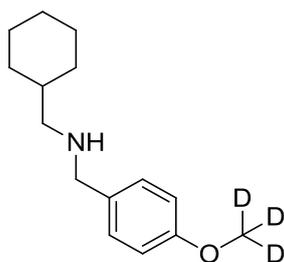


¹H-NMR (250.13 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.12 (d, 2H, Ph-*H*₃/*H*₅, *J* = 8.52 Hz), 7.87 (d, 2H, Ph-*H*₂/*H*₆, *J* = 8.70 Hz), 9.87 (s, 1H, -CHO). **¹³C-NMR (75.44 MHz, (CD₃)₂SO)** δ: 54.89 (O-CD₃), 114.51 (Ph-C₃/C₅), 129.64 (Ph-C₁), 131.82 (Ph-C₂/C₆), 164.24 (Ph-C₄), 191.32 (-CHO). **MS (ESI-):** *m/e* = 140.15 [M+H]⁺.

5.7.2. Synthese und Charakterisierung von (Cyclohexylmethyl)({[4-(²H₃)methoxyphenyl]methyl})amin (Verb. 151)

Stufe II: Arbeitsvorschrift für die Synthese von (Cyclohexylmethyl)({[4-(²H₃)methoxyphenyl]methyl})amin **151** (TH123)

In einem 100 mL 2-Halskolben wurden 4-(²H₃)Methoxybenzaldehyd **150** (0.39 g, 2.8 mmol), das Cyclohexylmethanamin (0.21, 1.86 mmol) und Essigsäure (0.42 mL, 7.45 mmol) in 40 mL 1,2-Dichlorethan gelöst. Die Reaktion wurde evakuiert und mit Argon zurückgefüllt und rührte dann für 3.5 h bei Raumtemperatur. Nach der Iminbildung wurde Natriumtriacetoxyborhydrid (1.06 g, 4.99 mmol) hinzugegeben und die Reaktion rührte bei Raumtemperatur für 24 h. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 20 mL einer 1N NaOH-Lösung gequencht und das Produkt wurde drei Mal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde weiter aufgereinigt durch Säulenchromatographie (*n*-Hexan/Ethylacetat), um das entsprechende (Cyclohexylmethyl)({[4-(²H₃)methoxyphenyl]methyl})amin als gelbliches Öl zu erhalten; Ausbeute: 26 % (0.12 g).

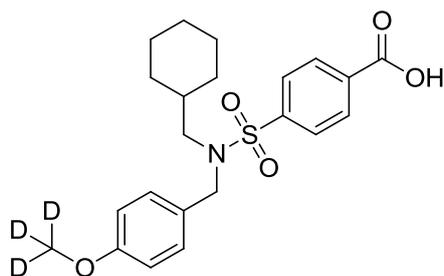


$^1\text{H-NMR}$ (250.13 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.77–0.89 (m, 2H, Cyclohexyl-*H*), 1.04–1.23 (m, 3H, Cyclohexyl-*H*), 1.30–1.42 (m, 1H, Cyclohexyl-*H*), 1.62–1.74 (m, 5H, Cyclohexyl-*H*), 2.28 (d, 2H, -N- CH_2 , $J = 6.63$ Hz), 3.58 (s, 2H, -N- CH_2), 6.84 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 8.66$ Hz), 7.21 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.86$ Hz). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.65 (Cyclohexyl- $\text{C}_{3/5}$), 26.33 (Cyclohexyl- C_4), 31.12 (Cyclohexyl- $\text{C}_{2/6}$), 37.56 (Cyclohexyl- C_1), 52.59 (-NH- CH_2), 55.36 (-NH- CH_2), 62.64 (- OCD_3), 113.42 (Ph- C_3/C_5), 128.92 (Ph- C_2/C_6), 133.02 (Ph- C_1), 157.92 (Ph- C_4). **MS (ESI+)**: $m/e = 237.30$ [M+H] $^+$.

5.7.3. Synthese und Charakterisierung von 4-[(Cyclohexylmethyl)({[4-($^2\text{H}_3$)methoxyphenyl]methyl})sulfonyl]benzoesäure (Verb. 94)

Stufe III: Arbeitsvorschrift für die Synthese von 4-[(Cyclohexylmethyl)({[4-($^2\text{H}_3$)methoxyphenyl]methyl})sulfonyl]benzoesäure **94** (TH151)

In einem 100 mL Kolben wurden (Cyclohexylmethyl)({[4-($^2\text{H}_3$)methoxyphenyl]methyl})amin **151** (0.11 g, 0.45 mmol) mit Triethylamin (0.19 mL, 1.35 mmol) in 20–40 mL Ethanol gelöst. Die Reaktion wurde runtergekühlt auf 0 °C und 4-(Chlorsulfonyl)benzoesäure (0.10 g, 0.45 mmol) wurde langsam hinzugegeben. Die Reaktion lief für 22 h bei Raumtemperatur. Am Ende der Reaktion wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in einer 1N NaOH-Lösung gelöst und das Produkt wurde durch die Zugabe einer 2N HCl-Lösung ausgefällt. Der Niederschlag wurde mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase wurde über MgSO_4 getrocknet. Das Rohprodukt wurde aus Dichlormethan/*n*-Hexan umkristallisiert, um die entsprechende 4-[(Cyclohexylmethyl)({[4-($^2\text{H}_3$)methoxyphenyl]methyl})sulfonyl]benzoesäure als weißen Feststoff zu erhalten; Ausbeute: 23 % (0.04 g).



$^1\text{H-NMR}$ (300.03 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ : 0.60–0.71 (m, 2H, -Cyclohexyl-*H*), 0.86–1.04 (m, 3H, -Cyclohexyl-*H*), 1.25–1.30 (m, 1H, -Cyclohexyl-*H*), 1.42–1.54 (m, 5H, -Cyclohexyl-*H*), 2.89 (d, 2H, N- CH_2 , $J = 7.36$ Hz), 4.24 (s, 2H, N- CH_2), 6.86 (d, 2H, Ph'- H_3/H_5 , $J = 8.68$ Hz), 7.18 (d, 2H, Ph'- H_2/H_6 , $J = 8.67$ Hz), 7.94 (d, 2H, Ph- H_3/H_5 , $J = 8.52$ Hz), 8.12 (d, 2H, Ph- H_2/H_6 , $J = 8.51$ Hz), 13.47 (s, 1H, -COOH). **$^{13}\text{C-NMR}$ (75.44 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)** δ : 25.16 (Cyclohexyl- C_3/C_5), 25.84 (Cyclohexyl- C_4), 30.02 (Cyclohexyl- C_2/C_6), 35.47 (Cyclohexyl- C_1), 51.76 (N- CH_2), 54.51 (N- CH_2), 113.68 (Ph'- C_3/C_5), 127.18 (Ph- C_3/C_5), 128.43 (Ph'- C_1), 129.58 (Ph'- C_2/C_6), 130.18 (Ph- C_2/C_6), 134.32 (Ph- C_1), 143.02 (Ph- C_4), 158.73 (Ph'- C_4), 166.19 (-COOH). **MS (ESI):** $m/e = 419.6$ [M-H] $^-$. **Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{D}_3\text{NO}_5\text{S}$ [420.54])** C, H(+D), N, S: ber. C 62.83, H(+D) 6.47, N 3.33, S 7.62; gef. C 62.71, H(+D) 6.41, N 3.19, S 7.68; Abw. C -0.12, H(+D) -0.06, N -0.14, S +0.06.

6. Abkürzungsverzeichnis

5-LO	5-Lipoxygenase	GPCR	G-Protein-gekoppelter Rezeptor
12-HHT	12(S)-Hydroxy-5Z,8E,10E- heptadecatriensäure	HOAc	Essigsäure
5-HEDH	5-Hydroxyeicosanoid- dehydrogenase	IL 1B	Interleukin-1β
5-HETE	5-Hydroxyeicosatetraensäure	LOD	Limit of detection (dt.: Nachweisgrenze)
5-HPETE	5(S)-Hydroperoxy-6-trans- 8,11,14-cis-eicosatetraensäure	LOOH	Lipidhydroperoxid
5-Oxo-ETE	5-Oxo-Eicosatetraensäure	LOX	Lipoxygenase
AA	Arachidonic Acid (dt.: Arachidonsäure)	LPS	Lipopolysaccharide
ALT	Alanin-Aminotransferase	LTs	Leukotriene
AS	Aminosäure(n)	LTA4	Leukotrien A4
AST	Aspartat-Aminotransferase	LTA4H	Leukotrien A4 Hydrolase
ATP	Adenosintriphosphat	LTB4	Leukotrien B4
CLP	Coactosin-like Protein	LTC4	Leukotrien C4
COX	Cyclooxygenase	LTC4S	Leukotrien C4 Synthase
cPGES Synthase	Cytosolische Prostaglandin E2 Synthase	MAPK	Mitogenaktivierte Proteinkinase
cPLA2	cytosolische Phospholipase A2	MeOH	Methanol
CysLT	Cysteinyl leukotriene receptor	MGST	Mikrosomale Glutathion S- Transferase
DCE	1,2-Dichlorethan	mPGES-1	Mikrosomale Prostaglandin E ₂ Synthase-1
DMF	Dimethylformamid	mPGES-2	Mikrosomale Prostaglandin E ₂ Synthase-2
DMSO	Dimethylsulfoxid	NCT	National Clinical Trial (Number) auf www.clinicaltrials.gov
ERK Kinase	Extracellular-signal regulierte Kinase	NLS	Nuclear localization sequence (dt.: Kernlokalisierungssignal)
EtOH	Ethanol	PC	Phosphatidylcholin[e]
FBS	Fetal bovine serum	Pd ₂ (dba) ₃	Tris(dibenzylidenacetone)- dipalladium (0)

PGs	Prostaglandine	SRS-A	Slow reacting substance of anaphylaxis
PKA	Proteinkinase A	TEA	Triethylamin
PMNL	Polymorphnuclear cells (dt.: polymorphkernige neutrophile Leukozyten)	TGF β	Transforming growth factor β
RT	Raumtemperatur	THF	Tetrahydrofuran
SAR	Structure-activity relationship (dt.: Struktur-Wirkungsbeziehungen)	TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
SEM	Standard Error of the mean	Xantphos	4,5-Bis(diphenylphosphino)-9,9-dimethylxanthen

7. Literaturverzeichnis

- [1] U. Schwabe, D. Paffrath, *Arzneiverordnungs-Report 2013: Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*, Imprint: Springer, Berlin, Heidelberg, **2013**.
- [2] T. Matsumoto, C.D. Funk, O. Rådmark, J.O. Höög, H. Jörnvall, B. Samuelsson, *Molecular cloning and amino acid sequence of human 5-lipoxygenase*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85 (**1988**) 26–30.
- [3] N.C. Gilbert, S.G. Bartlett, M.T. Waight, D.B. Neau, W.E. Boeglin, A.R. Brash, M.E. Newcomer, *The structure of human 5-lipoxygenase*, *Science* 331 (**2011**) 217–219.
- [4] E.A. Nalefski, J.J. Falke, *The C2 domain calcium-binding motif: structural and functional diversity*, *Protein Sci.* 5 (**1996**) 2375–2390.
- [5] S. Kulkarni, S. Das, C.D. Funk, D. Murray, W. Cho, *Molecular basis of the specific subcellular localization of the C2-like domain of 5-lipoxygenase*, *J. Biol. Chem.* 277 (**2002**) 13167–13174.
- [6] R.C. Murphy, M.A. Gijón, *Biosynthesis and metabolism of leukotrienes*, *Biochem. J.* 405 (**2007**) 379–395.
- [7] T. Hammarberg, P. Provost, B. Persson, O. Rådmark, *The N-terminal domain of 5-lipoxygenase binds calcium and mediates calcium stimulation of enzyme activity*, *J. Biol. Chem.* 275 (**2000**) 38787–38793.
- [8] J. Rizo, T.C. Südhof, *C2-domains, structure and function of a universal Ca²⁺-binding domain*, *J. Biol. Chem.* 273 (**1998**) 15879–15882.
- [9] C.A. Rouzer, B. Samuelsson, *On the nature of the 5-lipoxygenase reaction in human leukocytes: enzyme purification and requirement for multiple stimulatory factors*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82 (**1985**) 6040–6044.
- [10] P.F. Devaux, *Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes*, *Biochemistry* 30 (**1991**) 1163–1173.
- [11] D. Murray, B. Honig, *Electrostatic control of the membrane targeting of C2 domains*, *Mol. Cell* 9 (**2002**) 145–154.
- [12] C. Hörnig, D. Albert, L. Fischer, M. Hörnig, O. Rådmark, D. Steinhilber, O. Werz, *1-Oleoyl-2-acetylgllycerol stimulates 5-lipoxygenase activity via a putative (phospho)lipid binding site within the N-terminal C2-like domain*, *J. Biol. Chem.* 280 (**2005**) 26913–26921.
- [13] M. Rakonjac, L. Fischer, P. Provost, O. Werz, D. Steinhilber, B. Samuelsson, O. Rådmark, *Coactosin-like protein supports 5-lipoxygenase enzyme activity and up-regulates leukotriene A4 production*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103 (**2006**) 13150–13155.
- [14] A.H. Pande, S. Qin, S.A. Tatulian, *Membrane fluidity is a key modulator of membrane binding, insertion, and activity of 5-lipoxygenase*, *Biophys. J.* 88 (**2005**) 4084–4094.
- [15] O. Rådmark, O. Werz, D. Steinhilber, B. Samuelsson, *5-Lipoxygenase: regulation of expression and enzyme activity*, *Trends Biochem. Sci.* 32 (**2007**) 332–341.
- [16] O. Rådmark, B. Samuelsson, *5-Lipoxygenase: mechanisms of regulation*, *J. Lipid Res.* 50 Suppl (**2009**) S40-5.
- [17] E.L. Hegg, L. Que, *The 2-His-1-carboxylate facial triad--an emerging structural motif in mononuclear non-heme iron(II) enzymes*, *Eur. J. Biochem.* 250 (**1997**) 625–629.
- [18] M.D. Percival, M. Ouellet, *The characterization of 5 histidine-serine mutants of human 5-lipoxygenase*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 186 (**1992**) 1265–1270.
- [19] Y.Y. Zhang, O. Rådmark, B. Samuelsson, *Mutagenesis of some conserved residues in human 5-lipoxygenase: effects on enzyme activity*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89 (**1992**) 485–489.
- [20] Y.Y. Zhang, B. Lind, O. Rådmark, B. Samuelsson, *Iron content of human 5-lipoxygenase, effects of mutations regarding conserved histidine residues*, *J. Biol. Chem.* 268 (**1993**) 2535–2541.
- [21] H. Okamoto, T. Hammarberg, Y.-Y. Zhang, B. Persson, T. Watanabe, B. Samuelsson, O. Rådmark, *Mutation analysis of the human 5-lipoxygenase C-terminus: support for a stabilizing C-terminal loop*, *Biochim. Biophys. Acta* 1749 (**2005**) 123–131.
- [22] T. Hammarberg, S. Kuprin, O. Rådmark, A. Holmgren, *EPR investigation of the active site of recombinant human 5-lipoxygenase: inhibition by selenide*, *Biochemistry* 40 (**2001**) 6371–6378.
- [23] O. Werz, J. Klemm, B. Samuelsson, O. Rådmark, *5-lipoxygenase is phosphorylated by p38 kinase-dependent MAPKAP kinases*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97 (**2000**) 5261–5266.
- [24] O. Werz, E. Bürkert, L. Fischer, D. Szellas, D. Dishart, B. Samuelsson, O. Rådmark, D. Steinhilber, *Extracellular signal-regulated kinases phosphorylate 5-lipoxygenase and stimulate 5-lipoxygenase product formation in leukocytes*, *FASEB J.* 16 (**2002**) 1441–1443.
- [25] M. Luo, S.M. Jones, S.M. Phare, M.J. Coffey, M. Peters-Golden, T.G. Brock, *Protein kinase A inhibits leukotriene synthesis by phosphorylation of 5-lipoxygenase on serine 523*, *J. Biol. Chem.* 279 (**2004**) 41512–41520.

- [26] S.M. Jones, M. Luo, A.M. Healy, M. Peters-Golden, T.G. Brock, *Structural and functional criteria reveal a new nuclear import sequence on the 5-lipoxygenase protein*, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 38550–38556.
- [27] M. Luo, S.M. Jones, N. Flamand, D.M. Aronoff, M. Peters-Golden, T.G. Brock, *Phosphorylation by protein kinase A inhibits nuclear import of 5-lipoxygenase*, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 40609–40616.
- [28] D. Steinhilber, *5-Lipoxygenase: a target for antiinflammatory drugs revisited*, *Curr. Med. Chem.* 6 (1999) 71–85.
- [29] R. Spanbroek, R. Grabner, K. Lotzer, M. Hildner, A. Urbach, K. Ruhling, Moos, Michael P W, B. Kaiser, T.U. Cohnert, T. Wahlers, A. Zieske, G. Plenz, H. Robenek, P. Salbach, H. Kuhn, O. Radmark, B. Samuelsson, Habenicht, Andreas J R, *Expanding expression of the 5-lipoxygenase pathway within the arterial wall during human atherogenesis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (2003) 1238–1243.
- [30] O. Rådmark, B. Samuelsson, *Regulation of the activity of 5-lipoxygenase, a key enzyme in leukotriene biosynthesis*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 396 (2010) 105–110.
- [31] C.H. Lammers, P. Schweitzer, P. Fachinetti, J.M. Arrang, S.G. Madamba, G.R. Siggins, D. Piomelli, *Arachidonate 5-lipoxygenase and its activating protein: prominent hippocampal expression and role in somatostatin signaling*, *J. Neurochem.* 66 (1996) 147–152.
- [32] M. Brungs, O. Rådmark, B. Samuelsson, D. Steinhilber, *On the induction of 5-lipoxygenase expression and activity in HL-60 cells: effects of vitamin D3, retinoic acid, DMSO and TGF beta*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205 (1994) 1572–1580.
- [33] R.B. Covin, T.G. Brock, M.B. Bailie, M. Peters-Golden, *Altered expression and localization of 5-lipoxygenase accompany macrophage differentiation in the lung*, *Am. J. Physiol.* 275 (1998) L303-10.
- [34] J. Uhl, N. Klan, M. Rose, K.-D. Entian, O. Werz, D. Steinhilber, *The 5-lipoxygenase promoter is regulated by DNA methylation*, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 4374–4379.
- [35] G. Folco, R.C. Murphy, *Eicosanoid transcellular biosynthesis: from cell-cell interactions to in vivo tissue responses*, *Pharmacol. Rev.* 58 (2006) 375–388.
- [36] T.G. Brock, R.W. McNish, M.B. Bailie, M. Peters-Golden, *Rapid import of cytosolic 5-lipoxygenase into the nucleus of neutrophils after in vivo recruitment and in vitro adherence*, *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 8276–8280.
- [37] P. Provost, J. Doucet, T. Hammarberg, G. Gerisch, B. Samuelsson, O. Radmark, *5-Lipoxygenase interacts with coactosin-like protein*, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 16520–16527.
- [38] J. Esser, M. Rakonjac, B. Hofmann, L. Fischer, P. Provost, G. Schneider, D. Steinhilber, B. Samuelsson, O. Rådmark, *Coactosin-like protein functions as a stabilizing chaperone for 5-lipoxygenase: role of tryptophan 102*, *Biochem. J.* 425 (2010) 265–274.
- [39] W.J. Koopman, R.P. Orange, K.F. Austen, *Immunochemical and biologic properties of rat IgE. 3. Modulation of the IgE-mediated release of slow-reacting substance of anaphylaxis by agents influencing the level of cyclic 3',5'-adenosine monophosphate*, *J. Immunol.* 105 (1970) 1096–1102.
- [40] R.C. Murphy, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Leukotriene C: a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76 (1979) 4275–4279.
- [41] C. Brink, S.-E. Dahlén, J. Drazen, J.F. Evans, Hay, Douglas W P, S. Nicosia, C.N. Serhan, T. Shimizu, T. Yokomizo, *International Union of Pharmacology XXXVII. Nomenclature for leukotriene and lipoxin receptors*, *Pharmacol. Rev.* 55 (2003) 195–227.
- [42] O. Werz, D. Steinhilber, *Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors*, *Pharmacol. Ther.* 112 (2006) 701–718.
- [43] H.M. Sarau, R.S. Ames, J. Chambers, C. Ellis, N. Elshourbagy, J.J. Foley, D.B. Schmidt, R.M. Muccitelli, O. Jenkins, P.R. Murdock, N.C. Herrity, W. Halsey, G. Sathe, A.I. Muir, P. Nuthulaganti, G.M. Dytko, P.T. Buckley, S. Wilson, D.J. Bergsma, D.W. Hay, *Identification, molecular cloning, expression, and characterization of a cysteinyl leukotriene receptor*, *Mol. Pharmacol.* 56 (1999) 657–663.
- [44] C.E. Heise, B.F. O'Dowd, D.J. Figueroa, N. Sawyer, T. Nguyen, D.S. Im, R. Stocco, J.N. Bellefeuille, M. Abramovitz, R. Cheng, D.L. Williams, Z. Zeng, Q. Liu, L. Ma, M.K. Clements, N. Coulombe, Y. Liu, C.P. Austin, S.R. George, G.P. O'Neill, K.M. Metters, K.R. Lynch, J.F. Evans, *Characterization of the human cysteinyl leukotriene 2 receptor*, *J. Biol. Chem.* 275 (2000) 30531–30536.
- [45] S.E. Dahlén, P. Hedqvist, S. Hammarström, B. Samuelsson, *Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi*, *Nature* 288 (1980) 484–486.
- [46] S.E. Dahlén, J. Björk, P. Hedqvist, K.E. Arfors, S. Hammarström, J.A. Lindgren, B. Samuelsson, *Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: in vivo*

- effects with relevance to the acute inflammatory response, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78 (1981) 3887–3891.
- [47] J.Z. Haeggström, C.D. Funk, *Lipoxygenase and leukotriene pathways: biochemistry, biology, and roles in disease*, *Chem. Rev.* 111 (2011) 5866–5898.
- [48] P. Borgeat, B. Samuelsson, *Transformation of arachidonic acid by rabbit polymorphonuclear leukocytes. Formation of a novel dihydroxyeicosatetraenoic acid*, *J. Biol. Chem.* 254 (1979) 2643–2646.
- [49] A.M. Tager, A.D. Luster, *BLT1 and BLT2: the leukotriene B(4) receptors*, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 69 (2003) 123–134.
- [50] M. Peters-Golden, W.R. Henderson, *Leukotrienes*, *N. Engl. J. Med.* 357 (2007) 1841–1854.
- [51] A.W. Ford-Hutchinson, M.A. Bray, M.V. Doig, M.E. Shipley, M.J. Smith, *Leukotriene B₄, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes*, *Nature* 286 (1980) 264–265.
- [52] M. Kamohara, J. Takasaki, M. Matsumoto, T. Saito, T. Ohishi, H. Ishii, K. Furuichi, *Molecular cloning and characterization of another leukotriene B₄ receptor*, *J. Biol. Chem.* 275 (2000) 27000–27004.
- [53] T. Yokomizo, K. Kato, K. Terawaki, T. Izumi, T. Shimizu, *A second leukotriene B(4) receptor, BLT2. A new therapeutic target in inflammation and immunological disorders*, *J. Exp. Med.* 192 (2000) 421–432.
- [54] W. Feldberg, C.H. Kellaway, *Liberation of histamine and formation of lysocithin-like substances by cobra venom*, *J. Physiol. (Lond.)* 94 (1938) 187–226.
- [55] R.M. McMillan, *Leukotrienes in respiratory disease*, *Paediatr Respir Rev* 2 (2001) 238–244.
- [56] M. Laviolette, K. Malmstrom, S. Lu, P. Chervinsky, J.C. Pujet, I. Peszek, J. Zhang, T.F. Reiss, *Montelukast added to inhaled beclomethasone in treatment of asthma. Montelukast/Beclomethasone Additivity Group*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160 (1999) 1862–1868.
- [57] C.D. Funk, *Leukotriene modifiers as potential therapeutics for cardiovascular disease*, *Nat Rev Drug Discov* 4 (2005) 664–672.
- [58] R. de Caterina, A. Mazzone, D. Giannessi, R. Sicari, W. Pelosi, G. Lazzerini, A. Azzara, R. Forder, F. Carey, D. Caruso, *Leukotriene B₄ production in human atherosclerotic plaques*, *Biomed. Biochim. Acta* 47 (1988) S182-5.
- [59] M. Carry, V. Korley, J.T. Willerson, L. Weigelt, A.W. Ford-Hutchinson, P. Tagari, *Increased urinary leukotriene excretion in patients with cardiac ischemia. In vivo evidence for 5-lipoxygenase activation*, *Circulation* 85 (1992) 230–236.
- [60] G.P. Pidgeon, J. Lysaght, S. Krishnamoorthy, J.V. Reynolds, K. O'Byrne, D. Nie, K.V. Honn, *Lipoxygenase metabolism: roles in tumor progression and survival*, *Cancer Metastasis Rev.* 26 (2007) 503–524.
- [61] D. Wang, R.N. Dubois, *Eicosanoids and cancer*, *Nat. Rev. Cancer* 10 (2010) 181–193.
- [62] W.-G. Tong, X.-Z. Ding, M.S. Talamonti, R.H. Bell, T.E. Adrian, *LTB₄ stimulates growth of human pancreatic cancer cells via MAPK and PI-3 kinase pathways*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 335 (2005) 949–956.
- [63] A. Ihara, K. Wada, M. Yoneda, N. Fujisawa, H. Takahashi, A. Nakajima, *Blockade of leukotriene B₄ signaling pathway induces apoptosis and suppresses cell proliferation in colon cancer*, *J. Pharmacol. Sci.* 103 (2007) 24–32.
- [64] M. Matsuyama, T. Hayama, K. Funao, Y. Kawahito, H. Sano, Y. Takemoto, T. Nakatani, R. Yoshimura, *Overexpression of cysteinyl LT₁ receptor in prostate cancer and CysLT₁R antagonist inhibits prostate cancer cell growth through apoptosis*, *Oncol. Rep.* 18 (2007) 99–104.
- [65] A. Hoque, S.M. Lippman, T.-T. Wu, Y. Xu, Z.D. Liang, S. Swisher, H. Zhang, L. Cao, J.A. Ajani, X.-C. Xu, *Increased 5-lipoxygenase expression and induction of apoptosis by its inhibitors in esophageal cancer: a potential target for prevention*, *Carcinogenesis* 26 (2005) 785–791.
- [66] W.G. Jiang, A. Douglas-Jones, R.E. Mansel, *Levels of expression of lipoxygenases and cyclooxygenase-2 in human breast cancer*, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 69 (2003) 275–281.
- [67] M.E. Weinblatt, J.M. Kremer, J.S. Coblyn, S. Helfgott, A.L. Maier, G. Petrillo, B. Henson, P. Rubin, R. Sperling, *Zileuton, a 5-lipoxygenase inhibitor in rheumatoid arthritis*, *J. Rheumatol.* 19 (1992) 1537–1541.
- [68] J. Rask-Madsen, K. Bukhave, L.S. Laursen, K. Lauritsen, *5-Lipoxygenase inhibitors for the treatment of inflammatory bowel disease*, *Agents Actions Spec No* (1992) C37-46.
- [69] P.J. Jakobsson, R. Morgenstern, J. Mancini, A. Ford-Hutchinson, B. Persson, *Common structural features of MAPEG -- a widespread superfamily of membrane associated proteins with highly divergent functions in eicosanoid and glutathione metabolism*, *Protein Sci.* 8 (1999) 689–692.

- [70] C. Jegerschöld, S.-C. Pawelzik, P. Purhonen, P. Bhakat, K.R. Gheorghe, N. Gyobu, K. Mitsuoka, R. Morgenstern, P.-J. Jakobsson, H. Hebert, *Structural basis for induced formation of the inflammatory mediator prostaglandin E₂*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105 (2008) 11110–11115.
- [71] T. Sjögren, J. Nord, M. Ek, P. Johansson, G. Liu, S. Geschwindner, *Crystal structure of microsomal prostaglandin E₂ synthase provides insight into diversity in the MAPEG superfamily*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110 (2013) 3806–3811.
- [72] D. Martinez Molina, S. Eshaghi, P. Nordlund, *Catalysis within the lipid bilayer-structure and mechanism of the MAPEG family of integral membrane proteins*, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 18 (2008) 442–449.
- [73] M. Murakami, H. Naraba, T. Tanioka, N. Semmyo, Y. Nakatani, F. Kojima, T. Ikeda, M. Fueki, A. Ueno, S. Oh, I. Kudo, *Regulation of prostaglandin E₂ biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E₂ synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2*, *J. Biol. Chem.* 275 (2000) 32783–32792.
- [74] X. Huang, W. Yan, D. Gao, M. Tong, H.-H. Tai, C.-G. Zhan, *Structural and functional characterization of human microsomal prostaglandin E synthase-1 by computational modeling and site-directed mutagenesis*, *Bioorg. Med. Chem.* 14 (2006) 3553–3562.
- [75] T. Hammarberg, M. Hamberg, A. Wetterholm, H. Hansson, B. Samuelsson, J.Z. Haeggström, *Mutation of a critical arginine in microsomal prostaglandin E synthase-1 shifts the isomerase activity to a reductase activity that converts prostaglandin H₂ into prostaglandin F₂α*, *J. Biol. Chem.* 284 (2009) 301–305.
- [76] X. Ji, W.W. Johnson, M.A. Sesay, L. Dickert, S.M. Prasad, H.L. Ammon, R.N. Armstrong, G.L. Gilliland, *Structure and function of the xenobiotic substrate binding site of a glutathione S-transferase as revealed by X-ray crystallographic analysis of product complexes with the diastereomers of 9-(S-glutathionyl)-10-hydroxy-9,10-dihydrophenanthrene*, *Biochemistry* 33 (1994) 1043–1052.
- [77] Y. Li, M. Angelastro, S. Shimshock, S. Reiling, R.J. Vaz, *On the mechanism of microsomal prostaglandin E synthase type-2--a theoretical study of endoperoxide reaction with MeS(-)*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20 (2010) 338–340.
- [78] P.J. Jakobsson, S. Thorén, R. Morgenstern, B. Samuelsson, *Identification of human prostaglandin E synthase: a microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (1999) 7220–7225.
- [79] M. Ouellet, J.-P. Falguyret, P.H. Ear, A. Pen, J.A. Mancini, D. Riendeau, M.D. Percival, *Purification and characterization of recombinant microsomal prostaglandin E synthase-1*, *Protein Expr. Purif.* 26 (2002) 489–495.
- [80] L. Boulet, M. Ouellet, K.P. Bateman, D. Ethier, M.D. Percival, D. Riendeau, J.A. Mancini, N. Méthot, *Deletion of microsomal prostaglandin E₂ (PGE₂) synthase-1 reduces inducible and basal PGE₂ production and alters the gastric prostanoid profile*, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 23229–23237.
- [81] B. Samuelsson, R. Morgenstern, P.-J. Jakobsson, *Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target*, *Pharmacol. Rev.* 59 (2007) 207–224.
- [82] A. Koeberle, O. Werz, *Inhibitors of the microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 as alternative to non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)--a critical review*, *Curr. Med. Chem.* 16 (2009) 4274–4296.
- [83] H. Naraba, M. Murakami, H. Matsumoto, S. Shimbara, A. Ueno, I. Kudo, S. Oh-ishi, *Segregated coupling of phospholipases A₂, cyclooxygenases, and terminal prostanoid synthases in different phases of prostanoid biosynthesis in rat peritoneal macrophages*, *J. Immunol.* 160 (1998) 2974–2982.
- [84] S. Thorén, P.J. Jakobsson, *Coordinate up- and down-regulation of glutathione-dependent prostaglandin E synthase and cyclooxygenase-2 in A549 cells. Inhibition by NS-398 and leukotriene C₄*, *Eur. J. Biochem.* 267 (2000) 6428–6434.
- [85] T. Tanioka, Y. Nakatani, N. Semmyo, M. Murakami, I. Kudo, *Molecular identification of cytosolic prostaglandin E₂ synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate prostaglandin E₂ biosynthesis*, *J. Biol. Chem.* 275 (2000) 32775–32782.
- [86] M. Murakami, K. Nakashima, D. Kamei, S. Masuda, Y. Ishikawa, T. Ishii, Y. Ohmiya, K. Watanabe, I. Kudo, *Cellular prostaglandin E₂ production by membrane-bound prostaglandin E synthase-2 via both cyclooxygenases-1 and -2*, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 37937–37947.
- [87] C.D. Funk, *Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology*, *Science* 294 (2001) 1871–1875.
- [88] D.L. Simmons, R.M. Botting, T. Hla, *Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition*, *Pharmacol. Rev.* 56 (2004) 387–437.

- [89] Y. Ren, C. Walker, D.S. Loose-Mitchell, J. Deng, K.H. Ruan, R.J. Kulmacz, *Topology of prostaglandin H synthase-1 in the endoplasmic reticulum membrane*, *Arch. Biochem. Biophys.* 323 (1995) 205–214.
- [90] I. Morita, M. Schindler, M.K. Regier, J.C. Otto, T. Hori, D.L. DeWitt, W.L. Smith, *Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2*, *J. Biol. Chem.* 270 (1995) 10902–10908.
- [91] R.G. Kurumbail, A.M. Stevens, J.K. Gierse, J.J. McDonald, R.A. Stegeman, J.Y. Pak, D. Gildehaus, J.M. Miyashiro, T.D. Penning, K. Seibert, P.C. Isakson, W.C. Stallings, *Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents*, *Nature* 384 (1996) 644–648.
- [92] J.R. Vane, Y.S. Bakhle, R.M. Botting, *Cyclooxygenases 1 and 2*, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 38 (1998) 97–120.
- [93] W.L. Smith, *The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action*, *Biochem. J.* 259 (1989) 315–324.
- [94] E. Mutschler, *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie mit einführenden Kapiteln in die Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie*; 272 Tabellen, 8th ed., Wiss. Verl.-Ges, Stuttgart, 2001.
- [95] S.H. Ferreira, M. Nakamura, de Abreu Castro, M S, *The hyperalgesic effects of prostacyclin and prostaglandin E2*, *Prostaglandins* 16 (1978) 31–37.
- [96] T. Minami, H. Nakano, T. Kobayashi, Y. Sugimoto, F. Ushikubi, A. Ichikawa, S. Narumiya, S. Ito, *Characterization of EP receptor subtypes responsible for prostaglandin E2-induced pain responses by use of EP1 and EP3 receptor knockout mice*, *Br. J. Pharmacol.* 133 (2001) 438–444.
- [97] Y. Nakayama, K. Omote, A. Namiki, *Role of prostaglandin receptor EP1 in the spinal dorsal horn in carrageenan-induced inflammatory pain*, *Anesthesiology* 97 (2002) 1254–1262.
- [98] M.S. Gold, G.F. Gebhart, *Nociceptor sensitization in pain pathogenesis*, *Nat. Med.* 16 (2010) 1248–1257.
- [99] F. Ushikubi, E. Segi, Y. Sugimoto, T. Murata, T. Matsuoka, T. Kobayashi, H. Hizaki, K. Tuboi, M. Katsuyama, A. Ichikawa, T. Tanaka, N. Yoshida, S. Narumiya, *Impaired febrile response in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP3*, *Nature* 395 (1998) 281–284.
- [100] A.N. Hata, R.M. Breyer, *Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation*, *Pharmacol. Ther.* 103 (2004) 147–166.
- [101] Y. Sugimoto, S. Narumiya, *Prostaglandin E receptors*, *J. Biol. Chem.* 282 (2007) 11613–11617.
- [102] K.D. Rainsford, *Anti-inflammatory drugs in the 21st century*, *Subcell. Biochem.* 42 (2007) 3–27.
- [103] M. Abdel-Tawab, H. Zettl, M. Schubert-Zsilavecz, *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a critical review on current concepts applied to reduce gastrointestinal toxicity*, *Curr. Med. Chem.* 16 (2009) 2042–2063.
- [104] F. Buttgerit, G.R. Burmester, L.S. Simon, *Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2-specific inhibitors*, *Am. J. Med.* 110 Suppl 3A (2001) 13S-9S.
- [105] H.F. Cheng, R.C. Harris, *Renal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective cyclooxygenase-2 inhibitors*, *Curr. Pharm. Des.* 11 (2005) 1795–1804.
- [106] P. McGettigan, D. Henry, *Cardiovascular risk and inhibition of cyclooxygenase: a systematic review of the observational studies of selective and nonselective inhibitors of cyclooxygenase 2*, *JAMA* 296 (2006) 1633–1644.
- [107] C.E. Trebino, J.L. Stock, C.P. Gibbons, B.M. Naiman, T.S. Wachtmann, J.P. Umland, K. Pandher, J.-M. Lapointe, S. Saha, M.L. Roach, D. Carter, N.A. Thomas, B.A. Durtschi, J.D. McNeish, J.E. Hambor, P.-J. Jakobsson, T.J. Carty, J.R. Perez, L.P. Audoly, *Impaired inflammatory and pain responses in mice lacking an inducible prostaglandin E synthase*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (2003) 9044–9049.
- [108] D. Kamei, K. Yamakawa, Y. Takegoshi, M. Mikami-Nakanishi, Y. Nakatani, S. Oh-Ishi, H. Yasui, Y. Azuma, N. Hirasawa, K. Ohuchi, H. Kawaguchi, Y. Ishikawa, T. Ishii, S. Uematsu, S. Akira, M. Murakami, I. Kudo, *Reduced pain hypersensitivity and inflammation in mice lacking microsomal prostaglandin synthase-1*, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 33684–33695.
- [109] F. Kojima, M. Kapoor, L. Yang, E.L. Fleishaker, M.R. Ward, S.U. Monrad, P.C. Kottangada, C.Q. Pace, J.A. Clark, J.G. Woodward, L.J. Crofford, *Defective generation of a humoral immune response is associated with a reduced incidence and severity of collagen-induced arthritis in microsomal prostaglandin synthase-1 null mice*, *J. Immunol.* 180 (2008) 8361–8368.
- [110] T. Mabuchi, H. Kojima, T. Abe, K. Takagi, M. Sakurai, Y. Ohmiya, S. Uematsu, S. Akira, K. Watanabe, S. Ito, *Membrane-associated prostaglandin synthase-1 is required for neuropathic pain*, *Neuroreport* 15 (2004) 1395–1398.

- [111] C. Brenneis, O. Coste, R. Schmidt, C. Angioni, L. Popp, R.M. Nusing, W. Becker, K. Scholich, G. Geisslinger, *Consequences of altered eicosanoid patterns for nociceptive processing in mPGES-1-deficient mice*, *J. Cell. Mol. Med.* 12 (2008) 639–648.
- [112] M. Westman, M. Korotkova, E. af Klint, A. Stark, L.P. Audoly, L. Klareskog, A.-K. Ulfgren, P.-J. Jakobsson, *Expression of microsomal prostaglandin E synthase 1 in rheumatoid arthritis synovium*, *Arthritis Rheum.* 50 (2004) 1774–1780.
- [113] F. Kojima, H. Naraba, S. Miyamoto, M. Beppu, H. Aoki, S. Kawai, *Membrane-associated prostaglandin E synthase-1 is upregulated by proinflammatory cytokines in chondrocytes from patients with osteoarthritis*, *Arthritis Res. Ther.* 6 (2004) R355-65.
- [114] K. Masuko-Hongo, F. Berenbaum, L. Humbert, C. Salvat, M.B. Goldring, S. Thirion, *Up-regulation of microsomal prostaglandin E synthase 1 in osteoarthritic human cartilage: critical roles of the ERK-1/2 and p38 signaling pathways*, *Arthritis Rheum.* 50 (2004) 2829–2838.
- [115] X. Li, H. Afif, S. Cheng, J. Martel-Pelletier, J.-P. Pelletier, P. Ranger, H. Fahmi, *Expression and regulation of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human osteoarthritic cartilage and chondrocytes*, *J. Rheumatol.* 32 (2005) 887–895.
- [116] M. Korotkova, M. Westman, K.R. Gheorghe, E. af Klint, C. Trollmo, A.K. Ulfgren, L. Klareskog, P.-J. Jakobsson, *Effects of antirheumatic treatments on the prostaglandin E2 biosynthetic pathway*, *Arthritis Rheum.* 52 (2005) 3439–3447.
- [117] V. Câmpean, F. Theilig, A. Paliege, M. Breyer, S. Bachmann, *Key enzymes for renal prostaglandin synthesis: site-specific expression in rodent kidney (rat, mouse)*, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 285 (2003) F19-32.
- [118] A.L. Fuson, P. Komlosi, T.M. Unlap, P.D. Bell, J. Peti-Peterdi, *Immunolocalization of a microsomal prostaglandin E synthase in rabbit kidney*, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 285 (2003) F558-64.
- [119] Z. Jia, X. Guo, H. Zhang, M.-H. Wang, Z. Dong, T. Yang, *Microsomal prostaglandin synthase-1-derived prostaglandin E2 protects against angiotensin II-induced hypertension via inhibition of oxidative stress*, *Hypertension* 52 (2008) 952–959.
- [120] Y. Cheng, M. Wang, Y. Yu, J. Lawson, C.D. Funk, G.A. Fitzgerald, *Cyclooxygenases, microsomal prostaglandin E synthase-1, and cardiovascular function*, *J. Clin. Invest.* 116 (2006) 1391–1399.
- [121] Z. Jia, A. Zhang, H. Zhang, Z. Dong, T. Yang, *Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 increases sensitivity to salt loading and angiotensin II infusion*, *Circ. Res.* 99 (2006) 1243–1251.
- [122] M. Wang, A.M. Zukas, Y. Hui, E. Ricciotti, E. Puré, G.A. Fitzgerald, *Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 augments prostacyclin and retards atherogenesis*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103 (2006) 14507–14512.
- [123] Y. Ikeda-Matsuo, A. Ota, T. Fukada, S. Uematsu, S. Akira, Y. Sasaki, *Microsomal prostaglandin E synthase-1 is a critical factor of stroke-reperfusion injury*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103 (2006) 11790–11795.
- [124] L.J. Marnett, *Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer*, *Cancer Res.* 52 (1992) 5575–5589.
- [125] P.M. Rothwell, J.F. Price, Fowkes, F. Gerald R, A. Zanchetti, M.C. Roncaglioni, G. Tognoni, R. Lee, Belch, Jill F F, M. Wilson, Z. Mehta, T.W. Meade, *Short-term effects of daily aspirin on cancer incidence, mortality, and non-vascular death: analysis of the time course of risks and benefits in 51 randomised controlled trials*, *Lancet* 379 (2012) 1602–1612.
- [126] T.T. Jung, N.T. Berlinger, S.K. Juhn, *Prostaglandins in squamous cell carcinoma of the head and neck: a preliminary study*, *Laryngoscope* 95 (1985) 307–312.
- [127] A. LeFever, A. Funahashi, *Elevated prostaglandin E2 levels in bronchoalveolar lavage fluid of patients with bronchogenic carcinoma*, *Chest* 98 (1990) 1397–1402.
- [128] B. Rigas, I.S. Goldman, L. Levine, *Altered eicosanoid levels in human colon cancer*, *J. Lab. Clin. Med.* 122 (1993) 518–523.
- [129] D. Wang, R.N. Dubois, *Cyclooxygenase-2: a potential target in breast cancer*, *Semin. Oncol.* 31 (2004) 64–73.
- [130] O.J. Plescia, A.H. Smith, K. Grinwich, *Subversion of immune system by tumor cells and role of prostaglandins*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72 (1975) 1848–1851.
- [131] K. Yoshimatsu, N.K. Altorki, D. Golijanin, F. Zhang, P.J. Jakobsson, A.J. Dannenberg, K. Subbaramaiah, *Inducible prostaglandin E synthase is overexpressed in non-small cell lung cancer*, *Clin. Cancer Res.* 7 (2001) 2669–2674.
- [132] K. Yoshimatsu, D. Golijanin, P.B. Paty, R.A. Soslow, P.J. Jakobsson, R.A. DeLellis, K. Subbaramaiah, A.J. Dannenberg, *Inducible microsomal prostaglandin E synthase is overexpressed in colorectal adenomas and cancer*, *Clin. Cancer Res.* 7 (2001) 3971–3976.

- [133] C. Pergola, O. Werz, *5-Lipoxygenase inhibitors: a review of recent developments and patents*, *Expert Opin Ther Pat* 20 (2010) 355–375.
- [134] R.M. McMillan, E.R. Walker, *Designing therapeutically effective 5-lipoxygenase inhibitors*, *Trends Pharmacol. Sci.* 13 (1992) 323–330.
- [135] A.W. Ford-Hutchinson, M. Gresser, R.N. Young, *5-Lipoxygenase*, *Annu. Rev. Biochem.* 63 (1994) 383–417.
- [136] J.E. Tateson, R.W. Randall, C.H. Reynolds, W.P. Jackson, P. Bhattacharjee, J.A. Salmon, L.G. Garland, *Selective inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase by novel acetohydroxamic acids: biochemical assessment in vitro and ex vivo*, *Br. J. Pharmacol.* 94 (1988) 528–539.
- [137] G.W. Carter, P.R. Young, D.H. Albert, J. Bouska, R. Dyer, R.L. Bell, J.B. Summers, D.W. Brooks, *5-lipoxygenase inhibitory activity of zileuton*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 256 (1991) 929–937.
- [138] E.M. Joshi, B.H. Heasley, T.L. Macdonald, *2-ABT-S-oxide detoxification by glutathione S-transferases A1-1, M1-1 and P1-1: implications for toxicity associated with zileuton*, *Xenobiotica* 39 (2009) 197–204.
- [139] R.A. Braeckman, G.R. Granneman, C.S. Locke, J.M. Machinist, J.H. Cavannaugh, W.M. Awni, *The pharmacokinetics of zileuton in healthy young and elderly volunteers*, *Clin Pharmacokinet* 29 Suppl 2 (1995) 42–48.
- [140] D. Steinhilber, B. Hofmann, *Recent advances in the search for novel 5-lipoxygenase inhibitors*, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 114 (2014) 70–77.
- [141] C.D. Brooks, A.O. Stewart, A. Basha, P. Bhatia, J.D. Ratajczyk, J.G. Martin, R.A. Craig, T. Kolasa, J.B. Bouska, C. Lanni, *(R)-(+)-N-[3-[5-[(4-fluorophenyl)methyl]-2-thienyl]-1-methyl-2-propynyl]-N-hydroxyurea (ABT-761), a second-generation 5-lipoxygenase inhibitor*, *J. Med. Chem.* 38 (1995) 4768–4775.
- [142] S.L. Wong, J. Drajesk, M.S. Chang, G. Witt, W.M. Awni, *Dose-proportional pharmacokinetics of a new 5-lipoxygenase inhibitor, ABT-761, in healthy volunteers*, *Biopharm Drug Dispos* 19 (1998) 159–162.
- [143] J.-C. Tardif, P.L. L'allier, R. Ibrahim, J.C. Grégoire, A. Nozza, M. Cossette, S. Kouz, M.-A. Lavoie, J. Paquin, T.M. Brotz, R. Taub, J. Pressacco, *Treatment with 5-lipoxygenase inhibitor VIA-2291 (Atreleuton) in patients with recent acute coronary syndrome*, *Circ Cardiovasc Imaging* 3 (2010) 298–307.
- [144] S.M. Nasser, G.S. Bell, R.J. Hawksworth, K.E. Spruce, R. MacMillan, A.J. Williams, T.H. Lee, J.P. Arm, *Effect of the 5-lipoxygenase inhibitor ZD2138 on allergen-induced early and late asthmatic responses*, *Thorax* 49 (1994) 743–748.
- [145] O. Werz, D. Szellas, M. Henseler, D. Steinhilber, *Nonredox 5-lipoxygenase inhibitors require glutathione peroxidase for efficient inhibition of 5-lipoxygenase activity*, *Mol. Pharmacol.* 54 (1998) 445–451.
- [146] L. Fischer, D. Szellas, O. Rådmark, D. Steinhilber, O. Werz, *Phosphorylation- and stimulus-dependent inhibition of cellular 5-lipoxygenase activity by nonredox-type inhibitors*, *FASEB J.* 17 (2003) 949–951.
- [147] J.A. Bernstein, N. Liu, B.A. Knorr, S.S. Smugar, W.D. Hanley, T.F. Reiss, S. Greenberg, *MK-0633, a potent 5-lipoxygenase inhibitor, in chronic obstructive pulmonary disease*, *Respir Med* 105 (2011) 392–401.
- [148] Y.S. Wasfi, C. Villarán, de Tillegem, Celine Le Bailly, S.S. Smugar, W.D. Hanley, T.F. Reiss, B.A. Knorr, *The efficacy and tolerability of MK-0633, a 5-lipoxygenase inhibitor, in chronic asthma*, *Respir Med* 106 (2012) 34–46.
- [149] H. Safayhi, T. Mack, J. Sabieraj, M.I. Anazodo, L.R. Subramanian, H.P. Ammon, *Boswellic acids: novel, specific, nonredox inhibitors of 5-lipoxygenase*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 261 (1992) 1143–1146.
- [150] D. Poeckel, O. Werz, *Boswellic acids: biological actions and molecular targets*, *Curr. Med. Chem.* 13 (2006) 3359–3369.
- [151] U. Siemoneit, C. Pergola, B. Jazzar, H. Northoff, C. Skarke, J. Jauch, O. Werz, *On the interference of boswellic acids with 5-lipoxygenase: mechanistic studies in vitro and pharmacological relevance*, *Eur. J. Pharmacol.* 606 (2009) 246–254.
- [152] D. Albert, I. Zündorf, T. Dingermann, W.E. Müller, D. Steinhilber, O. Werz, *Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase*, *Biochem. Pharmacol.* 64 (2002) 1767–1775.
- [153] C. Feisst, C. Pergola, M. Rakonjac, A. Rossi, A. Koeberle, G. Dodt, M. Hoffmann, C. Hoernig, L. Fischer, D. Steinhilber, L. Franke, G. Schneider, O. Rådmark, L. Sautebin, O. Werz, *Hyperforin is a novel type of 5-lipoxygenase inhibitor with high efficacy in vivo*, *Cell. Mol. Life Sci.* 66 (2009) 2759–2771.
- [154] O. Werz, *Inhibition of 5-lipoxygenase product synthesis by natural compounds of plant origin*, *Planta Med.* 73 (2007) 1331–1357.

- [155] Y. Koshihara, T. Neichi, S. Murota, A. Lao, Y. Fujimoto, T. Tatsuno, *Selective inhibition of 5-lipoxygenase by natural compounds isolated from Chinese plants, Artemisia rubripes Nakai*, *FEBS Lett.* 158 (1983) 41–44.
- [156] Y. Koshihara, T. Neichi, S. Murota, A. Lao, Y. Fujimoto, T. Tatsuno, *Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis*, *Biochim. Biophys. Acta* 792 (1984) 92–97.
- [157] T. Yoshimoto, C. Yokoyama, K. Ochi, S. Yamamoto, Y. Maki, Y. Ashida, S. Terao, M. Shiraishi, *2,3,5-Trimethyl-6-(12-hydroxy-5,10-dodecadienyl)-1,4-benzoquinone (AA861), a selective inhibitor of the 5-lipoxygenase reaction and the biosynthesis of slow-reacting substance of anaphylaxis*, *Biochim. Biophys. Acta* 713 (1982) 470–473.
- [158] G.C. Crawley, R.I. Dowell, P.N. Edwards, S.J. Foster, R.M. McMillan, E.R. Walker, D. Waterson, T.G. Bird, P. Bruneau, J.M. Giroaean, *Methoxytetrahydropyrans. A new series of selective and orally potent 5-lipoxygenase inhibitors*, *J. Med. Chem.* 35 (1992) 2600–2609.
- [159] R.M. McMillan, K.E. Spruce, G.C. Crawley, E.R. Walker, S.J. Foster, *Pre-clinical pharmacology of ICI D2138, a potent orally-active non-redox inhibitor of 5-lipoxygenase*, *Br. J. Pharmacol.* 107 (1992) 1042–1047.
- [160] L. Fischer, D. Steinhilber, O. Werz, *Molecular pharmacological profile of the nonredox-type 5-lipoxygenase inhibitor CJ-13,610*, *Br. J. Pharmacol.* 142 (2004) 861–868.
- [161] T. Mano, R.W. Stevens, Y. Okumura, M. Kawai, T. Okumura, M. Sakakibara, *5-Lipoxygenase inhibitors: convenient synthesis of 4-[3-(4-heterocyclylphenylthio)phenyl]-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-4-carboxamide analogues*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15 (2005) 2611–2615.
- [162] Y. Ducharme, M. Blouin, C. Brideau, A. Châteauneuf, Y. Gareau, E.L. Grimm, H. Juteau, S. Laliberté, B. MacKay, F. Massé, M. Ouellet, M. Salem, A. Styhler, R.W. Friesen, *The Discovery of Setileuton, a Potent and Selective 5-Lipoxygenase Inhibitor*, *ACS Med. Chem. Lett.* 1 (2010) 170–174.
- [163] E.R. Sailer, S. Schweizer, S.E. Boden, H.P. Ammon, H. Safayhi, *Characterization of an acetyl-11-keto-beta-boswellic acid and arachidonate-binding regulatory site of 5-lipoxygenase using photoaffinity labeling*, *Eur. J. Biochem.* 256 (1998) 364–368.
- [164] H.-H. Chang, E.J. Meillet, *Identification and development of mPGES-1 inhibitors: where we are at?*, *Future Med Chem* 3 (2011) 1909–1934.
- [165] M. Korotkova, P.-J. Jakobsson, *Characterization of microsomal prostaglandin E synthase 1 inhibitors*, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 114 (2014) 64–69.
- [166] I. Wobst, S. Schiffmann, K. Birod, T.J. Maier, R. Schmidt, C. Angioni, G. Geisslinger, S. Grösch, *Dimethylcelecoxib inhibits prostaglandin E2 production*, *Biochem. Pharmacol.* 76 (2008) 62–69.
- [167] M. Elkady, R. Nieß, A.M. Schaible, J. Bauer, S. Luderer, G. Ambrosi, O. Werz, S.A. Laufer, *Modified acidic nonsteroidal anti-inflammatory drugs as dual inhibitors of mPGES-1 and 5-LOX*, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 8958–8962.
- [168] J. Gillard, A.W. Ford-Hutchinson, C. Chan, S. Charleson, D. Denis, A. Foster, R. Fortin, S. Leger, C.S. McFarlane, H. Morton, *L-663,536 (MK-886) (3-[1-(4-chlorobenzyl)-3-t-butyl-thio-5-isopropylindol-2-yl]-2,2 - dimethylpropanoic acid), a novel, orally active leukotriene biosynthesis inhibitor*, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 67 (1989) 456–464.
- [169] J.A. Mancini, M. Abramovitz, M.E. Cox, E. Wong, S. Charleson, H. Perrier, Z. Wang, P. Prasit, P.J. Vickers, *5-lipoxygenase-activating protein is an arachidonate binding protein*, *FEBS Lett.* 318 (1993) 277–281.
- [170] J.A. Mancini, K. Blood, J. Guay, R. Gordon, D. Claveau, C.C. Chan, D. Riendeau, *Cloning, expression, and up-regulation of inducible rat prostaglandin e synthase during lipopolysaccharide-induced pyresis and adjuvant-induced arthritis*, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 4469–4475.
- [171] D. Riendeau, R. Aspiotis, D. Ethier, Y. Gareau, E.L. Grimm, J. Guay, S. Guiral, H. Juteau, J.A. Mancini, N. Méthot, J. Rubin, R.W. Friesen, *Inhibitors of the inducible microsomal prostaglandin E2 synthase (mPGES-1) derived from MK-886*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15 (2005) 3352–3355.
- [172] J. Wang, D. Limburg, J. Carter, G. Mbalaviele, J. Gierse, M. Vazquez, *Selective inducible microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 (mPGES-1) inhibitors derived from an oxycam template*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20 (2010) 1604–1609.
- [173] G. Mbalaviele, A.M. Pauley, A.F. Shaffer, B.S. Zweifel, S. Mathialagan, S.J. Mnich, O.V. Nemirovskiy, J. Carter, J.K. Gierse, J.L. Wang, M.L. Vazquez, W.M. Moore, J.L. Masferrer, *Distinction of microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) inhibition from cyclooxygenase-2 inhibition in cells using a novel, selective mPGES-1 inhibitor*, *Biochem. Pharmacol.* 79 (2010) 1445–1454.
- [174] F. Massé, S. Guiral, L.-J. Fortin, E. Cauchon, D. Ethier, J. Guay, C. Brideau, *An automated multistep high-throughput screening assay for the identification of lead inhibitors of the inducible enzyme mPGES-1*, *J Biomol Screen* 10 (2005) 599–605.

- [175] B. Côté, L. Boulet, C. Brideau, D. Claveau, D. Ethier, R. Frenette, M. Gagnon, A. Giroux, J. Guay, S. Guiral, J. Mancini, E. Martins, F. Massé, N. Méthot, D. Riendeau, J. Rubin, D. Xu, H. Yu, Y. Ducharme, R.W. Friesen, *Substituted phenanthrene imidazoles as potent, selective, and orally active mPGES-1 inhibitors*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 6816–6820.
- [176] S.-C. Pawelzik, N.R. Uda, L. Spahiu, C. Jegerschöld, P. Stenberg, H. Hebert, R. Morgenstern, P.-J. Jakobsson, *Identification of key residues determining species differences in inhibitor binding of microsomal prostaglandin E synthase-1*, *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 29254–29261.
- [177] D. Xu, S.E. Rowland, P. Clark, A. Giroux, B. Côté, S. Guiral, M. Salem, Y. Ducharme, R.W. Friesen, N. Méthot, J. Mancini, L. Audoly, D. Riendeau, *MF63 [2-(6-chloro-1H-phenanthro[9,10-d]imidazol-2-yl)-isophthalonitrile], a selective microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitor, relieves pyresis and pain in preclinical models of inflammation*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 326 (2008) 754–763.
- [178] A. Giroux, L. Boulet, C. Brideau, A. Chau, D. Claveau, B. Côté, D. Ethier, R. Frenette, M. Gagnon, J. Guay, S. Guiral, J. Mancini, E. Martins, F. Massé, N. Méthot, D. Riendeau, J. Rubin, D. Xu, H. Yu, Y. Ducharme, R.W. Friesen, *Discovery of disubstituted phenanthrene imidazoles as potent, selective and orally active mPGES-1 inhibitors*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 5837–5841.
- [179] Wu, Tom Y H, H. Juteau, Y. Ducharme, R.W. Friesen, S. Guiral, L. Dufresne, H. Poirier, M. Salem, D. Riendeau, J. Mancini, C. Brideau, *Biarylimidazoles as inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20 (2010) 6978–6982.
- [180] J.-F. Chiasson, L. Boulet, C. Brideau, A. Chau, D. Claveau, B. Côté, D. Ethier, A. Giroux, J. Guay, S. Guiral, J. Mancini, F. Massé, N. Méthot, D. Riendeau, P. Roy, J. Rubin, D. Xu, H. Yu, Y. Ducharme, R.W. Friesen, *Trisubstituted ureas as potent and selective mPGES-1 inhibitors*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21 (2011) 1488–1492.
- [181] F. Rörsch, I. Wobst, H. Zettl, M. Schubert-Zsilavecz, S. Grösch, G. Geisslinger, G. Schneider, E. Proschak, *Nonacidic inhibitors of human microsomal prostaglandin synthase 1 (mPGES 1) identified by a multistep virtual screening protocol*, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 911–915.
- [182] F. Rörsch, E. Buscató, K. Deckmann, G. Schneider, M. Schubert-Zsilavecz, G. Geisslinger, E. Proschak, S. Grösch, *Structure-activity relationship of nonacidic quinazolinone inhibitors of human microsomal prostaglandin synthase 1 (mPGES 1)*, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 3792–3803.
- [183] O. Grenet, *Significance of the human genome sequence to drug discovery*, *Pharmacogenomics J.* 1 (2001) 11–12.
- [184] D.A. Pereira, J.A. Williams, *Origin and evolution of high throughput screening*, *Br. J. Pharmacol.* 152 (2007) 53–61.
- [185] I. Kola, J. Landis, *Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?*, *Nat Rev Drug Discov* 3 (2004) 711–715.
- [186] A.L. Hopkins, *Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery*, *Nat. Chem. Biol.* 4 (2008) 682–690.
- [187] R. Morphy, C. Kay, Z. Rankovic, *From magic bullets to designed multiple ligands*, *Drug Discov. Today* 9 (2004) 641–651.
- [188] R. Morphy, Z. Rankovic, *Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm*, *J. Med. Chem.* 48 (2005) 6523–6543.
- [189] C.T. Keith, A.A. Borisy, B.R. Stockwell, *Multicomponent therapeutics for networked systems*, *Nat Rev Drug Discov* 4 (2005) 71–78.
- [190] J. Lötsch, G. Geisslinger, *Low-dose drug combinations along molecular pathways could maximize therapeutic effectiveness while minimizing collateral adverse effects*, *Drug Discov. Today* 16 (2011) 1001–1006.
- [191] C. He, Y. Wu, Y. Lai, Z. Cai, Y. Liu, L. Lai, *Dynamic eicosanoid responses upon different inhibitor and combination treatments on the arachidonic acid metabolic network*, *Mol Biosyst* 8 (2012) 1585–1594.
- [192] K. Meirer, D. Steinhilber, E. Proschak, *Inhibitors of the arachidonic acid cascade: interfering with multiple pathways*, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 114 (2014) 83–91.
- [193] A. Bertolini, A. Ottani, M. Sandrini, *Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal*, *Pharmacol. Res.* 44 (2001) 437–450.
- [194] S. Fiorucci, R. Meli, M. Bucci, G. Cirino, *Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy?*, *Biochem. Pharmacol.* 62 (2001) 1433–1438.
- [195] A. Bertolini, A. Ottani, M. Sandrini, *Selective COX-2 inhibitors and dual acting anti-inflammatory drugs: critical remarks*, *Curr. Med. Chem.* 9 (2002) 1033–1043.
- [196] S. Leone, A. Ottani, A. Bertolini, *Dual acting anti-inflammatory drugs*, *Curr Top Med Chem* 7 (2007) 265–275.

- [197] C.L. Nickerson-Nutter, E.D. Medvedeff, *The effect of leukotriene synthesis inhibitors in models of acute and chronic inflammation*, *Arthritis Rheum.* 39 (1996) 515–521.
- [198] G.D. Anderson, K.L. Keys, De Ciechi, P A, J.L. Masferrer, *Combination therapies that inhibit cyclooxygenase-2 and leukotriene synthesis prevent disease in murine collagen induced arthritis*, *Inflamm. Res.* 58 (2009) 109–117.
- [199] T. Kirchner, B. Aparicio, D.C. Argentieri, C.Y. Lau, D.M. Ritchie, *Effects of tepoxalin, a dual inhibitor of cyclooxygenase/5-lipoxygenase, on events associated with NSAID-induced gastrointestinal inflammation*, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 56 (1997) 417–423.
- [200] F. Celotti, S. Laufer, *Anti-inflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept*, *Pharmacol. Res.* 43 (2001) 429–436.
- [201] O. Rådmark, B. Samuelsson, *Microsomal prostaglandin E synthase-1 and 5-lipoxygenase: potential drug targets in cancer*, *J. Intern. Med.* 268 (2010) 5–14.
- [202] A. Koeberle, U. Siemoneit, U. Bühring, H. Northoff, S. Laufer, W. Albrecht, O. Werz, *Licofelone suppresses prostaglandin E2 formation by interference with the inducible microsomal prostaglandin E2 synthase-1*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 326 (2008) 975–982.
- [203] L. Fischer, M. Hornig, C. Pergola, N. Meindl, L. Franke, Y. Tanrikulu, G. Dodt, G. Schneider, D. Steinhilber, O. Werz, *The molecular mechanism of the inhibition by licofelone of the biosynthesis of 5-lipoxygenase products*, *Br. J. Pharmacol.* 152 (2007) 471–480.
- [204] A.J. Liedtke, Keck, Peter R W E F, F. Lehmann, A. Koeberle, O. Werz, S.A. Laufer, *Arylpyrrolizines as inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 (mPGES-1) or as dual inhibitors of mPGES-1 and 5-lipoxygenase (5-LOX)*, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 4968–4972.
- [205] J. Landwehr, S. George, E.-M. Karg, D. Poeckel, D. Steinhilber, R. Troschuetz, O. Werz, *Design and synthesis of novel 2-amino-5-hydroxyindole derivatives that inhibit human 5-lipoxygenase*, *J. Med. Chem.* 49 (2006) 4327–4332.
- [206] E.-M. Karg, S. Luderer, C. Pergola, U. Bühring, A. Rossi, H. Northoff, L. Sautebin, R. Troschütz, O. Werz, *Structural optimization and biological evaluation of 2-substituted 5-hydroxyindole-3-carboxylates as potent inhibitors of human 5-lipoxygenase*, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 3474–3483.
- [207] A. Koeberle, E.-M. Haberl, A. Rossi, C. Pergola, F. Dehm, H. Northoff, R. Troschuetz, L. Sautebin, O. Werz, *Discovery of benzo[g]indol-3-carboxylates as potent inhibitors of microsomal prostaglandin E(2) synthase-1*, *Bioorg. Med. Chem.* 17 (2009) 7924–7932.
- [208] R. de Simone, M.G. Chini, I. Bruno, R. Riccio, D. Mueller, O. Werz, G. Bifulco, *Structure-based discovery of inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1, 5-lipoxygenase and 5-lipoxygenase-activating protein: promising hits for the development of new anti-inflammatory agents*, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 1565–1575.
- [209] M.G. Chini, R. de Simone, I. Bruno, R. Riccio, F. Dehm, C. Weinigel, D. Barz, O. Werz, G. Bifulco, *Design and synthesis of a second series of triazole-based compounds as potent dual mPGES-1 and 5-lipoxygenase inhibitors*, *Eur J Med Chem* 54 (2012) 311–323.
- [210] H. Zettl, R. Steri, M. Lämmerhofer, M. Schubert-Zsilavecz, *Discovery of a novel class of 2-mercaptohexanoic acid derivatives as highly active PPAR α agonists*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19 (2009) 4421–4426.
- [211] C. Greiner, H. Zettl, A. Koeberle, C. Pergola, H. Northoff, M. Schubert-Zsilavecz, O. Werz, *Identification of 2-mercaptohexanoic acids as dual inhibitors of 5-lipoxygenase and microsomal prostaglandin E₂ synthase-1*, *Bioorg. Med. Chem.* 19 (2011) 3394–3401.
- [212] A.A. Santilli, A.C. Scotese, R.M. Tomarelli, *A potent antihypercholesterolemic agent: (4-chloro-6-(2,3-xylylidino)-2-pyrimidinylthio) acetic acid (Wy-14643)*, *Experientia* 30 (1974) 1110–1111.
- [213] P. Zahradka, *Cardiovascular actions of the peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α) agonist Wy14,643*, *Cardiovasc Drug Rev* 25 (2007) 99–122.
- [214] O. Rau, Y. Syha, H. Zettl, M. Kock, A. Bock, M. Schubert-Zsilavecz, *Alpha-alkyl substituted pirinixic acid derivatives as potent dual agonists of the peroxisome proliferator activated receptor alpha and gamma*, *Arch. Pharm. (Weinheim)* 341 (2008) 191–195.
- [215] O. Werz, C. Greiner, A. Koeberle, C. Hoernig, S. George, L. Popescu, I. Syha, M. Schubert-Zsilavecz, D. Steinhilber, *Novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase product synthesis based on the structure of pirinixic acid*, *J. Med. Chem.* 51 (2008) 5449–5453.
- [216] A. Koeberle, H. Zettl, C. Greiner, M. Wurglics, M. Schubert-Zsilavecz, O. Werz, *Pirinixic acid derivatives as novel dual inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase*, *J. Med. Chem.* 51 (2008) 8068–8076.
- [217] M. Hieke, C. Greiner, M. Dittrich, F. Reisen, G. Schneider, M. Schubert-Zsilavecz, O. Werz, *Discovery and biological evaluation of a novel class of dual microsomal prostaglandin E2 synthase-1/5-lipoxygenase inhibitors based on 2-[(4,6-diphenethoxy)pyrimidin-2-yl]thio]hexanoic acid*, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 4490–4507.

- [218] M. Hieke, C. Greiner, T.M. Thieme, M. Schubert-Zsilavec, O. Werz, H. Zettl, *A novel class of dual mPGES-1/5-LO inhibitors based on the α -naphthyl pirinixic acid scaffold*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21 (2011) 1329–1333.
- [219] A. Koeberle, A. Rossi, H. Zettl, C. Pergola, F. Dehm, J. Bauer, C. Greiner, S. Reckel, C. Hoernig, H. Northoff, F. Bernhard, V. Dötsch, L. Sautebin, M. Schubert-Zsilavec, O. Werz, *The molecular pharmacology and in vivo activity of 2-(4-chloro-6-(2,3-dimethylphenylamino)pyrimidin-2-ylthio)octanoic acid (YS121), a dual inhibitor of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 332 (2010) 840–848.
- [220] C. Greiner, C. Hörnig, A. Rossi, C. Pergola, H. Zettl, M. Schubert-Zsilavec, D. Steinhilber, L. Sautebin, O. Werz, *2-(4-(Biphenyl-4-ylamino)-6-chloropyrimidin-2-ylthio)octanoic acid (HZ52)--a novel type of 5-lipoxygenase inhibitor with favourable molecular pharmacology and efficacy in vivo*, *Br. J. Pharmacol.* 164 (2011) 781–793.
- [221] G. d'Atri, P. Gomarasca, G. Resnati, G. Tronconi, C. Scolastico, C.R. Sirtori, *Novel pyrimidine and 1,3,5-triazine hypolipidemic agents*, *J. Med. Chem.* 27 (1984) 1621–1629.
- [222] Y. Syha, *Synthese und in vitro-pharmakologische Charakterisierung dualen PPAR α /gamma-Agonisten*, *Dissertation* (2006).
- [223] J. Yin, M.M. Zhao, M.A. Huffman, J.M. McNamara, *Pd-catalyzed N-arylation of heteroarylamines*, *Org. Lett.* 4 (2002) 3481–3484.
- [224] B. Waltenberger, K. Wiechmann, J. Bauer, P. Markt, S.M. Noha, G. Wolber, J.M. Rollinger, O. Werz, D. Schuster, H. Stuppner, *Pharmacophore modeling and virtual screening for novel acidic inhibitors of microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 (mPGES-1)*, *J. Med. Chem.* 54 (2011) 3163–3174.
- [225] K. Lee, C. van Pham, M.J. Choi, K.J. Kim, K.-T. Lee, S.-G. Han, Y.G. Yu, J.Y. Lee, *Fragment-based discovery of novel and selective mPGES-1 inhibitors Part 1: identification of sulfonamido-1,2,3-triazole-4,5-dicarboxylic acid*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 23 (2013) 75–80.
- [226] A.F. Abdel-Magid, K.G. Carson, B.D. Harris, C.A. Maryanoff, R.D. Shah, *Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures(1)*, *J. Org. Chem.* 61 (1996) 3849–3862.
- [227] T. Hanke, F. Rörsch, T.M. Thieme, N. Ferreiros, G. Schneider, G. Geisslinger, E. Proschak, S. Grösch, M. Schubert-Zsilavec, *Synthesis and pharmacological characterization of benzenesulfonamides as dual species inhibitors of human and murine mPGES-1*, *Bioorg. Med. Chem.* 21 (2013) 7874–7883.
- [228] O. Werz, E. Bürkert, B. Samuelsson, O. Rådmark, D. Steinhilber, *Activation of 5-lipoxygenase by cell stress is calcium independent in human polymorphonuclear leukocytes*, *Blood* 99 (2002) 1044–1052.
- [229] T. Hanke, F. Dehm, S. Liening, S.-D. Popella, J. Maczewsky, M. Pillong, J. Kunze, C. Weinigel, D. Barz, A. Kaiser, M. Wurglics, M. Lämmerhofer, G. Schneider, L. Sautebin, M. Schubert-Zsilavec, O. Werz, *Aminothiazole-featured pirinixic acid derivatives as dual 5-lipoxygenase and microsomal prostaglandin E2 synthase-1 inhibitors with improved potency and efficiency in vivo*, *J. Med. Chem.* 56 (2013) 9031–9044.
- [230] J.G. Topliss, *Utilization of operational schemes for analog synthesis in drug design*, *J. Med. Chem.* 15 (1972) 1006–1011.
- [231] P. Workman, I. Collins, *Probing the probes: fitness factors for small molecule tools*, *Chem. Biol.* 17 (2010) 561–577.
- [232] <http://www.organic-chemistry.org>, available at <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/logS.html> (abgerufen am Mai 22, 2014).

8. Publikationsliste

Publikationen in Peer-Reviewed Journals

(1) “*Aminothiazole-featured pirinixic acid derivatives as dual 5-lipoxygenase and microsomal prostaglandin E2 synthase-1 inhibitors with improved potency and efficiency in vivo.*”

Hanke T, Dehm F, Liening S, Popella SD, Maczewsky J, Pillong M, Kunze J, Weinigel C, Barz D, Kaiser A, Wurglics M, Lämmerhofer M, Schneider G, Sautebin L, Schubert-Zsilavecz M, Werz O.

J Med Chem. 2013 Nov 27;56(22):9031–44. doi: 10.1021/jm401557w.

PMID: 24171493

(2) “*Synthesis and pharmacological characterization of benzenesulfonamides as dual species inhibitors of human and murine mPGES-1.*”

Hanke T, Rörsch F, Thieme TM, Ferreiros N, Schneider G, Geisslinger G, Proschak E, Grösch S, Schubert-Zsilavecz M.

Bioorg Med Chem. 2013 Dec 15;21(24):7874–83. doi: 10.1016/j.bmc.2013.10.006.

PMID: 24183739

(3) “*Anthranilic acid derivatives as novel ligands for farnesoid X receptor (FXR).*”

Merk D, Gabler M, Gomez RC, Flesch D, **Hanke T**, Kaiser A, Lamers C, Werz O, Schneider G, Schubert-Zsilavecz M.

Bioorg Med Chem. 2014 Apr 15;22(8):2447–60. doi: 10.1016/j.bmc.2014.02.053.

PMID: 24685112

(4) “*Identification of pirinixic acid derivatives bearing a 2-aminothiazole moiety combines dual PPAR α/γ activation and dual 5-LO/mPGES-1 inhibition.*”

Hanke T, Lamers C, Gomez RC, Schneider G, Werz O, Schubert-Zsilavecz M.

Submitted to **Bioorg Med Chem Lett.**

Konferenzbeiträge und Posterpräsentationen

Vorträge

(1) DPhG Doktorandentagung 2011 (Heringsdorf, 30.03.2011 – 02.04.2011).

“Synthesis of thiazole substituted pirinixic acid derivatives as dual 5-LO / mPGES-1 inhibitors”

Posterpräsentationen

(1) DPhG-Jahrestagung 2012 (Greifswald, 11.10.2012–13.10.2012).

“Synthesis and pharmacological evaluation of thiazole-featured pirinixic acid derivatives acting as dual 5-lipoxygenase and microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 inhibitors”

(2) EFMC-ISMC 2012, 22nd International Symposium on Medicinal Chemistry (Berlin, 02.09.2012–06.09.2012).

“Thiazole substituted pirinixic acid derivatives as dual 5-LO / mPGES-1 inhibitors”

(3) „DPhG-Jahrestagung 2011“ (Innsbruck, 20.09.2011–23.09.2011).

“Thiazole substituted pirinixic acid derivatives as dual 5-LO / mPGES-1 inhibitors”

(4) „Frontiers in Medicinal Chemistry“ (Saarbrücken, 20.03.2011–23.03.2011).

“Thiazole substituted pirinixic acid derivatives as dual 5-LO / mPGES-1 inhibitors”

9. Eidesstattliche Versicherung

ERKLÄRUNG

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

Frankfurt am Main, den

Unterschrift

Eidesstattliche Versicherung

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

.....
.....
.....

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

Ich versichere, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben

Frankfurt am Main, den

(Unterschrift)