
Medizinisch-chemische Optimierung von IWP-Derivaten zu neuen CK1 δ -Inhibitoren



DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES DER
MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT DER
CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL

VORGELEGT VON
LYDIA WITT

KIEL 2019

Dekan:

Prof. Dr. Frank Kempken

Erster Gutachter:

Prof. Dr. Christian Peifer

Zweiter Gutachter:

Prof. Dr. Uwe Knippschild

Tag der mündlichen Prüfung:

07.02.2020

Zum Druck genehmigt:

07.02.2020

Kurzzusammenfassung

In Anbetracht der steigenden Zahl von Krebsdiagnosen weltweit ist die Notwendigkeit der Entwicklung neuer Wirkstoffe selbstverständlich. Insbesondere die fortschreitenden Erfolge von Kinaseinhibitoren sind hierbei zu nennen. Kinasen, die durch Mutationen oder durch andere Mechanismen dereguliert sind und daher in engem Zusammenhang mit einer Vielzahl von Krankheitsbildern stehen, können durch Kinaseinhibitoren gezielt in ihrer Wirkung gehemmt werden. Die Kinase CK1 δ ist in den letzten Jahren aufgrund der Vielzahl von zellulären Prozessen, an denen CK1 δ beteiligt ist, immer stärker als potentiell therapeutisches *target* in den Fokus gerückt. Vor allem Mutationen von CK1 δ scheinen oftmals ein höheres onkogenes Potential zu haben.

In dieser Arbeit wurde das *in silico* basierte Design, die Synthese und die biologische Evaluierung neuer IWP-Derivate als CK1 δ -Inhibitoren behandelt. Die IWP-Derivate wurden ursprünglich als Porcn-Inhibitoren veröffentlicht. Es zeigte sich allerdings im Kinase-Assay und in einem *screening* über 320 Kinasen eine hohe Affinität und Selektivität von IWP-2 (**9**) für CK1 δ . Basierend auf diesem Kenntnis konnten erfolgreich fünf neue Serien von CK1 δ -Inhibitoren sowie zwei weitere Verbindungen hergestellt werden, die keiner Serie zugeordnet wurden, darunter ein potentieller CK1 δ DFG-*out*-Inhibitor. Die zu optimierende Leitstruktur der IWP-Verbindungen wurde dabei schrittweise verändert, wobei der Benzothiazol-Baustein als *hinge-binder* erhalten blieb. Im Molecular Modeling wurden zunächst die einzelnen Verbindungen der verschiedenen Serien hinsichtlich ihrer Bindeaffinität virtuell untersucht und anschließend eine Auswahl synthetisiert.

In Kinase-Assays weist die Verbindung **16b** mit 0.09 μ M auf *wt*CK1 δ den besten IC₅₀-Wert der neuen Verbindungen auf. Darüber hinaus zeigen viele weitere Verbindungen eine Verbesserung der Inhibition von CK1 δ im Vergleich zu den originalen IWP-Verbindungen. Die hohe Selektivität, die IWP-2 (**9**) aufweist, konnte auch bei der Verbindung **11c** in einem *panel* von 320 Kinasen nachgewiesen werden. In zellbasierten-Assays zeigte vor allem die Verbindung **11h** ein breites Wirkspektrum.

Neben den überwiegend hergestellten DFG-*in*-Inhibitoren wurde ein potentieller CK1 δ DFG-*out*-Inhibitor **18** entworfen und hergestellt.

Abstract

Given the rising number of cancer diagnoses worldwide, the need to develop new medicines is evident. In particular, the progressive successes of kinase inhibitors should be mentioned. Kinases that are deregulated by mutations or other mechanisms and therefore closely related to a variety of diseases can be targeted by kinase inhibitors. In recent years, the CK1 δ kinase has come into focus as a therapeutic drugtarget because of the variety of cellular processes in which CK1 δ is involved. Especially mutations of CK1 δ often appear to have a higher oncogenic potential.

In this thesis the *in silico*-based design, the synthesis and the biological characterization of new IWP derivatives as CK1 δ inhibitors are discussed. The IWP derivatives were originally published as Poren inhibitors, but a high affinity and selectivity of IWP-2 for CK1 δ was demonstrated in kinase assays and in a screening over 320 kinases. Based on this findings, five new series of CK1 δ inhibitors and two other unassigned compounds have been designed and synthesized including a potential CK1 δ DFG-out inhibitor. The lead structure of the IWP compounds was optimized by stepwise modification, retaining the benzothiazole moiety as a key hinge binder. In modeling studies, the individual compounds of the various series were virtually examined for their binding affinity and a selection of ligands was subsequently synthesized.

With an IC₅₀ value of 0.09 μ M on *wt*CK1 δ in kinase assays compound **16b** is the most potent new compound. In addition, many other new compounds show an improvement in inhibition of CK1 δ compared to the original IWP compounds. The high selectivity of IWP-2, which was determined in a panel of 320 kinases, could also be shown for compound **11c**. In cell-based assays in particular compound **11h** showed a broad spectrum of efficacy. In addition to the predominantly produced DFG-in inhibitors, a potential CK1 δ DFG-out inhibitor **18** was designed and synthesized.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Proteinkinasen	1
1.1.1	Die CK1-Familie	2
1.1.2	Die CK1-Isoform δ	3
1.1.3	CK1 δ und der Wnt/ β -Catenin Signalweg	5
1.1.4	Mutationen der CK1 δ -Isoform	6
1.2	Kinaseinhibitoren	7
1.2.1	DFG-in-Inhibitoren (Typ I)	10
1.2.2	DFG-out-Inhibitoren (Typ II)	10
1.2.3	CK1 δ -Inhibitoren	12
1.3	Die Verwendung von Aminosäuren und Salzen in Wirkstoffen	15
1.3.1	Aminosäuren	15
1.3.2	Salze	17
2	Zielstellung	19
3	Design und Modeling	21
3.1	Serie 1	23
3.2	Serie 2	28
3.3	Serie 3	29
3.4	Serie 4	33
3.5	Serie 5	37
3.6	DFG- <i>out</i> -Modeling	41
3.7	CK1 δ Mutanten Modeling	45
4	Synthese	49
4.1	Serie 1	49
4.1.1	Synthese von Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (21)	50
4.1.2	Synthese der Benzothiazol-Grundgerüste 26 und 28	51
4.1.3	Synthese der Isothiocyanat-Derivate 22a-1	52

4.1.4	Synthese der Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate 23a-l	54
4.1.5	Synthese der Zielverbindungen 11a-l der Serie 1	57
4.1.6	Alternativer Syntheseweg für die Darstellung von IWP-Derivaten der Serie 1	59
4.2	Serie 2	62
4.2.1	Synthese der 2-Thioxo-dihydrochinazolinon-Derivate 41a,b	62
4.2.2	Synthese der Zielverbindungen 12a,b und 13a,b der Serie 2	63
4.3	Serie 3	64
4.3.1	Synthese der alkylsubstituierten IWP-Derivate 44a-c	64
4.3.2	Synthese der Zielverbindungen 14a-c der Serie 3	65
4.4	Serie 4	66
4.4.1	Synthese der Phenylpyrimidinon-Derivate 49a-g	66
4.4.2	Synthese der 2-Thioxo-Phenylpyrimidinon-Derivate 59a-g	69
4.4.3	Synthese von 2,3-Dimethoxybenzylchlorid (60e)	71
4.4.4	Synthese der Benzylpyrimidinon-Derivate 65a-e	72
4.4.5	Synthese der 2-Thioxo-Benzylpyrimidinon-Derivate 66a-e	74
4.4.6	Synthese der Zielverbindungen 15a-g und 16a-d der Serie 4	76
4.5	Synthese des alkylsubstituierten Pyrimidinon-Derivats 75	78
4.5.1	Synthese von 3-Methylpyrimidin-4(3 <i>H</i>)-on (73)	78
4.5.2	Synthese von 3-Methyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1 <i>H</i>)-on (74)	79
4.5.3	Synthese von 2-((3-Methyl-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)- <i>N</i> - (6-(trifluormethyl)benzo[<i>d</i>]thiazol-2-yl)acetamid (75)	79
4.6	Serie 5	80
4.6.1	Peptidkupplung mit Boc-geschützten Aminosäuren zu den Zwischen- produkten 82a-f	80
4.6.2	Synthese der Hydrochloride 83a-e	83
4.6.3	Synthese der Mesilate 84a,b,e	83
4.6.4	Funktionalisierung der Aminofunktion am Beispiel der Verbindung 86	84
4.7	DFG- <i>out</i> -Inhibitor	85
4.7.1	Peptidkupplungsreaktion zum Produkt 18	86

5	Biologische Evaluierung	89
5.1	Testung der Zielverbindungen der Serie 1	89
5.1.1	Kinase-Assays	89
5.1.2	Zellbasierte-Assays	93
5.2	Testung der Zielverbindungen der Serie 2	94
5.3	Testung der Zielverbindungen der Serie 3	95
5.3.1	Kinase-Assays	95
5.3.2	Zellbasierte-Assays	97
5.4	Testung der Zielverbindungen der Serie 4	98
5.4.1	Kinase-Assays	98
5.4.2	Zellbasierte-Assays	101
5.5	Initiales Screening der Verbindung 75	104
5.6	Testung der Zielverbindungen der Serie 5	105
6	Zusammenfassung	107
7	Ausblick	113
8	Experimententeil	115
8.1	Molecular Modeling	115
8.1.1	Software und Hardware	115
8.1.2	Protein Vorbereitung	115
8.1.3	Ligand Vorbereitung	115
8.1.4	Glide Docking	116
8.1.5	Induced fit Docking	116
8.1.6	Protein Structure Alignment	116
8.1.7	Loop Refinement	116
8.1.8	SiteMap	116
8.1.9	QikProp	117
8.2	Methoden und Materialien	117
8.2.1	Chemikalien	117
8.2.2	NMR	117
8.2.3	Massenspektrometrie	118
8.2.4	IR Spektroskopie	119

8.2.5	Schmelzpunktbestimmung	119
8.2.6	Röntgenkristallstrukturanalyse	119
8.2.7	Flash Chromatografie	119
8.2.8	HPLC	119
8.2.9	Mikrowellenreaktor	120
8.2.10	Hydrierapparatur	120
8.3	Synthesen	121
8.3.1	Serie 1	121
8.3.2	Serie 2	169
8.3.3	Serie 3	176
8.3.4	Serie 4	183
8.3.5	Synthese des alkylsubstituierten Pyrimidinon-Derivats	223
8.3.6	Serie 5	227
8.3.7	Synthese eines DFG- <i>out</i> -Inhibitors	244
9	Anhang	i
9.1	Röntgenkristallstruktur Daten	i
9.2	Selektivitätsprofil der Verbindung 11c in einem Panel von 320 Kinasen . . .	v
9.3	Abkürzungsverzeichnis	xiv
9.4	Molekülverzeichnis der Zielverbindungen	xx
	Erklärung zu §8 Abs. 1 der Promotionsordnung	xxv
	Danksagung	xxvii
	Literaturverzeichnis	xxix

1 Einleitung

In Anbetracht der steigenden Zahl von Krebsdiagnosen weltweit^[1] ist die Notwendigkeit der Entwicklung neuer Wirkstoffe selbstverständlich. Insbesondere die fortschreitenden Erfolge von Kinaseinhibitoren sind hierbei zu nennen.^[2,3] Doch trotz der erfolgreichen Anwendung einer Vielzahl von Wirkstoffen bleiben Probleme mit Nebenwirkungen und Resistenzen.^[2,4] Die Wissenschaft steht also weiterhin vor vielen Herausforderungen bei der Entwicklung von innovativen Wirkstoffen in der Krebstherapie.

1.1. Proteinkinasen

Die reversible Phosphorylierung von Proteinen ist eine der wichtigsten posttranslationalen Modifikationen. In Eukaryoten beträgt die Phosphorylierungsrate aller Proteine ca. 30 %. Durch die Übertragung einer Phosphatgruppe auf das Substratprotein ändern sich die elektrostatischen Eigenschaften, wodurch eine konformative Änderung induziert wird.^[5] Dieser Vorgang ist Teil fast aller Signaltransduktionskaskaden in der Zelle und spielt damit nicht nur eine entscheidende Rolle im Metabolismus, sondern auch bei der Transkription, der Apoptose und der Differenzierung (um nur einige Prozesse zu nennen).^[6] Die reversible Phosphorylierung wird von Proteinkinasen (PKs) katalysiert. Es ist daher nicht verwunderlich, dass eine Mutation der Kinase und die damit einhergehende Dysregulation für diverse Krankheitsbilder verantwortlich gemacht wird.^[6,7] Das humane Kinom umfasst mehr als 500 Proteinkinasen, die ihrerseits eingeteilt sind in Gruppen, Familien und Unterfamilien. Die phylogenetische Einteilung in neun Hauptgruppen, 134 Familien und 201 Unterfamilien erfolgte durch MANNING *et al.*, wobei im Wesentlichen die Aminosäuresequenz der katalytischen Domäne verglichen wurde.^[6]

Die durch PKs katalysierte Übertragung des γ -Phosphats von Nukleosidtriphosphaten (vor allem ATP) erfolgt in den allermeisten Fällen auf die Hydroxygruppe von Serin, Threonin oder Tyrosin des Substrats (vgl. **Abbildung 1.1**).^[5] Dabei lassen sich die PKs danach einordnen, welche Aminosäuren sie phosphorylieren. Man unterscheidet im Wesentlichen die Serin/Threonin-spezifischen PKs und die Tyrosin-spezifischen PKs^[8] sowie *dual-specific* PKs, die sowohl Serin/Threonin als auch Tyrosin phosphorylieren können.^[9,10]

Darüber hinaus sind inzwischen einige Kinasen bekannt, die auch Histidin reversibel phosphorylieren können.^[11]

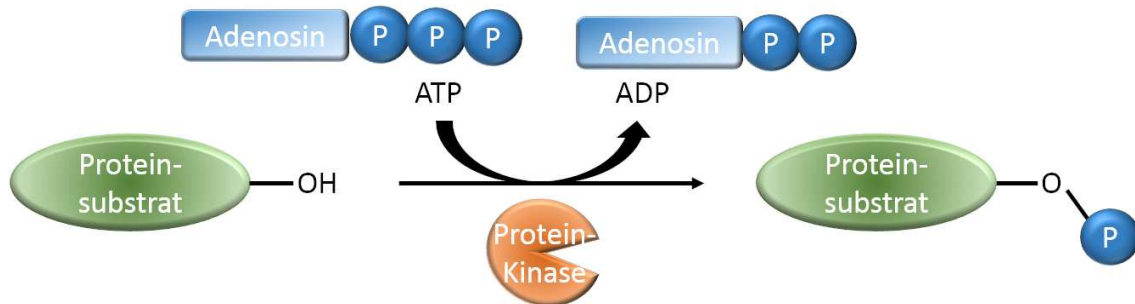


Abbildung 1.1: Die durch Proteinkinasen katalysierte Übertragung des γ -Phosphats von ATP auf die Hydroxygruppe (Ser, Thr, Tyr) eines Proteinsubstrats [adaptiert von KLEBE].^[5]

1.1.1. Die CK1-Familie

Zu den Serin/Threonin-spezifischen PKs gehört auch die CK1-Familie. Sechs humane Gene codieren die CK1-Isoformen α , $\gamma 1$, $\gamma 2$, $\gamma 3$, δ und ε sowie weitere Splicevarianten.^[12–14] Alle humanen Isoformen besitzen eine hoch konservierte Kinasedomäne, wobei die Isoformen δ und ε eine Sequenzhomologie von 98 % in der Kinasedomäne aufweisen.^[14] Die Struktur der einzelnen Isoformen weist den für Serin/Threonin-spezifische PKs doppel-lappigen (*bi-lobal*) Aufbau auf (s. **Abbildung 3.1**). Die kleinere *N*-terminale Domäne ist weitestgehend aus β -Faltblättern aufgebaut und über die *hinge*-Region an die größere α -helikale *C*-terminale Domäne geknüpft. Die *hinge*-Region bildet dabei zwischen beiden Domänen einen katalytischen Spalt, der für die Substrat- und ATP-Bindung entscheidend ist.^[15,16] Die Aktivierungsschleife befindet sich zwischen dem hoch konservierten DFG-Motiv (Asp, Phe, Gly) und im Falle der CK1-Familie dem SIN-Motiv (Ser, Ile, Asn).^[15] Das APE-Motiv (Ala, Pro, Glu), das bei vielen Kinasen die Aktivierungsschleife begrenzt, fehlt allen Mitgliedern der CK1-Familie.^[17] Durch eine konformationelle Änderung der Aktivierungsschleife wird der Substratzugang reguliert.^[18]

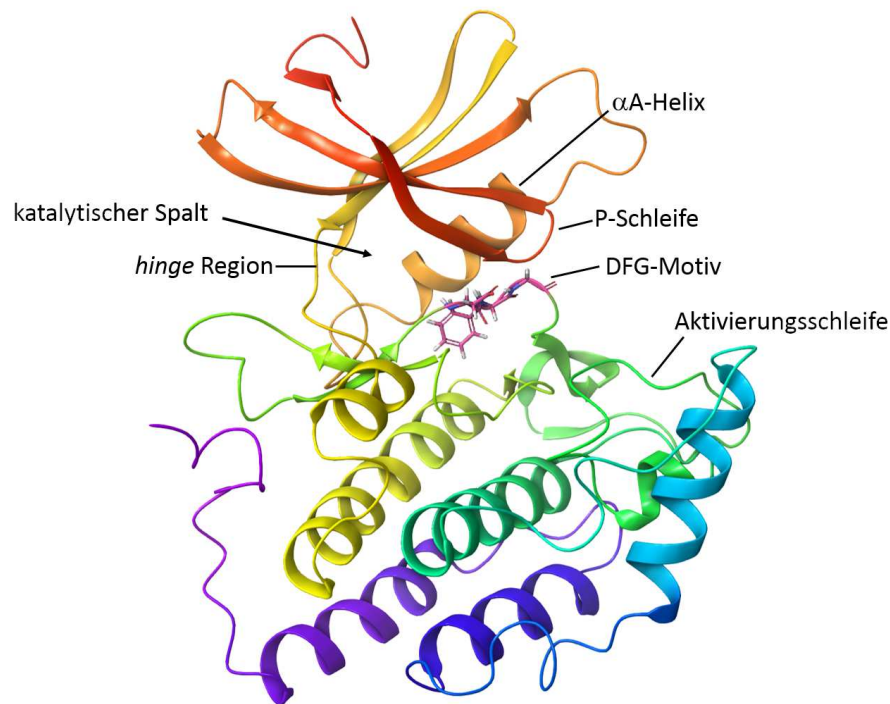


Abbildung 1.2: Kristallstruktur der CK1 Isoform δ . Die *N*-terminale Domäne (oben) wird über die *hinge*-Region mit der *C*-terminalen Domäne (unten) verknüpft. Dazwischen bildet sich der katalytische Spalt mit der ATP-Bindetasche. Das hoch konservierte DFG-Motiv ist Teil der Aktivierungsschleife. Des Weiteren sind die P-Schleife und die α A-Helix der *N*-terminalen Domäne gekennzeichnet. Die Abbildung wurde mit Maestro (Version 11.1) auf Basis der Kristallstruktur (pdb: 5OKT) von PICHLO *et al.* visualisiert.^[19,20]

Die Substratspezifität der CK1-Familie ergibt sich aus mehreren Erkennungsmotiven, die bei zellulären Proteinen weit verbreitet sind. Daraus ergeben sich nach heutigem Stand mehr als 140 *in vitro* und *in vivo* Substrate für CK1 Isoformen.^[14] Neben der kanonischen Konsensussequenz pSer/Thr-X-X-(X)-Ser/Thr (pSer/Thr = phosphoryliertes Serin/Threonin) werden auch Agglomerationen von negativ geladenen Aminosäuren,^[21] das SLS-Motiv^[22] oder das nicht kanonische Lys/Arg-X-Lys/Arg-X-X-Ser/Thr-Motiv erkannt.^[23]

1.1.2. Die CK1-Isoform δ

Die CK1-Isoform δ ist in den letzten Jahren immer stärker als potentielles therapeutisches *target* in den Fokus gerückt.^[24–28] Die große Anzahl von bisher beschriebenen physiologischen Substraten von CK1 δ erklärt die Vielzahl der zellulären Prozesse, an denen CK1 δ beteiligt ist. In **Tabelle 1.1** sind einige relevante *in vitro* und *in vivo* Substrate von CK1 δ aufgeführt. Im Folgenden wird auf einige der Substrate näher eingegangen.

Tabelle 1.1: CK1 δ -spezifische *in vitro* und *in vivo* Substrate mit Angabe der assoziierten Funktion [adaptiert von XU *et al.*^[29]]

Substrat	assoziierte Funktion
Axin ^[30]	
β -Catenin ^[31]	Wnt/ β -Catenin-Signalweg
Dishevelled (DVL) ^[30]	
APC ^[30]	
Wee1 ^[32]	Zellzyklus-assoziiert
Tau-Protein ^[33]	Mikrotubulus-assoziiert
γ -Tubulin ^[33]	
<i>nuclear factor of activated T-cells</i> 1, 2 und 4 (NFAT 1, 2, 4) ^[34]	RNA-/DNA-assoziiert
putative RNA-Helikase ^[35]	
DNA Methyltransferase 1 (Dnmt1) ^[36]	
Proteinkinase D2 (PKD2) ^[37]	Golgi-Apparat-assoziiert
Tumorprotein p53 ^[38]	Mediator zellulären Stresses
Cyclin-abhängige Kinase 5 (CDK5) ^[39]	Assoziiert mit neurodegenerativen
Parkin ^[40]	Prozessen
β -Sekretase (BACE1) ^[41]	
transmembraner Tumornekrosefaktor α (mTNF α) ^[42]	Rezeptoren und Rezeptor- assoziiert
Estrogenrezeptor α (ER α) ^[43]	
<i>period circadian protein homolog</i> 1 und 2 (PER1, 2) ^[44]	zirkadianer Rhythmus
Cryptochrome 1 und 2 (CRY1, 2) ^[45]	
Smo ^[46]	<i>Hedgehog</i> -Signalweg

Höhere Organismen besitzen einen autonomen Zeitgeber, der die Periodizität verschiedenster physiologischer Prozesse beeinflusst. Der zirkadiane Rhythmus steuert Prozesse wie den Schlaf-Wach-Zyklus, die Körpertemperatur, Hormonlevel und die Verdauungsaktivität in einem ca. 24 Stunden Rhythmus.^[26,47,48] CK1 δ ist dabei maßgeblich an den Prozessen beteiligt, die den zirkadianen Rhythmus steuern. CK1 δ phosphoryliert und reguliert unter anderem die *clock*-Proteine PER1-2 und CRY1-2 und reguliert dadurch deren Funktion.^[13,44,45,47,49–51]

Auch DNA- und RNA-assoziierte Proteine werden von CK1 δ phosphoryliert.^[29] Darunter die an dem RNA-Stoffwechsel beteiligte putative RNA-Helikase,^[35] die *nuclear factors of activated T-cells* (NFAT) 1, 2 und 4, die als Transkriptionsfaktoren die Genexpression einleiten^[34] oder die DNA-Methyltransferase 1 (Dnmt1), die das Methylierungsmuster bei der DNA-Replikation kontrolliert und aufrechterhält.^[36]

Darüber hinaus phosphoryliert CK1 δ das Tau-Protein, das den Zusammenbau von Mikrotubuli reguliert und bei abnormer Hyperphosphorylierung im Zusammenhang mit neurodegenerativen Erkrankungen steht.^[23,33,52–54] Des Weiteren wird die Wee1 Tyrosin-Kinase, die ein Regulator der Zellproliferation darstellt, phosphoryliert.^[32] GIAMAS *et al.* konnten außerdem zeigen, dass CK1 δ direkt an der Regulierung des Estrogen Rezeptors α (ER α) beteiligt ist.^[43]

Insbesondere die Rolle von CK1 δ bei der Krebsentstehung wurde in den letzten Jahren intensiv erforscht. Neben dem Tumorstoffwechselprotein p53, welches mit CK1 δ über einen autoregulierten *feedback-loop* verknüpft ist,^[29,38,55] werden vor allem der *Hedgehog*-Signalweg und der Wnt/ β -Catenin-Signalweg mit der Entstehung von Krebs in Verbindung gebracht.^[56–60]

1.1.3. CK1 δ und der Wnt/ β -Catenin Signalweg

Der kanonische Wnt-Signalweg (auch Wnt/ β -Catenin Signalweg) ist ein entscheidender Regulationsmechanismus der Zellproliferation, nicht nur bei der embryonalen Entwicklung, sondern auch bei ausgewachsenen Organismen.^[14] Bei Abwesenheit eines Wnt-Liganden wird β -Catenin fortlaufend abgebaut, wodurch die Genexpression unterbunden bleibt (**Abbildung 1.3 A**).^[51,61] Bindet ein Wnt-Ligand an die Membranrezeptoren *Frizzled* und LRP5/6, wird eine Signalkaskade ausgelöst, wodurch es zur Akkumulation von β -Catenin kommt. Die Translokation von β -Catenin in den Zellkern führt letztlich zur Aktivierung der TCF/LEF abhängigen Genexpression (**Abbildung 1.3 B**).^[51,62–66]

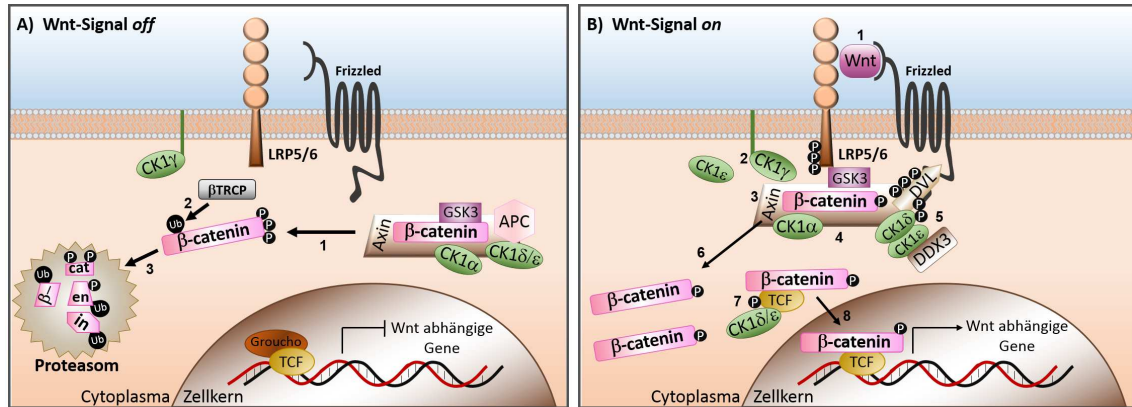


Abbildung 1.3: **A)** In Abwesenheit des Wnt-Liganden wird β -Catenin von $CK1\alpha$ und GSK3 phosphoryliert (1), von β -TrCP ubiquitiniert (2) und vom Proteasom abgebaut (3). **B)** Bindet ein Wnt-Ligand an *Frizzled* und LRP5/6 (1), wird LRP5/6 von $CK1\gamma$ und $CK1\epsilon$ phosphoryliert (2). Der β -Catenin/Axin-Komplex wandert zur Membran und inhibiert GSK3 (3,4). $CK1\delta$ and ϵ phosphorylieren Dishevelled (DVL) und Axin (5). Eine konformationelle Änderung des β -Catenin/Axin-Komplexes initiiert die Loslösung von β -Catenin (6). $CK1\epsilon$ und $CK1\delta$ phosphorylieren TCF3 (7), gefolgt von der nukleären Translokation von TCF3/ β -Catenin (8) [Adaptiert von KNIPPSCHILD *et al.*]^[14]

Die Isoform $CK1\delta$ phosphoryliert verschiedene Komponenten des Wnt/ β -Catenin Signalwegs. Dishevelled 1 (Dvl1) wird hierbei genauso phosphoryliert wie Axin, APC und β -Catenin.^[30,31,67,68] Dadurch kann $CK1\delta$ den Wnt/ β -Catenin Signalweg positiv und negativ regulieren. $CK1\delta$ kann zum einen durch die Stabilisierung von β -Catenin, nach vorangegangener Phosphorylierung von LRP6 und der Wanderung des Axin/ β -Catenin-Komplexes, die Phosphorylierung und Ubiquitinierung von β -Catenin verhindern.^[69,70] Zum anderen hat $CK1\delta$ einen negativen Einfluss auf den Wnt/ β -Catenin Signalweg durch die direkte Phosphorylierung von β -Catenin am Ser45, wodurch dieses von GSK3 β neuerlich phosphoryliert und damit fortlaufend der Inaktivierung zugeführt wird.^[31]

1.1.4. Mutationen der $CK1\delta$ -Isoform

Die Datenbank *cBioPortal for cancer genomics* verzeichnet in 32 unabhängigen Studien und 10967 Proben über 80 Mutationen in dem Gen *CSNK1D*, das für $CK1\delta$ codiert (www.cbioportal.org, Stand November 2019).^[71,72] Dabei zeigte sich, dass Mutationen von $CK1\delta$ ein höheres onkogenes Potential haben können als *wt* $CK1\delta$.^[73–76] Die Mutante $T67S$ $CK1\delta$ konnte bei kolorektalem Karzinom nachgewiesen werden. *In vitro* Daten zeigen eine gesteigerte Zellproliferation durch $T67S$ $CK1\delta$ sowie Tumorwachstum in der Zellkultur und im Mausmodell.^[76] Bei Adenomen der Darmschleimhaut konnte außerdem die Mutante $R324H$ $CK1\delta$ nachgewiesen werden, die darüber hinaus ein karzinogenes Potential

zu besitzen scheint.^[73] Durch die Punktmutation S97C, besitzt CK1 δ nachweislich eine geringere Affinität zu ATP und hängt damit mit der Entwicklung von Brustkrebs und duktales Karzinomen zusammen.^[75] Bei vielen weiteren Mutanten ist die Rolle, die sie bei der Krebsentwicklung spielen, noch völlig ungeklärt. In **Tabelle 1.2** sind einige Mutationen von *CSNK1D* aufgelistet sowie die Krebsart, bei der diese Mutationen identifiziert wurden.

Das Verständnis der Zusammenhänge zwischen Mutationen von *CSNK1D* und der Krebsentstehung ist ein entscheidender Schritt hin zu einer personalisierten medizinischen Therapie. Es zeigte sich in der Vergangenheit, dass Kinaseinhibitoren gegenüber verschiedenen Mutanten von CK1 δ eine deutlich abweichende Affinität im Vergleich zum Wildtyp zeigen.^[20,77–80] Daraus resultiert die Überlegung, dass durch die Entwicklung eines selektiven Inhibitors für eine bestimmte Mutante Krankheitsbilder, die diese Mutante aufweisen, behandelt werden können.

Tabelle 1.2: Selektion einiger Mutationen von *CSNK1D* und die jeweiligen Krebsarten, bei denen die Mutationen identifiziert wurden (www.cbioportal.org, Stand November 2019).^[71,72]

Mutation	Krebsart
A36V	Kolorektales Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom der Speiseröhre, weitere
E83K	Endometriumkarzinom
R115H	Kolorektales Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom (Nacken und Kopf), Endometriumkarzinom
R127L	Plattenepithelkarzinom der Lunge
R127Q	Urothelkarzinom der Blase
R168H	Endometriumkarzinom, weitere
R299Q	verschiedenes

1.2. Kinaseinhibitoren

Niedermolekulare Kinaseinhibitoren (smKI) sind seit der Zulassung von Imatinib (Glivec®, Novartis) durch die FDA im Jahre 2001 aus der modernen Krebstherapie nicht mehr

wegzudenken. Kinasen, die durch Mutationen oder durch andere Mechanismen dereguliert sind und damit in engem Zusammenhang mit einer Vielzahl von Krankheitsbildern stehen, können durch smKI gezielt in ihrer Wirkung gehemmt werden.^[81] In den letzten Jahren wurde die Typeneinteilung der smKI immer wieder erweitert und ergänzt. Von vormalig drei klassifizierten Typen nach DAR und SHOKAT, den Typen I, II und III,^[82] unterscheidet man inzwischen sechs bis sieben verschiedene Kinaseinhibitortypen.^[81] Typ I-Inhibitoren werden definiert als smKI, die in der aktiven Konformation der ATP-Bindetasche binden. Inhibitoren dieses Typs werden auch als DFG-*in*-Inhibitoren bezeichnet. Typ II-Inhibitoren binden hingegen in der inaktiven Konformation der ATP-Bindetasche und damit meist in der DFG-*out*-Konformation.^[82] ZUCOTTO *et al.* führten darüber hinaus einen Typ I 1/2 ein. Darunter fassen die Autoren Kinaseinhibitoren, die zwar einerseits die Adenin-Binderegion besetzten wie Typ I-Inhibitoren und Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region ausbilden, andererseits durch eine *out*-Konformation der α A-Helix des N-Terminus auch Bindeeigenschaften von Typ II-Inhibitoren besitzen.^[83] GAVRIN und SAIAH unterteilten allosterische Inhibitoren (vormals Typ III) in die Typen III und IV, abhängig davon, ob die Inhibitoren innerhalb des katalytischen Spalts und in unmittelbarer Nähe zur ATP-Bindetasche binden (III) oder außerhalb des katalytischen Spalts (IV).^[84] Inhibitoren, die zwei verschiedene Regionen der Kinasedomäne verbrücken, bezeichnen LAMBA und GOSH als Typ V-Inhibitoren.^[85] Kovalent bindende smKI wurden unter dem Typ VI zusammengefasst.^[81]

Die allermeisten von der FDA zugelassenen Kinaseinhibitoren sind dabei ATP-kompetitive Inhibitoren des Typs I oder II und bilden eine bis drei Wasserstoffbrücken zur *hinge*-Region aus.^[2] Da ATP-kompetitive Inhibitoren in direkter Konkurrenz zu ATP stehen, müssen diese eine besonders hohe Bindeaffinität aufweisen. Darüber hinaus nutzen die Inhibitoren hydrophobe Binderegionen, die von ATP nicht adressiert werden, um eine größere Selektivität zu erreichen.^[2] Der schematische Aufbau der ATP-Bindetasche am Beispiel von CK1 δ , angelehnt an das Modell von TRAXLER und FURET, ist in **Abbildung 1.4** zu sehen.^[86] ATP bindet in der DFG-*in*-Konformation über den Adenin-Baustein durch die Ausbildung zweier Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region. Der Adenin-Baustein besetzt dabei die Adeninbindende-Region (AB). Der Zuckerbaustein sitzt in der Zuckertasche (*sugar pocket*, *SP*) und die Phosphatgruppen belegen die Phosphatbindende-Region (PB). Ein an der ATP-Bindung beteiligtes Magnesiumion wird zusätzlich zu den Phosphatgruppen von Asn133 komplexiert. Die hydrophobe Tasche I (*hydrophobic pocket* I, *HP* I)

und die hydrophobe Region II (*hydrophobic region II*, HR II) werden hingegen nicht von ATP besetzt. Der Zugang zur hydrophoben Tasche I wird durch den *gatekeeper* (CK1 δ : Met82) reguliert.

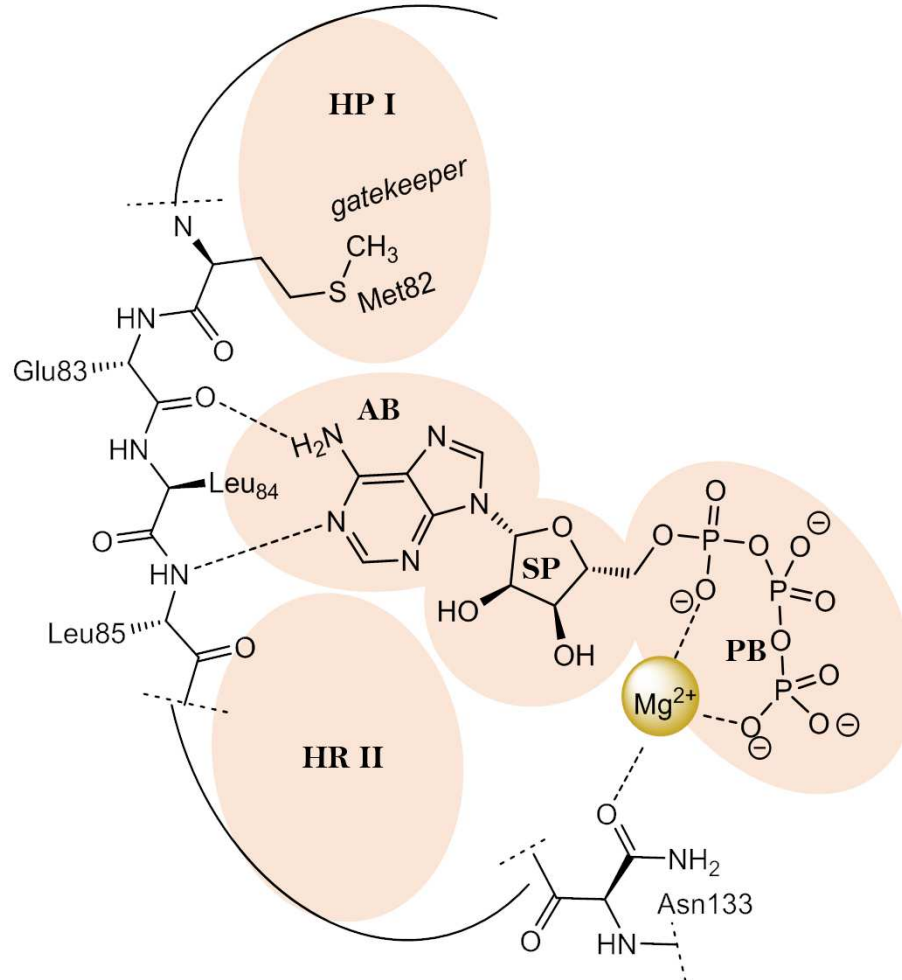


Abbildung 1.4: Schematische Darstellung der ATP-Bindetasche von CK1 δ mit gebundenem Magnesium-ATP-Komplex. Zu sehen sind die hydrophobe Tasche I (HP I) mit dem *gatekeeper* Met82, die hydrophobe Region II (HR II), Die Adeninbindende-Region (AB), die Zuckertasche (SP) sowie die Phosphatbindende-Region (PB). Die Darstellung erfolgte anhand der Kristallisation von CK1 mit Mg-ATP (pdb: 1CSN)^[15] und dem Modell von TRAXLER und FURET.^[86]

1.2.1. DFG-in-Inhibitoren (Typ I)

Ein Großteil der ATP-kompetitiven Inhibitoren gehören zum Typ I, binden also in der aktiven DFG-*in*-Konformation der Kinase.^[2] Die Adeninbindende Region wird meist von einem Heterozyklus besetzt, der die Wasserstoffbrückenbindungen des Adeninbausteins nachahmt. An die Kernstruktur sind weitere Bausteine geknüpft, die die hydrophobe Tasche I (HP I) und die hydrophobe Region II (HR II) adressieren.^[2] In **Abbildung 1.5** ist der Typ I-Inhibitor PD166326 in der ATP-Bindetasche von ABL1 in der 3D-Darstellung (**A**) und der 2D-Darstellung (**B**) zu sehen (pdb: 1OPK).^[87]

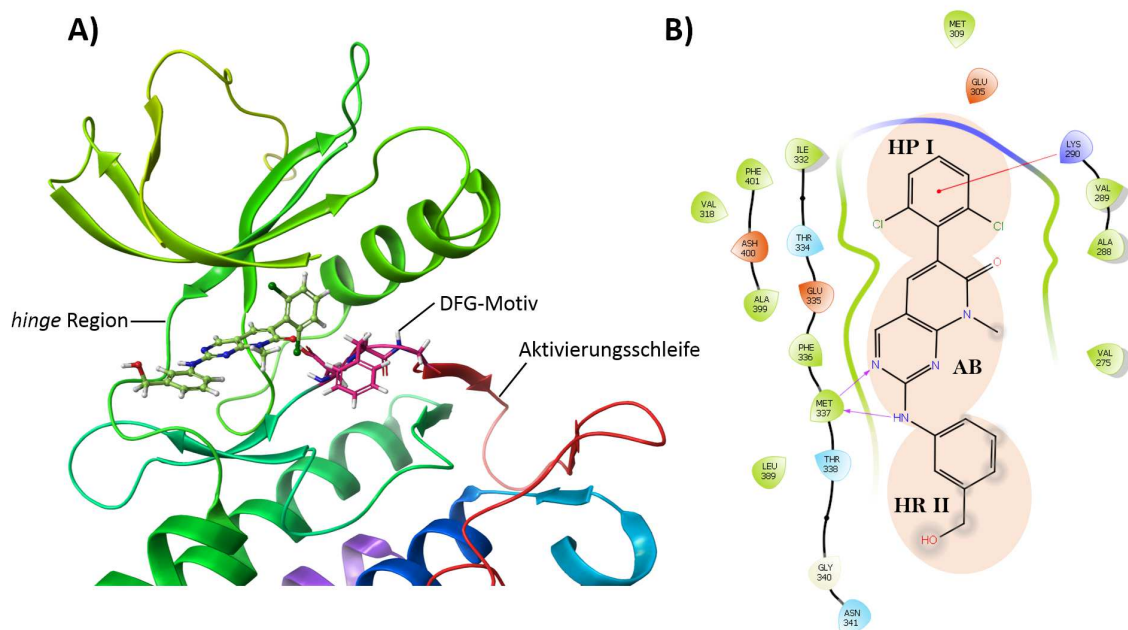


Abbildung 1.5: **A)** 3D-Darstellung des Typ I-Inhibitors PD166326 in der ATP-Bindetasche von ABL1 (pdb: 1OPK). Die Kinase liegt in der DFG-*in*-Konformation vor. Die Aktivierungsschleife ist in rot dargestellt. **B)** 2D-Ligand-Interaktionsdiagramm des Inhibitors in der ATP-Bindetasche der ABL1-Kinase. Es werden zwei Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region ausgebildet. Die HP I und HR II werden vom Dichloraryl-Rest und vom Phenylmethanol-Rest besetzt (Visualisierung mit Maestro Version 11.1).^[87]

1.2.2. DFG-out-Inhibitoren (Typ II)

Typ II-Inhibitoren binden in der inaktiven Konformation der Kinase, welche auch als DFG-*out*-Konformation bezeichnet wird.^[81] In der DFG-*out*-Konformation kommt es zur Rotation des DFG-Motivs und zur Umlagerung der Aktivierungsschleife. Durch diese Umgestaltung der Bindetasche wird eine weitere Bindetasche, die sogenannte *deep pocket*, für Inhibitoren zugänglich. Die Bindung von ATP hingegen wird blockiert.^[82]

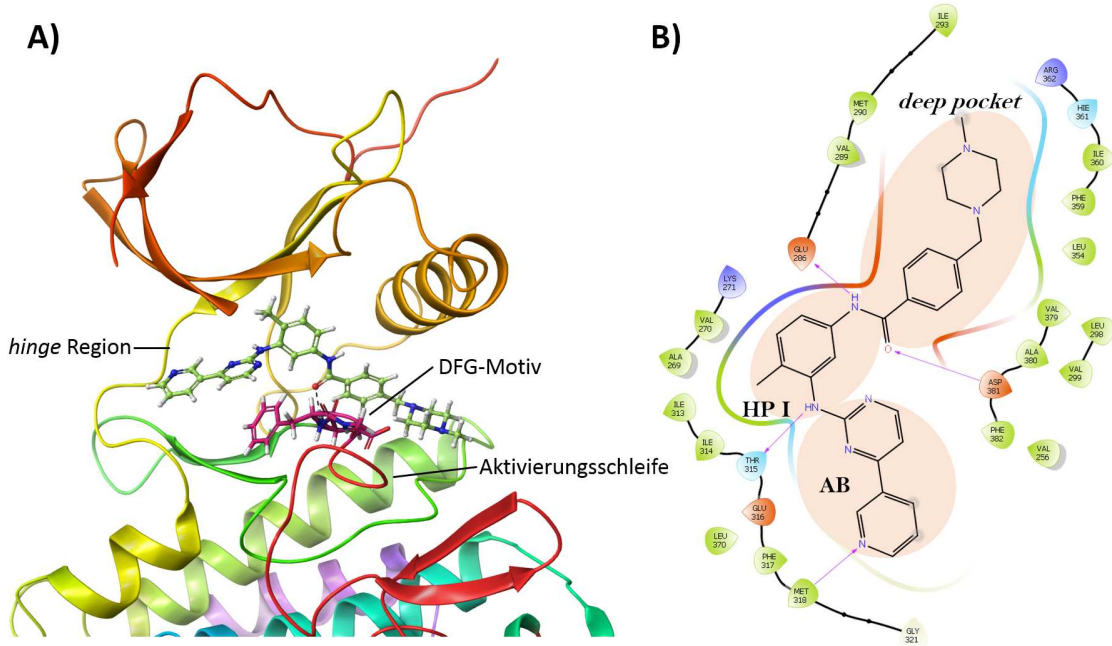


Abbildung 1.6: **A)** 3D-Darstellung des Typ II-Inhibitors Imatinib (Glivec®) in der ATP-Bindetasche von ABL1 (pdb: 1IEP). Die Kinase liegt in der DFG-out-Konformation vor. Die Aktivierungsschleife ist in rot dargestellt. **B)** 2D-Ligand-Interaktionsdiagramm des Inhibitors in der ATP-Bindetasche der ABL1-Kinase. Durch die konformationelle Änderung der Aktivierungsschleife wird eine zusätzliche Bindetasche (*deep pocket*) zugänglich (Visualisierung mit Maestro Version 11.1).^[88]

Es werden weiterhin Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region ausgebildet, allerdings zeichnen sich die meisten DFG-out-Inhibitoren durch weitere konservierte Wasserstoffbrückenbindungen zum Beispiel zum Asp des DFG-Motivs aus. Darüber hinaus ist die *deep pocket* von verschiedenen Kinasen weniger konserviert und lässt dadurch eine generell höhere Selektivität von smKI zu.^[2]

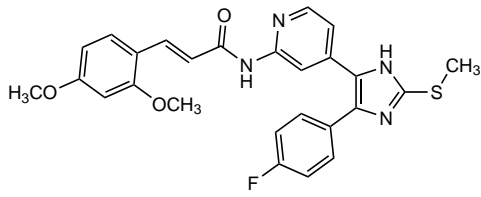
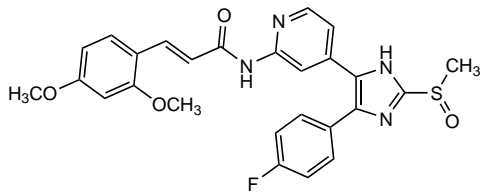
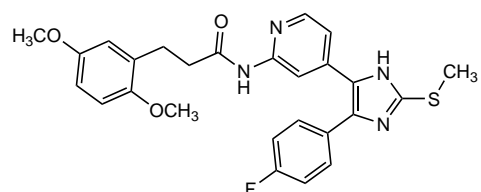
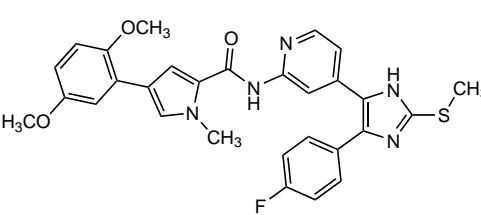
Für Tyrosin-Kinasen ist eine DFG-out-Konformation sehr geläufig.^[89] Es ist allerdings bis heute nicht geklärt, ob auch die Mitglieder der CK1-Familie eine DFG-out-Konformation besitzen und damit gegenüber eines DFG-out-Inhibitors sensitiv wären. Die Vorteile eines DFG-out-Inhibitors für CK1 δ wären immens, da sich durch den Zugang zur *deep pocket* neue Selektivitätsvorteile ergeben könnten. Zum einen könnte durch die Kristallisation von CK1 δ mit darin gebundenem DFG-out-Liganden mittels Röntgenkristallographie der Nachweis einer DFG-out-Konformation von CK1 Isoformen erbracht werden, zum anderen ermöglicht eine hohe Selektivität für CK1 δ die Anwendung des Inhibitors als pharmakologisches *tool*.

1.2.3. CK1 δ -Inhibitoren

1.2.3.1. Teardrop-Binder

Es gibt bereits eine Vielzahl von CK1 δ -Inhibitoren mit zum Teil großer Effektivität. Darunter zu nennen sind die von PEIFER *et al.* und HALEKOTTE *et al.* publizierten Diarylimidazol-Inhibitoren **1**, **2**, **3** und **4**.^[77,90] Die Struktur der Inhibitoren ist abgeleitet von p38 α -Inhibitoren und weist einen tropfenförmigen Aufbau auf, wodurch sich der Begriff *teardrop-binder* etabliert hat.^[91,92] Durch die enge Strukturverwandtschaft der Inhibitoren zu p38 α -Inhibitoren ist die geringe Selektivität gegenüber p38 MAPK Isoformen allerdings ein bekanntes Problem.^[77,91] In **Tabelle 1.3** sind die Diarylimidazol-CK1 δ -Inhibitoren **1**, **2**, **3** und **4** aufgelistet. Neben der Angabe des IC₅₀-Wertes für CK1 δ sind auch IC₅₀-Werte für CK1 ϵ und für p38 α aufgeführt.

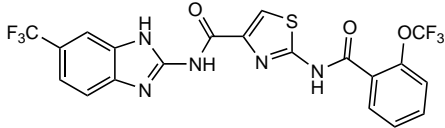
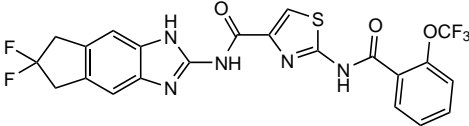
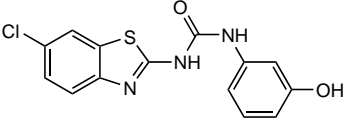
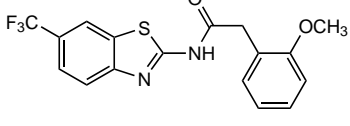
Tabelle 1.3: Diarylimidazol-CK1 δ -Inhibitoren.^[77,90]

#	Struktur	IC ₅₀ [μ M]
1		0.005 (CK1 δ) ^[77] 0.073 (CK1 ϵ) ^[77] 0.019 (p38 α) ^[77]
2		0.011 (CK1 δ) ^[77] 0.447 (CK1 ϵ) ^[77] 0.041 (p38 α) ^[77]
3		0.004 (CK1 δ) ^[90] 0.025 (CK1 ϵ) ^[90] 0.010 (p38 α) ^[90]
4		0.008 (CK1 δ) ^[90] 0.081 (CK1 ϵ) ^[90] 0.010 (p38 α) ^[90]

1.2.3.2. *Linear-Binder*

Neben den *teardrop-binder* gibt es auch eine Reihe von hoch potenten sogenannten *linear-binder* als CK1 δ -Inhibitoren. Diese weisen, wie der Name vermuten lässt, eine lineare Struktur auf und teilen oftmals einen Benzimidazol- oder Benzothiazol-Grundkörper. Als besonders potent sind der Inhibitor **6** von RICHTER *et al.* mit einem IC₅₀-Wert von 0.02 μ M (CK1 δ)^[78] und der Inhibitor **8** von SALADO *et al.* mit einem IC₅₀-Wert von 0.01 μ M (CK1 δ) hervorzuheben. In **Tabelle 1.4** sind einige ausgewählte lineare Inhibitoren gezeigt. Es sind die IC₅₀-Werte für CK1 δ und in einigen Fällen die IC₅₀-Werte für CK1 ϵ angegeben.

Tabelle 1.4: Lineare Benzimidazol- und Benzothiazol-Inhibitoren.^[78,79,93,94]

#	Struktur	IC ₅₀ [μ M]
5		0.040 (CK1 δ) ^[79] 0.199 (CK1 ϵ) ^[79]
6		0.020 (CK1 δ) ^[78] 0.210 (CK1 ϵ) ^[78]
7		0.160 (CK1 δ) ^[93] 1.920 (CK1 ϵ) ^[93]
8		0.010 (CK1 δ) ^[94]

Eine hohe Selektivität sowohl der *teardrop-binder* als auch der *linear-binder* innerhalb der CK1 Isoformen erweist sich als schwierig. Vor allem die Isoformen δ und ϵ werden aufgrund ihrer hohen Sequenzhomology von 98 % innerhalb der Kinasedomäne oftmals zusammen inhibiert.^[77–79,90,93]

1.2.3.3. Inhibitors of Wnt Production (IWPs)

CHEN *et al.* stellten 2009 eine Klasse von kleinen Molekülen vor, die durch die Inhibition von Porcupine (Porcn) in der Lage sind, das Wnt/ β -Catenin abhängige Signal zu unterbinden.^[95] Das *target* Porcn ist bereits bei der Sekretion der Wnt-Proteine entscheidend, da es einen Palmitoyl-Rest auf die Wnt-Proteine überträgt.^[96] Daraus resultiert der Name *Inhibitors of Wnt Production* (IWP) für die neue Molekülklasse.^[95] Die IWP-Verbindungen weisen dabei eine chemische Grundstruktur auf, die mit denen von CK1 δ -Inhibitoren vergleichbar ist. Insbesondere das Benzothiazol-Grundgerüst findet sich in einer Vielzahl von CK1 δ -Inhibitoren wieder (vgl. **Tabelle 1.4**).^[26,93,94] Die **Abbildung 1.7** zeigt die strukturelle Ähnlichkeit der Verbindung IWP-2 (**9**) zu dem Inhibitor **8** von SALADO *et al.*^[94]

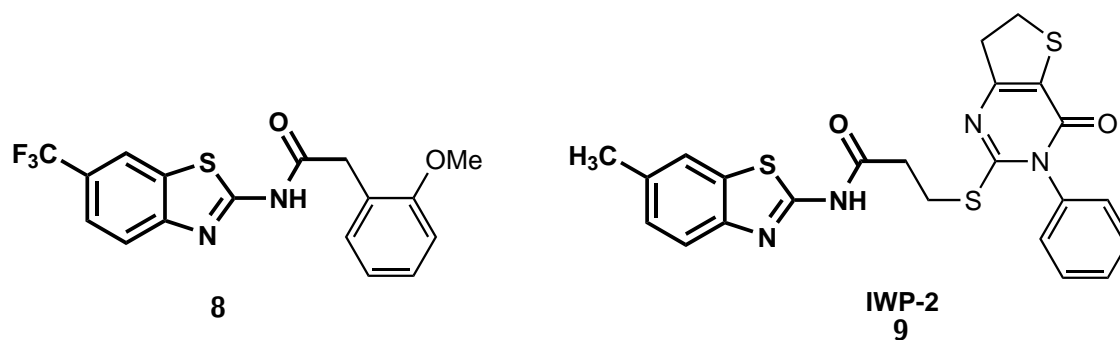


Abbildung 1.7: Struktureller Vergleich des Inhibitors **8** von SALADO *et al.*^[94] und der Verbindung IWP-2 (**9**).^[95]

Durch den Strukturvergleich ergab sich die Rationale, IWP-Verbindungen ebenfalls als CK1 δ -Inhibitoren zu testen. Es zeigte sich, dass die Verbindungen IWP-2-4 in der Lage sind, CK1 δ mit IC₅₀-Werten in mikromolaren Konzentrationen zu inhibieren.^[20] Die Verbindung IWP-2 weist gegenüber CK1 δ einen IC₅₀-Wert von $0.93 \pm 0.15 \mu\text{M}$ auf. Insbesondere die hohe Selektivität gegenüber der *gatekeeper*-Mutante ^{M82F}CK1 δ der IWP-Verbindungen (IWP-2: IC₅₀(^{M82F}CK1 δ) = $0.04 \pm 0.01 \mu\text{M}$) ist bemerkenswert. Darüber hinaus ergibt sich aus der Testung von IWP-2 (**9**) in einem *panel* von 320 Kinasen eine hohe Selektivität der Verbindungen für CK1 δ gegenüber anderen Kinasen. Bei einer Testkonzentration von $1 \mu\text{M}$ wird ausschließlich CK1 δ mit einer Restaktivität von 55 % inhibiert.^[20] Damit bieten die IWP-Verbindungen eine hervorragende Grundlage zur weiteren Entwicklung von selektiven CK1 δ -Inhibitoren, insbesondere Inhibitoren von Mutanten von CK1 δ .

1.3. Die Verwendung von Aminosäuren und Salzen in Wirkstoffen

1.3.1. Aminosäuren

Viele der bekannten smKI weisen eine hohe Lipophilie auf, unter anderem, da sie die hydrophoben Bereiche der Bindetasche (HP I und HR II) adressieren und überwiegend aus aromatischen Bausteinen aufgebaut sind.^[2,97] Eine hohe Lipophilie stellt aber immer auch ein Problem dar, da im Allgemeinen erst eine gewisse Wasserlöslichkeit die orale Bioverfügbarkeit gewährleistet.^[97] Ein anerkanntes Konzept zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von schlecht absorbierbaren Wirkstoffen, vor allem in Prodrug-Konzepten, ist die Verwendung von Naturstoffen.^[98,99] Prodrugs, die natürliche L-Aminosäuren enthalten, werden aktiv resorbiert und die Aminosäuren von Enzymen erkannt und abgespalten, wodurch der Wirkstoff freigesetzt wird.^[98] Sind die Aminosäuren Teil des Wirkstoffes, kann hingegen auf die D-Aminosäuren zurückgegriffen werden, die zwar sehr ähnliche physikochemische Eigenschaften besitzen, aber weniger zur Hydrolyse durch Enzyme neigen.^[100] Aminosäuren bieten bei der Wirkstoffentwicklung eine Vielzahl von Vorteilen, die in **Tabelle 1.5** zusammengefasst sind.^[98,101]

Tabelle 1.5: Vorteile bei der Verwendung von Aminosäuren bei der Wirkstoffentwicklung [Adaptiert von VIG 2013].^[101]

Vorteile von Aminosäuren

- große strukturelle Vielfalt
 - Vielzahl von funktionellen Gruppen
 - kommerziell erhältlich
 - bekannte Chemie
 - werden physiologisch als unproblematisch betrachtet
 - *Carrier*-vermittelter Transport durch die Zellmembran
 - verbesserte pharmakologische Eigenschaften
 - verbesserte Löslichkeit
-

Nach der oralen Gabe von Wirkstoffen werden diese meistens passiv (transzellulär oder parazellulär) in die Zelle aufgenommen.^[102,103] Da Aminosäuren bei physiologischem

pH-Wert allerdings geladen vorliegen, weisen sie nur eine geringe Membranpermeabilität auf. Dieser vermeintliche Nachteil kann aber durch den aktiven Membrantransport durch Aminosäure- und Peptid-Transporter ausgeglichen werden (vgl. **Abbildung 1.8**).^[104,105]

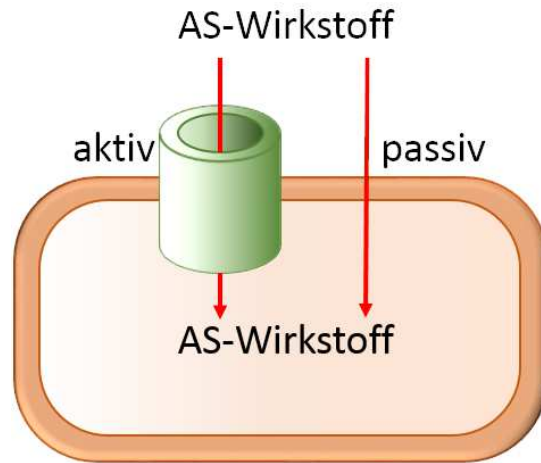


Abbildung 1.8: Mögliche Transportmechanismen zur zellulären Aufnahme Aminosäuregekoppelter Wirkstoffe (AS-Wirkstoff).^[101]

Ein Vorreiter der Aminosäure-gekoppelten Prodrugs ist Valaciclovir (Valtrex®, GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG), das gegenüber seinem Vorläuferwirkstoff Aciclovir eine drei bis sechsfach höhere orale Bioverfügbarkeit besitzt ($> 60\%$ ^[106] gegenüber $10\text{-}20\%$ ^[107,108]). Valaciclovir wird von dem Peptidtransporter 1 (PepT1)^[109] und dem Natrium-abhängigen Aminosäuretransporter $\text{ATB}^{0,+}$ in die Zelle eingebracht^[110] und anschließend durch das *Biphenyl Hydrolase-Like* Protein (BPHL) hydrolysiert.^[111]

Das Beispiel zeigt, dass Wirkstoffe gezielt so entworfen werden können, dass ein aktiver Transport durch die Zellmembran ausgenutzt werden kann. Nichtsdestotrotz müssen diese Wirkstoffe die strukturellen Eigenschaften von natürlichen Substraten nachahmen, um von den Transportern erkannt zu werden.^[104,105] Als weiteres Beispiel, dass Aminosäure-Transporter dennoch durchaus größere Moleküle resorbieren, können die von HUTTUNEN *et al.* publizierten Verbindungen gezeigt werden. Die Autoren konnten nachweisen, dass der *Large neutral amino acid*-Transporter (LAT1), der normalerweise große Aminosäuren wie L-Histidin, L-Tyrosin oder L-Tryptophan transportiert,^[112] in der Lage ist, sechs verschiedene Prodrugs zu transportieren. In **Abbildung 1.9** sind drei Beispiele gezeigt. Der Transport gelingt dabei unabhängig davon, ob eine D- oder L-Aminosäure eingesetzt wurde.^[113]

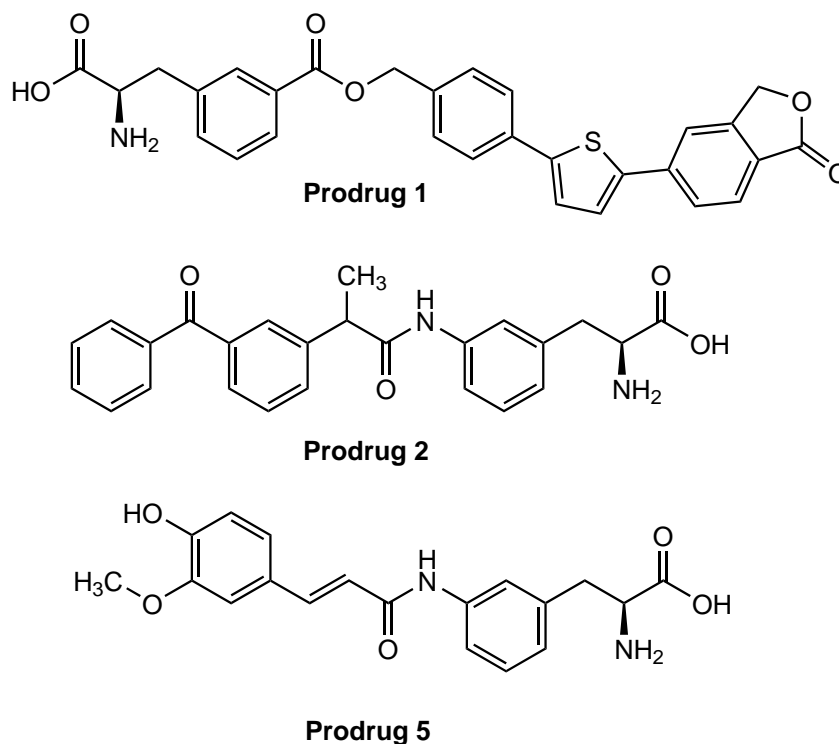


Abbildung 1.9: Drei der sechs von HUTTUNEN *et al.* getesteten Prodrug-Systeme, die von LAT1 transportiert werden können.^[113]

1.3.2. Salze

Neben der Verwendung von Aminosäuren zur Verbesserung der Löslichkeit sind vor allem Salze in der Wirkstoffentwicklung etabliert.^[114,115] Es werden inzwischen schätzungsweise die Hälfte aller potentiell therapeutischen Moleküle als Salz entworfen, um ihre physikochemischen Eigenschaften zu verbessern.^[114,116–118] Ein Hauptkriterium für den Einsatz von Salzen ist die höhere Wasserlöslichkeit und die dadurch größere Wahrscheinlichkeit, den biologischen Wirkort zu erreichen und das unabhängig von der Applikationsmethode.^[114,115,119] Darüber hinaus bieten Salze aber auch den Vorteil der leichten Aufreinigung durch Rekrystallisation, eine hohe chemische Stabilität und eine gewisse Vermeidung von Polymorphie.^[120]

2 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit ist die medizinisch-chemische Optimierung von IWP (*Inhibitors of Wnt Production*)-Derivaten für die Entwicklung neuer CK1 δ -Inhibitoren. IWP-Derivate, die durch die Inhibition von Porcupine (Porcn) in der Lage sind, das Wnt/ β -Catenin abhängige Signal zu unterbinden,^[95] weisen mit dem Benzothiazol-Grundgerüst eine chemische Grundstruktur auf, die mit denen von CK1 δ -Inhibitoren vergleichbar ist. Im Vorfeld dieser Arbeit durchgeführte Kinase-Assays zeigten, dass die Verbindungen IWP-2-4 in der Lage sind, CK1 δ mit IC₅₀-Werten in mikromolaren Konzentrationen zu inhibieren und insbesondere eine hohe Selektivität für die *gatekeeper*-Mutante ^{M82F}CK1 δ aufweisen.^[20] Die Grundstruktur von IWP-2 (**9**) und IWP-2-v2 (**10**, s. **Abbildung 2.1**) sollte dabei schrittweise modifiziert werden, um die Potenz gegenüber CK1 δ zu vergrößern und idealerweise die Selektivität für die *gatekeeper*-Mutante ^{M82F}CK1 δ beizubehalten.

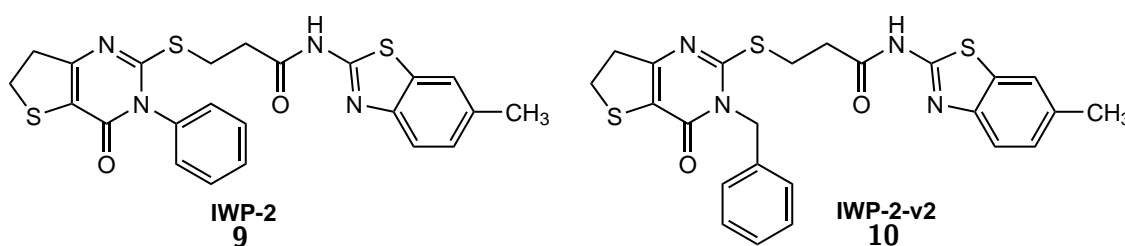


Abbildung 2.1: Durch die medizinisch-chemische Optimierung der Leitstrukturen IWP-2 (**9**) und IWP-2-v2 (**10**)^[95] sollen neue CK1 δ -Inhibitoren entwickelt werden.

Die allgemeine Vorgehensweise orientiert sich dabei an einem iterativen Arbeitsablauf. Die zu optimierenden Leitstrukturen **9** und **10** sollten zunächst im Molecular Modeling hinsichtlich ihres Bindemodus in der CK1 δ untersucht und durch die schrittweise strukturelle Abwandlung der sogenannte *docking score*, der ein berechnetes Maß für die Bindeaffinität der Liganden in der Bindetasche darstellt, verbessert werden. Die rational designten Verbindungen sollten anschließend sortiert und eine Auswahl von Liganden synthetisiert werden. Durch die nachfolgende biologische Evaluierung der Zielverbindungen sowie die Bestimmung von Ligand-Protein-Komplexen mittels Kristallstrukturanalyse, sollte das Design-Konzept validiert und Rückschlüsse für weitergehende Modifizierungen gezogen werden (vgl. **Abbildung 2.2**).

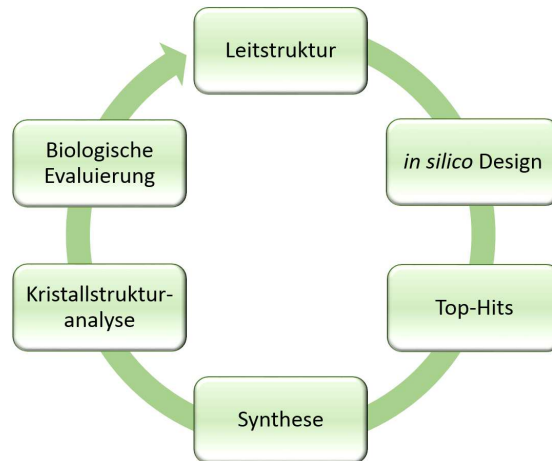


Abbildung 2.2: Die zu optimierenden Leitstrukturen sollten zunächst im Molecular Modeling untersucht und schrittweise strukturell abgewandelt werden. Die Top-Hits der rational designten Verbindungen sollten anschließend synthetisiert werden. Die biologische Evaluierung sowie die Kristallstrukturanalyse von Ligand-Protein-Komplexen sollten Hinweise für weitergehende Modifizierungen geben, um die optimierte Leitstruktur erneut zu verbessern.

Der erste Ansatz zur strukturellen Optimierung sah den Austausch der Methylgruppe am Benzothiazol-Baustein durch eine Trifluormethylgruppe vor. Das Strukturmotiv des Trifluormethyl-substituierten Benzothiazols für CK1 δ -Inhibitoren ist bereits bekannt und hat sich als affinitätssteigernd erwiesen. Darüber hinaus wurde schrittweise der Tetrahydrothienopyrimidinon-Baustein modifiziert. Die erste Variation sah dabei eine Substitution des Phenyl- beziehungsweise Benzylrests vor (vgl. **Abbildung 2.3**).

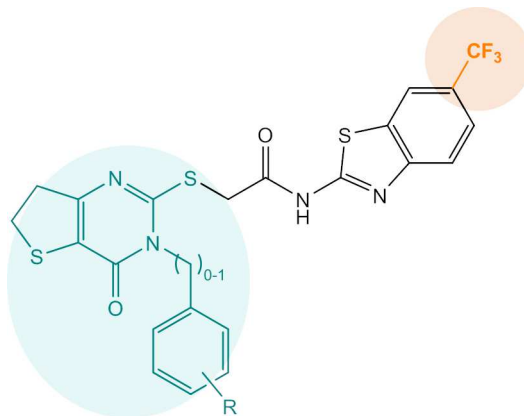


Abbildung 2.3: Für die medizinisch-chemische Optimierung der Leitstruktur wurde zunächst die Methylgruppe am Benzothiazol-Baustein durch eine Trifluormethylgruppe ersetzt. Der Tetrahydrothienopyrimidinon-Baustein wurde schrittweise modifiziert. Die erste Variation sah dabei eine Substitution des Phenyl- beziehungsweise Benzylrests vor.

Darüber hinaus sollte ausgehend von dem Benzothiazol-Baustein ein potentieller DFG-*out*-Inhibitor für CK1 δ entworfen und synthetisiert werden.

3 Design und Modeling

Um die Struktur-Wirkungsbeziehung eines Liganden verstehen zu können, ist eine Kristallstruktur des Proteins, in dem der Ligand gebunden ist, eine hervorragende Ausgangsposition. PICHLO *et al.* veröffentlichten eine Kristallstruktur des Liganden IWP-2 (**9**),^[95,121] der in der Bindetasche von CK1 δ gebunden ist (pdb: 5OKT).^[19,20] Da in dieser Arbeit die Leitstruktur IWP-2 (**9**) beziehungsweise IWP-2-v2 (**10**)^[95,121] hinsichtlich der Affinität gegenüber CK1 δ verbessert werden sollte, wurde die Kristallstruktur 5OKT in dieser Arbeit für ein Liganden *screening* verwendet.

Um neue Liganden einer Substanzbibliothek hinsichtlich ihrer Bindeaffinität zu einem Protein beurteilen zu können, kann das Programm *Maestro* von Schrödinger verwendet werden. Durch verschiedene implementierte Anwendungen wird ein sogenannter *docking score* ermittelt. Der *docking score* ist dabei ein berechnetes Maß für die Bindeaffinität des Liganden in der Bindetasche des Zielproteins und lässt sich mit den folgenden Gleichungen (1) - (5) beschreiben. Da für die Berechnungen der *XP-workflow* von GLIDE und das *Induced fit* (IFD)-Protokoll angewendet wurden, beziehen sich die Gleichungen auf die damit berechneten *scores*.^[122–124] Details zu verwendeten Programmversionen und zu der Durchführung werden in **Kapitel 8.1** behandelt. Die Beschreibung der einzelnen Parameter in den Gleichungen erfolgt in **Tabelle 3.1**.

$$\text{Docking Score} = XP \text{ GlideScore} + \text{Epic state penalty} \quad (1)$$

$$XP \text{ GlideScore} = E_{\text{coul}} + E_{\text{vdW}} + E_{\text{bind}} + E_{\text{penalty}} \quad (2)$$

$$E_{\text{bind}} = E_{\text{hyd_enclosure}} + E_{\text{hb_nn_motif}} + E_{\text{hb_cc_motif}} + E_{PI} \\ + E_{\text{hb_pair}} + E_{\text{phobic_pair}} \quad (3)$$

$$E_{\text{penalty}} = E_{\text{desolv}} + E_{\text{ligand_strain}} \quad (4)$$

$$IFD\text{Score} = XP \text{ GlideScore} + 0.05 \cdot \text{Prime Energy} \quad (5)$$

Tabelle 3.1: Beschreibung der Parameter für die Berechnungen des *docking score*.^[122,125]

Parameter	Beschreibung
E_{coul}	Coulomb-Energie
E_{vdW}	VAN-DER-WAALS-Wechselwirkungen
E_{bind}	Energietherme, die eine Bindung favorisieren
E_{phobic_pair}	hydrophobe Atom-Atom-Paarungsenergie, berücksichtigt interatomare Abstände und spiegelt den Austausch von Wassermolekülen durch hydrophobe Liganden wider
$E_{hyd_enclosure}$	hydrophobe Begrenzung, Erweiterung zu E_{phobic_pair} , zusätzliche Unterscheidung zwischen Umgebungsgeometrien
E_{hb_pair}	Wasserstoffbrückenbindungs-Term
$E_{hb_nn_motif}$	spezieller neutral-neutral-Wasserstoffbrückenbindungs-Term Ergänzung zum E_{hb_pair} -Term
$E_{hb_cc_motif}$	spezieller geladen-geladen-Wasserstoffbrückenbindungs-Term Ergänzung zum E_{hb_pair} -Term
E_{PI}	Berücksichtigt π -stacking, π -Kationen-Wechselwirkungen, die Platzierung von Halogenatomen in hydrophoben Bereichen und empirische Korrekturterme
$E_{penalty}$	Energieterme, die eine Bindung stören
E_{desolv}	Einbuße durch Desolvatation
E_{ligand_strain}	Einbuße durch Spannungsenergie

Die Visualisierung der Kristallstruktur erfolgt ebenfalls mit dem Programm *Maestro*. In **Abbildung 3.1** ist die 3D-Struktur (**A**) sowie das 2D-Ligand-Interaktionsdiagramm (**B**) der Kristallstruktur 5OKT zu sehen. IWP-2 (**9**) bildet zwei Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region (Leu85) aus. Der Benzothiazol-Ring ragt mit seiner Methylgruppe in die

hydrophobe Tasche I (HP I). Der Phenyl-substituierte Tetrahydrothienopyrimidinon-Rest ist zur Lösungsmittel-exponierten hydrophoben Region II (HR II) hin ausgerichtet. Die Carbonylgruppe bildet dabei zwei weitere Wasserstoffbrückenbindungen zur Seitenkette des Arg13 aus. Zusätzlich findet eine π -Kation-Wechselwirkung zwischen dem Phenyl-Rest und dem Guanidin-Rest von Arg13 statt.

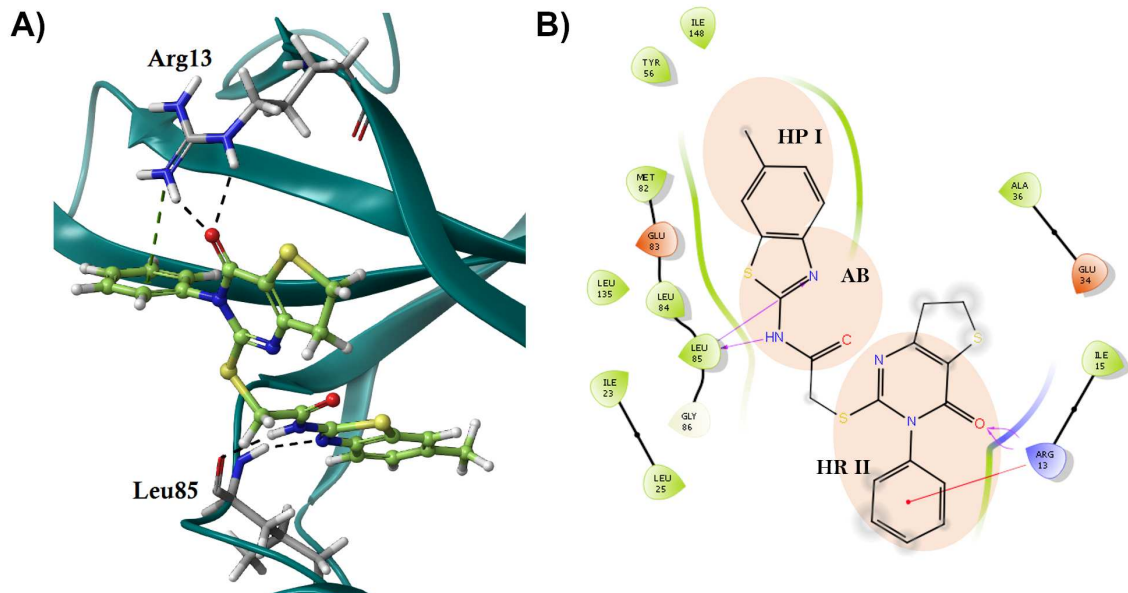


Abbildung 3.1: Experimentell bestimmter Bindemodus des Liganden IWP-2 in der Bindetasche von CK1 δ (pdb: 5OKT). **A)** 3D-Darstellung des Bindemodus. Die Aminosäuren Leu85 der *hinge*-Region sowie Arg13 sind abgebildet. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und π -Kation-Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linie dargestellt. **B)** 2D-Ligand-Interaktionsdiagramm. Wasserstoffbrückenbindungen werden also violette Pfeile dargestellt und π -Kation-Wechselwirkungen als rote Striche.^[20]

3.1. Serie 1

Die erste Modifikation, die vorgenommen wurde, ist der Austausch der Methylgruppe am Benzothiazol durch eine Trifluormethylgruppe. Das Strukturmotiv des Trifluormethylsubstituierten Benzothiazols^[94] beziehungsweise Benzimidazols^[79] für CK1 δ -Inhibitoren ist bereits bekannt und hat sich als affinitätssteigernd erwiesen. Da die Methylgruppe in der HP I liegt, werden durch den Austausch zu einer Trifluormethylgruppe die hydrophoben Wechselwirkungen verstärkt. Der Effekt zeigt sich im berechneten *docking score*, wenn auch nur minimal. Neben der Methylgruppe wurde bei der ersten Serie die Tetrahydrothieno-Seitenkette eingehender betrachtet. Durch die Substitution des Phenyl- (IWP-2) beziehungsweise Benzyl-Rings (IWP-2-v2) sollten die Wechselwirkungen in der HR II beeinflusst werden. Da diese Region zum Lösungsmittel hin offen liegt, eignen sich

beispielsweise konformativ flexible Methoxygruppen zur besseren Abschirmung des Lösungsmittels gegenüber der Bindetasche. Es wurden aber auch Trifluormethylgruppen oder Halogene eingebracht, um hydrophobe Wechselwirkungen zu verstärken. In **Tabelle 3.2** ist eine Übersicht einiger rational designter und vorberechneter Liganden mit Angabe der *docking scores* zu sehen.

In **Abbildung 3.2** ist der Ligand **11c** in der Bindetasche von CK1 δ zu sehen. **Abbildung A)** zeigt den Bindemodus, der mit GLIDE berechnet wurde und **Abbildung B)** den Bindemodus, der mit IFD berechnet wurde. In beiden Fällen werden zwei Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region (Leu85) ausgebildet und zwei weitere Wasserstoffbrückenbindungen zur Seitenkette des Arg13.

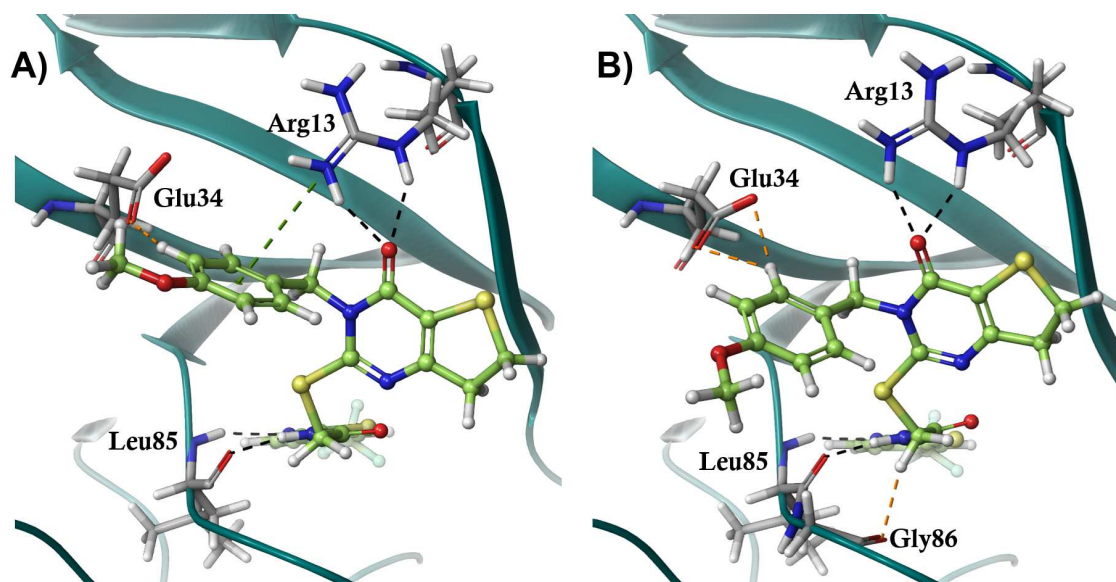


Abbildung 3.2: Berechneter Bindemodus des Liganden **11c** in 5OKT. **A)** Mit GLIDE berechneter Bindemodus und **B)** mit IFD berechneter Bindemodus. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und π -Kation-Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linie dargestellt. Repulsive Wechselwirkungen sind durch orange gestrichelte Linien gekennzeichnet.

Der berechnete Bindemodus des Liganden **11c** ist dem Bindemodus von IWP-2 (**9**) sehr ähnlich. Die zusätzliche π -Kation-Wechselwirkung, die IWP-2 (**9**) aufweist, kann bei dem Liganden **11c** allerdings nur bei der GLIDE-Rechnung beobachtet werden. Der mit IFD berechnete Bindemodus weist außerdem vermehrt repulsive Wechselwirkungen (orange gestrichelte Linien) auf. Dennoch, vergleicht man den *docking score*, schneidet der mit IFD berechnete Bindemodus etwas besser ab (Glide(DS) = -10.8, IFD(DS) = -11.9).

In **Abbildung 3.3** ist darüber hinaus **A)** der Bindemodus des Liganden **11j** und **B)** des Liganden **11i** zu sehen (beide berechnet mit IFD). Der Ligand **11j** weist die gleichen

Bindungsmuster auf, wie IWP-2 (**9**). Demgegenüber steht der Ligand **11i**, der den Benzylsubstituierten Tetrahydrothienopyrimidinon-Rest zur unteren Seite der Bindetasche orientiert. Die zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindungen zum Arg13 können nicht ausgebildet werden, sodass die Wasserstoffbrückenbindungen, die zur *hinge*-Region bestehen, in dem Bindemodus die einzigen sind. Der Vergleich der *docking scores* zeigt aber, dass die zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindungen scheinbar keine Rolle spielen (**11j**: IFD(DS) = -12.0, **11i**: IFD(DS) = -12.2). Allerdings kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, dass der in **Abbildung 3.3 B**) gezeigte Bindemodus der Realität entspricht.

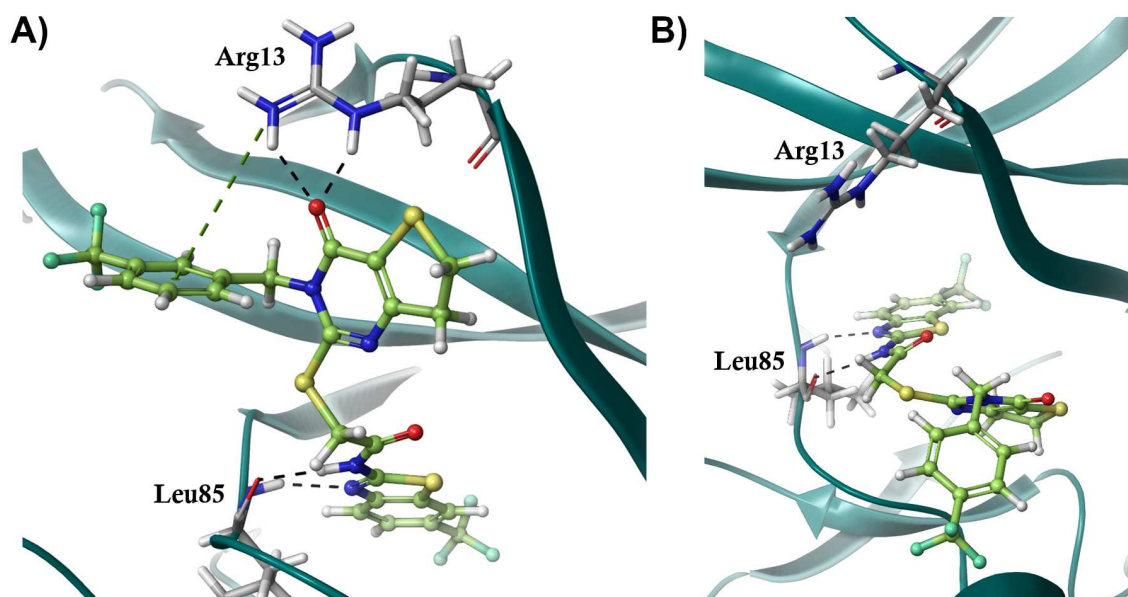
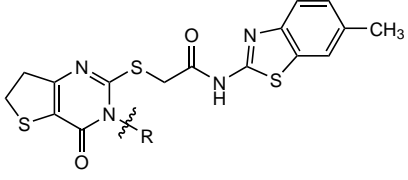

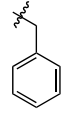
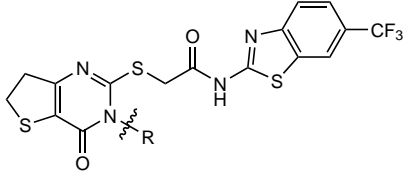

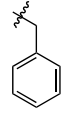
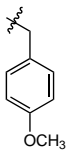
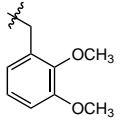
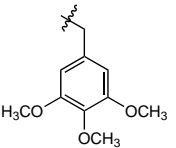
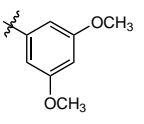
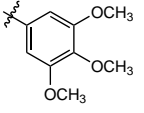
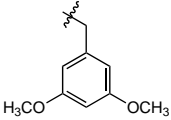
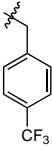
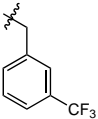
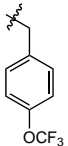
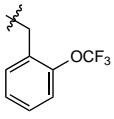
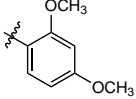
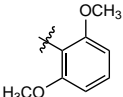


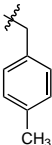
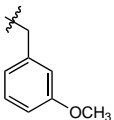


Abbildung 3.3: Mit IFD berechneter Bindemodus **A**) des Liganden **11j** und **B**) des Liganden **11i** in 5OKT. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und π -Kation-Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linien dargestellt.

Die Ergebnisse aus den Berechnungen machen deutlich, dass das Modeling in diesem Fall an seine Grenzen stößt. Es zeigen sich kaum Unterschiede in den berechneten *docking scores*, unabhängig davon, welche Substituenten eingeführt wurden. Auch die Unterschiede zwischen den mit GLIDE berechneten *docking scores* und den mit IFD berechneten *docking scores* sind meist nur minimal und zu vernachlässigen. Damit liefert das Modeling aber auch nur einen minimalen Anhaltspunkt, welche Substituenten für die Synthese favorisiert werden könnten. Im Rahmen tiefergehender Modeling-Studien könnte die Berechnung Entropie-basierter Wasser-Modelle (*watermap*)^[126,127] validere Aussagen ermöglichen. Aber auch aufwändigere quantenmechanische Rechnungen könnten einen besseren Einblick in die möglichen Unterschiede der Bindeaffinität verschiedener Liganden liefern.

Tabelle 3.2: Mit GLIDE und *induced fit docking* (IFD) berechnete *docking scores* (DS) der Liganden der **Serie 1**.

#	Struktur	Glide (DS)	IFD (DS)
			
9		-9.5	-9.9
10		-9.4	-10.3
			
11a		-10.5	-11.8
11b		-10.7	-12.2
11c		-10.8	-11.9
11d		-11.1	-12.7
11e		-11.0	-12.4
11f		-10.5	-12.4
11g		-8.2	-12.3

#	Struktur	Glide (DS)	IFD (DS)
11h		-11.1	-12.5
11i		-10.9	-12.2
11j		-10.9	-12.0
11k		-10.6	-12.6
11l		-11.2	-12.5
11m		-11.1	-8.0
11n		-10.9	-7.1
11o		-10.8	-11.6
11p		-10.2	-10.7
11q		-10.6	-11.7
11r		-10.9	-11.1

3.2. Serie 2

In der zweiten Serie wurde der Einfluss des Tetrahydrothieno-Rings auf die Bindeaffinität betrachtet. Durch den Austausch des Tetrahydrothienopyrimidinon-Bausteins durch Chinazolinone ergeben sich minimale Veränderungen der Bindungs- und Torsionswinkel. Eine Überlagerung des mit Glide berechneten Bindemodus des Liganden **12a** und dem Liganden IWP-2 in der Kristallstruktur 5OKT ist in **Abbildung 3.4** zu sehen. Zwar bilden beide Liganden die gleichen Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region (Leu85) und zum Arg13 aus, allerdings kommt es zur Verdrehung der Thioether-Brücke, sodass sich der Chinazolinon-Rest leicht verschiebt. Zusätzlich rotiert der Phenyl-Substituent, wodurch sich der Abstand zum Guanidin-Rest von Arg13 vergrößert. Der resultierende *docking score* des Liganden **12a** ist dadurch minimal schlechter als der von IWP-2 (**9**) (**9**: Glide(DS) = -9.5, **12a**: Glide(DS) = -8.7).

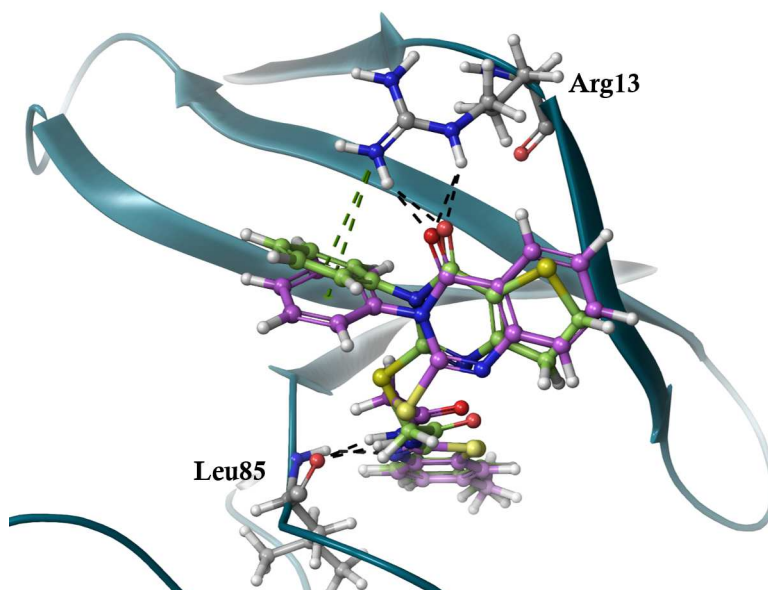
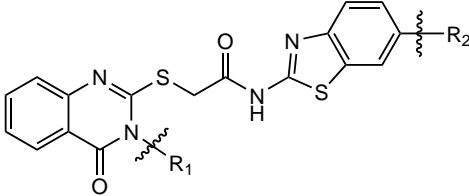


Abbildung 3.4: Überlagerung des mit Glide berechneten Bindemodus des Liganden **12a** und der Kristallstruktur 5OKT. Der Ligand IWP-2 (**9**) ist in grün dargestellt, der Ligand **12a** in violett. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und π -Kation-Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linien dargestellt.

Zusätzlich zu der zu IWP-2 (**9**) analogen Chinazolinon-Verbindung **12a** wurden auch die IWP-2-v2 (**10**) analoge Verbindung **12b** und die Trifluormethyl-substituierten Verbindungen **13a** und **13b** berechnet. Eine Übersicht über die berechneten *docking scores* ist in **Tabelle 3.3** zu sehen.

3.3. SERIE 3

Tabelle 3.3: Mit GLIDE und *induced fit docking* (IFD) berechnete *docking scores* (DS) der Liganden der **Serie 2**.



#	R ₁	R ₂	Glide (DS)	IFD (DS)
12a	Phenyl	CH ₃	-8.7	-10.0
12b	Benzyl	CH ₃	-9.0	-10.7
13a	Phenyl	CF ₃	-10.5	-11.0
13b	Benzyl	CF ₃	-10.2	-11.1

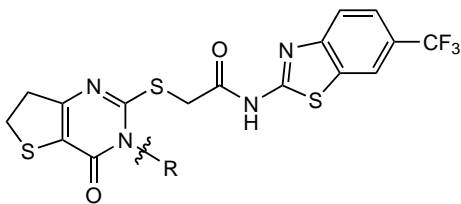
Die berechneten *docking scores* deuten an, dass die Chinazolinon-Derivate **12a,b** und **13a,b** etwas schlechter binden als die Verbindungen der **Serie 1**. Der Unterschied der mit GLIDE berechneten *docking scores* ist dabei größer als bei den mit IFD berechneten Werten. Die geringeren Unterschiede der *docking scores*, die mit IFD berechnet wurden, können dadurch erklärt werden, dass dem Protein eine gewisse Flexibilität ermöglicht wird.

3.3. Serie 3

Da sowohl die Kristallstruktur von IWP-2 in CK1 δ als auch das bisherige Modeling nahelegen, dass es zu einer π -Kation-Wechselwirkung zwischen dem Benzol-Ring der Tetrahydrothienopyrimidinon-Seitenkette und der Guanidin-Gruppe von Arg13 kommt, wurde in der nächsten Serie dieser Einfluss näher betrachtet. Statt Verbindungen mit aromatischen Resten, wurden Verbindungen mit verschiedenen Alkylresten sowie ein unsubstituiertes Derivat **14d** berechnet. Zum einen ergibt sich durch den geringeren sterischen Anspruch der Alkylreste mehr Spielraum für den Tetrahydrothienopyrimidinon-Rest, zum anderen entfallen die π -Kation-Wechselwirkungen.

Die Übersicht der *docking scores* der Liganden der **Serie 3** sind in **Tabelle 3.4** zusammengefasst.

Tabelle 3.4: Mit GLIDE und *induced fit docking* (IFD) berechnete *docking scores* (DS) der Liganden der **Serie 3**.



#	R	Glide (DS)	IFD (DS)
14a	CH ₃	-10.6	-11.2
14b	CH ₂ CH ₃	-10.9	-12.0
14c	CH(CH ₃) ₂	-10.7	-11.1
14d	H	-10.8	-11.9
14e	C(CH ₃) ₃	-10.8	-11.4

Bei der Verbindung **14d** ist zu beobachten, dass durch die Tautomerie des Pyrimidinons der Bindemodus im IFD stark variiert. In **Abbildung 3.5** sind die drei möglichen Tautomere in der 3D-Darstellung und als 2D-Ligandinteraktionsdiagramm zu sehen. Das *3H*-Tautomer (s. **A**) und **B**)) bildet lediglich zwei Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region aus, der Tetrahydrothienopyrimidinon-Baustein liegt flach in dem zum Solvens offenen Bereich der Bindetasche. Dem gegenüber steht das *1H*-Tautomer (s. **A**) und **B**)), das zusätzlich zu den Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region zwei weitere Wasserstoffbrückenbindungen zum Arg13 ausbildet. Das *OH*-Tautomer (s. **E**) und **F**)) weist neben den Bindungen zur *hinge*-Region noch eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zum Ser88 auf. Trotz der Unterschiede in der Bindung variieren die dazugehörigen *docking scores* kaum. Lediglich das *OH*-Tautomer hat einen etwas schlechteren *docking score* (**14d**(*3H*-Taut): IFD(DS) = -11.9, **14d**(*1H*-Taut): IFD(DS) = -11.2, **14d**(*OH*-Taut): IFD(DS) = -9.3). Dieser schlechtere *docking score* ergibt sich dabei vor allem aus den im XP-workflow einfließenden *epic state penalties*. Es ist bekannt, dass durch den Einfluss der *epic state penalties docking* Ergebnisse fälschlicherweise verzerrt werden können.^[128] Vergleicht man in diesem Fall den *GlideScore* (GS), fallen die Unterschiede zwischen den Tautomeren

noch geringer aus (**14d**(3*H*-Taut): IFD(GS) = -12.4, **14d**(1*H*-Taut): IFD(GS) = -12.4, **14d**(*OH*-Taut): IFD(GS) = -11.9). Der tatsächlich vorliegende Bindemodus könnte nur durch eine Kristallisation des Liganden in der Bindetasche von CK1 δ aufgeklärt werden. Insgesamt zeigt sich bei der Berechnung der Liganden der **Serie 3** erneut, dass die Aussagekraft der *docking scores* nicht überstrapaziert werden sollte. Durch die strukturellen Änderungen an der Tetrahydrothienopyrimidinon-Seitenkette zeigt sich im *docking* jeweils kaum ein Unterschied. Die Benzothiazol-Struktur als *hinge-binder* ist für die Berechnung sehr viel ausschlaggebender als die Seitenkette. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Kernstruktur allerdings nicht variiert.

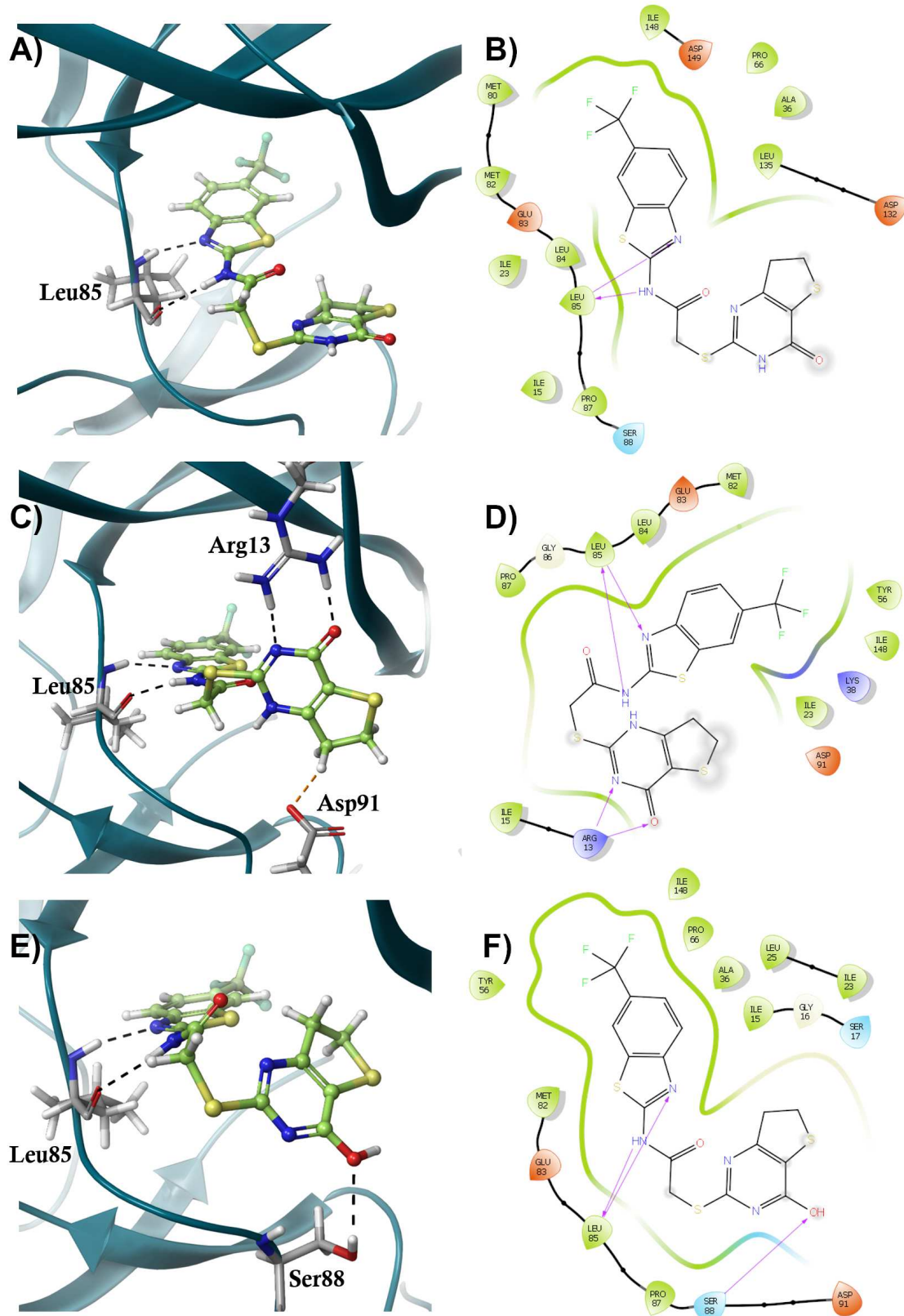


Abbildung 3.5: Bindemodi der verschiedenen Tautomere von **14d** in 5OKT. **A)** 3H-Tautomer in der 3D-Darstellung, **B)** 3H-Tautomer in der 2D-Darstellung, **C)** 1H-Tautomer in der 3D-Darstellung, **D)** 1H-Tautomer in der 2D-Darstellung, **E)** OH-Tautomer in der 3D-Darstellung, **F)** OH-Tautomer in der 2D-Darstellung. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien dargestellt. Repulsive Wechselwirkungen sind durch orange gestrichelte Linien gekennzeichnet.

3.4. Serie 4

Bei dem Design der Verbindungen der **Serie 4** wurde der Tetrahydrothienopyrimidinon-Baustein verkleinert, indem der Schwefelheterozyklus entfernt wurde. Durch den geringeren sterischen Anspruch des Phenyl- beziehungsweise Benzyl-substituierten Pyrimidinon-Bausteins ergibt sich ein neuer Bindemodus der Liganden. In **Abbildung 3.6** sind zwei mögliche Bindemodi des Liganden **15d** zu sehen. Die Berechnung erfolgte mit dem IFD-*workflow*. **Abbildung A)** zeigt den Bindemodus, der aus den vorangegangenen Serien bekannt ist. Der Phenylsubstituent zeigt zur linken Seite der Bindetasche und der Pyrimidinon-Rest bildet zum Guanidin des Arg13 Wasserstoffbrückenbindungen aus. In **Abbildung B)** hingegen ist der Pyrimidinon-Rest um 180° gedreht, sodass der Phenylsubstituent zur rechten Seite der Bindetasche zeigt. Es werden dennoch die Wasserstoffbrückenbindungen zum Arg13 ausgebildet und auch die π -Kation-Wechselwirkung bleibt bestehen. Tatsächlich ist bei der Berechnung der Liganden der **Serie 4** der zweite Bindemodus (**B**) oftmals bevorzugt.

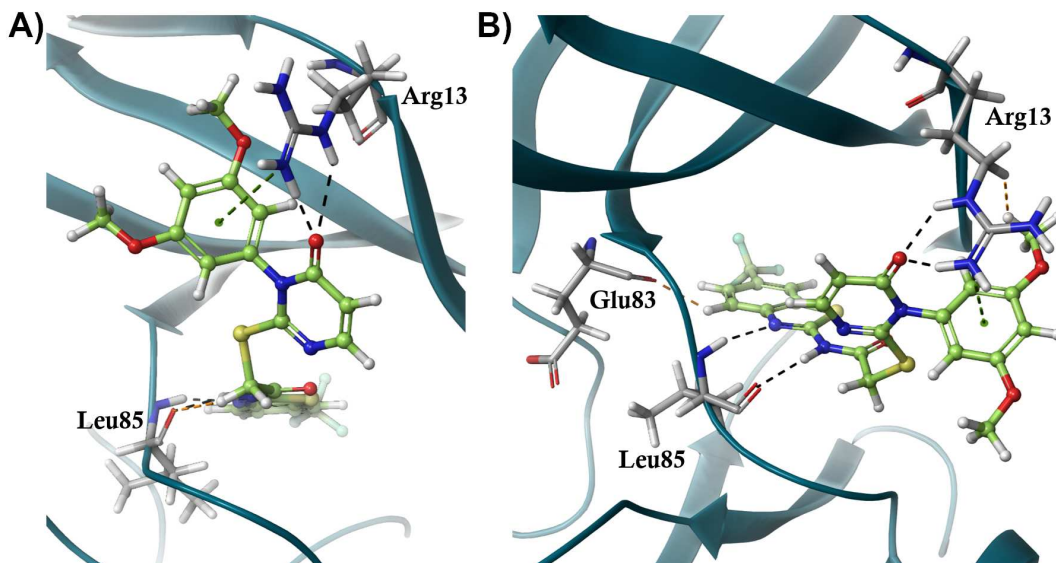


Abbildung 3.6: Der Ligand **15d** in der Bindetasche von CK1 δ (pdb: 5OKT). **A)** Herkömmlicher Bindemodus der IWP-Derivate. **B)** Neuer Bindemodus der Liganden der **Serie 4**. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und π -Kation-Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linien dargestellt. Repulsive Wechselwirkungen sind durch orange gestrichelte Linien gekennzeichnet.

In den **Tabellen 3.5 und 3.6** sind einige rational designte Phenyl- beziehungsweise Benzyl-substituierte Liganden der **Serie 4** aufgelistet. Zusätzlich zu der Angabe der *docking scores* ist auch der mit IFD berechnete bevorzugte Bindemodus (BM) angegeben.

Tabelle 3.5: Mit GLIDE und *induced fit docking* (IFD) berechnete *docking scores* (DS) der Phenyl-substituierten Liganden der **Serie 4** mit Angabe des Bindemodus (BM) bei der Berechnung mit IFD.

#	Struktur	Glide (DS)	IFD (DS)	IFD _{BM}
15a		-11.7	-12.1	B
15b		-12.3	-12.9	B
15c		-12.4	-12.5	B
15d		-12.1	-12.6	B
15e		-12.1	-12.6	A
15f		-11.8	-13.0	B
15g		12.1	-13.0	B
15h		12.0	-12.7	A
15i		11.4	-12.4	A

3.4. SERIE 4

Tabelle 3.6: Mit GLIDE und *induced fit docking* (IFD) berechnete *docking scores* (DS) der Benzyl-substituierten Liganden der **Serie 4** mit Angabe des Bindemodus (BM) bei der Berechnung mit IFD.

#	Struktur	Glide (DS)	IFD (DS)	IFD _{BM}
16a		-10.9	-12.1	B
16b		-10.9	-12.4	A
16c		-11.0	-12.4	B
16d		-10.7	-12.4	B
16e		-12.1	-12.5	B
16f		-11.8	-12.5	B
16g		11.2	-12.5	B
16h		12.1	-12.8	B
16i		11.8	-12.5	A

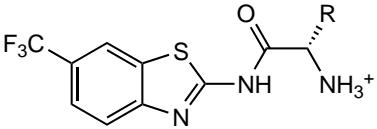
Da wie bei den vorangegangenen Serien auch die berechneten *docking scores* nur minimal voneinander abweichen, wurde bei den Phenyl-substituierten Pyrimidinon-Derivaten das *docking* nicht wesentlich bei der Auswahl der zu synthetisierenden Liganden berücksichtigt. Stattdessen wurden verschiedene Substitutionsmuster mit Methoxygruppen ausgewählt. Die Benzyl-substituierten Pyrimidinon-Derivate wurden im Rahmen der Bachelorarbeit von JOANA BAIER behandelt. Durch den vorgegebenen zeitlichen Rahmen der Bachelorarbeit musste die Auswahl der zu synthetisierenden Liganden begrenzt werden. Es wurde daher zusätzlich zu den *docking scores* eine weitere Entscheidungshilfe hinzugezogen. Mit dem Programm QIKPROP können Vorhersagen zu einigen ADME-Parametern getroffen werden. Das Programm berechnet unter anderem die voraussichtliche Caco-2-Zellpermeabilität. Caco-2 Zellen dienen in der *in vitro* Testung als Modell der Dünndarmschleimhaut und werden zur Vorhersage der oralen Absorption von Wirkstoffen verwendet.^[129] Außerdem wird ein IC₅₀-Wert für die Blockade des hERG-Kanals berechnet. Da es durch die Blockade des hERG-Kanals zu Herzarrhythmien kommen kann,^[130] empfiehlt die FDA, in vorklinischen Studien die Wirkung auf hERG-Kanäle zu untersuchen.^[131] Darüber hinaus wird die Wasserlöslichkeit berechnet sowie Lipinskis *Rule of Five* (RO5). Lipinskis Regel berücksichtigt das Molgewicht, Wasserstoffbrückenbindungs-Donatoren und -Akzeptoren sowie den Verteilungskoeffizient logP zwischen Oktanol und Wasser.^[97] Um eine orale Bioverfügbarkeit gewährleisten zu können, sollte das Molgewicht nicht mehr als 500 Dalton betragen, eine Verbindung nicht mehr als 5 Wasserstoffbrückenbindungs-Donatoren, nicht mehr als 10 Wasserstoffbrückenbindungs-Akzeptoren und einen Verteilungskoeffizienten zwischen Wasser und Oktanol von maximal 5 aufweisen.^[97] Je weniger dieser Regeln gebrochen werden, desto wahrscheinlicher ist eine orale Bioverfügbarkeit. In **Tabelle 3.7** sind für einige der Benzyl-substituierten Pyrimidinon-Derivate die berechneten QikProp-Daten aufgelistet. Die Verbindung **16d** weist im Vergleich zu den anderen Verbindungen deutlich schlechtere Werte auf. Die Verbindung wurde dennoch in die engere Auswahl genommen, da die analoge Verbindung der **Serie 1** einen vergleichsweise guten IC₅₀-Wert aufwies. Die berechnete Wasserlöslichkeit (QPlogS) sollte einen Wert zwischen -6.5 und 0.5 einnehmen, wobei -6.5 für eine schlechte Wasserlöslichkeit und 0.5 für eine sehr gute Wasserlöslichkeit steht. Der Wert für die hERG-Blockade (QPlogHERG) sollte nicht kleiner als -5 sein, und der Wert für die Caco-2-Zellpermeabilität (QPlogCaco) sollte größer als 500 sein. Die besten Werte weist somit die Verbindung **16c** auf.

Tabelle 3.7: Mit QIKPROP berechnete ADME-Parameter für die Verbindungen **16a–d**.

#	QPlogS	QPlogHERG	QPlogCaco	RO5
16a	-6.7	-6.8	777	1
16b	-6.3	-6.6	1088	0
16c	-5.2	-5.3	940	0
16d	-8.6	-7.3	682	2

3.5. Serie 5

Die in **Kapitel 1.3** diskutierten Vorteile von Aminosäuren und Salzen sind beim Design der **Serie 5** eingeflossen. Im Rahmen der Bachelorarbeit von KEVIN BRESSLER wurden proteinogene Aminosäuren an den Benzothiazol-Baustein geknüpft. Die Aminofunktion liegt bei physiologischem pH geladen vor. Es wurden daher für die Berechnungen von vornherein die Salze der Verbindungen betrachtet. Durch die Verwendung des Benzothiazol-Bausteins sollte die Bindung zur *hinge*-Region gewährleistet werden und durch die Verwendung der proteinogenen Aminosäuren und die Bildung des Salzes sollte die Wasserlöslichkeit erhöht werden. Darüber hinaus ermöglichen die Aminosäuren eventuell, dass die Verbindungen durch *Carrier* aktiv resorbiert beziehungsweise in die Zelle eingebracht werden. Die Berechnungen der *docking scores* der Verbindungen der **Serie 5** erfolgten nicht mit der Kristallstruktur 5OKT^[20] sondern mit der Kristallstruktur 4TWC.^[79] Da die Verbindungen der **Serie 5** keinen Pyrimidinon-Baustein besitzen, ist die von den vorherigen Serien bekannte Wechselwirkung zum Arg13 nicht mehr relevant. Die Kristallstruktur 4TWC besitzt eine etwas schmalere Bindetasche, da CK1 δ mit dem sehr linearen Molekül **5** von BISCHOF *et al.* kristallisiert wurde.^[79] Die etwas schmalere Bindetasche sollte die tatsächlichen Bindeverhältnisse der relativ kleinen Liganden der **Serie 5** besser wiedergeben. Die in der Kristallstruktur vorhandene Mutation R13N wurde korrigiert, sodass der Wildtyp vorliegt. In der **Tabelle 3.8** sind die *docking scores* der Aminosäure-verknüpften IWP-Derivate aufgelistet. Es wurde dabei jeweils nur das Ergebnis des Liganden mit der L-Aminosäure mit protonierter Aminofunktion berücksichtigt. Bei Aminosäuren, die weitere funktionelle Gruppen tragen, wurden zusätzliche Ladungen gekennzeichnet.

Tabelle 3.8: Mit GLIDE und *induced fit docking* (IFD) berechnete *docking scores* (DS) der Liganden der Serie 5.


#	AS-Rest	Glide (DS)	IFD (DS)
17a	Ala	-10.6	-11.3
17b	Arg(NH ₂ ⁺)	-12.6	-11.4
17c	Asn	-11.2	-8.9
17d	Asp(COO ⁻)	-10.7	-12.3
17e	Cys	-10.0	-10.0
17f	Gln	-11.1	-11.5
17g	Glu(COO ⁻)	-11.1	-12.0
17h	Gly	-10.5	-10.9
17i	His	-10.4	-10.7
17j	Ile	-11.5	-11.8
17k	Leu	-11.0	-10.9
17l	Lys(NH ₃ ⁺)	-11.2	-10.5
17m	Met	-10.9	-11.4
17n	Phe	-10.7	-11.5
17o	Pro	-10.1	-11.2
17p	Ser	-11.7	-11.7
17q	Thr	-11.6	-11.1
17r	Trp	-11.9	-10.3
17s	Tyr	-11.5	-11.8
17t	Val	-10.6	-11.9

In **Abbildung 3.7** ist der mit IFD berechnete Bindemodus des Liganden **17t** dargestellt. Zusätzlich zu den zwei Wasserstoffbrückenbindungen zum Leu85 wird eine Wasserstoffbrückenbindung zum Gly86 und eine weitere Wasserstoffbrückenbindung zum Asp91 ausgebildet. Darüber hinaus bildet sich zwischen der stereochemisch definierten L-Ammoniumfunktion und der Carboxylatgruppe des Asp91 eine Salzbrücke.

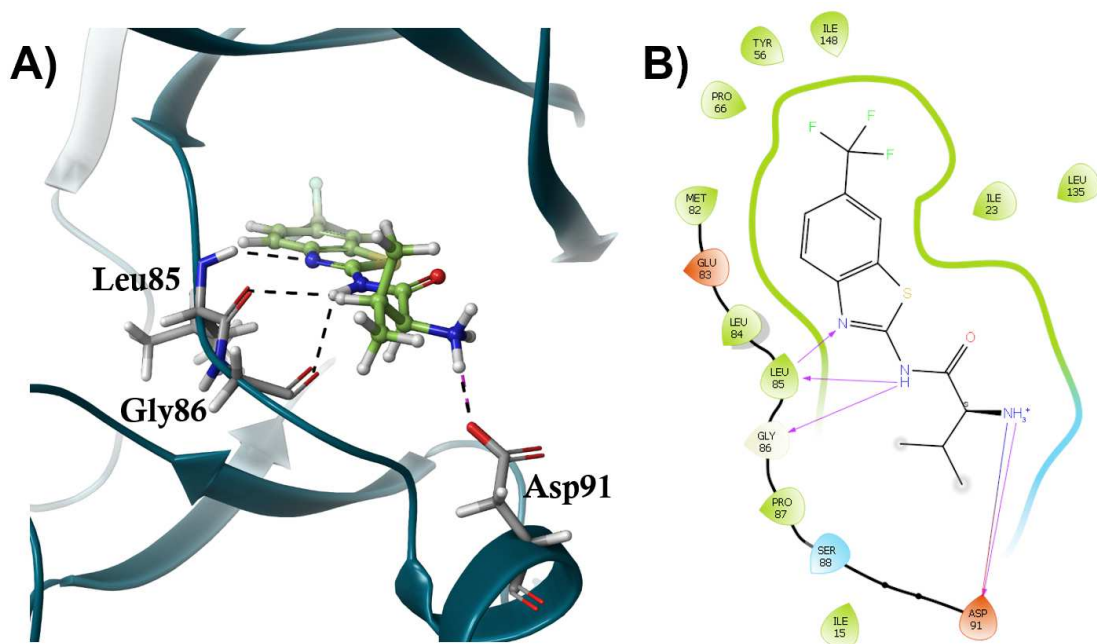


Abbildung 3.7: Bindemodus des Liganden **17t** in der Bindetasche von CK1 δ (pdb: 4TWC).^[79]
A) 3D-Darstellung. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und Salzbrücken als violette gestrichelte Linien dargestellt. **B)** 2D-Ligand-Interaktionsdiagramm. Wasserstoffbrückenbindungen sind als violette Pfeile und Salzbrücken als blau-rote Pfeile dargestellt.

Wie auch schon bei der **Serie 4** wurden bei der **Serie 5** einige ADME-Parameter mit dem Programm QIKPROP berechnet (s. **Tabelle 3.9**). Wie zu erwarten war, sind die berechneten Werte für die Wasserlöslichkeit der Liganden **17a–t** im Vergleich zu den Verbindungen der vorangegangenen Serien deutlich besser. Auch die Wahrscheinlichkeit für eine hERG-Kanal Blockade fällt bei den Verbindungen der **Serie 5** deutlich geringer aus. Die *Rule of Five* wird insgesamt nur einmal gebrochen. Bei der Caco-2-Zellpermeabilität zeigt sich allerdings, dass unter anderem durch die hohe Wasserlöslichkeit eine sehr viel schlechtere Absorption vorhergesagt wird. Bei dieser Berechnung ist allerdings nicht berücksichtigt, dass eventuell aktive Transportmechanismen die Aufnahme der Substanzen ermöglichen. Aufgrund der synthetischen Umsetzbarkeit wurde später weitestgehend darauf verzichtet, Derivate herzustellen, die eine weitere funktionelle Gruppe an der Aminosäure-Seitenkette tragen.

Tabelle 3.9: Mit QIKPROP berechnete ADME-Parameter für die Verbindungen **16a–d**.

#	QPlogS	QPlogHERG	QPlogCaco	RO5
17a	-2.7	-5.4	232	0
17b	-3.2	-6.3	9	1
17c	-1.5	-4.2	14	0
17d	-3.4	-3.6	9	0
17e	-3.1	-5.4	257	0
17f	-1.4	-4.3	11	0
17g	-3.6	-4.0	7	0
17h	-2.3	-5.2	155	0
17i	-2.7	-5.5	112	0
17j	-3.6	-5.6	284	0
17k	-3.6	-5.7	246	0
17l	-1.9	-6.7	14	0
17m	-3.7	-5.8	231	0
17n	-3.5	-6.0	296	0
17o	-3.5	-5.6	470	0
17p	-2.3	-5.3	94	0
17q	-2.8	-5.5	97	0
17r	-4.0	-6.2	177	0
17s	-3.7	-6.3	98	0
17t	-3.2	-5.4	314	0

3.6. DFG-*out*-Modeling

Die in **Kapitel 1.6** besprochenen Selektivitätsvorteile von Typ II-Inhibitoren verdeutlichen die Chancen, die ein DFG-*out*-Inhibitor für CK1 δ bieten könnte. Tatsächlich ist bisher nicht bekannt, ob die CK1 Isoformen eine DFG-*out*-Struktur besitzen, wie sie von einer Vielzahl von Tyrosin-Kinasen bekannt ist aber auch von p38 α , der Serin/Threonin-spezifischen MAP Kinase.^[89,132,133] Anders als bei den meisten anderen Kinasen wird beispielsweise die Aktivierungsschleife nicht vom APE-Motiv, sondern von dem SIN-Motiv begrenzt.^[15] Im Model sollte nun ein Inhibitor entworfen werden, der Bindeeigenschaften von CK1 δ -Inhibitoren aufweist und gleichzeitig durch einen weiteren Rest eine mögliche *deep pocket* der DFG-*out*-Konformation adressiert. Durch die Kombination des sehr potenten Inhibitors **8** von SALADO *et al.*^[94] und dem DFG-*out*-Baustein von Imatinib (Glivec®, Novartis)^[134] ergibt sich die rational entworfene Hybrid-Struktur des potentiellen CK1 δ DFG-*out*-Inhibitors **18** (s. **Abbildung 3.8**).

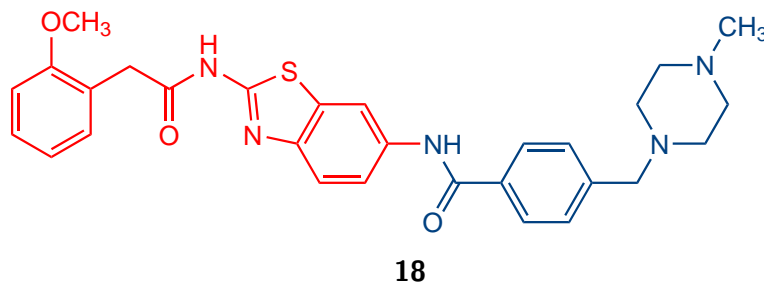


Abbildung 3.8: Designte Hybrid-Struktur aus dem sehr potenten Inhibitor **8** von SALADO *et al.* (rot) und dem DFG-*out*-Baustein von Imatinib (Glivec®, Novartis) (blau).^[94,134]

Um für das Modeling eine DFG-*out*-Struktur von CK1 δ als Modell zu erzeugen, ist in mehreren Stufen verfahren worden. Zunächst wurde eine Überlagerung der CK1 δ Kristallstruktur 4TWC^[79] mit der DFG-*out*-Struktur der p38 α (pdb: 3K3I)^[132] durchgeführt. Die Wahl der DFG-*out*-Struktur fiel auf p38 α , da einige CK1 δ -Inhibitoren nachweislich p38 α inhibieren und somit eine gewisse strukturelle Ähnlichkeit vorliegen muss.^[77] Die Überlagerung macht deutlich, dass sowohl das DFG-Motiv und damit zusammenhängend die Aktivierungsschleife bei der DFG-*out*-Konformation umgelagert sind, aber auch die P-Schleife anders angeordnet ist. In **Abbildung 3.9** sind die wesentlichen strukturellen Unterschiede dargestellt.

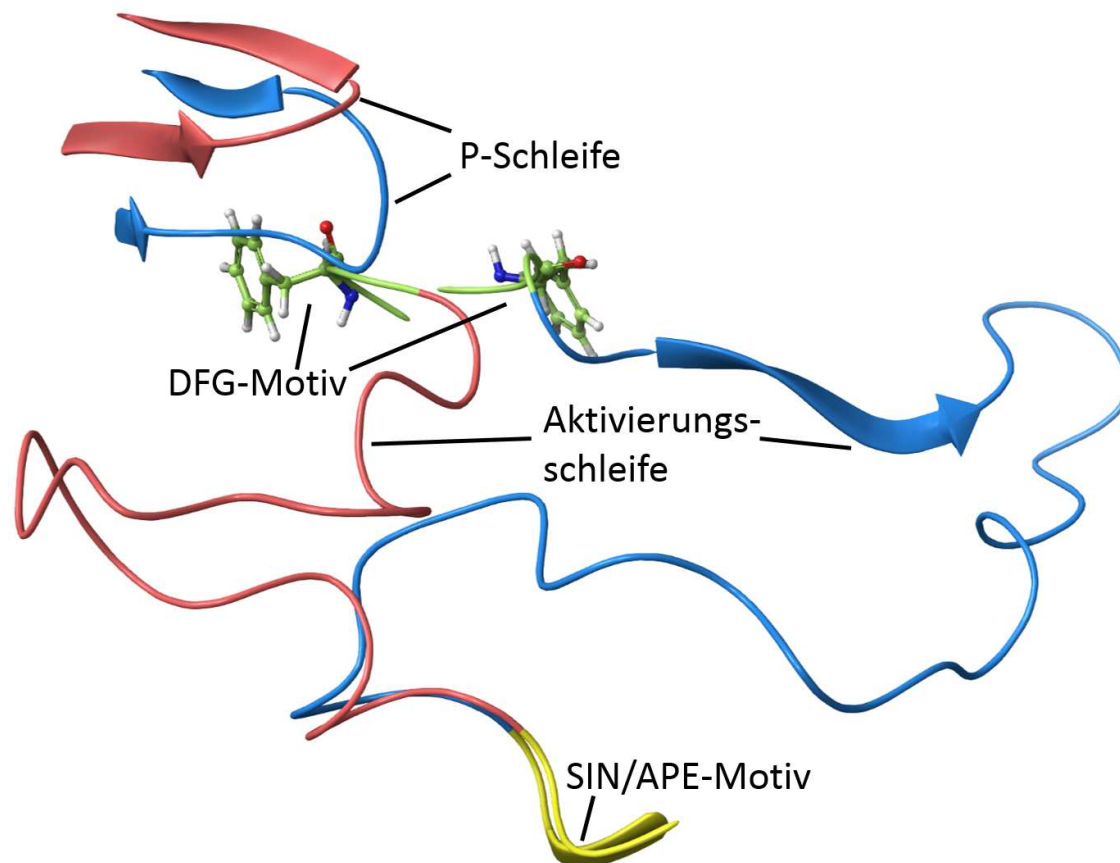


Abbildung 3.9: Überlagerung der CK1 δ Kristallstruktur 4TWC^[79] mit der DFG-*out*-Struktur von p38 α (pdb: 3K3I).^[132] P-Loop und Aktivierungsschleife von p38 α sind in rot dargestellt. P-Loop und Aktivierungsschleife von CK1 δ sind in blau dargestellt. Das DFG-Motiv ist jeweils in grün und das APE/SIN-Motiv in gelb dargestellt.

Der zweite Schritt erforderte die manuelle Umlagerung des DFG-Motivs sowie die Anpassung der P-Schleife, um den Zugang zur *deep pocket* von CK1 δ zu gewährleisten. Dabei wurde allerdings die Umlagerung der Aktivierungsschleife vernachlässigt, da diese für eine manuelle Bearbeitung zu viele Aminosäuren enthält. In die manuell umgelagerte Struktur wurde der Ligand **18** eingefügt und der gesamte Komplex zweimalig mit dem OPLS3-Kraftfeld minimiert, um die Wechselwirkungen zwischen dem Liganden und der CK1 δ zu optimieren. Anschließend wurde zusätzlich eine *loop prediction* mit dem Programm PRIME durchgeführt. Das Ergebnis dieser ersten Modifikation ist in **Abbildung 3.10** zu sehen (der Ligand ist der Übersicht halber nicht dargestellt). Die so modifizierte CK1 δ -Struktur wurde im dritten Schritt als Templat für eine erste IFD-Rechnung verwendet. Der daraus resultierende beste Bindemodus wurde im vierten Schritt erneut als Ausgangspunkt einer IFD-Rechnung eingesetzt. In **Abbildung 3.11** ist der Bindemodus des Liganden **18** in der DFG-*out* Modell-Struktur nach zweimaliger IFD-Rechnung zu sehen.

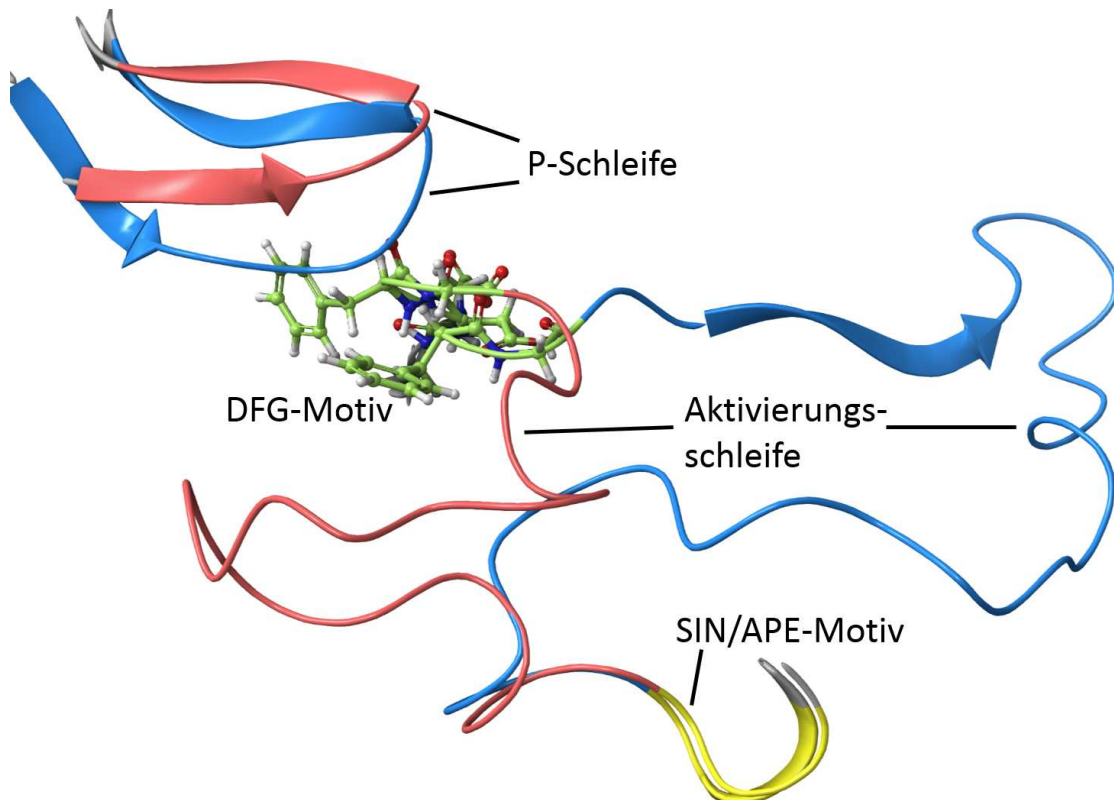


Abbildung 3.10: Überlagerung der modifizierten CK1 δ Kristallstruktur 4TWC^[79] mit der DFG-out-Struktur von p38 α (pdb: 3K3I).^[132] P-Loop und Aktivierungsschleife von p38 α sind in rot dargestellt. P-Loop und Aktivierungsschleife von CK1 δ sind in blau dargestellt. Das DFG-Motiv ist jeweils in grün und das APE/SIN-Motiv in gelb dargestellt.

Der auf diese Art und Weise erzeugte Bindemodus ist aber kritisch zu betrachten, da die Umlagerung der Aktivierungsschleife in der DFG-out-Konformation nicht berücksichtigt wurde. Es lässt sich allerdings sagen, dass durch den Raumgewinn, der durch die Rotation des Phenylalanins und die Umlagerung der P-Schleife entstand, die Bindung des Liganden **18** durchaus plausibel aussieht und auch der *docking score* ist mit einem Wert von -13.9 sehr gut. Mehrmalige Versuche, bei einer erneuten IFD-Rechnung die implementierte Schleifen Vorhersage (*loop prediction*) von PRIME anzuwenden, schlugen leider fehl. Möglicherweise ist für diese Berechnung die Schleife zu groß, denn nach der PRIME *stage* wurde kein *output file* generiert, wodurch die Berechnung an diesem Punkt abgebrochen ist.

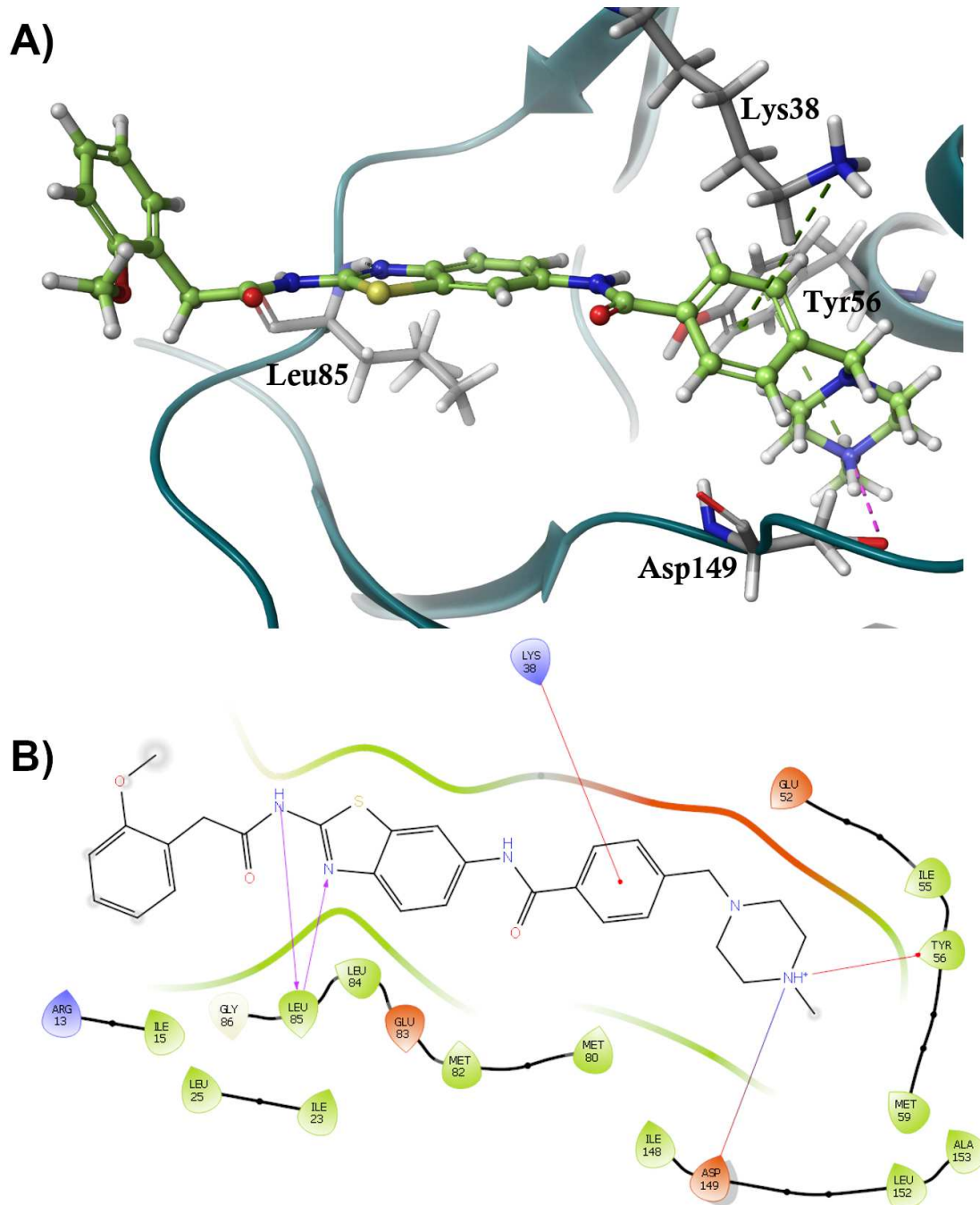


Abbildung 3.11: Bindemodus des Liganden **18** in der CK1 δ -DFG-*out* Modell-Struktur nach zweimaliger IFD-Rechnung. **A)** 3D-Darstellung des DFG-*out*-Liganden in der Bindetasche. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien, Salzbrücken als violette gestrichelte Linie und π -Kation-Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linien dargestellt. **B)** 2D-Ligandinteraktionsdiagramm des DFG-*out*-Liganden in der Bindetasche. Wasserstoffbrückenbindungen sind als violette Pfeile, Salzbrücken als blau-rote Pfeile und π -Kation-Wechselwirkungen als rote Linien dargestellt.

3.7. CK1 δ Mutanten Modeling

In den **Kapiteln 1.1.4 und 1.2.3.3** ist bereits auf Mutationen des Gens *CSNK1D* und deren strukturelle und funktionelle Konsequenzen eingegangen worden. Insbesondere die große Bindeaffinität des IWP-2 Liganden zu der *gatekeeper*-Mutante CK1 δ^{M82F} wurde im Modeling eingehender betrachtet. Aber auch einige Mutationen, die in **Tabelle 1.2** aufgelistet sind, sollten im Modeling hinsichtlich veränderter Bindeaffinitäten des Liganden IWP-2 (**9**) in dieser Arbeit untersucht werden.

Der Austausch der einzelnen Aminosäuren von CK1 δ konnte im Modell durch die Anwendung *residue scanning* mit anschließender Minimierung des *backbone* durchgeführt werden. Für den Liganden IWP-2 (**9**) wurde dann in einem *induced fit docking* die Bindeaffinität zu den jeweiligen mutierten Proteinen berechnet. Die Ergebnisse sind in der **Tabelle 3.10** zusammengefasst.

Tabelle 3.10: Mit IFD berechneter *docking score* (DS) für den Liganden IWP-2 (**9**) in dem Wildtyp wt CK1 δ (WT) und den Mutanten CK1 δ^{M82F} (M82F), CK1 δ^{E83K} (E83K), CK1 δ^{R127Q} (R127Q), CK1 δ^{R168H} (R168H) und CK1 δ^{T67S} (T67S) basierend auf Homologiemodellen.

	WT	M82F	E83K	R127Q	R168H	T67S
IFD(DS)	-9.9	-10.2	-10.2	-9.7	-9.7	-9.6

Im Vergleich zum Wildtyp bindet der Ligand IWP-2 (**9**) basierend auf den berechneten *docking scores* etwas besser in den Mutanten CK1 δ^{M82F} und CK1 δ^{E83K} . Die Bindung zu den Mutanten CK1 δ^{R127Q} , CK1 δ^{R168H} und CK1 δ^{T67S} ist hingegen minimal schlechter. Bei der *gatekeeper*-Mutante sind die berechneten Effekte allerdings im Vergleich zu den biologischen Testergebnissen am Enzym nicht so ausgeprägt. Bei der näheren Betrachtung des Bindemodus des Liganden IWP-2 (**9**) in der Bindetasche der Mutante CK1 δ^{M82F} fällt auf, dass die hydrophoben Wechselwirkungen durch den Austausch des *gatekeeper* zugenommen haben. In **Abbildung 3.12** sind die Bindemodi von IWP-2 (**9**) in **A**) der Bindetasche von wt CK1 δ und **B**) der *gatekeeper*-Mutante CK1 δ^{M82F} zu sehen. Die Orientierung des Phenylalanins 82 innerhalb der Bindetasche legt nahe, dass es eventuell zu einem π - π -*stacking* zwischen der Aminosäure-Seitenkette und dem Benzothiazol-Baustein kommen könnte. Im *docking* konnte diese Vermutung allerdings nicht bestätigt werden.

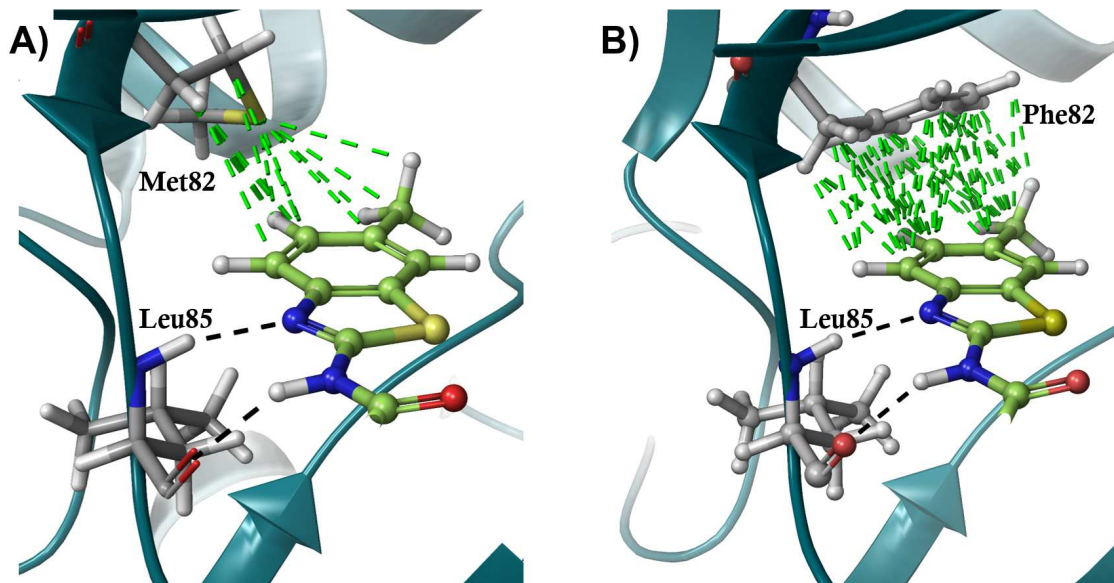


Abbildung 3.12: **A)** Bindemodus von IWP-2 (**9**) in der Bindetasche von *wt*CK1δ. **B)** Bindemodus von **9** in der Bindetasche der *gatekeeper*-Mutante CK1δ^{M82F}. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien und hydrophobe Wechselwirkungen als grüne gestrichelte Linien dargestellt.

Das *docking* Ergebnis der Mutante CK1δ^{E83K} lässt sich nicht alleine durch die Vermehrung der hydrophoben Wechselwirkungen innerhalb der Bindetasche erklären. Wobei auch hier der zu beobachtende Effekt nur minimal ist. Dass bei den Berechnungen der *docking scores* für die Mutanten CK1δ^{R127Q} und CK1δ^{R168H} keine großen Effekte zu beobachten sind, hängt mit der Lokalisierung der jeweiligen Mutation zusammen. Das IFD-Protokoll berücksichtigt zwar eine gewisse Flexibilität des Proteins, allerdings nur in unmittelbarer Nähe der Bindetasche. Die mutierten Aminosäuren (Gln127 und His168) liegen allerdings weit außerhalb der Bindetasche. Der Einfluss, den die Mutationen damit tatsächlich auf die Bindeaffinität des Liganden haben könnten, kann nicht durch ein *induced fit docking* wiedergegeben werden. Falls es zu einer räumlichen Reorientierung der Kinase durch eine Mutation kommt, wird dieser Effekt in dem sehr einfachen Modell nicht berücksichtigt. Die Punktmutation T67S liegt zwar innerhalb eines 6 Å Radius um den Liganden, doch auch hier ist der beobachtete Effekt der Mutation auf die Bindeaffinität des Liganden nur minimal. Für die Mutante CK1δ^{R127Q} wurde zusätzlich eine Bestimmung von weiteren Binderegionen mit dem Programm SITEMAP durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die Mutation innerhalb einer möglichen Substratbindestelle liegt (s. **Abbildung 3.13**). Welchen Effekt das auf die Bindeaffinität eines Liganden in der Mutante hat, lässt sich an Hand des Modelings allerdings nicht zeigen.

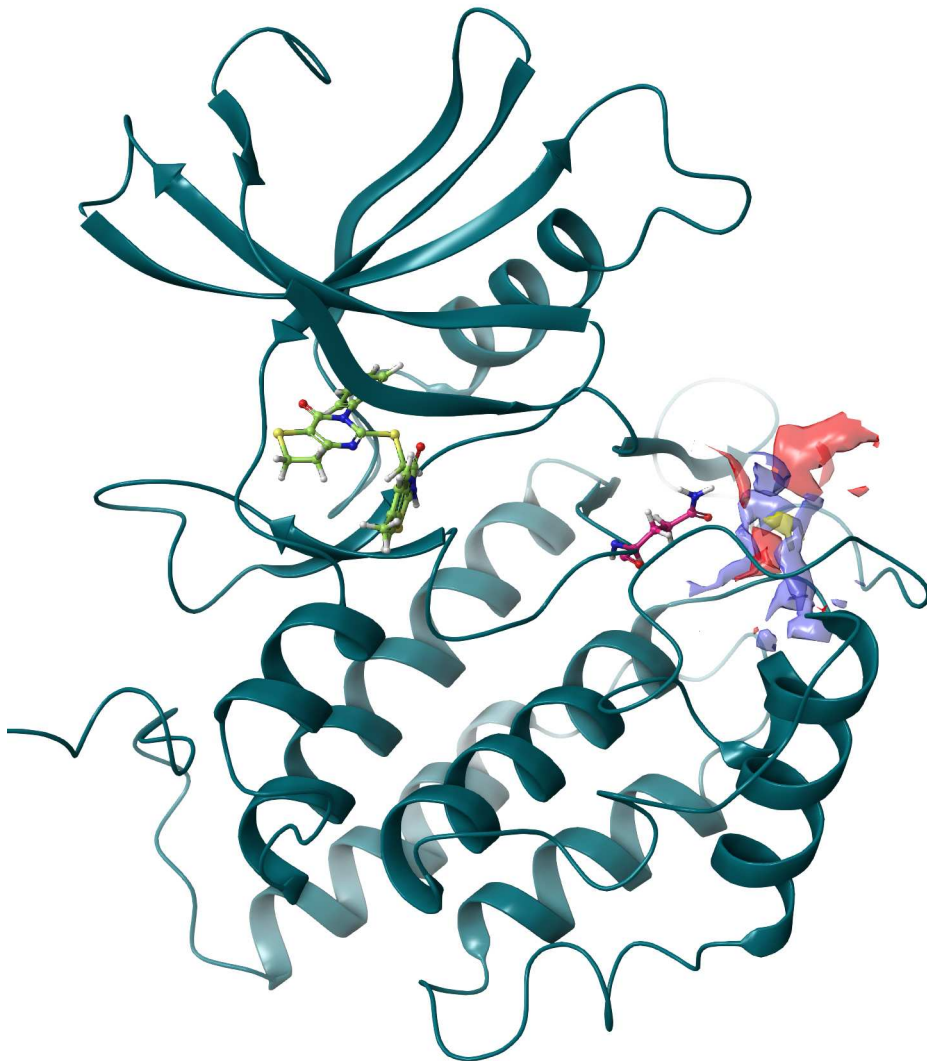


Abbildung 3.13: Darstellung der Mutante CK1 δ^{R127Q} mit dem Liganden IWP-2 (**9**) in der Bindetasche des Homologiemodells gebunden. Die mutierte Aminosäure Gln (Q) ist in pink dargestellt. Die mit SITEMAP berechnete Binderegion wird durch rote (Wasserstoffbrücken-Donatoren), blaue (Wasserstoffbrücken-Akzeptoren) und gelbe (hydrophobe) Flächen dargestellt.

4 Synthese

4.1. Serie 1

Die Kristallstruktur von IWP-2 in der Bindetasche von CK1 δ (pdb: 5OKT)^[20] zeigt, dass der 6-Methylbenzothiazol-Rest die hydrophobe Tasche I (HP1) ausfüllt. Um die dortigen hydrophoben Wechselwirkungen zu erhöhen, bestand der erste Optimierungsansatz darin, die Methylgruppe durch eine Trifluormethylgruppe zu ersetzen. Bereits im Modeling zeigte sich durch die Einführung der Trifluormethylgruppe eine Verbesserung des *docking scores*, welcher ein berechnetes Maß für die Bindeaffinität darstellt. Neben der Modifikation des Benzothiazol-Grundgerüsts wurde eine Variation der Substituenten am Phenyl- beziehungsweise Benzyl-Rest durchgeführt. Dabei wurden zu diesem Zeitpunkt die Substituenten vorwiegend nach dem *ranking*, das das Modeling vorgegeben hat, ausgewählt. Bestimmte Substitutionsmuster wiesen dabei einen etwas besseren *docking score* auf als andere und wurden bevorzugt synthetisiert. Die Synthese orientierte sich hierbei zu großen Teilen an der Darstellung von IWP-2, die WANG *et al.* durchgeführt haben.^[121] In **Abbildung 4.1** ist die abgewandelte Syntheseroute zur Darstellung von IWP-2 gezeigt. Die Verknüpfung von Chloracetylchlorid (**25**) mit 2-Amino-6-methylbenzothiazol (**24**) erfolgte hingegen nach einer Vorschrift von HERNÁNDEZ-NÚÑEZ *et al.*^[135] Das Benzothiazol-Grundgerüst wird anschließend über den Chloracetyl-Linker durch die Ausbildung eines Thioethers an die Tetrahydrothienopyrimidinon-Seitenkette **23a** geknüpft. Um die zuvor genannten Modifikationen durchzuführen, wurde 2-Amino-6-methylbenzothiazol (**24**) durch 2-Amino-6-trifluormethylbenzothiazol (**27**) ersetzt. Die Substitution des Phenyl- beziehungsweise Benzyl-Restes wurde durch die Verwendung von substituierten Isothiocyanat-Derivaten gewährleistet.

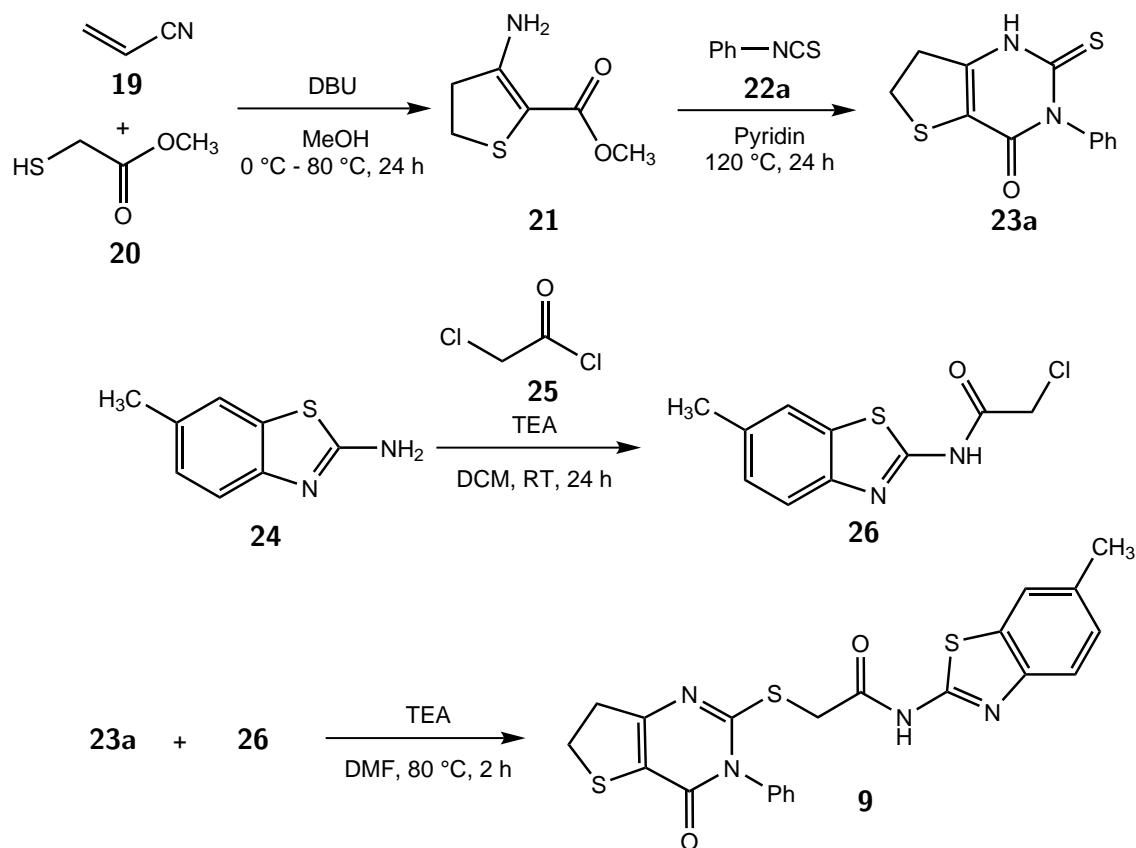


Abbildung 4.1: Abgewandelte Syntheseroute zur Darstellung von IWP-2 (**9**) nach WANG *et al.* Der Aufbau des Benzothiazol-Linkers wurde dabei modifiziert und nach einer Synthese von HERNÁNDEZ-NÚÑEZ *et al.* durchgeführt.^[121,135]

4.1.1. Synthese von Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**)

Die Synthese von Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) wurde nach der Vorschrift von WANG *et al.* durchgeführt.^[121] Unter Verwendung von DBU als Base cyclisieren Acrylnitril (**19**) und Methylthioglycolat (**20**) zu **21**. Dabei findet zunächst ein Angriff des Thiolats am endständigen Kohlenstoff der Doppelbindung von Acrylnitril statt und anschließend die Verknüpfung am Nitril-Kohlenstoff. In **Abbildung 4.2** sind die Reaktionsbedingungen für die Synthese gezeigt. Die angegebene Literaturliteraturausbeute von 39 % konnte übertroffen werden und **21** wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit einer Ausbeute von 43 % als hellbrauner Feststoff erhalten.

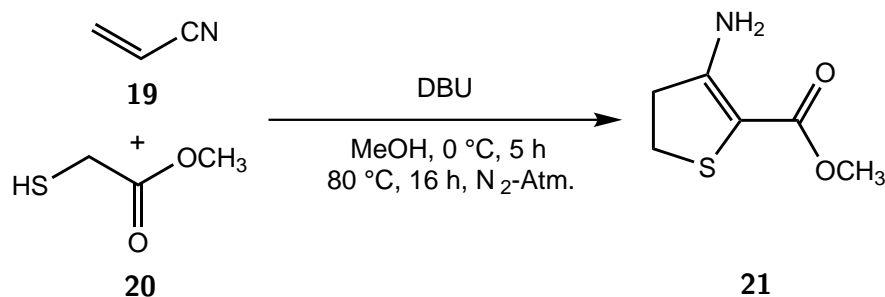


Abbildung 4.2: Über eine Cyclisierungsreaktion von Acrylnitril (**19**) mit Methylthioglycolat (**20**) wurde Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) als hellbrauner Feststoff erhalten.^[121]

4.1.2. Synthese der Benzothiazol-Grundgerüste **26** und **28**

Parallel wurde das Benzothiazol-Grundgerüst aufgebaut. HERNÁNDEZ-NÚÑEZ *et al.* haben Phenyl- und Benzylamine unter Verwendung von TEA als Base mit Chloracetylchlorid (**25**) umgesetzt.^[135] Analog dazu wurden sowohl die Methyl-substituierte Verbindung **24** sowie die Trifluormethyl-substituierte Verbindung **27** in der Reaktion eingesetzt. Bei der Verwendung von **24** war bis zum Ende der Reaktionszeit eine große Menge Feststoff ausgefallen, welcher abfiltriert und i. Vak. getrocknet werden konnte. 2-Chloro-*N*-(6-methylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**26**) wurde mit großer Reinheit und einer Ausbeute von 84 % isoliert.

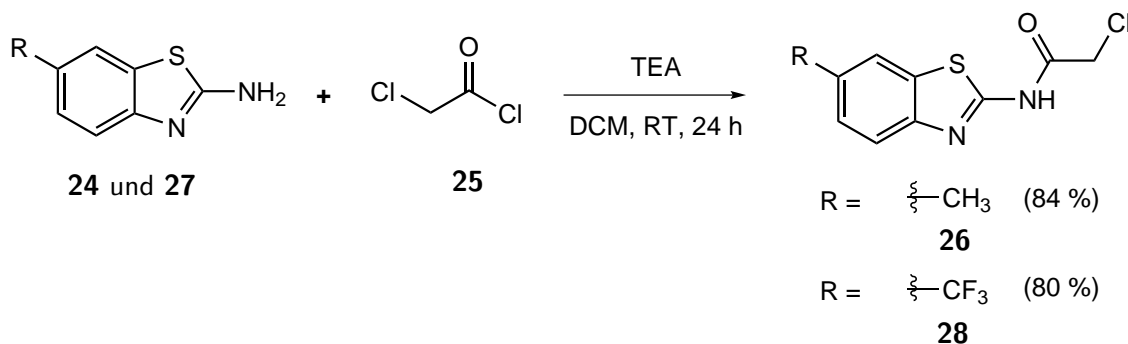


Abbildung 4.3: Durch die Umsetzung von **24** und **27** mit Chloracetylchlorid (**25**) konnten die Produkte **26** und **28** nach einer Vorschrift von HERNÁNDEZ-NÚÑEZ *et al.* mit guten Ausbeuten erhalten werden.^[135]

Bei der Synthese von 2-Chloro-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**28**) hingegen war die Löslichkeit im Lösungsmittel DCM durch die Trifluormethylgruppe erhöht. Nach Beenden der Reaktionszeit wurde daher das Lösungsmittel i. Vak. eingengt und der isolierte Feststoff aus einer Mischung aus Ethanol und Wasser umkristallisiert. **28** wurde als kristalline Plättchen mit einer Ausbeute von 80 % isoliert.

4.1.3. Synthese der Isothiocyanat-Derivate 22a-l

Da nicht alle Phenyl- und Benzylisothiocyanate käuflich erwerbbar waren, mussten diese zunächst hergestellt werden. L'ABBÉ *et al.* haben bereits im Jahr 1993 substituierte Benzylbromide mit Kaliumthiocyanat zu Benzylisothiocyanaten umgesetzt.^[136] Die sehr milden Reaktionsbedingungen konnten für einige der Derivate angewendet werden (**Methode A**). Da aber auch die entsprechenden Benzylbromide nicht alle käuflich erwerbbar waren, wurden diese nach einer Vorschrift von ARNOLD *et al.* ausgehend von den entsprechenden Benzylalkoholen hergestellt.^[137] Bei der Verwendung von Kaliumthiocyanat als Reaktant kann allerdings keine Kontrolle über die Regiochemie gewährleistet werden, sodass immer ein Gemisch aus Benzylthiocyanat und dem gewünschten Benzylisothiocyanat entstand. Abhängig von dem Substitutionsmuster entstanden dabei die beiden möglichen Produkte in verschiedenen Verhältnissen. Bei einigen substituierten Benzylbromiden entstand ausschließlich das Thiocyanatprodukt. In diesen Fällen musste nach einer alternativen Synthesestrategie gesucht werden.

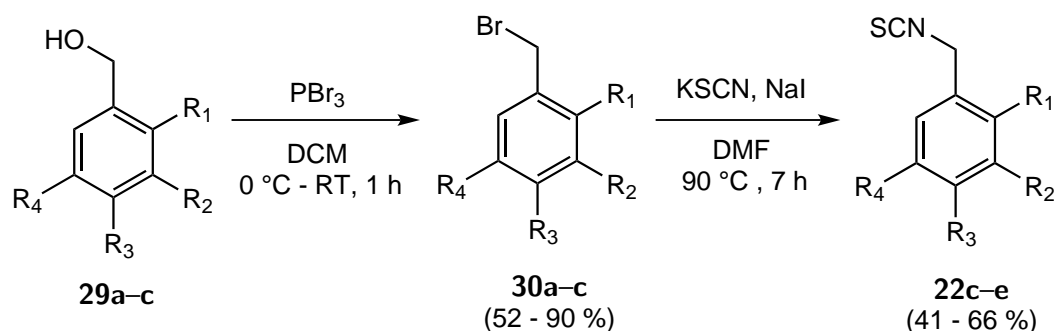


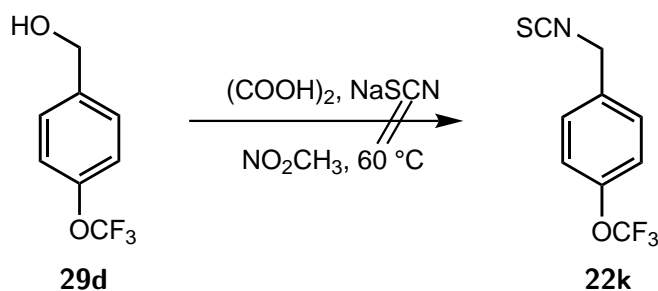
Abbildung 4.4: Synthese der Benzylbromide und die anschließende Umsetzung zu Benzylisothiocyanaten nach ARNOLD *et al.*^[137] und L'ABBÉ *et al.*^[136] (**Methode A**).

Auch die Phenol-Derivate lieferten bei der Umsetzung mit Kaliumthiocyanat nicht die gewünschten Phenylisothiocyanate. Letztlich konnten die Benzylisothiocyanate **22c-e** nach **Methode A** dargestellt werden. In **Abbildung 4.4** sind die Reaktionsbedingungen der **Methode A** gezeigt. Die angegebenen Ausbeuten beziehen sich jeweils auf den zuletzt durchgeführten Reaktionsschritt. Eine detaillierte Übersicht über die nach **Methode A** erzeugten Verbindungen ist in **Tabelle 4.1** zusammengefasst.

Tabelle 4.1: Nach **Methode A** dargestellte Isothiocyanate **22c–e** mit Angabe der jeweiligen Ausbeuten.

	Verbindung	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ausbeute
Bromide	30a	H	H	-OMe	H	90 %
	30b	-OMe	-OMe	H	H	73 %
	30c	H	-OMe	-OMe	-OMe	52 %
Isothiocyanate	22c	H	H	-OMe	H	66 %
	22d	-OMe	-OMe	H	H	41 %
	22e	H	-OMe	-OMe	-OMe	61 %

Da sich **Methode A** nicht für alle Isothiocyanate anwenden ließ, wurde nach Alternativen gesucht. SPENCER *et al.* beschreiben für die Darstellung von Isothiocyanat-Derivaten vier verschiedene Methoden.^[138] Drei der beschriebenen Methoden nutzen die entsprechenden Amine als Ausgangsverbindung. Die vierte Methode verläuft über die Umsetzung der Alkohole mit Natriumthiocyanat und Oxalsäure in Nitromethan. Da für die **Methode A** bereits Benzylalkohole erworben wurden, wurden diese zunächst nach der von SPENCER *et al.* beschriebenen Methode zur Reaktion eingesetzt. Unter anderem wurde versucht 4-Trifluormethoxybenzylalkohol (**29d**) zum Isothiocyanat **22k** umzusetzen (s. **Abbildung 4.5**).

**Abbildung 4.5:** Nach SPENCER *et al.* erfolgt die Umsetzung von Benzylalkoholen mit Natriumthiocyanat und Oxalsäure zu den entsprechenden Benzylisothiocyanaten.^[138] Bei der Reaktion von **29d** konnte **22k** allerdings nicht als Produkt isoliert werden.

Da auch nach mehrmaligen Versuchen keine der Reaktionen zum gewünschten Produkt führte, wurde eine der anderen Methoden von SPENCER *et al.* angewendet. Ausgehend von Phenyl- und Benzylaminen wird mittels Thiophosgen und dem Einsatz von TEA als Base

die Umsetzung zum Isothiocyanat in zufriedenstellenden Ausbeuten erreicht.^[138]

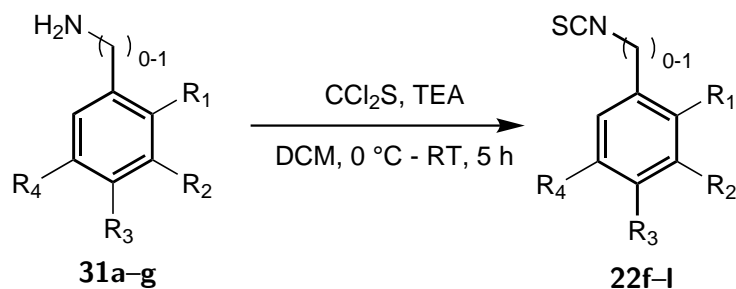


Abbildung 4.6: Methode B zur Herstellung der Isothiocyanate **22f-l** nach einer Vorschrift von SPENCER *et al.*^[138]

Methode B ließ sich für alle weiteren Verbindungen anwenden. Ein Überblick über die Synthesebedingungen für die Darstellung der Isothiocyanat-Derivate ist in **Abbildung 4.6** zu sehen. Die Angaben zu den Substituenten sowie die jeweilige Ausbeute ist in **Tabelle 4.2** zusammengefasst.

Tabelle 4.2: Nach **Methode B** dargestellte Isothiocyanate **22f-l** mit Angabe der jeweiligen Ausbeute.

	Edukt	Produkt	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ausbeute
Phenyl- isothiocyanate	31a	22f	H	-OMe	H	-OMe	86 %
	31b	22g	H	-OMe	-OMe	-OMe	97 %
Benzyl- isothiocyanate	31c	22h	H	-OMe	H	-OMe	52 %
	31d	22i	H	H	-CF ₃	H	56 %
	31e	22j	H	-CF ₃	H	H	92 %
	31f	22k	H	H	-OCF ₃	H	62 %
	31g	22l	-OCF ₃	H	H	H	28 %

4.1.4. Synthese der Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate **23a-l**

Die zuvor erworbenen und erzeugten Isothiocyanate **22a-l** wurden im nächsten Reaktionsschritt mit Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) umgesetzt. WANG *et al.* führen die Reaktion unter Argonatmosphäre durch.^[121] Wegen der leichteren Handhabung wurde in dieser Arbeit die Reaktion unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Da

die Reaktionen unter Stickstoffatmosphäre ebenfalls mit ausreichenden Ausbeuten zu den gewünschten Produkten führte, wurde darauf verzichtet auf eine Argonatmosphäre umzustellen. Das eingesetzte Pyridin dient bei der Reaktion sowohl als Lösungsmittel als auch als Base. Mechanistisch verläuft die Reaktion über einen nukleophilen Angriff des Amins am Isothiocyanat-Kohlenstoff und einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus am Methylcarboxylat von **21** (vgl. **Abbildung 4.7**).

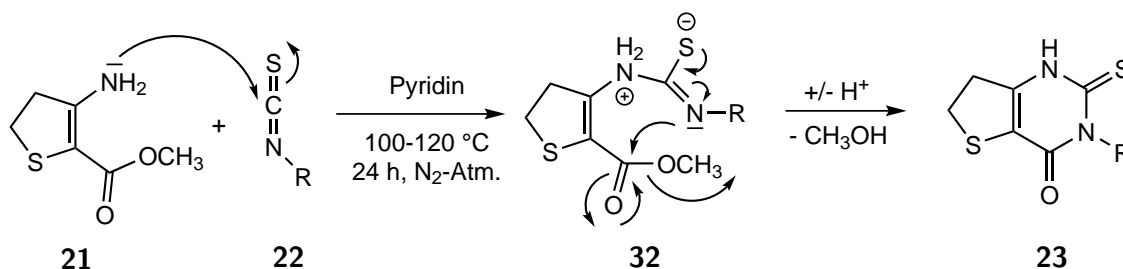


Abbildung 4.7: Cyclisierung der Isothiocyanate **33** mit Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) unter Einsatz von Pyridin als Base und Lösungsmittel.^[121] Es findet ein nukleophiler Angriff am Isothiocyanat-Kohlenstoff statt und anschließend ein Additions-Eliminierungs-Mechanismus am Methylcarboxylat von **21**.

Alle durchgeführten Reaktionen führten nach Aufreinigung zu den gewünschten Tetrahydrothiopyrimidinon-Derivaten **23a–l**. Die Analytik der Rohprodukte mittels Dünnschicht-Chromatographie machte allerdings deutlich, dass bei der Reaktion zahlreiche nicht näher analysierte Nebenprodukte entstehen. Die Vielzahl an entstehenden Produkten erklärt somit die teilweise sehr niedrigen Ausbeuten von 15 - 20 %. WANG *et al.* konnten bei ihrer Umsetzung von Phenylisothiocyanat (**22a**) mit Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) eine Ausbeute von 42 % erreichen.^[121] Die gleiche Synthese konnte allerdings nur mit einer Ausbeute von 15 % reproduziert werden. Möglicherweise hätte die Verwendung von Argon als Inertgas die Ausbeute noch steigern können.

Fast alle Produkte wurden im Anschluss an die Reaktion säulenchromatographisch gereinigt, wobei ein Gradient von EE und PE als Fließmittel eingesetzt wurde. Da einige Produkte selbst bei einem Anteil von 100 % EE nicht ausreichend eluiert werden konnten, wurde zusätzlich mit Aceton gespült. Das Tetrahydrothiopyrimidinon-Derivat **23g** fiel bereits während der Reaktion als farbloser Feststoff aus und wurde abfiltriert. Bedingt durch die schlechte Löslichkeit von **23g** war es allerdings nicht möglich, eine NMR-Analytik durchzuführen.

Bei der Vorbereitung der Proben für die Säulenchromatographie wurden diese in DCM aufgenommen, um sie auf Kieselgel aufzutragen. Dabei blieb bei **23i** und **23j** das Produkt

als Feststoff in DCM zurück. Die Produkte wurden jeweils abfiltriert und i. Vak. getrocknet. In **Abbildung 4.8** ist eine Übersicht der Reaktionen zur Darstellung der Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate **23a-l** gezeigt. In **Tabelle 4.3** ist eine Aufschlüsselung über die jeweiligen Reste und die zugehörigen Ausbeuten der Reaktionen aufgelistet.

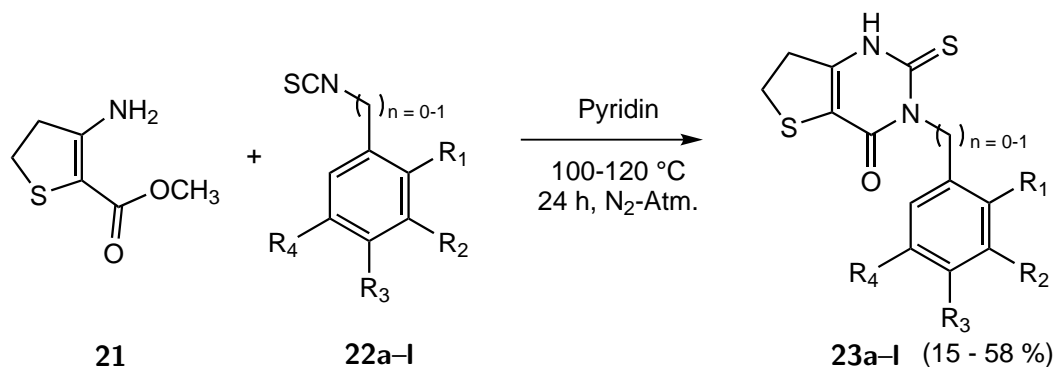


Abbildung 4.8: Übersicht über die verschiedenen Reaktionen zur Darstellung der Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate **23a-l** nach WANG *et al.*^[121]

Tabelle 4.3: Nach WANG *et al.* synthetisierte Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate **23a-l** nach WANG *et al.* mit Angabe der jeweiligen Ausbeute.^[121]

[n]	Edukt	Produkt	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ausbeute
0	22a	23a	H	H	H	H	15 %
1	22b	23b	H	H	H	H	20 %
1	22c	23c	H	H	-OMe	H	23 %
1	22d	23d	-OMe	-OMe	H	H	28 %
1	22e	23e	H	-OMe	-OMe	-OMe	45 %
0	22f	23f	H	-OMe	H	-OMe	20 %
0	22g	23g	H	-OMe	-OMe	-OMe	47 %
1	22h	23h	H	-OMe	H	-OMe	36 %
1	22i	23i	H	H	-CF ₃	H	48 %
1	22j	23j	H	-CF ₃	H	H	32 %
1	22k	23k	H	H	-OCF ₃	H	27 %
1	22l	23l	-OCF ₃	H	H	H	58 %

4.1.5. Synthese der Zielverbindungen 11a–l der Serie 1

Im letzten Schritt zur Darstellung der IWP-Derivate der **Serie 1** wurde 2-Chloro-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**28**) mit den zuvor erzeugten Tetrahydrothieno-Pyrimidinon-Derivaten **23a–l** umgesetzt. WANG *et al.* führten die Reaktion unter Argonatmosphäre in DMF unter Verwendung von TEA als Base durch.^[121] Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Synthesen unter Stickstoffatmosphäre und mit abs. DMF durchgeführt (vgl. **Abbildung 4.9**). Um die Ergebnisse einer biologischen Testung nicht durch

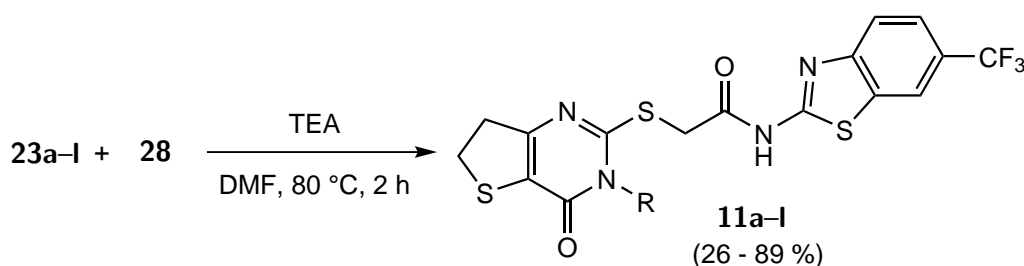


Abbildung 4.9: Der letzte Reaktionsschritt zur Darstellung der Produkte der **Serie 1** wurde unter Stickstoffatmosphäre und mit abs. DMF durchgeführt. Die Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate **23a–l** wurden mit 2-Chloro-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**28**) umgesetzt. Die Produkte wurden mit Ausbeuten von 26 bis 89 % erhalten.

Nebenprodukte zu verfälschen, wurde mittels HPLC eine Reinheitskontrolle durchgeführt. War nach der ersten säulenchromatographischen Reinigung die erforderliche Reinheit von mindestens 97 % noch nicht erreicht, wurde entweder ein weiteres Mal an Kieselgel gereinigt oder eine andere Methode angewendet. **11h** wurde nach der Säulenchromatographie zusätzlich aus EtOH umkristallisiert. Bei der Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. von **11j** fiel aus EE das Produkt als Feststoff aus, daher wurde zusätzlich aus EE umkristallisiert und mit EtOH gewaschen. Bei der Synthese von **11g** war bereits das eingesetzte Edukt **23g** nur sehr schwer löslich. Das Edukt löste sich erst in der Hitze in DMF. Nach Beenden der Reaktion fiel **11g** als farbloser Feststoff aus, wurde abfiltriert und mit EE gewaschen. Zwar war es möglich das Produkt in der LC-MS nachzuweisen, allerdings konnte keine NMR-Analytik durchgeführt werden. Aufgrund der schlechten Löslichkeit, wurde davon abgesehen, das Produkt **11g** biologisch zu testen. In **Tabelle 4.4** sind die Produkte der **Serie 1** zusammengefasst. Es ist sowohl die Ausbeute des letzten Schrittes sowie die gemessene HPLC-Reinheit angegeben. Die Beträge der Reinheit sind in ganzen Zahlen angegeben, die Nachkommastellen wurden in allen Fällen abgerundet.

Tabelle 4.4: Die Produkte der **Serie 1** mit Angabe der Ausbeuten im letzten Reaktionsschritt und der HPLC-Reinheit.

#	Struktur	Ausb.	Reinh.	#	Struktur	Ausb.	Reinh.
11a		26 %	97 %	11b		73 %	100 %
11c		69 %	98 %	11d		89 %	100 %
11e		63 %	100 %	11f		68 %	100 %
11g		57 %	100 %	11h		48 %	99 %
11i		78 %	98 %	11j		76 %	100 %
11k		72 %	97 %	11l		86 %	98 %

4.1.6. Alternativer Syntheseweg für die Darstellung von IWP-Derivaten der Serie 1

Um eine Vielzahl verschiedener Endprodukte einer Serie zu erzeugen, bietet es sich an, die Derivatisierung erst im letzten Schritt durchzuführen. Mit einer solchen konvergenten Synthesestrategie kann die Leitstruktur in großen Mengen hergestellt werden, um dann im letzten Schritt mit den unterschiedlich substituierten Resten verknüpft zu werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher neben der zuvor genannten Synthesestrategie nach Wang *et al.* zusätzlich eine weitere Syntheseroute entwickelt (vgl. **Abbildung 4.10**).

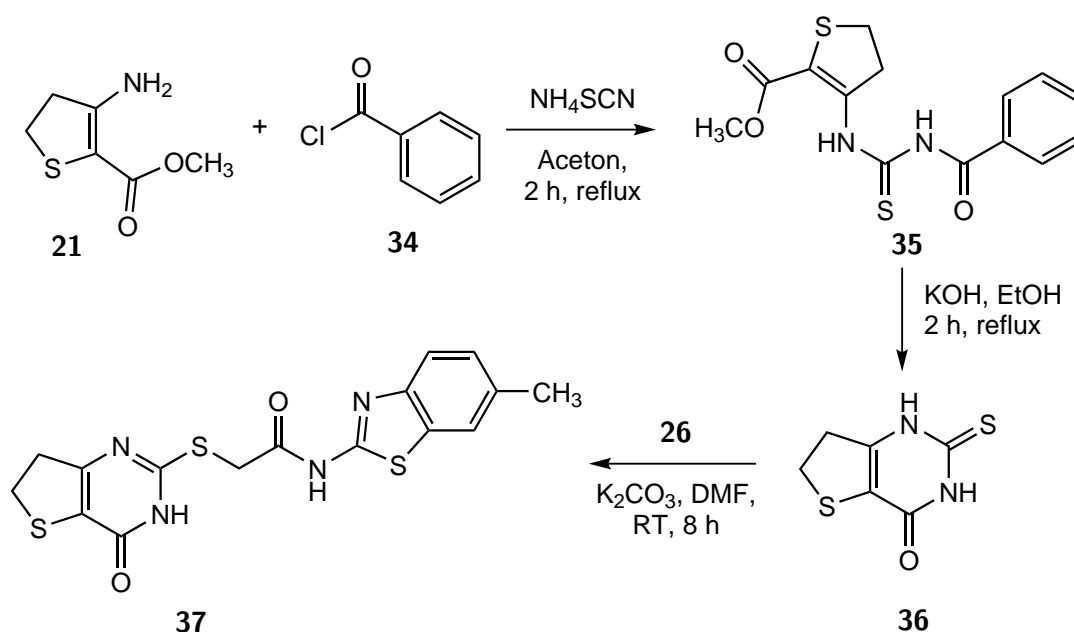


Abbildung 4.10: Aufbau einer Leitstruktur zur Derivatisierung im letzten Schritt. Die Entwicklung basiert auf Synthesen von SONG *et al.*, SIRAKANYAN *et al.* und CHO *et al.* [139–141]

Sowohl SONG *et al.* als auch SIRAKANYAN *et al.* beschreiben die Cyclisierung von 2-Amino-1-methyl/ethyl-carboxylat-substituierten Heterozyklen zu 2-Thioxo-Pyrimidinon-Derivaten. Wobei die Struktur der Verbindungen von SONG *et al.* den in dieser Arbeit synthetisierten Derivaten am nächsten kommt. Dennoch wurden beide Synthesevorschriften für die Umsetzung von Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) angewendet. SIRAKANYAN *et al.* setzten im ersten Reaktionsschritt Benzoylthiocyanat (**38**) ein, wohingegen SONG *et al.* dieses erst durch den Einsatz von Benzoylchlorid (**34**) und Ammoniumthiocyanat *in situ* erzeugen. In **Abbildung 4.11** sind die durchgeführten Reaktionen des ersten Reaktionsschrittes gezeigt. Die angegebenen Literatursausbeuten beziehen sich jeweils auf die eingesetzten Edukte von SONG *et al.* und SIRAKANYAN *et al.* [140,141] Bei der

in dieser Arbeit durchgeführten Reaktion nach der Synthesevorschrift von SIRAKANYAN *et al.* wurde das Lösungsmittel Benzol durch Toluol ersetzt. Da keine der durchgeführten

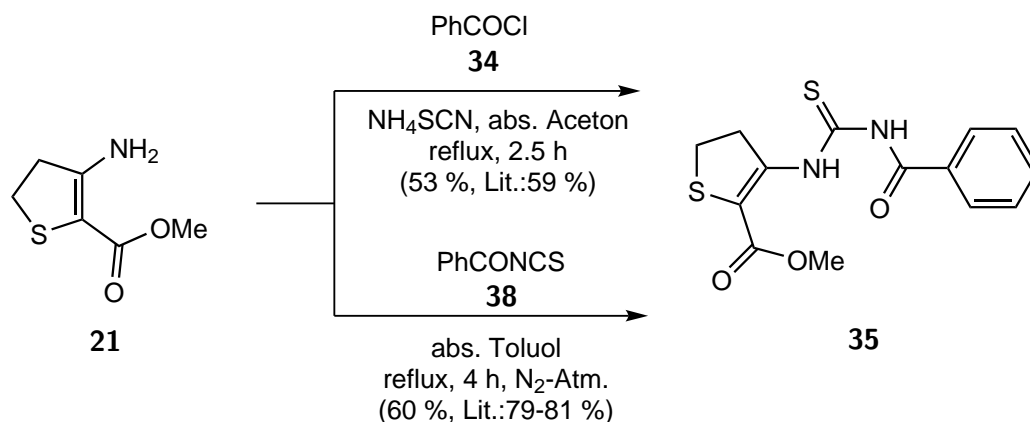


Abbildung 4.11: SONG *et al.* und SIRAKANYAN *et al.* beschreiben eine Cyclisierungsreaktion von 2-Amino-1-methyl/ethyl-carboxylat-substituierten Heterozyklen zu 2-Thioxo-2,3-dihydropyrimidinon-Derivaten in einer zweistufigen Synthese.^[140,141] Beide Synthesevorschriften wurden im Rahmen dieser Arbeit angewendet, um im ersten Schritt **21** zu der Zwischenstufe **35** umzusetzen.

Reaktionen von SONG *et al.* und SIRAKANYAN *et al.* mit denen in dieser Arbeit durchgeführten identisch war, lassen sich die Ausbeuten nicht direkt miteinander vergleichen. Es konnten allerdings ähnlich gute Ausbeuten von 53 bis 60 % bei der Umsetzung von **21** zum Produkt **35** erreicht werden. Die weitere Umsetzung der Zwischenstufe **35** zum cyclisierten 2-Thioxo-2,3-dihydropyrimidinon-Derivat **36** erfolgte in beiden Vorschriften mit ethanolischer Kaliumhydroxid-Lsg. unter Rückfluss (vgl. **Abbildung 4.10**) und konnte mit einer Ausbeute von 80 % durchgeführt werden.^[140,141] Das erzeugte 2-Thioxo-2,3-dihydropyrimidinon-Derivat **36** bietet vielseitige Optionen der weiteren Umsetzung, da sowohl der Schwefel, der Sauerstoff als auch die Stickstoffe nukleophil reagieren könnten. **Abbildung 4.12** macht zudem deutlich, dass es mehrere Tautomere von **36** gibt. Die größte Nukleophilie weist allerdings der Schwefel aus, sodass anzunehmen ist, dass bei einer Umsetzung mit Halogenalkanen eine Verknüpfung am Schwefel stattfinden wird. Nach einer

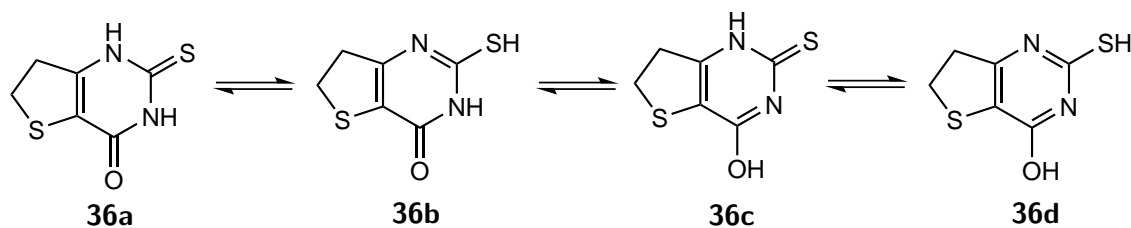


Abbildung 4.12: Die verschiedenen Tautomere von **36**.

der schlechten Aufreinigung konnte nicht mittels NMR-Analytik verifiziert werden, ob es nun verstärkt zu einer *O*-Alkylierung gekommen ist oder auch das *N*-alkylierte Produkt entstanden ist. Die Masse allein liefert darüber keine Erkenntnis. Zu diesem Zeitpunkt der Arbeit schien die Synthesestrategie nach WANG *et al.* ausgereifter zu sein. Es wurde daher kein weiterer Versuch der Derivatisierung von **37** vorgenommen. Letztlich wurde die alternative Synthesestrategie nicht wieder aufgegriffen.

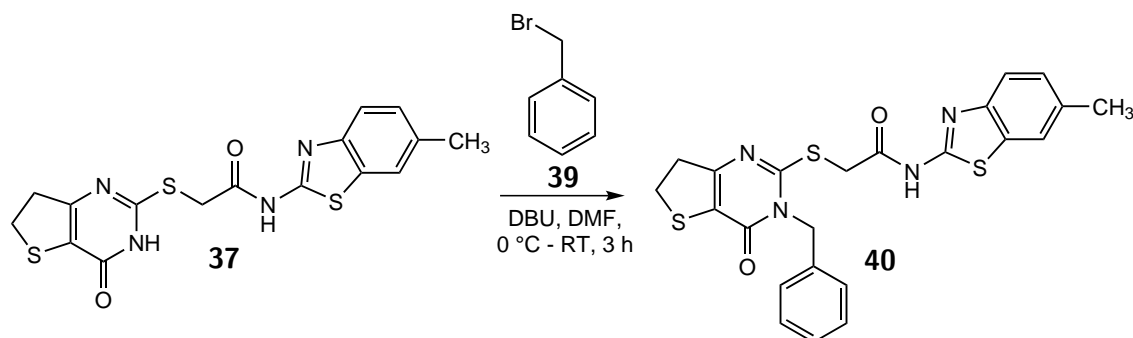


Abbildung 4.14: Synthese des *N*-alkylierten Produktes **40** ausgehend von **37** mit Benzylbromid (**39**) nach FONT *et al.*^[142]

4.2. Serie 2

4.2.1. Synthese der 2-Thioxo-dihydrochinazolinon-Derivate **41a,b**

Es zeigte sich relativ schnell im Laufe der Arbeit, dass es keine direkte Korrelation zwischen den *docking scores* und den biologischen Testdaten am Enzym gab. Eine Verbindung, die im Modeling einen besseren *docking score* aufwies als andere, hatte nicht zwangsläufig einen besseren IC₅₀-Wert und umgekehrt. Es wurde daher zunächst im Modeling (s. **Kapitel 3.2**) und anschließend synthetisch die Pyrimidinon-Seitenkette variiert, um eventuell einen größeren Effekt auf die Bindeaffinität zu beobachten. Statt des Schwefelheterozyklus wurden daher die entsprechenden Chinazolin-Derivate getestet. Durch den Austausch des Tetrahydrothieno-Ringes durch einen Benzolring, ändern sich die Bindungswinkel und der Molekülbaustein wird planar. Da die Kristallstruktur von IWP-2 in der Bindetasche von CK1δ zeigt, dass sich der Tetrahydrothieno-Rest an die Oberfläche der äußeren Bindetasche anschmiegt,^[19] könnte durch diese Modifikation eine Veränderung in der Bindeaffinität zu beobachten sein.

Für die Darstellung der 2-Thioxo-dihydrochinazolinon-Derivate **41a** und **41b** wurde Anthranilsäure (**42**) mit dem entsprechenden Phenyl- (**22a**) beziehungsweise Benzylisothio-

cyanat (**22b**) nach einer Vorschrift von MOHAMED *et al.* umgesetzt. Beide Produkte konnten mit sehr guten Ausbeuten von 92 und 93 % als farblose Feststoffe isoliert werden.

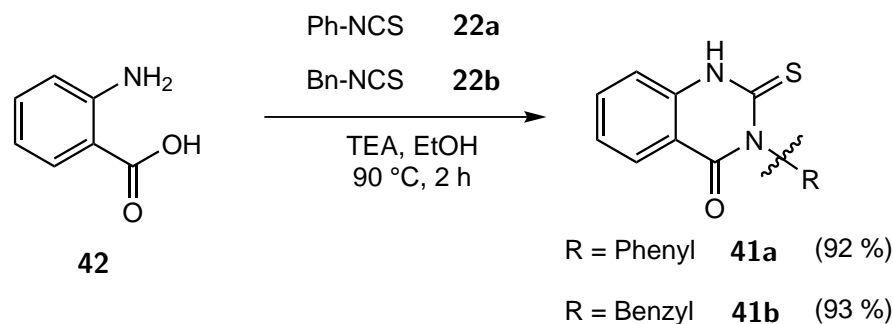


Abbildung 4.15: Synthese der 2-Thioxo-dihydrochinazolinon-Derivate **41a,b** ausgehend von Anthranilsäure (**42**) nach einer Vorschrift von MOHAMED *et al.* Die Produkte konnten als farblose Feststoffe mit guten Ausbeuten erhalten werden.^[143]

4.2.2. Synthese der Zielverbindungen **12a,b** und **13a,b** der Serie 2

Die erzeugten 2-Thioxo-dihydrochinazolinone **41a,b** konnten im nächsten Schritt mit dem Benzothiazol-Linker verknüpft werden. Es wurden dabei jeweils die Benzothiazol-Bausteine **26** und **28** verwendet. Da sich durch die Einführung der Trifluormethylgruppe die Bindeaffinität der neuen Verbindungen bereits verbessern ließ, sollte bei den Verbindungen der **Serie 2** der Effekt der Chinazolin-Seitenkette unabhängig betrachtet werden. Aus der jeweiligen Kombination der zwei Bausteine ergaben sich vier neue Zielverbindungen der Serie 2. Die Synthesen wurden analog zu den Zielverbindungen der **Serie 1** nach WANG *et al.* durchgeführt (vgl. **Abbildung 4.16**).^[121]

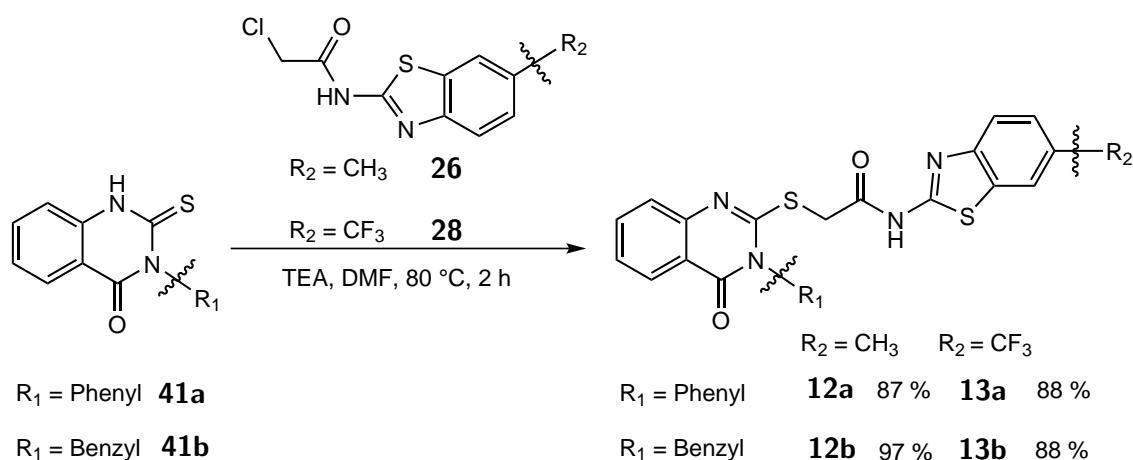


Abbildung 4.16: Die Produkte der Serie 2 konnten nach WANG *et al.* mit guten Ausbeuten isoliert werden.^[121]

4.3. Serie 3

4.3.1. Synthese der alkylsubstituierten IWP-Derivate 44a–c

Neben der Variation des Tetrahydrothieno-Grundgerüsts hin zu den Chinazolin-Derivaten der **Serie 2** ergibt sich die Möglichkeit der Verringerung des sterischen Anspruchs der Seitenkette. Die Phenyl- und Benzyl-Reste der IWP-Verbindungen gehen innerhalb des zum Solvens offenen Bereichs der Bindetasche keine Wasserstoffbrückenbindungen ein und sind in ihrer Anordnung recht flexibel. Eine Verkleinerung der Reste durch den Einsatz von Alkylsubstituenten, schafft einen größeren Spielraum für den Pyrimidinon-Baustein in der äußeren Bindetasche. Auch wenn das Modeling keinen Anhaltspunkt liefert, ob sich dadurch die Bindeaffinität der Liganden verändert, sollte die starke Verkürzung einen Effekt in der biologischen Testung zeigen. Der synthetische Aufbau der Pyrimidinon-Seitenkette erfolgte dabei nach einem ähnlichen Prinzip wie bei den Verbindungen der **Serie 1**. Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) wurde mit den entsprechenden Alkyl-Isothiocyanaten **43a–c** umgesetzt. Anders als bei der **Serie 1** wurde in diesem Fall eine Vorschrift von DAVOODNIA *et al.* angewendet.^[144] Statt Pyridin wurde Kalium-*tert*-butanolat als Base in einem Lösungsmittelgemisch aus *tert*-Butanol und DMF verwendet. Anders als bei der Synthese mit Pyridin wurde nicht säulenchromatographisch gereinigt, sondern mit 1 M HCl neutralisiert, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und anschließend aus EtOH umkristallisiert. Die Ausbeuten sind mit 33 % bis maximal 41 % allerdings ähnlich wie bei der Vorschrift nach WANG *et al.*^[121] In **Abbildung 4.17** ist eine Übersicht der Reaktionen und ihren jeweiligen Ausbeuten gezeigt.

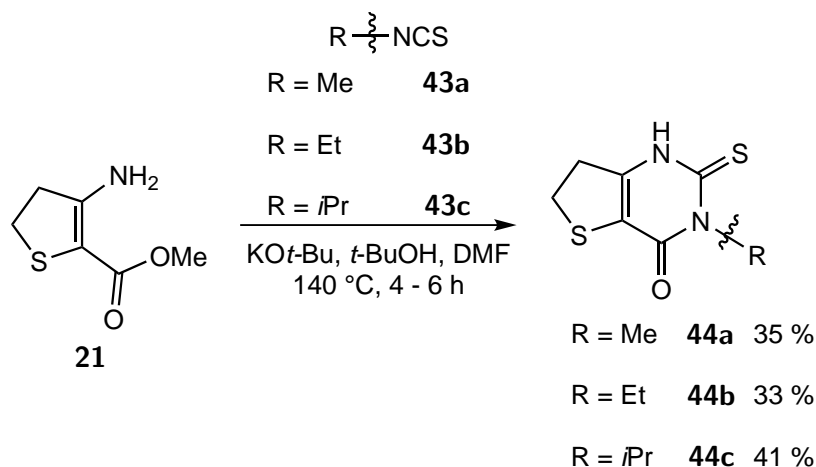


Abbildung 4.17: Die Umsetzung von Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) mit den entsprechenden Alkyl-Isothiocyanaten **43a–c** nach einer Vorschrift von DAVOODNIA *et al.* führte zu den Zwischenprodukten **44a–c**.^[144]

4.3.2. Synthese der Zielverbindungen **14a–c** der Serie **3**

Die zuvor erzeugten alkylsubstituierten Pyrimidinon-Derivate **44a–c** wurden wiederum nach WANG *et al.* mit dem Benzothiazol-Linker **28** umgesetzt.^[121] Alle drei Zielverbindungen der **Serie 3** konnten mit guten Ausbeuten von 56 bis 81 % isoliert werden (s. **Abbildung 4.18**). Um den für die Testung nötigen Reinheitsgrad zu erreichen, wurden alle drei Verbindungen zusätzlich zur säulenchromatographischen Reinigung aus einem EtOH/Wasser-Gemisch umkristallisiert.

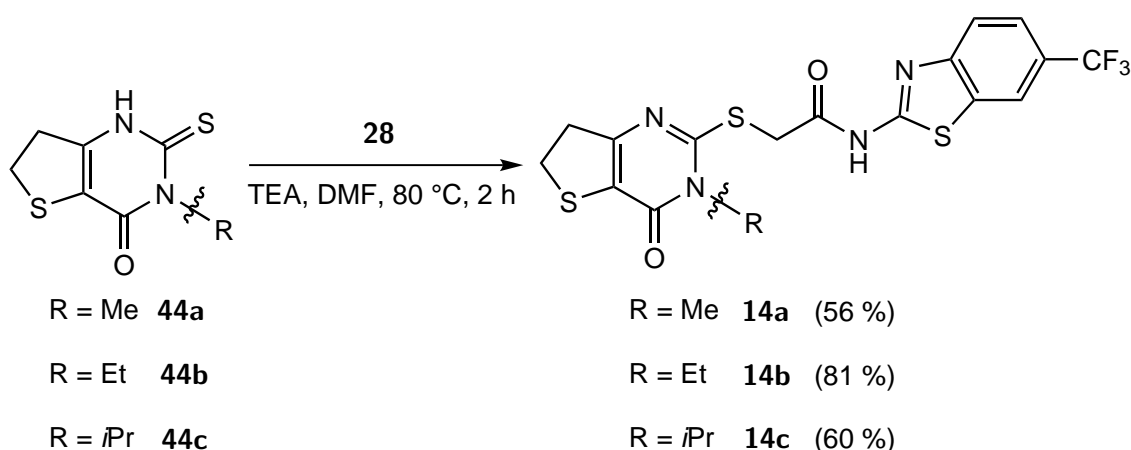


Abbildung 4.18: Die Zielverbindungen **14a–c** der **Serie 3** konnten mit guten Ausbeuten zwischen 56 und 81 % isoliert werden. Die Synthese wurde nach der Vorschrift für die Synthese der IWP-Verbindungen nach WANG *et al.* durchgeführt.^[121]

Im Jahre 1998 veröffentlichten drei Wissenschaftler unabhängig voneinander und zeitgleich eine neue Methode zur Kreuzkupplung von Aryl-Boronsäuren mit Aminen und Alkoholen. CHAN *et al.*, EVANS *et al.* und LAM *et al.* beschreiben die Synthese unter Kupferkatalyse, Baseneinsatz und aeroben Bedingungen bei Raumtemperatur.^[145–147] Im Jahr 2012 postulierten SANJEEVA RAO *et al.* einen möglichen Mechanismus für die Chan-Evans-Lam-Kupplung oder kurz Chan-Lam-Kupplung, der über fünf Schritte und verschiedene Oxidationsstufen des Kupfers (Cu(I), Cu(II) und Cu(III)) zum gewünschten Produkt führt.^[148] VANTOUROUT *et al.* haben später über spektroskopische Methoden einige der intermediär entstehenden Spezies analysiert und einen neuen Mechanismus postuliert, der vereinfacht in **Abbildung 4.20** zu sehen ist.^[149]

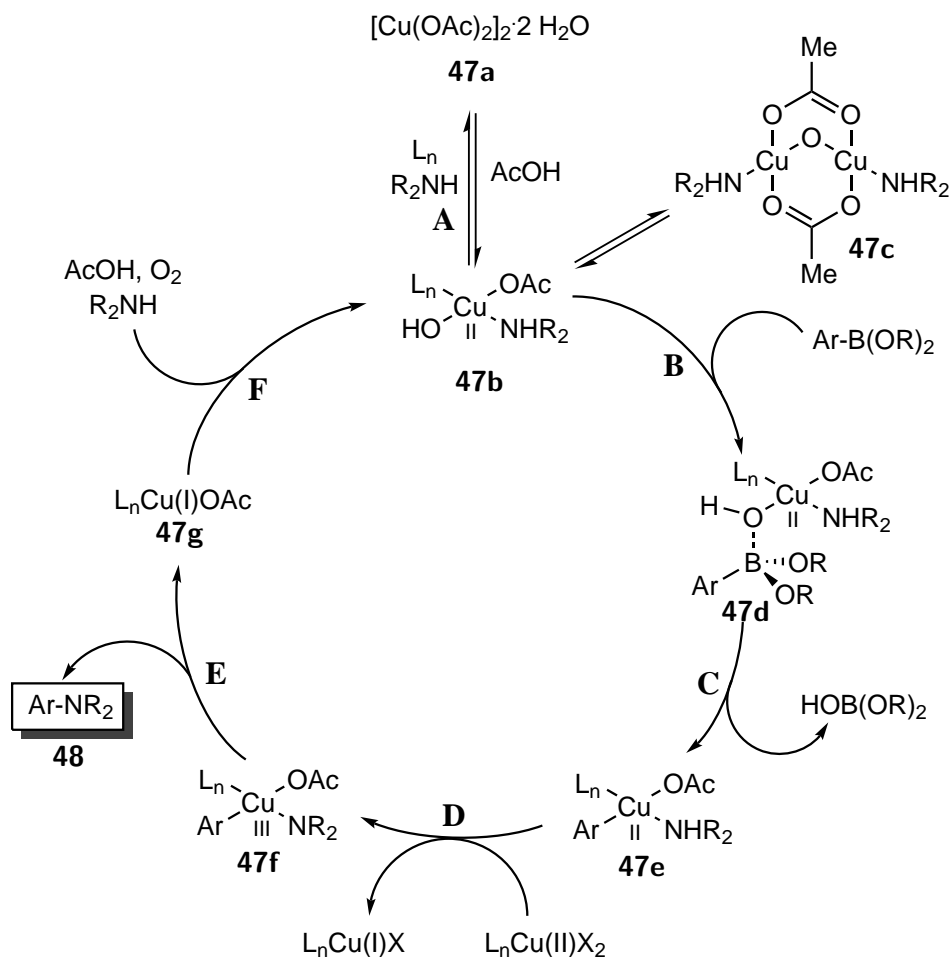


Abbildung 4.20: Der von VANTOUROUT *et al.* postulierte Mechanismus der Chan-Lam-Kupplung ist in fünf Schritte unterteilt. **A** Denukleation, **B** Koordination, **C** Transmetallierung, **D** Oxidation, **E** C-N reduktive Eliminierung, **F** Oxidation.^[149]

Die Vorgänge sind derweil viel komplexer als in **Abbildung 4.20** dargestellt. Für das leichtere Verständnis wurden einige der entstehenden Nebenprodukte und Gleichgewichts-

Spezies aus der Darstellung weggelassen. Als Kupferkatalysator wird Kupfer(II)-acetat-Monohydrat **47a** verwendet, das im Lösungsmittel und unter Zugabe desamins unter Denukleation zum mononuklearen Cu(II)-Komplex **47b** reagiert. Der mononukleare Cu(II)-Komplex **47b** liegt im Gleichgewicht mit seinem Dimer **47c** (sowie dem Tetramer) vor. Bei Zugabe der Arylboron-Spezies kommt es zur Koordination dieser an den Kupfer-Komplex **47d** und anschließend zur Transmetallierung hin zum Cu(II)-Komplex **47e**, welcher wiederum via einer Disproportionierungs-Reaktion oxidiert wird und einen Cu(III)-Komplex **47f** bildet. Im nächsten Schritt entstehen durch eine C-N reduktiven Eliminierung das gewünschte Produkt **48** sowie ein Cu(I)-Komplex **47g**. Im letzten Schritt kommt es in Anwesenheit von Luft-Sauerstoff, Essigsäure und dem Amin zur Oxidation und zur erneuten Entstehung des Kupfer(II)-Komplexes **47b**.^[149]

ABD EL KADER *et al.* zeigten, dass sich die Bedingungen der Chan-Lam-Kupplung auch auf die C-N-Kupplung von Phenylboronsäuren mit 4(3H)-Pyrimidinon (**45**) anwenden lassen.^[150] Da mit 24 Stunden Reaktionszeit die Umsetzung recht langsam erfolgt, haben unter anderem LIU *et al.* die Reaktionsbedingungen variiert und verschiedene Kupfer-Katalysatoren getestet.^[151] Unter anderem durch die Verwendung eines Sauerstoffballons, DMSO als Lösungsmittel sowie einer Reaktionstemperatur von 90 °C konnte die Reaktionszeit auf dreieinhalb bis vier Stunden verkürzt werden. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Synthesen wurden letztlich, statt mit Zufuhr von reinem Sauerstoff, durch das Einleiten von Druckluft realisiert. Es wurde neben Kupfer(II)-acetat auch Cu(I)Br erfolgreich als Katalysator verwendet. In **Abbildung 4.21** ist eine Übersicht der durchgeführten C-N-Kupplungsreaktionen gezeigt.^[145–147,150,151]

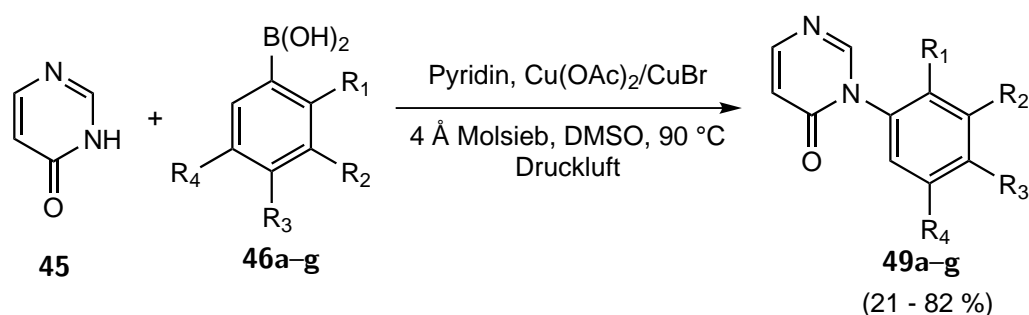


Abbildung 4.21: Synthese der Phenylpyrimidinon-Derivate **49a-g** unter abgewandelten Chan-Lam-Kupplungs-Bedingungen.^[145–147,150,151]

In **Tabelle 4.5** sind die verschiedenen Produkte der Chan-Lam-Kupplung mit den jeweiligen Ausbeuten zusammengefasst. Die Ausbeuten schwanken dabei relativ stark zwischen

21 und 82 %, wobei die Unterschiede unabhängig von dem gewählten Kupferkatalysator sind. Letzte Zweifel, ob es sich bei den Produkten um die O- statt N-substituierten Produkte handelt, konnten mittels NMR-Analytik weitestgehend zerstreut werden. Das 2D-HMBC NMR zeigt eine sehr schwache 3J -Kopplung zwischen dem C²H-Proton des Pyrimidinons und dem Kohlenstoff C¹ des Phenylrings.

Tabelle 4.5: Produkte der Chan-Lam-Kupplung mit Angabe der jeweiligen Ausbeute.

Produkt	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ausbeute
49a	H	H	H	H	76 %
49b	-OMe	H	H	-OMe	42 %
49c	-OMe	H	-OMe	H	21 %
49d	H	-OMe	H	-OMe	82 %
49e	-OMe	H	H	H	35 %
49f	H	H	-OMe	H	73 %
49g	H	-OMe	H	H	66 %

4.4.2. Synthese der 2-Thioxo-Phenylpyrimidinon-Derivate **59a–g**

Die retrosynthetische Zerlegung (s. **Abbildung 4.19**) zeigt, dass im nächsten Schritt in 2-Position der Phenylpyrimidinon-Derivate ein Thioketon eingeführt werden muss. XU *et al.* haben im Jahr 1995 eine Methode zur Darstellung von Imidazol-2-thionen ausgehend von Imidazol beschrieben (s. **Abbildung 4.22**).^[152] Imidazol **50** reagiert unter zweifacher Addition von Chlorthioameisensäure-O-phenylester (**51**) zum Imidazolium **52**. Durch die Addition von Wasser (vgl. **53**) kommt es zur Ringöffnung und zur Bildung einer Aldehydspezies **54**. Der Aldehyd tritt unter Zugabe von einem weiteren Molekül Wasser als Methansäure aus (vgl. **55**). Durch die Abspaltung von Phenol entsteht ein Isothiocyanat-Derivat **56**, das durch eine intramolekulare Ringschlussreaktion zum Zwischenprodukt **57** reagiert. Im letzten Schritt findet die Hydrolyse zum Imidazol-2-thion **58** statt.^[152] Der Mechanismus leitet sich von dem von PRATT *et al.* publizierten Mechanismus für die Reaktion von Imidazolen mit Chlorameisensäurephenylester ab.^[153] XU *et al.* konnten außerdem zeigen, dass sich die Reaktion auch auf N-substituierte Imidazole anwenden lässt.^[152]

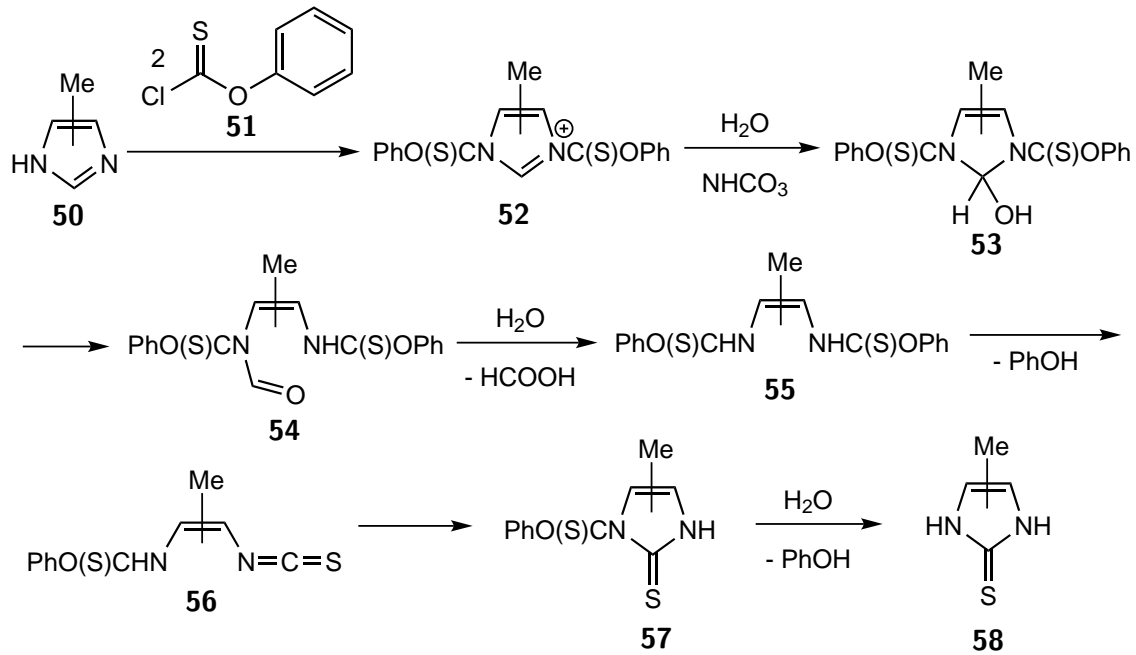


Abbildung 4.22: Der von XU *et al.* angegebene Reaktionsmechanismus von Imidazolen **50** mit Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**).^[152]

Da eine strukturelle Ähnlichkeit zwischen *N*-substituierten Imidazolen und den erzeugten Phenylpyrimidinon-Derivaten **49a-g** besteht, wurden die Reaktionsbedingungen von XU *et al.* für die Synthese der 2-Thio-Phenylpyrimidinon-Derivate **59a-g** angewendet.^[152] In **Abbildung 4.23** ist eine Übersicht der durchgeführten Reaktionen gezeigt und in **Tabelle 4.6** eine Aufschlüsselung über die einzelnen Produkte und die zugehörigen Ausbeuten.

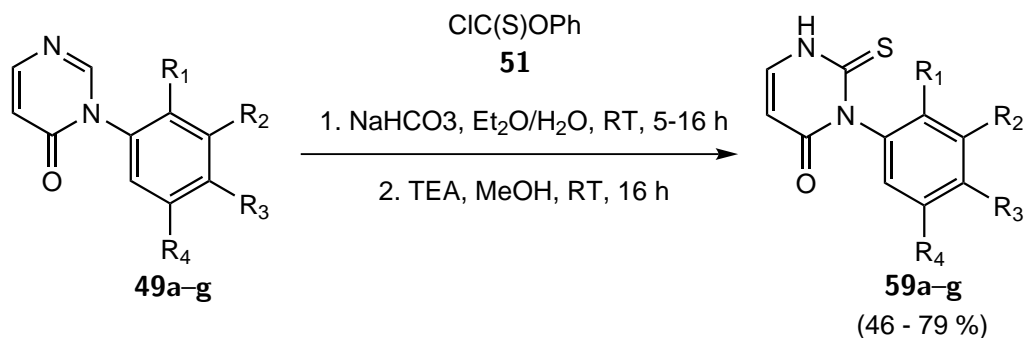


Abbildung 4.23: Umsetzung der Phenylpyrimidinon-Derivate mit Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**) nach XU *et al.*^[152]

Tabelle 4.6: Die Produkte **59a–g** nach der Umsetzung der Phenylpyrimidinon-Derivate **49a–g** mit Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**) nach XU *et al.*^[152]

Edukt	Produkt	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ausbeute
49a	59a	H	H	H	H	46 %
49b	59b	-OMe	H	H	-OMe	79 %
49c	59c	-OMe	H	-OMe	H	78 %
49d	59d	H	-OMe	H	-OMe	70 %
49e	59e	-OMe	H	H	H	74 %
49f	59f	H	H	-OMe	H	77 %
49g	59g	H	-OMe	H	H	71 %

4.4.3. Synthese von 2,3-Dimethoxybenzylchlorid (**60e**)

Neben den Phenylpyrimidinon-Derivaten sollten wie bei den Verbindungen der **Serie 1** auch Benzyl-substituierte Derivate hergestellt werden. Im Rahmen der Bachelorarbeit von JOANA BAIER wurde basierend auf Modeling Ergebnissen aber auch basierend auf den Testdaten der Verbindungen der **Serie 1** eine nähere Auswahl an möglichen Verbindungen getroffen.^[154] Durch die zeitliche Begrenzung der Bachelorarbeit war ein weiteres Auswahlkriterium die käufliche Erwerbbarkeit der Ausgangssubstanzen. Da die Auswahl allerdings recht stark beschränkt war, wurde im Falle von **60e** das Chlorid ausgehend von dem Alkohol **29b** erzeugt.^[154] Der Alkohol bot sich als Edukt an, da bereits einige Alkohole für die Synthese der Isothiocyanate verwendet wurden. Die Literatur beschreibt viele Varianten, um Benzylchloride aus Benzylalkoholen darzustellen.^[155–158] Insbesondere die Verwendung von Thionylchlorid wird in verschiedenen Varianten beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit wurde das Benzylchlorid **60e** nach einer Vorschrift von OGURA *et al.* hergestellt (s. **Abbildung 4.24**).^[158] Die sehr schlechte Ausbeute lässt sich vermutlich vor allem mit der Stabilität des Thionylchlorids erklären. Thionylchlorid reagiert sehr stark mit Wasser. Anders als in der Vorschrift empfohlen, wurde die Reaktion nicht unter Inertgas durchgeführt. Die Schutzgasatmosphäre hätte eine Reaktion des Thionylchlorids mit umgebender Luftfeuchtigkeit verhindert. Zudem war das Reagenz zum Zeitpunkt der Durchführung der Synthese bereits einige Jahre alt.

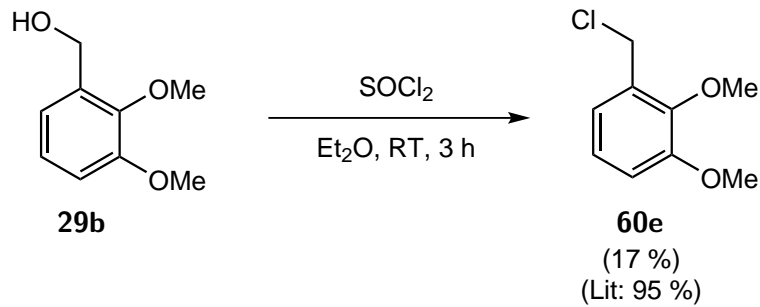


Abbildung 4.24: Synthese von 2,3-Dimethoxybenzylchlorid (**60e**) nach einer Vorschrift von OGU-RA *et al.* [154,158]

4.4.4. Synthese der Benzylpyrimidinon-Derivate **65a–e**

Anders als bei den Phenylpyrimidinon-Derivaten lassen sich die entsprechenden Benzyl-Derivate nicht ausgehend von den Benzylboronsäuren darstellen. Dennoch blieb das prinzipielle Vorgehen ein Ähnliches. 4(3*H*)-Pyrimidinon (**45**) liegt unter basischen Bedingungen in verschiedenen Tautomeren **61a,b** vor (s. **Abbildung 4.25**). Aus diesem Grund können sowohl der Sauerstoff als auch der Stickstoff nukleophil reagieren. ROOPAN *et al.* haben eine Methode entwickelt, um eine selektive Substitution von 3-(Chlormethyl)chinolinen an dem Stickstoff von 4(3*H*)-Pyrimidinon (**45**) durchzuführen. [159] In Anwesenheit von Eisen-Nanopartikeln wird das Amid/Enolat-Gleichgewicht [**61a** \rightleftharpoons **61b**] zugunsten des Stickstoffs verschoben. Das Eisen koordiniert sich an den Sauerstoff (vgl. **62**) und die Substitution zum Produkt **63** kann selektiv am Stickstoff stattfinden. [159]

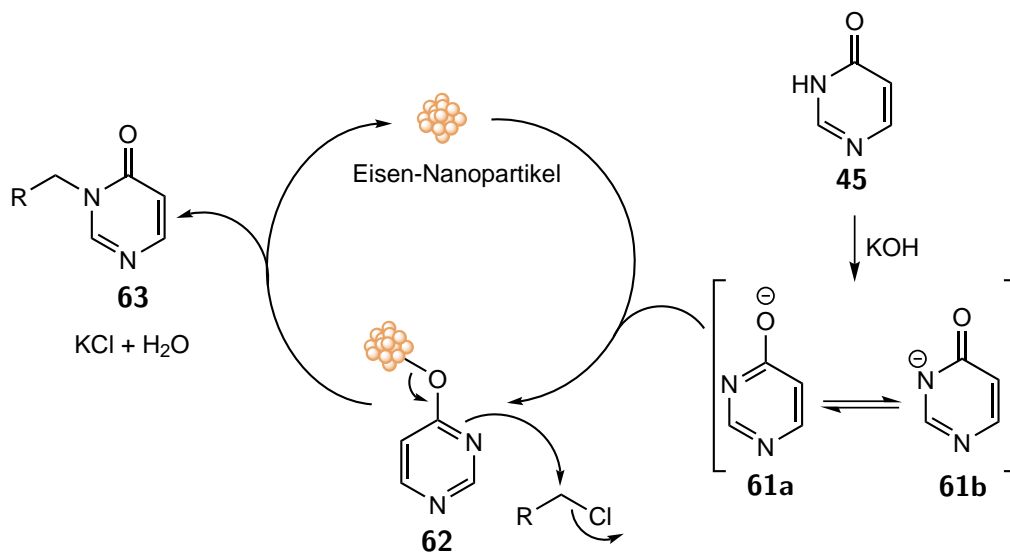


Abbildung 4.25: Katalytischer Ablauf der Reaktion nach ROOPAN *et al.* unter Zuhilfenahme von Eisen-Nanopartikeln. Die Eisenpartikel koordinieren an den Sauerstoff der Enolat-Form **61a** und ermöglichen eine Substitution am Stickstoff. [159]

Die Synthese nach ROOPAN *et al.* konnte erfolgreich für die Synthese von fünf Benzylpyrimidinon-Derivaten angewendet werden. In **Abbildung 4.26** ist eine Reaktionsübersicht zu sehen.

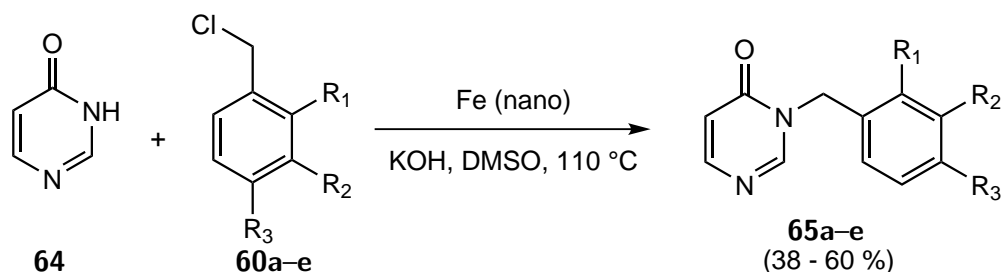


Abbildung 4.26: Darstellung der Benzylpyrimidinon-Derivate (**65a-e**) nach ROOPAN *et al.* Der Eisenkatalysator unterstützt die Substitution am Stickstoff.^[154,159]

Ähnlich wie bei der Reaktion, die FONT *et al.* beschrieben haben (vgl. **Abbildung 4.14**), scheint die Reaktion von ROOPAN *et al.* sich auf Benzylchloride zu beschränken. Der gleiche Ansatz mit Benzylbromid lieferte kein Produkt.^[142] In der **Tabelle 4.7** sind die synthetisierten Benzylpyrimidinon-Derivate mit ihren Ausbeuten angegeben. Die Synthese von **65a** wurde von ROOPAN *et al.* mit einer Ausbeute von 92 % durchgeführt,^[159] konnte im Rahmen dieser Arbeit allerdings nur mit einer Ausbeute von 38 % reproduziert werden. Ähnlich wie bei den Phenylpyrimidinon-Derivaten, konnte mittels 2D-NMR-Spektren (HMBC) bestätigt werden, dass bei der Reaktion die jeweiligen *N*-substituierten Produkte entstanden sind, da die ³*J*-Kopplung der CH₂-Gruppe zum C² des Pyrimidinons deutlich sichtbar war.

Tabelle 4.7: Zusammenfassung der synthetisierten Benzylpyrimidinon-Derivate **65a-e** mit Angabe der Ausbeute.^[154]

Edukt	Produkt	R ₁	R ₂	R ₃	Ausbeute
60a	65a	H	H	H	38 %
60b	65b	H	H	-OMe	50 %
60d	65c	F	H	H	51 %
60c	65d	H	H	-CF ₃	60 %
60e	65e	-OMe	-OMe	H	47 %

4.4.5. Synthese der 2-Thioxo-Benzylpyrimidinon-Derivate **66a–e**

Die Darstellung der Thioketone bei den Benzylpyrimidinon-Derivaten **65a–e** sollte analog zu den Phenylpyrimidinon-Derivaten **49a–g** nach XU *et al.* durchgeführt werden.^[152] Durch einen Übertragungsfehler ist es bei den folgenden Synthesen allerdings zum Einsatz von zu wenig TEA (1.3 Äquivalente statt drei Äquivalente) sowie Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 2.3 Äquivalente statt 2.5 Äquivalente) gekommen. Dadurch bedingt kam es bei der Durchführung zu einigen Schwierigkeiten.^[154] Der Fehler ist allerdings erst nach Ablauf der Bearbeitungszeit für die Bachelorarbeit aufgefallen. Nach der Durchführung der zwei erforderlichen Reaktionsschritte (vgl. **Abbildung 4.23**) hatte sich bei der Reaktion der Benzylpyrimidinon-Derivate ein Produkt gebildet, dessen Masse um einiges größer war als die Produktmasse. Es zeigte sich außerdem ein charakteristisches Fragmentierungsmuster in der LC-MS. Durch die kombinierte Analyse von NMR, Masse und Reaktionsmechanismus ließen sich die entstandenen Zwischenprodukte identifizieren. Der Mechanismus zeigt, dass im Laufe der Reaktion einige stabile Zwischenprodukte gebildet werden (s. **Abbildung 4.27**). Tatsächlich konnten die zuvor isolierten Produkte als das Zwischenprodukt **70** identifiziert werden. Daraufhin wurde der zweite Reaktionsschritt ein weiteres Mal durchgeführt und zusätzlich die Temperatur der Reaktion auf 80 °C erhöht. Der erneute Umsatz der Zwischenprodukte mit TEA in MeOH führte letztlich zu den gewünschten Produkten. Bei der Reaktion von **66a** wurden von vornherein 2.7 Äquivalente TEA eingesetzt, sowie für die bessere Durchmischung des Lösungsmittelgemisches im ersten Reaktionsschritt ein mechanischer Rührer (KPG-Rührer) verwendet. Dass diese Reaktion mit der besten Ausbeute von 42 % funktioniert hat, ohne den zweiten Reaktionsschritt wiederholen zu müssen, zeigt die Relevanz der Basenkonzentration. In **Tabelle 4.8** sind die Reaktionsprodukte **66a–e** mit den jeweiligen Ausbeuten angegeben.

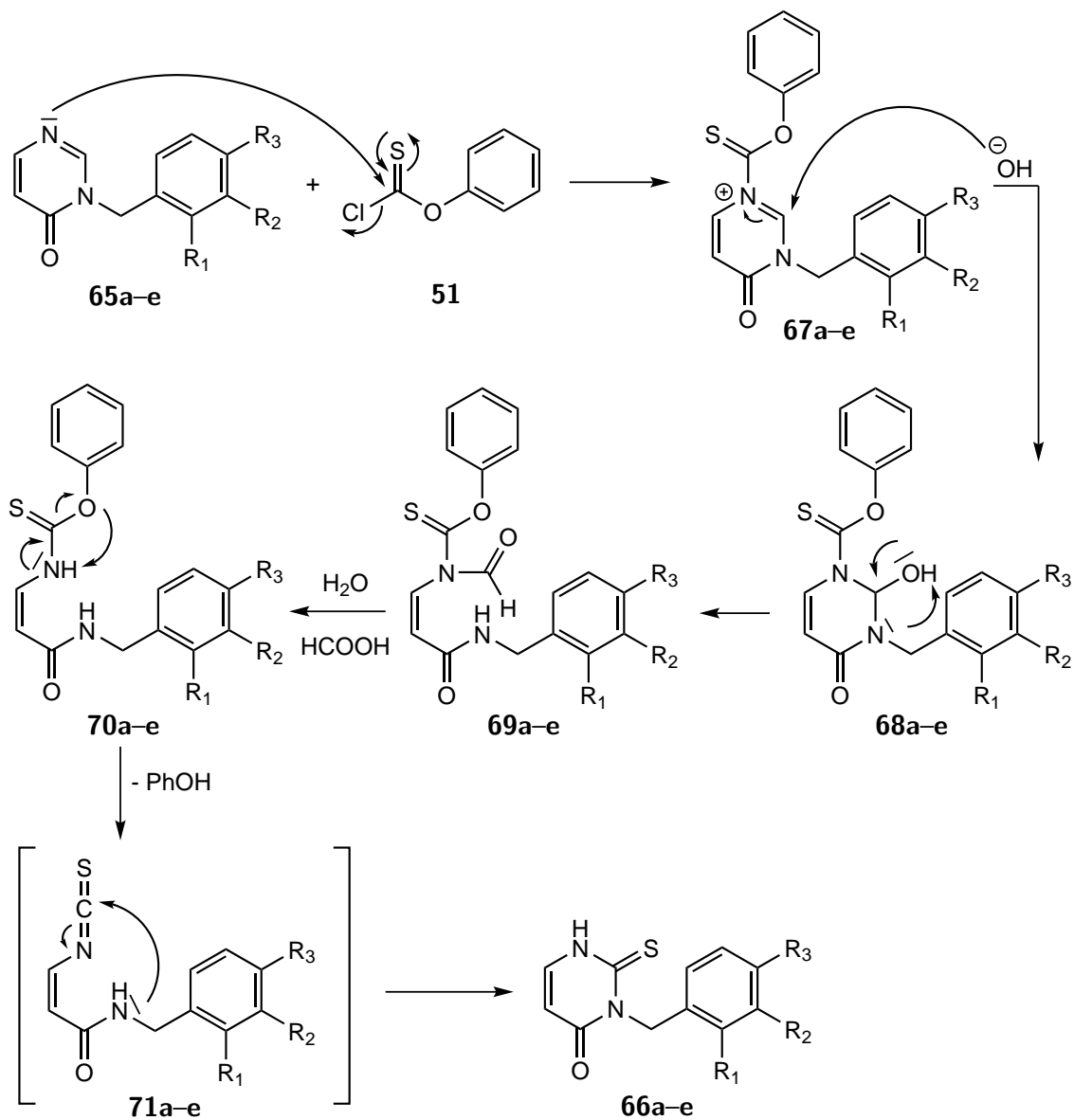


Abbildung 4.27: Die Synthese der 2-Thio-Benzylpyrimidinon-Derivate **66a-e** erfolgte ausgehend von **65a-e**. **51** greift an, es bildet sich eine ionische Zwischenstufe **67a-e**, die unter Baseneinfluss zu den Alkohol-Derivaten **68a-e** reagiert. Es kommt zur Ringöffnung (vgl. **69a-e**) und unter Abspaltung von Methansäure zu den Zwischenprodukten **70a-e**. Phenol wird abgespalten und die Zwischenprodukte **70a-e** lagern sich zu Isothiocyanaten **71a-e** um. Durch einen intramolekularen Ringschluss werden die Produkte **66a-e** gebildet.^[152]

Tabelle 4.8: Die Darstellung der Thioketone nach XU *et al.* führte durch zu geringe Basenkonzentration nur mit schlechten Ausbeuten zu den Produkten **66a–e**.^[152,154]

Edukt	Produkt	R ₁	R ₂	R ₃	Ausbeute
65a	66b	H	H	H	29 %
65b	66c	H	H	-OMe	23 %
65c	66d	F	H	H	22 %
65d	66a	H	H	-CF ₃	42 %
65e	66e	-OMe	-OMe	H	19 %

4.4.6. Synthese der Zielverbindungen **15a–g** und **16a–d** der Serie 4

Die in den **Kapiteln 4.4.2 und 4.4.5** erzeugten 2-Thioxo-Pyrimidinon-Derivate wurden im letzten Schritt analog zu den vorangegangenen Serien nach WANG *et al.* umgesetzt.^[121] Eine Ausnahme bildet das Derivat **66e**. Aufgrund der sehr geringen Ausbeute wurde das Produkt nach erfolgter Analytik nicht weiter umgesetzt.^[154] Es konnten letztlich elf Endprodukte der **Serie 4** erzeugt werden. Eine Übersicht über die durchgeführten Reaktionen ist in **Abbildung 4.28** zu sehen. In **Tabelle 4.9** erfolgt die Auflistung der Produkte mit Angabe der Ausbeute des letzten Reaktionsschrittes und der Reinheit.

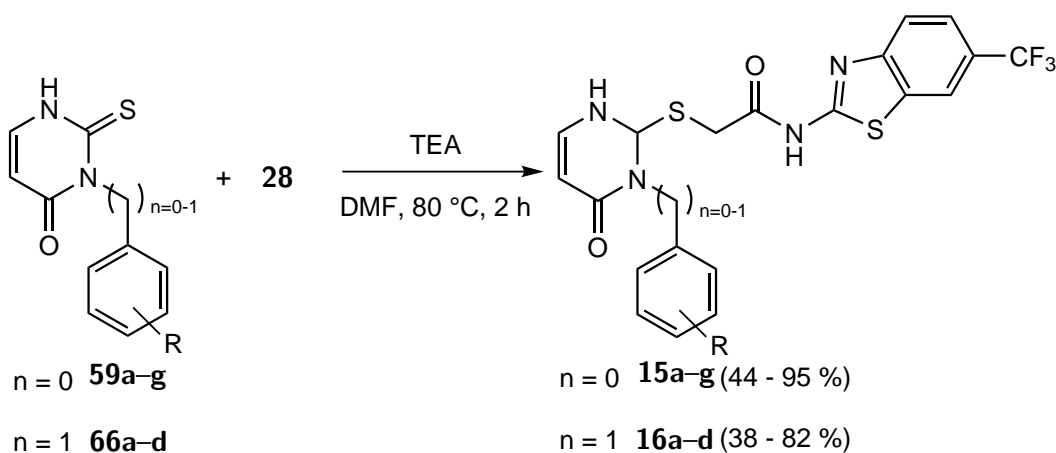


Abbildung 4.28: Syntheseübersicht zur Darstellung der Zielverbindungen **15a–g** und **16a–d** der **Serie 4** nach WANG *et al.*^[121]

Neben der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel wurden einige Produkte zusätzlich aus einem EtOH/Wasser-Gemisch umkristallisiert, um die für die Testung nö-

tige HPLC-Reinheit zu erhalten. Die entstandenen Kristalle von **15a** konnten außerdem mittels Röntgenkristallographie untersucht werden, wodurch sich die Struktur eindeutig belegen ließ. Bei dem Derivat **16b** ist das Produkt bei der Aufarbeitung aus DCM sauber ausgefallen und wurde daher nicht weiter aufgereinigt.

Tabelle 4.9: Die Produkte der **Serie 4** mit Angabe der Ausbeuten im letzten Reaktionsschritt und der HPLC-Reinheit.

#	Struktur	Ausb.	Reinh.	#	Struktur	Ausb.	Reinh.
15a		44 %	100 %	15b		71 %	98 %
15c		59 %	97 %	15d		68 %	98 %
15e		95 %	100 %	15f		71 %	100 %
15g		84 %	99 %	16a		82 %	100 %
16b		40 %	100 %	16c		81 %	100 %
16d		38 %	100 %				

4.6. Serie 5

Die Verbindungen der **Serie 5** sind im Rahmen der Bachelorarbeit von KEVIN BRESSLER entstanden.^[161] Neben den vorangegangenen Strategien der Leitstruktur-Optimierung wurde in der nächsten Serie ein weiteres Konzept zur Wirkoptimierung von Inhibitoren herangezogen. Wie bereits in **Kapitel 1.3** besprochen wurde, kann die Einführung von Naturstoff-Bausteinen in eine Leitstruktur einige Vorteile mit sich bringen.^[98,99] Die Benzothiazol-Leitstruktur, die sich nicht nur in den IWPs finden lässt, sondern auch in einer Vielzahl von anderen CK1-Inhibitoren, hat sich als besonders effektiv gegenüber CK1 δ erwiesen.^[20,26,93,94] Die Verbindungen der **Serie 5** lassen sich nunmehr nicht direkt von der Struktur der IWPs herleiten, stattdessen wird das Benzothiazol-Grundgerüst mit Aminosäure-Bausteinen verknüpft. Neben den in **Kapitel 1.3** genannten Vorteilen von Aminosäuren ergeben sich auch synthetische Vorteile. Die Literatur beschreibt viele etablierte Peptidkupplungsreaktionen.^[162,163] Außerdem sind insbesondere die proteinogenen Aminosäuren kommerziell mit einer großen Variabilität an Schutzgruppen erhältlich. Da die Verbindungen der **Serie 5** als Salze dargestellt werden sollten, wurde als Schutzgruppe für die Aminosäuren die Boc-Schutzgruppe gewählt, die sich unter sauren Bedingungen unter Ausbildung des Salzes abspalten lässt.^[164–166]

4.6.1. Peptidkupplung mit Boc-geschützten Aminosäuren zu den Zwischenprodukten 82a–f

Für die Kupplung des Benzothiazol-Grundgerüsts an Boc-geschützte L-Aminosäuren wurde zunächst eine Auswahl von fünf Aminosäuren (Ala, Phe, Pro, Val, Trp) getroffen, wobei Aminosäuren ausgewählt wurden, die an der Seitenkette keine weiteren funktionellen Gruppen tragen, die bei der Peptidkupplung stören könnten. Eine Ausnahme bildet vielleicht das Tryptophan, das ein Indol als Heterozyklus enthält. Zusätzlich wurde die Aminosäure Tyrosin (Tyr) als sechste ausgewählt, die mit der phenolischen OH-Gruppe eine weitere reaktive Gruppe enthält. Alle L-Aminosäuren wurden einfach Boc-geschützt eingesetzt. Die phenolische OH-Gruppe des Tyrosins wurde nicht zusätzlich geschützt. Die Peptid-Kupplung mit 6-(Trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-amin (**27**) erfolgte nach einer Vorschrift von GARDNER *et al.*, die ebenfalls Benzothiazol-2-amine mit Boc-geschützten Aminosäuren umgesetzt haben.^[164] GARDNER *et al.* verwenden bei der Reaktion PyBOP (**76**) als stereoselektives Kupplungsreagenz mit DIPEA als Base (s. **Ab-**

bildung 4.32). Die Säurefunktion der Aminosäure **77** wird durch DIPEA deprotoniert (vgl. **78**) und durch eine nukleophile Substitution an PyBOP (**76**) bildet sich das Phosphoniumsalz **79**. Dieses kann entweder weiter zum Aktivester **80** reagieren oder direkt mit dem Amin **27** zum Produkt **82**. Die Triebkraft bei der Entstehung des Aktivesters **80** ist die gleichzeitige Bildung des stabilen Phosphorsäuretriamids **81**. Der Aktivesters **80** unterdrückt dabei die Racemisierung der Produkte^[167] und reagiert wiederum mit dem Amin **27** weiter zum Produkt **82**.

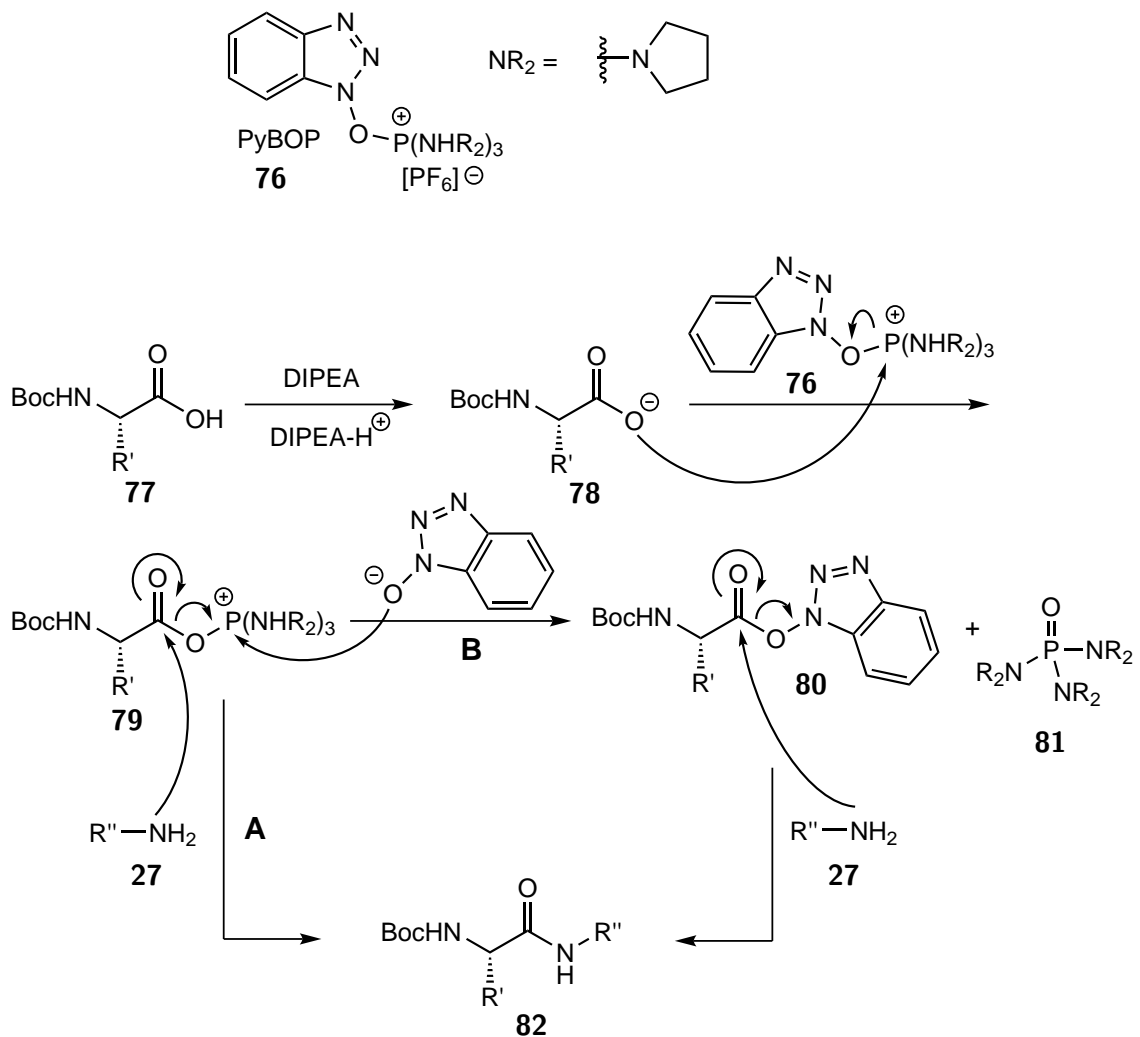

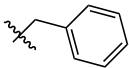


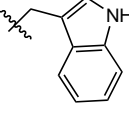
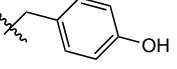


Abbildung 4.32: Die Säurefunktion der Aminosäure **77** wird durch DIPEA deprotoniert (vgl. **78**) und durch eine nukleophile Substitution an PyBOP (**76**) bildet sich das Phosphoniumsalz **79**. Dieses kann entweder weiter zum Aktivester **80** reagieren oder direkt mit dem Amin **27** zum Produkt **82**. Die Triebkraft zur Bildung des Aktivesters **80** ist außerdem die Bildung des stabilen Phosphorsäuretriamids **81**. Der Aktivester **80** reagiert wiederum mit dem Amin **27** zum Produkt **82**.^[167]

Zunächst wurden die erzeugten Produkte der Peptidkupplung ohne weitere Aufreinigung weiter verwendet. Es zeigte sich aber, dass es durch Verunreinigungen der Rohprodukte

bei der Weiterreaktion zu den entsprechenden Salzen zu einer größeren Anzahl an nicht näher charakterisierten Nebenprodukten kam. Die Derivate mit Prolin **82c**, Valin **82d**, Tryptophan **82e** und Tyrosin **82f** wurden daher zusätzlich säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. In **Tabelle 4.10** sind die Produkte der Peptidkupplungsreaktion unter Angabe der Ausbeute zusammengefasst.

Tabelle 4.10: Produkte **82a–f** der Peptidkupplung des Benzothiazol-Linkers **28** mit den Boc-geschützten Aminosäuren (AS) **77a–f** nach GARDNER *et al.*^[161,164]

Edukt AS	Produkt	Rest	Ausbeute
Boc-Ala (77a)	82a		96 %
Boc-Phe (77b)	82b		93 %
Boc-Pro (77c)	82c		52 %
Boc-Val (77d)	82d		75 %
Boc-Trp (77e)	82e		56 %
Boc-Tyr (77f)	82f		7 %

Die Peptidkupplung mit einfach Boc-geschütztem Tryptophan (**77e**) verlief dabei trotz des ungeschützten Indol-NH mit einer relativ guten Ausbeute von 56 %. Wie allerdings zu erwarten war, störte die phenolische OH-Funktion des Boc-Tyr (**77f**). Die Ausbeute der Reaktion lag nach Aufreinigung des Produktes nur bei 7 %. Aufgrund der zeitlichen Begrenzung der Bachelorarbeit wurde daher darauf verzichtet, das Tyrosin-Derivat **82f** zu den entsprechenden Salzen umzusetzen.

4.6.2. Synthese der Hydrochloride **83a–e**

Wie bereits zuvor angemerkt, eignet sich die Boc-Schutzgruppe in diesem synthetischen Projekt insbesondere, da sie säureempfindlich ist. Durch die Umsetzung der Kupplungsprodukte **82a–e** mit wasserfreier 4 M HCl-Lösung in 1,4-Dioxan, bildet sich das Hydrochlorid des freien Amins, das idealerweise im organischen Lösungsmittel ausfällt.^[168] Aufgrund des sehr lipophilen Benzothiazolrests und auch durch den Einfluss der verschiedenen Aminosäure-Seitenketten, war die Löslichkeit bei allen Produkten stark unterschiedlich. Es musste daher bei der Aufreinigung des Salzes mit jedem Produkt individuell verfahren werden. Eine Reaktionsübersicht ist in **Abbildung 4.33** zu sehen. Das Hydrochlorid des

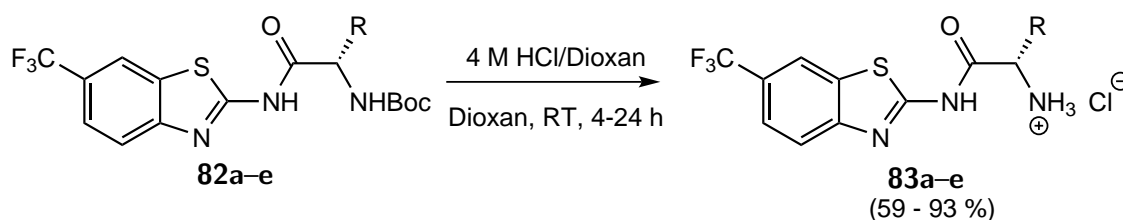


Abbildung 4.33: Darstellung der Hydrochloride nach einer Vorschrift von COATS *et al.*^[168] Es konnten folgende Produkte erhalten werden: R = Ala-Rest **83a** (61 %), R = Phe-Rest **83b** (93 %), R = Pro-Rest **83c** (59 %), R = Val-Rest **83d** (86 %), R = Trp-Rest **83e** (81 %).^[161]

Alanin-Derivats **83a** kristallisierte auch nach Einengen des Lösungsmittels nicht richtig aus. Mehrere Versuche den Rückstand aus einem organischen Lösungsmittel kristallisieren zu lassen, schlugen fehl. Letztlich wurde der Rückstand in Wasser aufgenommen und organische Verunreinigungen mit EE extrahiert. Die eingeeengte wässrige Phase enthielt dann nur noch sauberes Produkt. Das Phenyl-Derivat **83b** sowie das Prolin-Derivat **83c** ließen sich aus 2-Propanol umkristallisieren. Bei dem Valin-Derivat **83d** ist bereits nach 4 h Reaktionszeit ein farbloser Feststoff ausgefallen, der abfiltriert und gewaschen wurde. Bei dem Tryptophan-Derivat **83e** konnte nach Beenden der Reaktion das Produkt ebenfalls abfiltriert und gewaschen werden.

4.6.3. Synthese der Mesilate **84a,b,e**

Die Synthese der Mesilate erfolgte nach einer Vorschrift von ASHWORTH *et al.*^[166] Analog zu der Darstellung der Hydrochloride, sollten auch die Mesilate als Salz aus dem organischen Lösungsmittel ausfallen. Eine Reaktionsübersicht zur Darstellung der Mesilate **84a–e** ist in **Abbildung 4.34** zu sehen. Das Phenylalanin-Derivat **84b** sowie das Tryptophan-Derivat **84e** konnten nach Beenden der Reaktion abfiltriert und gewaschen

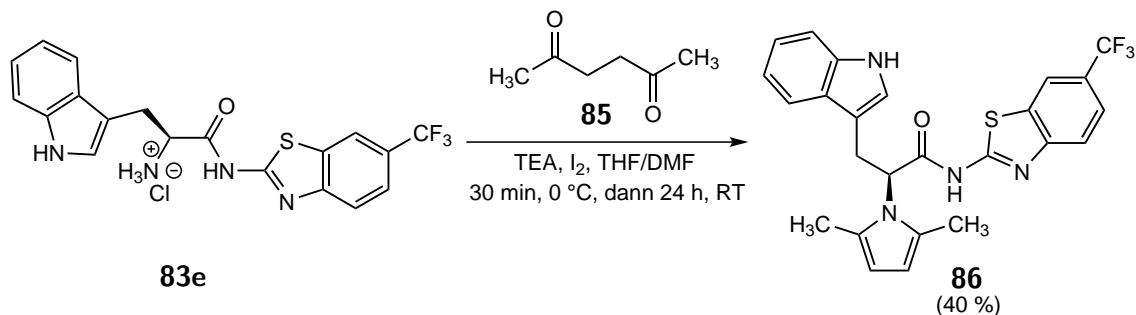


Abbildung 4.35: Darstellung des Pyrrol-Derivats **86** nach einer Vorschrift von RYZHKOV *et al.*^[169]

4.7. DFG-out-Inhibitor

Der in dieser Arbeit gezeigte potenzielle DFG-*out*-Inhibitor setzt sich aus zwei verschiedenen Bausteinen zusammen. Als *hingebinder* dient die hochpotente Verbindung **8** von SALADO *et al.*^[94], welche über eine Amid-Bindung an den von Imatinib (Glivec®, Novartis) bekannten 4-((4-Methylpiperazin-1-yl)methyl)benzoesäure-Rest **89** gekuppelt wurde.^[134] Die Reaktionsübersicht zur Darstellung des DFG-*out*-Inhibitors ist in **Abbildung 4.36** zu sehen. Es wurde zunächst ausgehend von dem 6-Nitrobenzothiazol-Derivat **92** die analoge Verbindung zu Verbindung **8** von SALADO *et al.* erzeugt.^[94] Dafür wurde das Säurechlorid **91** der 2-(2-Methoxyphenyl)essigsäure **90** erzeugt und dieses anschließend mit dem 6-Nitrobenzothiazol **92** umgesetzt.^[94] Das entstandene Nitro-Derivat **87** wurde katalytisch zum Amin-Derivat **88** reduziert und im letzten Schritt in einer Peptidkupplungsreaktion mit der Säure **89** umgesetzt.^[170]

Die Umsetzung der Carbonsäure **90** zum Säurechlorid **91** erfolgte in einem zweifachen Überschuss Thionylchlorid und katalytischen Mengen DMF in der Mikrowelle. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt ohne weitere Analytik direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt. Die anschließend erfolgreich durchgeführte Kupplung mit dem Benzothiazol-Derivat **92** nach der Vorschrift von SALADO *et al.* bestätigte, dass das Säurechlorid **91** entstanden ist. Für die anschließende Reduktion der Nitrogruppe wurde zunächst ebenfalls eine Reaktion in der Mikrowelle mit Cyclohexen als Reduktionsmittel und Palladium-Kohle als Katalysator durchgeführt. Nach Aufarbeitung der Reaktion konnte allerdings nur das Edukt isoliert werden. Daraufhin wurde die Reaktion in einer Hydrier-Apparatur durchgeführt, die es ermöglicht, einen Druck von mehreren Bar Wasserstoff anzulegen. Als Katalysator für die Reaktion wurde ebenfalls Palladium auf Kohle eingesetzt. Das Amin-Derivat **88** konnte mit einer Ausbeute von 77 % isoliert werden.

Übergangszustand **98** reagiert **97** mit dem Amin **88** zum Produkt **18**. Nach der Reinigung an RP-Kieselgel wurde das Produkt **18** mit einer Ausbeute von 39 % im letzten Reaktionsschritt isoliert.

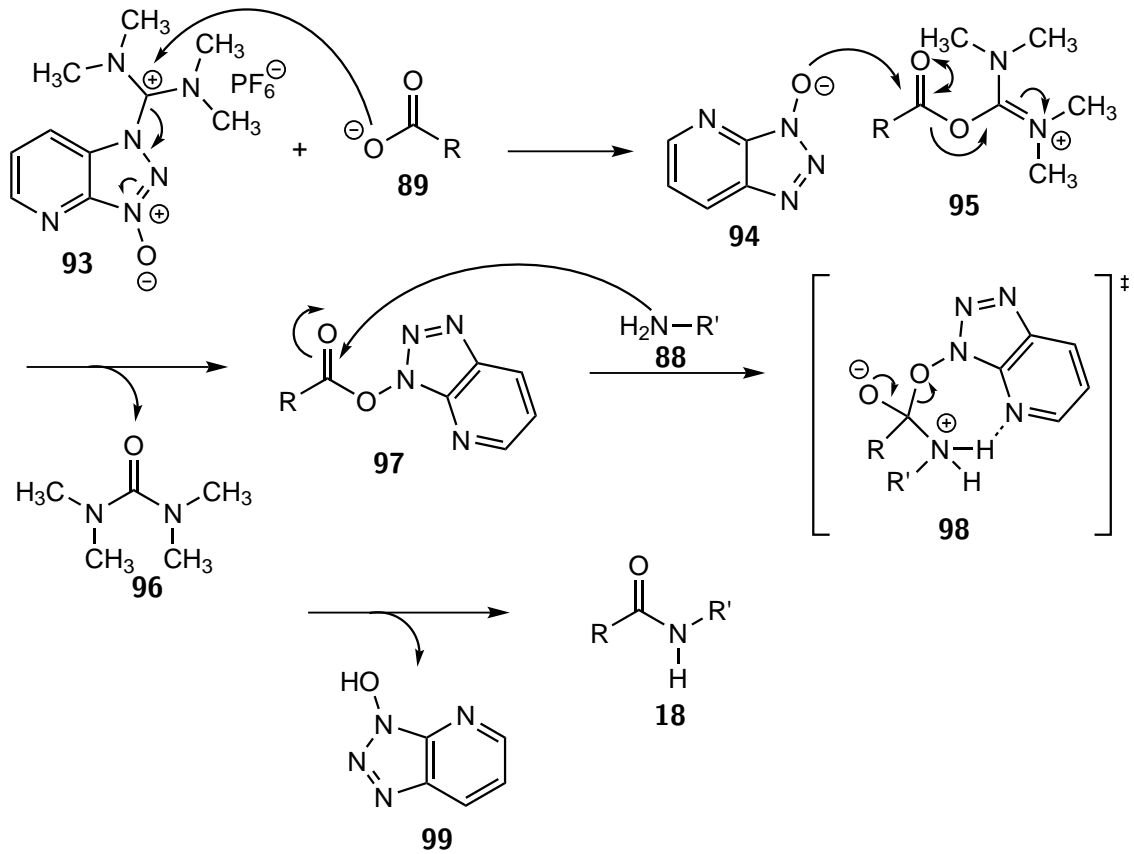


Abbildung 4.37: Die deprotonierte Säure **89** greift HATU **93** nukleophil am Carbokation an. Das entstehende Isouronium **95** reagiert mit dem Triazolopyridinolat **94** und das Harnstoff-Derivat **96** tritt aus. Der entstandene Triazolopyridinylester **97** wird am Carbonylkohlenstoff von dem Amin **88** angegriffen. Es bildet sich ein Übergangszustand **98**, der durch Abspaltung des Triazolopyridinol **99** zum Produkt **18** reagiert.

5 Biologische Evaluierung

Die meisten Zielverbindungen, die im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert wurden, konnten im Laufe der Zeit biologisch getestet werden. Die Testung wurde von Mitarbeitern der Arbeitsgruppe von Prof. KNIPPSCHILD am Universitätsklinikum Ulm durchgeführt. Das allgemeine Vorgehen bei der biologischen Evaluierung der Testsubstanzen sah zunächst ein initiales *screening* an CK1 Isoformen bei einer InhibitorKonzentration von 10 μ M vor. Bei einer Inhibition >50 % wurde anschließend die mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50}) am Enzym ermittelt. Einige Inhibitoren sind zusätzlich an Zellen getestet worden, dabei wurde teilweise die mittlere effektive Konzentration (EC_{50}) bestimmt. Für die Bestimmung der IC_{50} -Werte für CK1 δ wurde teilweise CK1 δ von der Ratte (rat) und teilweise humane CK1 δ verwendet, dabei gibt es drei verschiedene Transkriptionsvarianten (TV1, TV2 und TV3) der humanen CK1 δ , die unterschiedliche Funktionen aufweisen.^[29] Bei allen Kinase-Assays mit CK1 δ wurden Glutathion-S-Transferase-CK1 δ -Fusionsproteine vermessen (GST-CK1 δ). Der Übersicht halber wurde die Bezeichnung GST im Folgenden nicht verwendet. IC_{50} -Werte für die Mutante $M82^F$ CK1 δ wurden ausschließlich für das Enzym der Ratte bestimmt. Bei der Angabe wt CK1 ε handelt es sich um das humane Enzym. Die Durchführung der radiometrischen Kinase-Assays erfolgte mit radioaktiv markiertem ATP. Die Michaelis-Menten Analyse wurde mit GraphPad Prism 6 durchgeführt. IC_{50} -Werte wurden mit einer Dreifachmessung ermittelt. In der tabellarischen Ansicht sind die IC_{50} -Werte mit Standardabweichung angegeben. Sofern noch weitere Messungen ausstehen, wurde für diese Arbeit mit aktuellem Stand ein vorläufiger IC_{50} -Wert ohne Standardabweichung angegeben. Zellviabilitäts-Assays wurden mit dem kolorimetrischen MTT-Assay durchgeführt. DMSO diente bei der Testung als Kontrolle.

5.1. Testung der Zielverbindungen der Serie 1

5.1.1. Kinase-Assays

Die Zielverbindungen der **Serie 1** sind strukturell am besten vergleichbar mit den originalen Inhibitoren IWP-2 (**9**) und IWP-2-v2 (**10**). Insbesondere die Verbindungen **11a** und **11b** (s. **Tabelle 5.1**) unterscheiden sich nur durch die Trifluormethylgruppe von den originalen Verbindungen. Vergleicht man die IC_{50} -Werte (gemessen auf rat wt CK1 δ) von

IWP-2 (**9**) und IWP-2-v2 (**10**: $IC_{50}(^{wt}CK1\delta \text{ (rat)}) = 1.66 \mu\text{M}$) mit den analogen Zielverbindungen der **Serie 1**, zeigt sich jeweils eine leichte Verbesserung der biologischen Aktivität. Der IC_{50} -Wert von IWP-2 (**9**) liegt bei $0.93 \mu\text{M}$, der IC_{50} -Wert von **11a** bei $0.66 \mu\text{M}$. Ähnlich sieht es aus bei IWP-2-v2 (**10**) mit einem IC_{50} -Wert von $1.66 \mu\text{M}$ und Verbindung **11b** mit einem IC_{50} -Wert von $1.06 \mu\text{M}$.^[20] Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den *docking* Ergebnissen, die durch den Austausch der Methylgruppe zur Trifluormethylgruppe eine Verbesserung der Bindung vorhergesagt haben. Die bereits zuvor gezeigte Effektivität von IWP-2 (**9**) gegenüber der *gatekeeper*-Mutante $^{M82F}CK1\delta$ (gemessen auf rat $^{M82F}CK1\delta$) mit einem IC_{50} -Wert von $0.04 \mu\text{M}$ ist hingegen bei der analogen Verbindung **11a** mit einem IC_{50} -Wert von $0.21 \mu\text{M}$ deutlich schlechter.^[20] Die Isoformen-Selektivität von IWP-2 (**9**) für $CK1\delta$ gegenüber $CK1\epsilon$ bleibt auch bei der Verbindung **11a** erhalten (**11a**: $IC_{50}(CK1\epsilon) = 4.12 \mu\text{M}$, Faktor 6 im Vergleich zu $CK1\delta$), ist aber bei Verbindung **11b** vernachlässigbar (**11b**: $IC_{50}(CK1\epsilon) = 1.41 \mu\text{M}$, Faktor 1.3 im Vergleich zu $CK1\delta$).^[20] Eine deutlichere Verbesserung der Inhibition lässt sich bei der Verbindung **11c** feststellen (s. **Tabelle 5.1**). Im Vergleich zu IWP-2-v2 (**10**) weist die Verbindung eine etwa viermal höhere Affinität auf (**11c**: $IC_{50}(^{wt}CK1\delta \text{ (rat)}) = 0.41 \mu\text{M}$). Allerdings ist auch hier zu beobachten, dass durch die gesteigerte Effektivität die Selektivität zu $CK1\epsilon$ abnimmt (**11c**: $IC_{50}(CK1\epsilon) = 0.56 \mu\text{M}$, Faktor 1.4 im Vergleich zu $CK1\delta$).^[20] Dennoch konnte durch ein *screening* der Verbindung **11c** in einem *panel* von 320 Kinasen eine enorme Selektivität bestätigt werden (s. **Abbildung 5.1**). Bei einer Inhibitorkonzentration von $1 \mu\text{M}$ weist nur $CK1\delta$ eine Restaktivität von $<60 \%$ auf (gemessen von ProQinase GmbH, Freiburg, Deutschland). Ein ebenso gutes Inhibitionsprofil weist die Verbindung **11h** auf. Sie hat zum einen einen deutlich besseren IC_{50} -Wert als IWP-2-v2 (**10**) (**11h**: $IC_{50}(^{wt}CK1\delta \text{ (rat)}) = 0.38 \mu\text{M}$) und zum anderen eine immer noch relativ große Selektivität (**11h**: $IC_{50}(CK1\epsilon) = 3.20 \mu\text{M}$, Faktor 8 im Vergleich zu $CK1\delta$).^[172] Leider liefert das *docking* keine Antwort darauf, warum die Verbindung **11h** eine so große Wirksamkeit zeigt, zumal sich bei anderen Verbindungen die *para*-Substitution als affinitätssteigernd herauskristallisiert hat. Die tatsächlichen entropischen und enthalpischen Effekte, die bei der Bindung der Liganden eine Rolle spielen werden im Modeling scheinbar nur schlecht wiedergegeben. Insgesamt machen die Ergebnisse deutlich, dass nur eine sehr flache Struktur-Wirkungsbeziehung vorherrscht wodurch die Vorhersage der Bindeaffinität erschwert ist.

Die Verbindung **11i** wurde sowohl auf rat $CK1\delta$ als auch auf humaner $CK1\delta$ gemessen.

5.1. TESTUNG DER ZIELVERBINDUNGEN DER SERIE 1

Auf rat *wt*CK1 δ hat die Verbindung **11i** einen IC₅₀-Wert von 0.33 μ M^[20], auf humaner *wt*CK1 δ einen von der Größenordnung vergleichbaren IC₅₀-Wert von 0.63 μ M.^[173] Eine Zusammenfassung der IC₅₀-Werte der Zielverbindungen der **Serie 1** ist in **Tabelle 5.1** zu sehen.

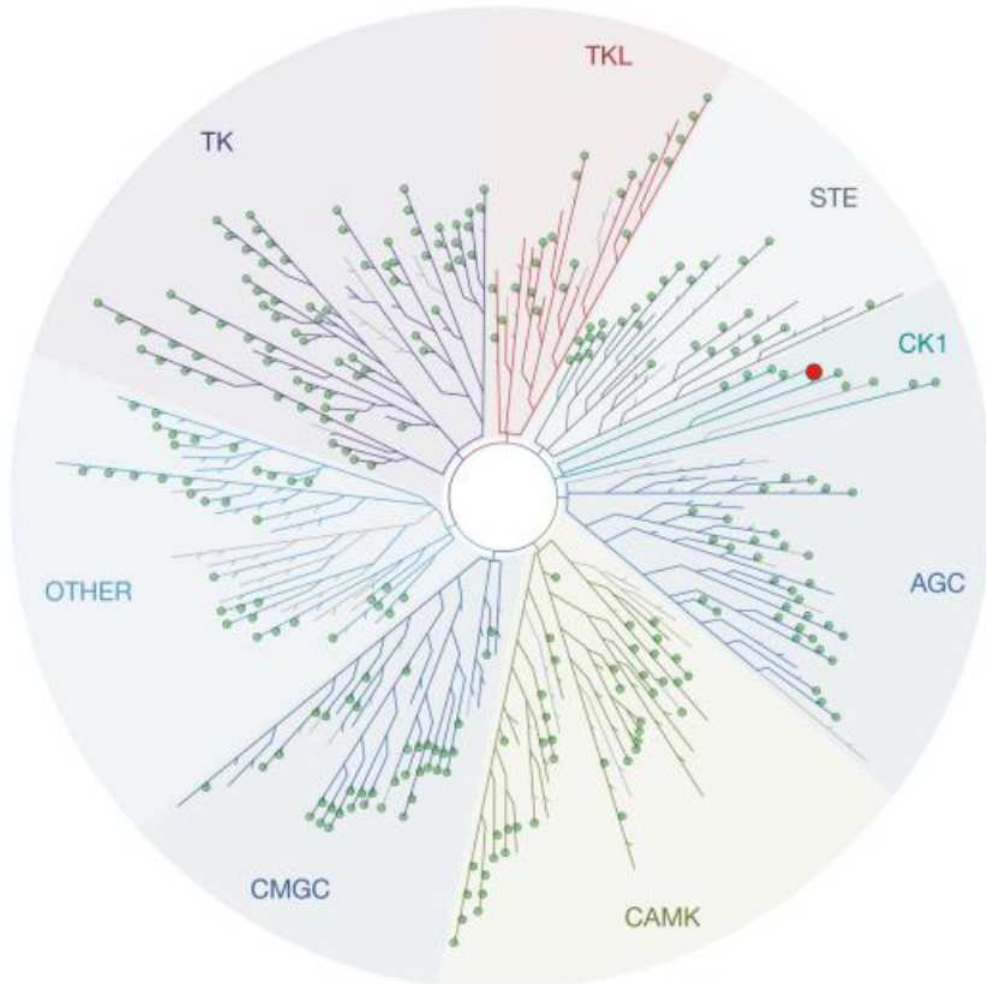
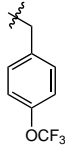
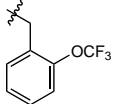


Abbildung 5.1: *Screening* gegen 320 Wildtyp-Proteinkinasen bei einer Inhibitorkonzentration von 1 μ M. Roter Punkt: Restaktivität nach Behandlung mit Inhibitor **11c** <60 %, grüner Punkt: Restaktivität nach Behandlung mit Inhibitor **11c** >60 %. Abbildung adaptiert von GARCIA-REYES und WITT *et al.*^[20] © (2018) American Chemical Society. Gemessen von ProQinase GmbH (Freiburg, Deutschland).

Tabelle 5.1: IC₅₀-Werte für die Zielverbindungen der **Serie 1** mit Angabe der Standardabweichung, sofern diese ermittelt wurde. Angabe der Konzentration in μM . Abk.: wt, Wildtyp; TV1, Transkriptionsvariante 1; M, Methionin; F, Phenylalanin; n.d., nicht ermittelt (*not determined*).

#	Struktur	wtCK1 δ (rat)	wtCK1 δ (TV1)	M82FCK1 δ (rat)	wtCK1 ϵ (human)
9	IWP-2	0.93±0.15 ^[20]	0.43±0.13 ^[174]	0.04±0.01 ^[20]	4.03±0.03 ^[20]
10	IWP-2-v2	1.66±0.37 ^[20]	0.12±0.03 ^[174]	0.06±0.01 ^[20]	7.34±2.58 ^[20]
11a		0.66±0.08 ^[20]	n.d.	0.21±0.03 ^[20]	4.12±0.80 ^[20]
11b		1.06±0.13 ^[20]	n.d.	0.27±0.02 ^[20]	1.41±0.29 ^[20]
11c		0.41±0.02 ^[20]	n.d.	0.09±0.01 ^[20]	0.56±0.09 ^[20]
11d		0.76±0.21 ^[20]	n.d.	0.21±0.03 ^[20]	1.23±0.53 ^[20]
11e		1.54±0.03 ^[172]	n.d.	0.53±0.01 ^[172]	2.10±0.05 ^[172]
11f		5.51±0.02 ^[172]	n.d.	3.72±0.13 ^[172]	>10 ^[172]
11h		0.38±0.01 ^[172]	n.d.	0.16±0.01 ^[172]	3.20±0.12 ^[172]
11i		0.33±0.07 ^[20]	0.63 ^[173]	n.d.	n.d.
11j		1.03±0.36 ^[20]	n.d.	n.d.	n.d.

#	Struktur	<i>wt</i> CK1 δ (rat)	<i>wt</i> CK1 δ (TV1)	<i>M82F</i> CK1 δ (rat)	<i>wt</i> CK1 ϵ
11k		0.70 \pm 0.17 ^[20]	n.d.	n.d.	n.d.
11l		8.42 \pm 0.10 ^[172]	n.d.	0.52 \pm 0.01 ^[172]	>10 ^[172]

5.1.2. Zellbasierte-Assays

Neben der Testung am isolierten Enzym wurden einige der Verbindungen auch in zellulären Assays getestet. Es wurden dabei überwiegend humane Pankreas-Zelllinien verwendet (BxPC-3, Colo-357, MiaPaCa-2, Panc-1, Panc-89 und PancTu-1) aber auch humane Brustkrebs-Zelllinien (MDA-MB 231 und MDA-MB 468). Es wurden jeweils in MTT Zellviabilitäts-Assays EC_{50} -Werte für die Verbindungen **11a–d,f,h,l** bestimmt. Alle Ergebnisse der zellulären Assays sind in **Tabelle 5.2** zusammengefasst. Auf PancTu-1-Zellen weist insbesondere die Verbindung **11c** einen sehr guten EC_{50} -Wert mit 0.33 μ M auf.^[173] Auf Panc-1-Zellen haben die Verbindungen **11b** und **11h** die besten EC_{50} -Werte (**11b**: $EC_{50} = 0.75 \mu$ M^[173], **11h**: $EC_{50} = 0.79 \mu$ M^[172]). Auf den Brustkrebszelllinien MDA-MB 231 und MDA-MB 468 wurden nur die Verbindungen **11f,h,l** getestet. Hier hat auf MDA-MB 231-Zellen die Verbindung **11l** den besten EC_{50} -Wert mit 2.57 μ M und auf MDA-MB 468-Zellen die Verbindung **11h** mit einem EC_{50} -Wert von 3.40 μ M.^[172] Insgesamt zeigt vor allem die Verbindung **11h** auf Zellen ein breites Wirkspektrum. Ergänzend zu dem vergleichsweise guten IC_{50} -Wert auf der Kinase, macht das die Verbindung zu einem potenten Inhibitor. Insbesondere die Wirksamkeit der Verbindung **11h** auf Zellen lässt sich mit dem vereinfachten Modell des *docking* nicht vorhersagen, da hier verschiedene Effekte überlagern. Die Erreichbarkeit des *target* und damit zusammenhängend die Lokalisation des *target* in der Zelle ist genauso relevant wie die metabolische Stabilität der Testsubstanzen und deren Löslichkeit. In **Abbildung 5.2** ist exemplarisch für die Verbindung **11h** die EC_{50} -Kurve auf humanen Panc-1-Zellen zu sehen.

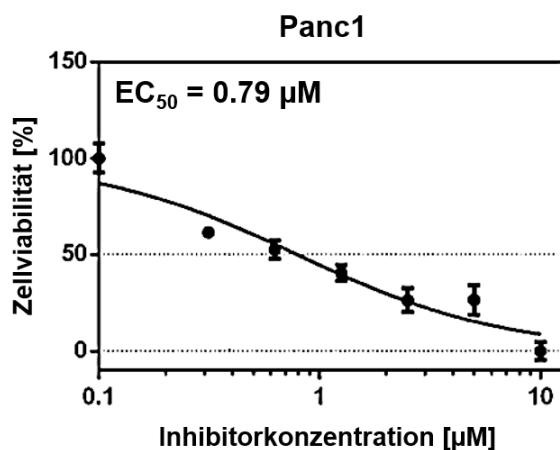


Abbildung 5.2: EC_{50} -Kurve der Verbindung **11h** auf Panc1-Zellen.^[172]

Tabelle 5.2: Testung der Zellviabilität. EC_{50} -Werte für ausgewählte Zielverbindungen der **Serie 1** auf verschiedenen Zelllinien. Angabe der Konzentration in μM . Abk.: n.d., nicht ermittelt (*not determined*).

Zelllinie	11a ^[173]	11b ^[173]	11c ^[173]	11d ^[173]	11f ^[172]	11h ^[172]	11i ^[172]
BxPC-3	>10	1.16	>10	1.07	n.d.	n.d.	n.d.
Colo-357	>10	>10	>10	4.95	8.49	5.67	5.60
MiaPaCa-2	>10	>10	n.d.	n.d.	5.43	4.84	5.52
Panc-1	6.29	0.75	n.d.	n.d.	5.56	0.79	5.28
Panc-89	>10	>10	>10	2.13	5.32	4.92	6.14
PancTu-1	>10	>10	0.33	>10	>10	1.97	>10
MDA-MB 231	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	>10	2.76	2.57
MDA-MB 468	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	>10	3.40	8.34

5.2. Testung der Zielverbindungen der Serie 2

Für die Zielverbindungen der **Serie 2** wurden lediglich IC_{50} -Werte auf rat ^{wt}CK1 δ bestimmt. Die Verbindungen weisen alle IC_{50} -Werte im einstelligen mikromolaren Bereich auf. Es ist auch hier eine Verbesserung der Bindeaffinität durch die Trifluormethylgruppe zu beobachten, allerdings binden alle vier Inhibitoren schlechter als die analogen Zielverbindungen der **Serie 1**. Diese Tendenz der etwas schlechteren Bindeaffinität der Zielverbindungen der **Serie 2** konnte bereits im Modeling mit GLIDE beobachtet werden. Dort

zeigte sich, dass sich durch den Austausch des Tetrahydrothienopyrimidinon-Bausteins zu den entsprechenden Chinazolinonen minimale Veränderungen der Bindungs- und Torsionswinkel ergeben, die zu einer schlechteren Anpassung der Chinazolinon-Derivate an die Bindetasche führen. Gleichzeitig ändern sich die elektronischen Eigenschaften des Pyrimidinon-Bausteins durch die Erweiterung des mesomeren Systems. In **Tabelle 5.3** sind die IC_{50} -Werte der **Serie 2** zusammengefasst.

Tabelle 5.3: IC_{50} -Werte für die Zielverbindungen der **Serie 2** mit Angabe der Standardabweichung. Angabe der Konzentration in μM .^[173] Abk.: wt, Wildtyp.

#	R_1	R_2	$^{wt}\text{CK1}\delta(\text{rat})$
12a	Phenyl	CH_3	2.68 ± 0.73
12b	Benzyl	CH_3	1.18 ± 0.37
13a	Phenyl	CF_3	1.36 ± 0.23
13b	Benzyl	CF_3	1.09 ± 0.24

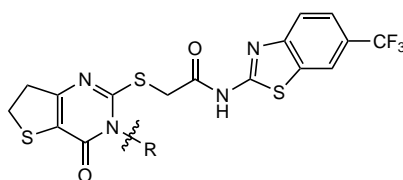
5.3. Testung der Zielverbindungen der Serie 3

5.3.1. Kinase-Assays

Die Zielverbindungen der **Serie 3** wurden sowohl auf rat $^{wt}\text{CK1}\delta$ als auch auf humaner $^{wt}\text{CK1}\delta$ (TV1 und TV2) gemessen. Zusätzlich wurden Messungen mit der rat *gatekeeper*-Mutante $^{M82F}\text{CK1}\delta$ und humaner $\text{CK1}\epsilon$ durchgeführt. Eine Übersicht über die IC_{50} -Werte der Zielverbindungen der **Serie 3** ist in **Tabelle 5.4** zu sehen. Darüber hinaus sind in **Abbildung 5.3** exemplarisch die IC_{50} -Kurven der Verbindungen **14b** und **14c** auf humaner $^{wt}\text{CK1}\delta$ (TV1) zu sehen. Alle drei Verbindungen inhibieren humane $^{wt}\text{CK1}\delta$ in nanomolaren Konzentrationen und damit deutlich stärker als die Zielverbindungen der **Serie 1**. Die Verbindungen **14a** und **14b** weisen minimal bessere IC_{50} -Werte für TV2 auf (**14a**: $IC_{50}(^{wt}\text{CK1}\delta \text{ (TV2)}) = 0.19 \mu\text{M}$ und (TV1)) = $0.26 \mu\text{M}$, **14b**: $IC_{50}(^{wt}\text{CK1}\delta$

(TV2)) = 0.17 μM und (TV1)) = 0.25 μM), die Verbindung **14c** hingegen inhibiert TV1 minimal besser (**14c**: $\text{IC}_{50}(\text{wtCK1}\delta \text{ (TV1)}) = 0.38 \mu\text{M}$, (TV2)) = 0.51 μM).^[173] Die IC_{50} -Werte für die *gatekeeper*-Mutante $M82F$ CK1 δ sind in der gleichen Größenordnung wie die IC_{50} -Werte für *wt*CK1 δ . Die beobachtete Selektivität von IWP-2 (**9**) für die *gatekeeper*-Mutante lässt sich somit bei den Zielverbindungen der **Serie 3** nicht mehr feststellen. Des Weiteren hat sich durch die gesteigerte Bindeaffinität der Liganden gegenüber CK1 δ im Vergleich zu den originalen IWP-Verbindungen die Isoformen-Selektivität verschlechtert. CK1 ϵ wird ebenfalls in nanomolaren Konzentrationen von den Verbindungen **14a–c** inhibiert.

Tabelle 5.4: IC_{50} -Werte für die Zielverbindungen der **Serie 3**. Angabe der Konzentration in μM .^[173] Abk.: wt, Wildtyp; TV, Transkriptionsvariante; M, Methionin; F, Phenylalanin; n.d., nicht ermittelt (*not determined*).



#	R	<i>wt</i> CK1 δ (rat)	<i>wt</i> CK1 δ (TV1)	<i>wt</i> CK1 δ (TV2)	$M82F$ CK1 δ (rat)	<i>wt</i> CK1 ϵ (human)
14a	CH ₃	0.43	0.26	0.19	0.25	0.85
14b	CH ₂ CH ₃	0.29	0.25	0.17	0.16	0.85
14c	CH(CH ₃) ₂	0.16	0.38	0.51	0.12	0.78

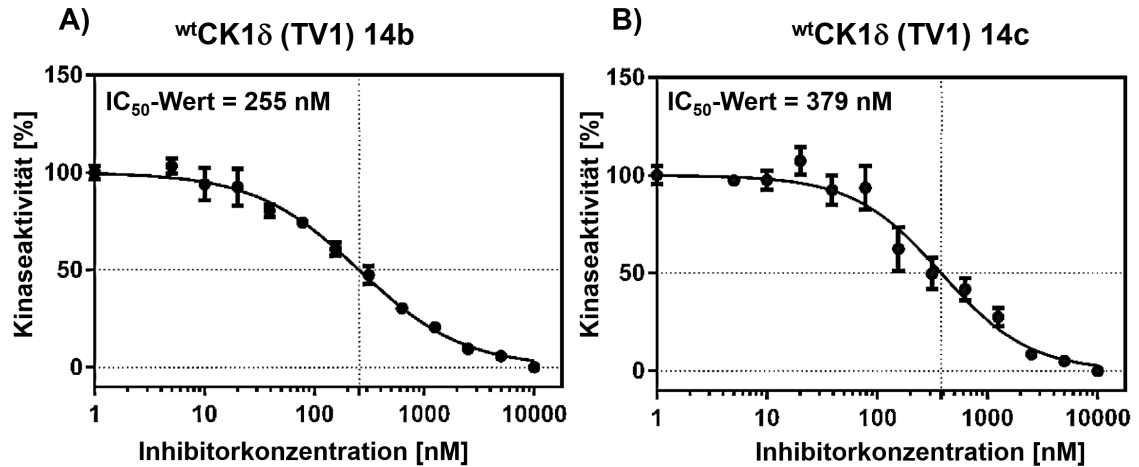


Abbildung 5.3: A) IC₅₀-Kurve der Verbindung **14b** auf *wt*CK1δ (TV1) und B) IC₅₀-Kurve der Verbindung **14c** auf *wt*CK1δ (TV1).^[173]

5.3.2. Zellbasierte-Assays

Die Verbindung **14c** zeigte in einem initialen *screening* auf drei verschiedenen Krebszelllinien die beste Wirkung. Insbesondere auf der Brustkrebs-Zelllinie MDA-MB 231 wies Verbindung **14c** eine starke Potenz auf. In **Abbildung 5.4** ist die EC₅₀-Kurve von **14c** auf MDA-MB 231-Zellen zu sehen. Der ermittelte EC₅₀-Wert liegt bei 0.59 μM. Auch bei Verbindung **14c** gilt, dass insbesondere die Wirksamkeit auf Zellen schwer vorhersagbar ist. Das Modeling der **Serie 3** stimmt in sofern mit den biologischen Testergebnissen überein, als dass im Kinase-Assay genau wie bei den berechneten *docking scores* zwischen den einzelnen Zielverbindungen der **Serie 3** nur minimale Unterschiede in der Bindeaffinität zu CK1δ zu sehen sind. Demgegenüber steht die Wirksamkeit der Verbindungen auf Zellen, bei der viele weitere Faktoren wie die Erreichbarkeit des *target* oder die metabolische Stabilität der Verbindungen eine Rolle spielen.

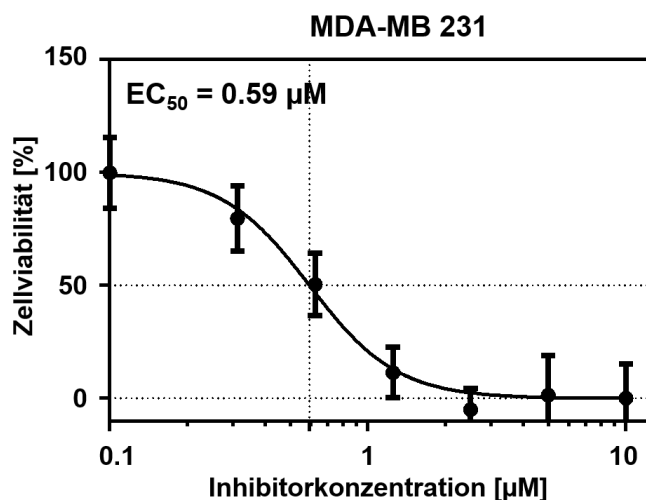


Abbildung 5.4: EC₅₀-Kurve der Verbindung **14c** auf humanen MDA-MB 231-Brustkrebszellen.^[173]

5.4. Testung der Zielverbindungen der Serie 4

5.4.1. Kinase-Assays

Die biologischen Testergebnisse der Zielverbindungen der **Serie 4** am Enzym fallen sehr unterschiedlich aus. Alle Verbindungen wurden auf humaner *wt*CK1δ (TV1) gemessen. In **Tabelle 5.5** sind die IC₅₀-Werte der Zielverbindungen der **Serie 4** zusammengefasst. Dabei zeigt sich die Tendenz, dass die Benzyl-substituierten Verbindungen durchweg besser sind als die Phenyl-substituierten Verbindungen. Insbesondere die zweifach-substituierten Phenyl-Derivate zeigen eine deutlich geringere Affinität. Möglicherweise führt die Zweifachsubstitution des Phenyls, ähnlich wie bei der Atropisomerie zu einer eingeschränkten Drehbarkeit um die C-N-Bindung. Der Effekt wiederum lässt bei einer Einfachsubstitution deutlich nach. Bei den Benzyl-substituierten Verbindungen ist durch die zusätzliche CH₂-Gruppe die freie Drehbarkeit um die C-N-Bindung jederzeit gewährleistet. Eine Substitution in *para*-Position des Phenyl- beziehungsweise Benzylrests wirkt sich ebenfalls positiv auf die Bindeaffinität aus. Die Verbindung **15j** mit einer Methoxygruppe in *para*-Position des Phenylrests weist mit 0.84 μM den besten IC₅₀-Wert der Phenyl-substituierten Verbindungen auf. Am schlechtesten ist die 3,5-Methoxy-substituierte Verbindung **15d** der Phenyl-Derivate mit einem IC₅₀-Wert von 4.7 μM. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Ergebnissen der **Serie 1**, bei der die analoge 3,5-Methoxy-substituierte Verbindung **11f** auf rat *wt*CK1δ ebenfalls einen sehr schlechten IC₅₀-Wert von 5.51 μM aufwies. Bei den Benzyl-substituierten Verbindungen scheint sich eine Substitution in *para*-Position

des Benzylrests ebenfalls positiv auf die Bindeaffinität auszuwirken. Die Verbindung **16b**, die in *para*-Position am Benzylrest eine Methoxygruppe trägt, weist den bisher besten IC_{50} -Wert von $0.09 \mu\text{M}$ auf. Da neben der Verbindung **16b** auch die Verbindung **16d**, die eine Trifluormethylgruppe in *para*-Position des Benzylrests trägt, einen sehr guten IC_{50} -Wert aufweist (**16d**: $IC_{50}^{(wt)CK1\delta}(\text{TV1}) = 0.24 \mu\text{M}$), kann nicht allein der +M-Effekt der Methoxygruppe von **16b** für die affinitätssteigernde Wirkung verantwortlich gemacht werden. Das Modeling liefert hier leider keine validen Erkenntnisse. Die sehr flache Struktur-Wirkungsbeziehung erschwert die Vorhersage der Bindeaffinität auch bei den Zielverbindungen der **Serie 4** deutlich.

Drei der Verbindungen wurden darüber hinaus auf $CK1\epsilon$ getestet. Die Verbindungen **16b** und **16c** lassen eine gewisse Selektivität für $CK1\delta$ erkennen. Zwar ist bei **16b** auch der IC_{50} -Wert für $CK1\epsilon$ mit $0.72 \mu\text{M}$ relativ niedrig, doch damit ist der Wert immer noch um ein achtfaches höher als für $CK1\delta$. Bei **16c** unterscheiden sich die beiden IC_{50} -Werte sogar um eine Zehnerpotenz (**16c**: $IC_{50}^{(wt)CK1\delta}(\text{TV1}) = 0.12 \mu\text{M}$, $IC_{50}^{(wt)CK1\epsilon} = 1.14 \mu\text{M}$).

Tabelle 5.5: IC₅₀-Werte für die Zielverbindungen der **Serie 4** mit Angabe der Standardabweichung, sofern diese ermittelt wurde. Angabe der Konzentration in μM. Abk.: wt, Wildtyp; TV1, Transkriptionsvariante 1; n.d., nicht ermittelt (*not determined*).

#	Struktur	wtCK1δ (TV1)	wtCK1ε
15a		2.0±0.2 ^[80]	n.d.
15b		3.5±4.7 ^[80]	n.d.
15c		1.7±0.2 ^[80]	n.d.
15d		4.7±0.6 ^[80]	n.d.
15e		0.97±0.13 ^[173]	n.d.
15f		0.84±0.08 ^[173]	n.d.
15g		1.47±0.13 ^[173]	n.d.
16a		0.92±0.35 ^[173]	n.d.
16b		0.09±0.01 ^[80]	0.72 ^[175]
16c		0.12±0.02 ^[80]	1.14 ^[175]
16d		0.24±0.04 ^[80]	0.93 ^[175]

5.4.2. Zellbasierte-Assays

Da insbesondere die Wirksamkeit von neuen CK1 δ -Inhibitoren auf Mutanten von CK1 δ von großem Interesse ist (vgl. Kapitel 1.1.4), wurden einige Zielverbindungen der **Serie 4** hinsichtlich ihrer Aktivität gegenüber ausgesuchter hyperaktiver *gain-of-function*-Mutanten getestet. Die Verbindung **15c** wurde in einem initialen *screening* bei drei verschiedenen Konzentrationen auf HeLa-Zellen getestet, die jeweils eine andere Mutante von CK1 δ exprimieren. In **Abbildung 5.5** sind die Ergebnisse des *screening* für **A)** den Vergleich von *wt*CK1 δ (TV2)-Zellen mit *T67S*CK1 δ -Zellen, **B)** den Vergleich von *wt*CK1 δ (TV1)-Zellen mit *R127Q*CK1 δ -Zellen und **C)** den Vergleich von *wt*CK1 δ (TV1)-Zellen mit *R168H*CK1 δ -Zellen zu sehen. Lediglich bei den HeLa-Zellen, die *T67S*CK1 δ und bei denen die *R168H*CK1 δ exprimieren, ist ein statistisch signifikanter Unterschied zu HeLa-Zellen, die *wt*CK1 δ exprimieren, zu erkennen. Bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μ M ist die Zellviabilität der HeLa-Zellen, die die Mutanten exprimieren, stärker beeinflusst.

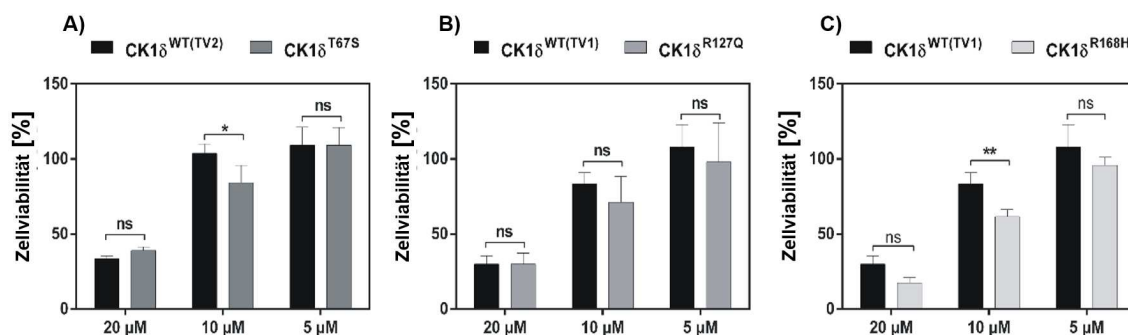


Abbildung 5.5: Zelltests der Verbindung **15c** auf HeLa Zellen, die hyperaktive CK1 δ Mutanten exprimieren. Zellviabilität von HeLa CK1 $\delta^{-/-}$ -Zellen, die CK1 δ^{wt} , **A)** CK1 δ^{T67S} , **B)** CK1 δ^{R127Q} , und **C)** CK1 δ^{R168H} exprimieren. Statistische Analyse wurde durchgeführt mit *two-way* ANOVA, Signifikanz: *, $P \leq 0.05$; **, $P \leq 0.01$; ns, nicht signifikant. [© (2019): LIU, WITT und IANES *et al.*^[80], Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)]

Bei der Verbindung **15e** zeigte sich ebenfalls eine gewisse Selektivität für HeLa-Zellen, die die Mutante *R168H*CK1 δ exprimieren. Der ermittelte EC₅₀-Wert für HeLa-Zellen, die die Mutante *R168H*CK1 δ exprimieren liegt im einstelligen mikromolaren Bereich (**15e**: EC₅₀(*R168H*CK1 δ) = 7.12 μ M), wohingegen der EC₅₀-Wert für HeLa-Zellen, die die Mutante *wt*CK1 δ (TV1) exprimieren etwa doppelt so groß ist (**15e**: EC₅₀(*wt*CK1 δ (TV1)) = 12.37 μ M).^[173] In **Abbildung 5.6** sind die jeweiligen EC₅₀-Kurven aufgetragen.

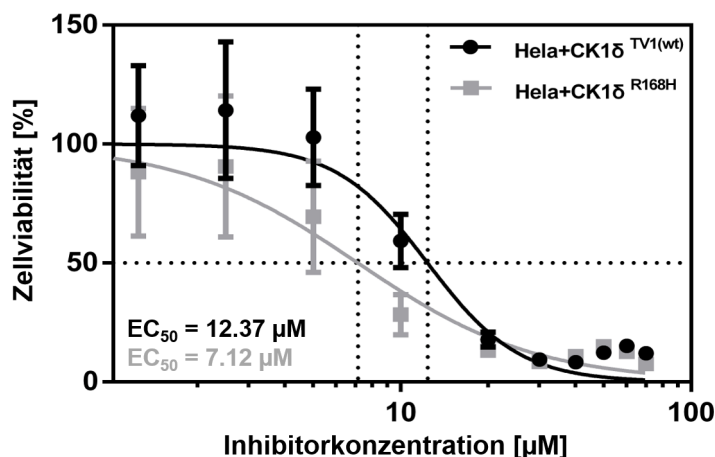


Abbildung 5.6: EC₅₀-Kurven der Verbindung **15e** auf HeLa-Zellen, die ^{wt}CK1δ (TV1) exprimieren (schwarz) und auf HeLa-Zellen, die die Mutante ^{R168H}CK1δ exprimieren (grau).^[173]

Ein im Nachhinein durchgeführtes Modeling erklärt die bessere Wirkung der Verbindung **15e** auf HeLa-Zellen, die die Mutante ^{R168H}CK1δ exprimieren, nicht. Da die mutierte Aminosäure Histidin 168 an der Bindung des Liganden nicht direkt beteiligt ist, ändert sich im Modeling auch nicht die berechnete Bindeaffinität des Liganden in der Bindetasche. Eine strukturelle Umlagerung, die durch die Punktmutation hervorgerufen werden könnte, lässt sich mit dem einfachen Modell nicht wiedergeben. Da die mutierte Aminosäure allerdings innerhalb der Aktivierungsschleife liegt, wäre eine durch die Mutation bedingte Umlagerung durchaus denkbar. Da die Verbindung **16b** ^{wt}CK1δ *in vitro* in niedrigen nanomolaren Konzentrationen inhibiert (**16b**: IC₅₀(^{wt}CK1δ) = 0.09 µM), wurde auf HeLa-Zellen getestet, ob der Effekt auf zellulärer Ebene CK1δ-spezifisch ist. Dafür wurden Zellviabilitäts-Assays mit parentalen HeLa-Zellen, CK1δ-*knockout*-Zellen (CK1δ^{-/-}) und mit CK1δ transfizierten Zellen (CK1δ^{+/+}) durchgeführt. Dabei zeigte sich eine CK1δ abhängige Beeinflussung der Zellviabilität, wenn auch nicht in hohem Maße (s. **Abbildung 5.7**). Darüber hinaus wurde auch für Verbindung **16b** ein *screening* auf Zellen, die verschiedene CK1δ-Mutanten exprimieren, durchgeführt. **Abbildung 5.7 B**) zeigt den Vergleich von ^{wt}CK1δ (TV2)-Zellen mit ^{T67S}CK1δ-Zellen, **C**) den Vergleich von ^{wt}CK1δ (TV1)-Zellen mit ^{R127Q}CK1δ-Zellen und **D**) den Vergleich von ^{wt}CK1δ (TV1)-Zellen mit ^{R168H}CK1δ-Zellen. Bei einer InhibitorKonzentration von 5 µM der Verbindung **16b** ist kein statistisch signifikanter Unterschied bei der Beeinflussung der Zellviabilität von Zellen, die Mutationen von CK1δ exprimieren, zu beobachten. Allerdings konnte dieser Effekt bei der Verbindung **15c** auch erst bei einer InhibitorKonzentration von 10 µM beobachtet werden.

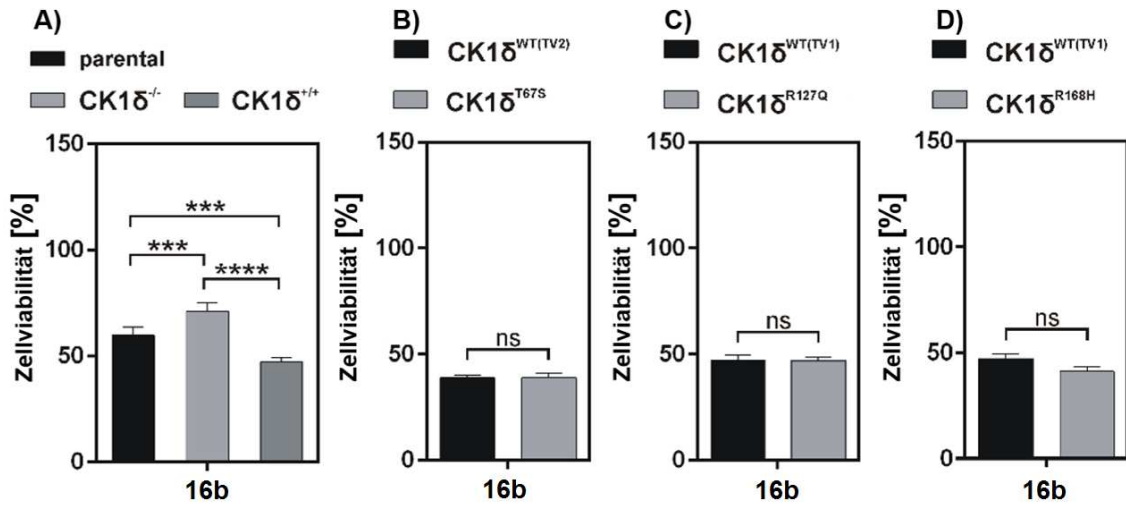


Abbildung 5.7: Zelltests der Verbindung **16b** mit einer Inhibitorkonzentration von $5 \mu\text{M}$. **A)** MTT Viabilitäts-Assay an parental HeLa-Zellen, HeLa CK1 $\delta^{+/-}$, und HeLa CK1 $\delta^{-/-}$ -Zellen. **B)-D)** Zellviabilität für HeLa CK1 $\delta^{-/-}$ -Zellen die CK1 δ^{wt} , CK1 δ^{T67S} **B)**, CK1 δ^{R127Q} **C)**, und CK1 δ^{R168H} **D)** exprimieren. Statistische Analyse wurde durchgeführt mit *two-way* ANOVA, Signifikanz: ***, $P \leq 0.001$; ****, $P \leq 0.0001$; ns, nicht signifikant. [© (2019): LIU, WITT und IANES *et al.*^[80], Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)]

5.5. Initiales Screening der Verbindung 75

Die Verbindung **75** wurde bisher nur in einem initialen *screening* auf verschiedenen CK1-Isoformen getestet. CK1 γ wird von Verbindung **75** nicht inhibiert, die Isoformen α und ϵ zeigen bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM eine Restaktivität von knapp über 50 %. Die Isoform δ hingegen wird am stärksten inhibiert und zeigt eine Restaktivität von unter 50 % (s. **Abbildung 5.8**). Die Verbindung **75** wurde im initialen *screening* mit der Verbindung **11i** der **Serie 1** als Kontrollverbindung verglichen. Dabei zeigt sich für CK1 α und CK1 γ ein sehr ähnliches Bild. CK1 δ wird hingegen von der Verbindung **75** minimal stärker inhibiert als von Verbindung **11i** und CK1 ϵ wird minimal schwächer von **75** inhibiert.

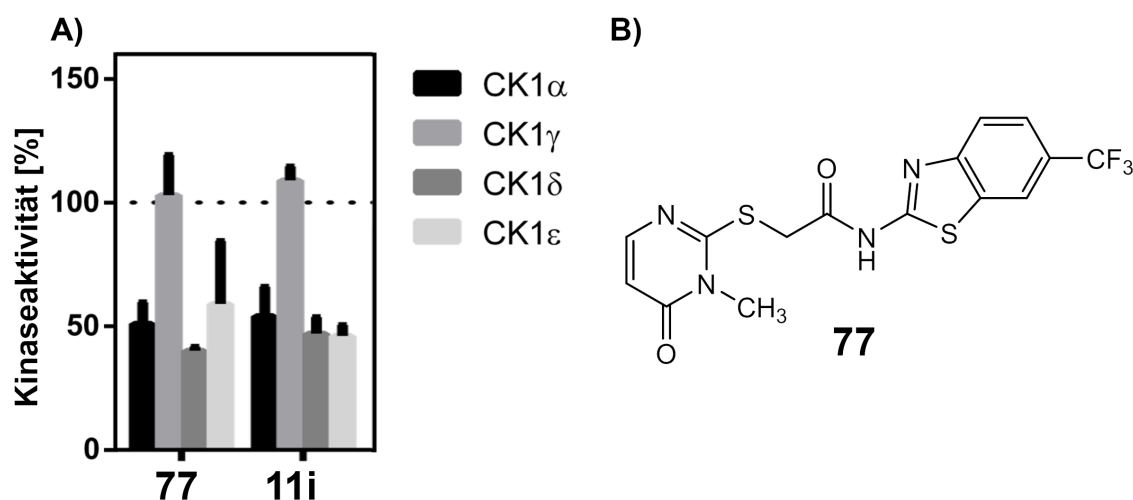
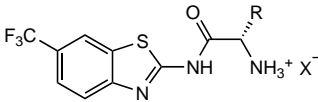
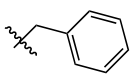
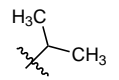
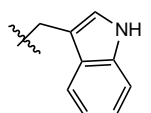


Abbildung 5.8: A) Initiales *screening* der Verbindung **75** (B)) im Vergleich zur Verbindung **11i** der **Serie 1**. Es wurde bei einer Inhibitorkonzentration von 10 μM auf CK1 α , CK1 γ , CK1 δ und CK1 ϵ getestet. Zu sehen ist die Restkinaseaktivität in Prozent.^[173]

5.6. Testung der Zielverbindungen der Serie 5

Für einige der Zielverbindungen der **Serie 5** konnten bereits vorläufige IC_{50} -Werte auf humaner $^{wt}CK1\delta$ (TV1) ermittelt werden. Eine Zusammenfassung der IC_{50} -Werte für die Zielverbindungen der **Serie 5** ist in **Tabelle 5.6** zu sehen. Vor allem der Vergleich der unterschiedlichen Salze ist hierbei interessant. Bei den Verbindungen **83b** und **84b**, die zwar den gleichen Aminosäurerest aufweisen aber einmal als Hydrochlorid **83b** und einmal als Mesilat **84b** vorliegen, ist die Potenz des Mesilats etwas größer (**83b**: $IC_{50} = 2.29 \mu M$, **84b**: $IC_{50} = 0.86 \mu M$). Eine ähnliche Tendenz zeigt sich auch bei den Verbindungen **83e** und **84e**, wo ebenfalls das Mesilat **84e** $^{wt}CK1\delta$ stärker inhibiert (**83e**: $IC_{50} = 1.43 \mu M$, **84e**: $IC_{50} = 0.89 \mu M$). Ein Grund dafür könnte ein Fehler in der Stöchiometrie der Hydrochloride sein. Es wurde nicht ausgeschlossen, ob bei der Kristallisation der Hydrochloride zusätzliche Ionen oder Wassermoleküle kristallisiert sind. Dadurch ergäbe sich ein falsches Molekulargewicht der Verbindungen, wodurch die Inhibitorkonzentration in der Einwaage beziehungsweise in der Testung zu gering gewesen wäre. Bei den Mesilaten konnte zumindest im NMR nachgewiesen werden, dass das Mesilat-Ion in einem stöchiometrischen Verhältnis zum Inhibitor vorliegt. Letztlich zeigt sich aber, dass durch den Erhalt der Benzothiazol-Struktur die Inhibition von $CK1\delta$ weiterhin gewährleistet ist und Verbindungen mit größeren aromatischen Aminosäureresten tendenziell etwas besser sind als solche mit kleinen aliphatischen Aminosäureresten.

Tabelle 5.6: Vorläufige IC_{50} -Werte für die Zielverbindungen der **Serie 5**. Angabe der Konzentration in μM .^[173]

Struktur	$^{wt}CK1\delta$ (TV1)	
	X = Cl^-	X = $SO_3CH_3^-$
	83a	n.d.
	83b	2.29
	83d	4.79
	83e	1.43
	84a	1.82
	84b	0.86
	-	-
	84e	0.89

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit konnten erfolgreich fünf neue Serien von CK1 δ -Inhibitoren, sowie zwei weitere Verbindungen, darunter ein potentieller DFG-*out*-Inhibitor, hergestellt werden. Die zu optimierende Leitstruktur der IWP-Verbindungen wurde dabei schrittweise verändert, wobei der Benzothiazol-Baustein als *hinge-binder* erhalten blieb. In einem der Synthese vorangegangenen Modeling wurden die einzelnen Verbindungen der verschiedenen Serien hinsichtlich ihrer Bindeaffinität virtuell untersucht. Dabei zeigte sich allerdings immer wieder, dass die verwendeten Modeling Methoden in ihrer Aussagekraft stark begrenzt sind. Insbesondere der Vergleich von *docking* Ergebnissen mit den Testergebnissen macht deutlich, dass das Modeling bei der Bewertung von Substitutionsmustern nicht genügend Anhaltspunkte liefert.

Bei den Verbindungen der **Serie 1** wurde zunächst die Methylgruppe der originalen IWP-Verbindungen **9** und **10** durch eine Trifluormethylgruppe ersetzt und anschließend der Phenyl- beziehungsweise Benzylrest substituiert. Es konnten insgesamt elf verschiedene Inhibitoren hergestellt und getestet werden. Ein zwölfter Inhibitor wurde aufgrund der schlechten Löslichkeit nicht getestet. Im Modeling zeigte sich der größte Effekt auf die Bindeaffinität, durch Einführen der Trifluormethylgruppe. Dieser Effekt ließ sich auch im Kinase-Assay bestätigen. Durch die Vermehrung der hydrophoben Wechselwirkungen in der Bindetasche von CK1 δ verbesserte sich zum einen der berechnete *docking score* der Verbindungen **11a** und **11b** im Vergleich zu den IWP-Verbindungen **9** und **10**, aber auch der ermittelte IC₅₀-Wert verbesserte sich jeweils. Betrachtet man allerdings die Substitution des Phenyl- beziehungsweise Benzylrests, ist im Modeling der Einfluss, den die Substituenten auf die Bindeaffinität ausüben, nur sehr gering. Im Kinase-Assay sind hingegen deutlich größere Effekte zu erkennen. Schneiden die Verbindungen **11f** und **11h** im Modeling noch etwa gleich gut ab, unterscheiden sich die beiden Inhibitoren im Kinase-Assay um eine Zehnerpotenz. Leider zeigte sich darüber hinaus bei den meisten Verbindungen der **Serie 1**, dass die enorme Selektivität von IWP-2 (**9**) für die *gatekeeper*-Mutante ^{M82F}CK1 δ nachgelassen hat. Die hohe Selektivität, die IWP-2 (**9**) aufweist, konnte auch bei der Verbindung **11c** in einem *panel* von 320 Kinasen nachgewiesen werden. Bei einer Inhibitorkonzentration von 1 μ M zeigte nur CK1 δ eine Restaktivität von ≤ 60 %. Neben den Kinase-Assays

wurden auch einige vielversprechende zellbasierte-Assays durchgeführt. Hier zeigt vor allem die Verbindung **11h** ein breites Wirkspektrum auf verschiedenen Krebszelllinien, was die Verbindung zu einem interessanten Inhibitor macht. In **Abbildung 6.1** sind die vielversprechendsten Verbindungen der **Serie 1** gezeigt.

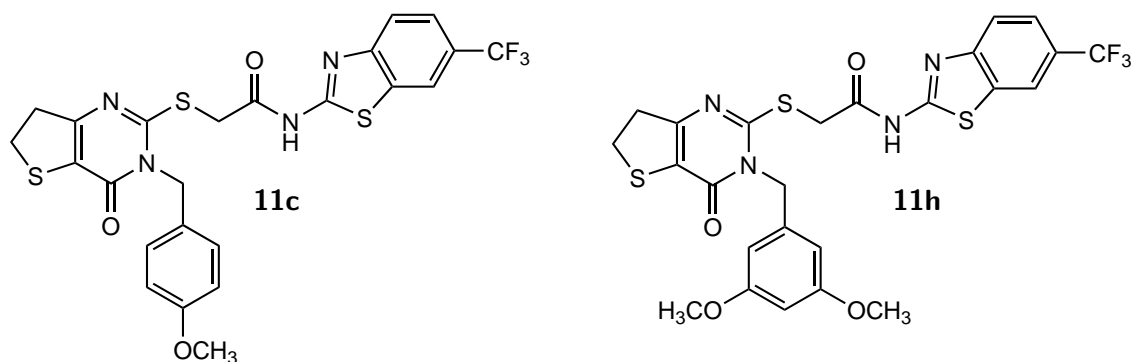


Abbildung 6.1: Vielversprechende Inhibitoren der **Serie 1**.

In der **Serie 2** wurden vier verschiedene Inhibitoren hergestellt. Durch den Austausch des Tetrahydrothienopyrimidinon-Bausteins zu den entsprechenden Chinazolinonen sollte der Einfluss dieses Bausteins auf die Bindeaffinität der Liganden untersucht werden. Um den Einfluss des Chinazolinon-Bausteins auf die Bindeaffinität der Liganden unabhängig von dem Austausch der Methylgruppe durch die Trifluormethylgruppe betrachten zu können, wurden sowohl Methyl-substituierte als auch Trifluormethyl-substituierte Derivate hergestellt. Im Modeling zeigten sich vor allem bei der Berechnung mit GLIDE deutliche Unterschiede in der Bindeaffinität. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den ermittelten IC₅₀-Werten, die bei den zu den originalen IWP-Verbindungen analogen Chinazolin Derivaten **12a** und **12b** deutlich schlechter sind. Durch die Einführung der Trifluormethylgruppe konnte allerdings auch bei den Verbindungen der **Serie 2** eine Steigerung der Bindeaffinität sowohl im Modeling als auch im Kinase-Assay beobachtet werden. Insbesondere bei dem Modeling der Verbindungen der **Serie 2** wird deutlich, dass eine Berechnung mit dem *induced fit*-Protokoll nicht zwangsweise die verlässlicheren Vorhersagen trifft. Die Tendenz, die sich im Kinase-Assay darstellt, spiegelt sich in den mit GLIDE berechneten *docking scores* besser wider.

Bei den Verbindungen der **Serie 3** wurde der Phenylsubstituent von IWP-2 (**9**) durch kurze aliphatische Reste ersetzt. Es konnten insgesamt drei verschiedene Verbindungen hergestellt werden. Im Modeling zeigt sich, ähnlich wie bei den vorangegangenen Serien,

keine deutliche Veränderung der Bindeaffinität durch den Austausch des Phenylsubstituenten zu aliphatischen Resten. Der berechnete *docking score* ist bei den Verbindungen der **Serie 3** in der gleichen Größenordnung wie bei den Verbindungen der **Serie 1**. Besonders auffällig ist vor allem der geringe Unterschied im *docking score* der unterschiedlichen Tautomere von **14d**. Die Gewichtung des *hinge-binders* bei der Berechnung des *docking scores* scheint einen sehr viel größeren Einfluss zu haben, als Wechselwirkungen, die am zum Solvens exponierten hydrophoben Bereich II stattfinden. Leider wurde die Verbindung **14d** im Rahmen dieser Arbeit nicht hergestellt. Bei den Verbindungen der **Serie 3**, die im Rahmen dieser Arbeit in Kinase-Assays getestet werden konnten, ist eine deutliche Steigerung der Bindeaffinität gegenüber den Verbindungen der **Serie 1** zu erkennen. Außerdem wurden die Verbindungen der **Serie 3** erstmals auch auf humaner CK1 δ getestet. Bei den vorangegangenen Serien wurde vorwiegend rat CK1 δ in Kinase-Assays verwendet, um eine bessere Vergleichbarkeit von *wt*CK1 δ und *M82F*CK1 δ zu gewährleisten, da die *gatekeeper*-Mutante in rat CK1 δ kloniert wurde. Die Verwendung von humaner CK1 ϵ in den Kinase-Assays spricht wiederum für die Verwendung von humaner CK1 δ in Kinase-Assays, zumal zum Teil Unterschiede in den IC₅₀-Werten auf rat oder humaner CK1 δ zu erkennen sind. Zusätzlich zu den IC₅₀-Werten konnte von der Verbindung **14c** (s. **Abbildung 6.2**) ein EC₅₀-Wert auf MDA-MB 231-Zellen ermittelt werden. Dabei zeigt die Verbindung einen starken Effekt auf die Zellviabilität der humanen Brustkrebszellen.

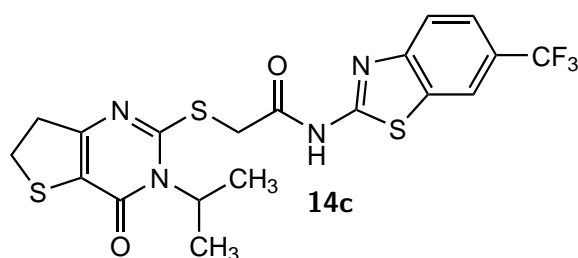


Abbildung 6.2: Verbindung **14c** zeigt in zellulären Assays einen starken Effekt auf die Zellviabilität von MDA-MB 231-Zellen.

Bei den Verbindungen der **Serie 4** wurde erneut der Einfluss des Tetrahydrothienopyrimidinon-Rests auf die Bindeaffinität untersucht. Statt wie in der **Serie 2** den Baustein zu vergrößern, wurde bei den Verbindungen der **Serie 4** der Tetrahydrothienopyrimidinon-Rest entfernt. Die daraus resultierenden Pyrimidinon-Derivate unterteilen sich in zwei verschiedene Kategorien. Angelehnt an die originalen IWP-Verbindungen IWP-2 (**9**) und IWP-2-v2 (**10**) wurden einmal die Phenyl-substituierten Derivate **15a–g** und einmal die

Benzyl-substituierten Derivate **16a–d** hergestellt. Die Unterscheidung der beiden Kategorien erfolgte, anders als bei den Verbindungen der **Serie 1**, aufgrund der synthetischen Zugänglichkeit, aber auch, da die Benzyl-substituierten Derivate im Rahmen der Bachelorarbeit von JOANA BAIER hergestellt wurden. Anders als bei den vorangegangenen Serien, ist bei den Phenyl-substituierten Derivaten die Bewertung des *docking score* nicht wesentlich in die Auswahl der zu synthetisierenden Verbindungen eingeflossen. Stattdessen wurden neben dem unsubstituierten Phenyl-Derivat **15a** noch sechs weitere Derivate mit unterschiedlichen Substitutionsmustern von Methoxygruppen hergestellt. Dabei zeigte sich, dass die Einfachsubstitution tendenziell besser ist als die Zweifachsubstitution. Diese Tatsache lässt sich eventuell mit atropisomeren Effekten erklären, da die Drehbarkeit um die C-N-Bindung bei zweifach-substituierten Phenyl-Derivaten eingeschränkt sein könnte. Sowohl bei den Phenyl-substituierten Derivaten als auch bei den Benzyl-substituierten Derivaten scheint sich die Substitution in *para*-Position positiv auf die Bindeaffinität der Verbindung auszuwirken. Dieser Effekt lässt sich dabei unabhängig davon beobachten, ob ein +M-Substituent wie eine Methoxygruppe oder ein elektronenziehender Substituent wie eine Trifluormethylgruppe eingesetzt wurde.

Bei den Benzyl-substituierten Derivaten konnte eine deutliche Steigerung der Inhibition von CK1 δ im Vergleich zu den originalen IWP-Verbindungen nachgewiesen werden. Zu diesem Zeitpunkt der Arbeit hat die Verbindung **16b** (s. **Abbildung 6.3**) mit 0.09 μ M den bisher besten IC₅₀-Wert der neuen CK1 δ -Inhibitoren. Einige Verbindungen der **Serie 4** wurden außerdem auf HeLa-Zellen getestet, die hyperaktive CK1 δ *gain-of-function*-Mutanten exprimieren. Dabei zeigten die Verbindungen **15c** und **15e** einen größeren Effekt auf die Zellviabilität von HeLa-Zellen, die die CK1 δ Mutanten exprimieren, als von HeLa-Zellen, die *wt*CK1 δ exprimieren. Dieses Ergebnis ist besonders im Hinblick auf eine mögliche Aufklärung der Krebsentstehung interessant, da in einer Vielzahl von verschiedenen Krebsarten die Rolle, die die hyperaktiven CK1 δ Mutanten spielen, noch nicht geklärt wurde.

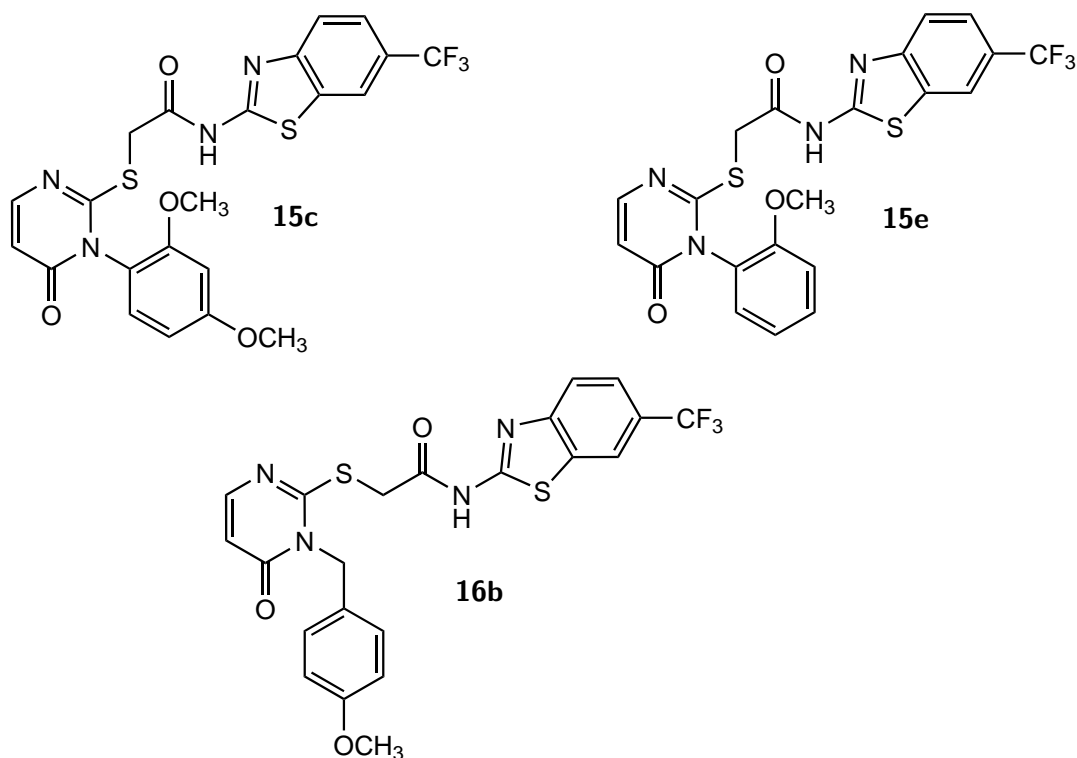


Abbildung 6.3: Die Verbindungen **15c** und **15e** zeigen in zellulären Assays einen größeren Effekt auf die Zellviabilität von HeLa-Zellen, die hyperaktive CK1 δ Mutanten exprimieren, als von HeLa-Zellen, die *wt*CK1 δ exprimieren. Die Verbindung **16b** hat den bisher besten IC₅₀-Wert der neuen Inhibitoren.

Die Verbindungen der **Serie 5** haben ein etwas anderes Konzept verfolgt, als die vorangegangenen Serien. Im Rahmen der Bachelorarbeit von KEVIN BRESSLER wurde die Pyrimidinon-Seitenkette der originalen IWP-Derivate entfernt und nur noch das Benzothiazol-Grundgerüst als *hinge-binder* belassen. Um eine höhere Wasserlöslichkeit zu gewährleisten und um aktive Transportmöglichkeiten von Zellen ausnutzen zu können, wurden proteinogene Aminosäuren an das Benzothiazol-Grundgerüst geknüpft. Zusätzlich wurden von den entstandenen Verbindungen verschiedene Salze gebildet. Als Gegenion zum Ammonium der Aminosäure dienten einmal das Chlorid und einmal das Mesilat. Es konnten insgesamt acht verschiedene Salzverbindungen hergestellt werden. Sechs der Verbindungen wurden in Kinase-Assays getestet. Dabei zeigte sich, dass durch den Erhalt der Benzothiazol-Struktur eine Inhibition von CK1 δ gewährleistet wurde. Die getesteten Mesilat-Verbindungen **84a,b,e** sind in der Testung am Enzym deutlich effektiver als die analogen Hydrochloride **83a,b,d,e**. Insbesondere der Vergleich der IC₅₀-Werte der Verbindungen **83b** und **84b** zeigt die Überlegenheit der Mesilate gegenüber der Hydrochloride (**83b**: IC₅₀(*wt*CK1 δ) = 2.29 μ M, **84b**: IC₅₀(*wt*CK1 δ) = 0.86 μ M).

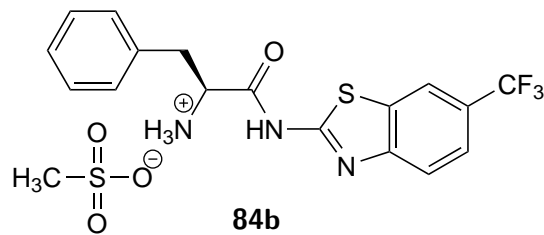


Abbildung 6.4: Verbindung **84b**, aus der Reihe der Aminosäure-gekoppelten Derivate der **Serie 5** hat bereits einen IC_{50} -Wert von $0.86 \mu\text{M}$ auf wt CK1 δ .

Darüber hinaus zeichnet sich ab, dass die Verbindungen, die Aminosäuren mit großen aromatischen Resten enthalten, tendenziell etwas effektiver sind als Verbindungen, die kleine aliphatische Aminosäuren enthalten. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine zusätzliche Funktionalisierung der Aminofunktion möglich ist. Das Pyrrol-Derivat **86** konnte erfolgreich durch eine Paal-Knorr-Synthese hergestellt werden. In **Abbildung 6.4** ist die vielversprechendste Verbindung der **Serie 5** abgebildet.

Noch ausstehend sind derzeit aussagekräftige biologische Testdaten des potentiellen DFG-*out*-Inhibitors **18**. Im Model konnte die Verbindung in einer Homologie-modellierten DFG-*out*-Struktur der CK1 δ erfolgreich gebunden werden. Tatsächlich scheint es Prof. BAUMANN und seinem Team von der Universität Köln gelungen zu sein, die Verbindung **18** in CK1 δ zu kristallisieren. Ergebnisse der Röntgenkristallographie stehen allerdings noch aus.

7 Ausblick

Insbesondere die schlechte Vorhersagbarkeit der Bindeaffinität mit den in dieser Arbeit verwendeten Modeling Methoden macht deutlich, dass weitergehende Strategien zur Wirkstoffentwicklung nötig sind. Im Rahmen tiefergehender Modeling-Studien könnte die Berechnung einer sogenannten *watermap*^[126,127] Informationen liefern, wo in der Bindetasche der CK1 δ entropisch ungünstige Wassermoleküle sitzen. Mittels der *watermap*-Methode können die Enthalpie, Entropie und die freie Energie der Hydrathülle in einer Bindetasche berechnet werden. Durch die Verdrängung von Wassermolekülen durch geeignete Substituenten am Liganden könnte eine Steigerung der Bindeaffinität hervorgerufen werden. Aber auch aufwändigere quantenmechanische Rechnungen könnten einen besseren Einblick in die möglichen Unterschiede der Bindeaffinität verschiedener Liganden liefern.

Bei den in dieser Arbeit hergestellten Verbindungen zeigte sich vor allem die gute Wirksamkeit der Benzyl-substituierten Verbindungen der **Serie 4**. Um die verschiedenen Einflüsse der Substituenten am Benzylring systematisch zu untersuchen, sollen weitere Verbindungen der **Serie 4** nach dem Topliss-Schema^[176,177] entworfen werden. Das Schema verfolgt dabei die Strategie, durch bestimmte Substitutionsmuster mit verschiedenen Substituenten, die hydrophoben, elektronischen und sterischen Einflüsse der substituierten Aromaten zu verbessern, um damit die Wirksamkeit der Verbindungen zu erhöhen (s. **Abbildung 7.1**).^[176]

Darüber hinaus bieten vor allem die Aminosäure-gekuppelten Derivate ein großes Potential für neue CK1 δ -Inhibitoren. Neben den proteinogenen Aminosäuren gibt es eine Vielzahl von weiteren Aminosäuren, angefangen bei den D-Aminosäuren und den nicht-proteinogenen α -Aminosäuren, hin zu den β - oder γ -Aminosäuren. Zusätzlich bietet die Aminofunktion der Aminosäuren die Möglichkeit zur weiteren Funktionalisierung der Verbindungen.

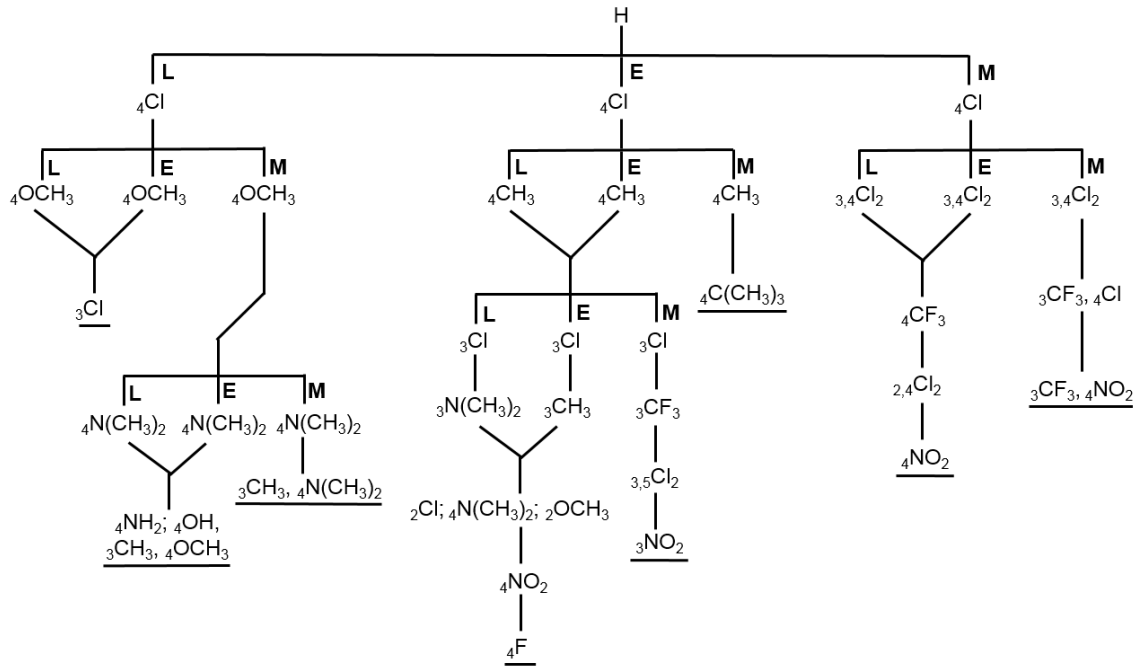


Abbildung 7.1: Topliss-Schema zur systematischen Untersuchung von Substitutionsmustern an Aromaten zur Wirkstoffentwicklung. Ausgehend von dem unsubstituierten Derivat werden verschiedene Substituenten eingeführt, die den Wirkstoff entweder weniger wirksam (*less*, L), gleich wirksam (*equal*, E) oder stärker wirksam (*more*, M) machen.^[176]

Mit besonders großem Interesse werden die Ergebnisse der Röntgenkristallographie des potentiellen DFG-*out*-Inhibitors **18** in CK1 δ erwartet. Sollte sich herausstellen, dass es sich bei der Verbindung **18** tatsächlich um einen DFG-*out*-Inhibitor handelt, eröffnet das ganz neue Möglichkeiten zur selektiven Inhibition von CK1 δ . Die erstellte Kristallstruktur könnte darüber hinaus für weitere Modeling-Studien eingesetzt werden.

8 Experimentalteil

8.1. Molecular Modeling

8.1.1. Software und Hardware

Molecular Modeling wurde an einer DELL Precision T5500 (8 Kerne) Workstation mit Software von Schrödinger (New York) durchgeführt. Zur Berechnung wurde die Maestro Version 11.0 (Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) verwendet. Die Visualisierung und Erstellung der Abbildungen wurde mit der Version 11.1 (Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2017-1) durchgeführt.

8.1.2. Protein Vorbereitung

Kristallstrukturen wurden der *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB) Proteindatenbank (pdb) entnommen. Für die Berechnung der *docking scores* auf der CK1 δ wurde die Kristallstruktur von PICHLO *et al.* verwendet (pdb-Code: 5OKT).^[20] Vor dem *docking* wurden die Kristallstrukturen mit dem PROTEIN PREPARATION WIZARD bearbeitet.^[128] Der PROTEIN PREPARATION WIZARD verwendet die Programme EPIK^[178,179] (Version 3.8, Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) und PRIME^[180,181] (Version 4.6, Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) Es wurden zusätzlich zu den Standard-Einstellungen fehlende Seitenketten und fehlende *loops* eingefügt. Wassermoleküle sowie weitere co-kristallisierte Moleküle, abgesehen von dem Liganden, wurden entfernt. Wasserstoffatome wurden eingefügt, Bindungen optimiert und Atomüberlappungen ausgebessert. Für die energetische Minimierung wurde das OPLS3-Kraftfeld^[182] verwendet. Für das *Glide docking* wurde mit Hilfe der Anwendung GRID GENERATION von GLIDE^[122] (Version 7.3, Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) ein *grid-file* erstellt.

8.1.3. Ligand Vorbereitung

Die Liganden wurden in die Bibliothek eingepflegt und mit Hilfe des Programms LIG-PREP (Version 4.0, Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) vorbereitet. LIG-PREP dient dazu, aus 2D- oder 3D-Strukturen die energieminierten 3D-Strukturen zu erzeugen. Aus einer eingegebenen Struktur können darüber hinaus mehrere Liganden entste-

hen mit unterschiedlichen Protonierungszuständen, unterschiedlicher Stereochemie, Tautomeren und variiertes Ringkonformation. Für die Energieminimierung wird das OPLS3-Kraftfeld^[182] angewendet.

8.1.4. Glide Docking

Für das *Glide docking* wurde das zuvor vorbereitete *grid-file* als Gerüst für das Liganden *docking* verwendet. Der in der Bindetasche co-kristallisierte Ligand wird als solcher erkannt und durch die energieminierten Liganden der Bibliothek ersetzt. Das Protein-Gerüst bleibt dabei starr und die Liganden werden daran angepasst. Es wurde der XP (*extra precision*)-Arbeitsablauf des Programms GLIDE^[122] verwendet und ansonsten die Standardeinstellungen belassen.

8.1.5. Induced fit Docking

Das *Induced fit* Protokoll^[123,124,183] (GLIDE, Release 2016-4; Prime, Release 2016-4) verwendet kein zuvor erzeugtes *grid-file* für das Liganden *docking*. Neben dem Glide-Protokoll (XP-Einstellungen) wird ein Prime-Protokoll durchlaufen, das eine gewisse Flexibilität im Protein zulässt. Es wurde die automatische Seitenketten-Beschneidung verwendet und die Reste in einem 5 Å Radius um den Liganden optimiert. Wenn nötig wurden Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region als *constraints* vorgegeben.

8.1.6. Protein Structure Alignment

Die Überlagerung zweier Protein Strukturen wurde mit der Anwendung PROTEIN STRUCTURE ALIGNMENT durchgeführt.

8.1.7. Loop Refinement

Für das DFG-*out*-Modeling wurde zusätzlich ein *loop refinement* mit dem Programm PRIME^[180,181] und den *extended* Einstellungen durchgeführt.

8.1.8. SiteMap

Zur Darstellung von weiteren Bindestellen des Proteins wurde die Anwendung SITE-MAP^[184,185] (Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) verwendet.

8.1.9. QikProp

Die Anwendung QIKPROP (Schrödinger, LLC, New York, NY, Release 2016-4) wurde für die Berechnung einiger relevanter ADME-Parameter verwendet.

8.2. Methoden und Materialien

8.2.1. Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien sind kommerziell erhältlich bei: abcr GmbH (Karlsruhe, Deutschland); Fluka und Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Merck Group, München, Deutschland); Merck Millipore (Darmstadt, Deutschland); Acros Organics und Alfa Aesar (Thermo Fisher Scientific, Geel, Belgien); TCI Deutschland GmbH, (Eschborn, Deutschland); Honeywell (Morristown, NJ, USA); Grüssing GmbH (Filsum, Deutschland); Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Deutschland); VWR International GmbH (Hannover, Deutschland) und AppliChem GmbH (Darmstadt, Deutschland). Chemikalien und Lösungsmittel wurden ohne vorhergehende Reinigung verwendet.

8.2.2. NMR

NMR Spektren wurden auf einem Bruker Avance III 300 (298 K) gemessen: ^1H (300 MHz), ^{13}C (75 MHz). Sowie einem Bruker Avance III 400 (295 K): ^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz). Die Referenz-Signale, der jeweils verwendeten deuterierten Lösungsmittel zur Kalibrierung des Spektrums, sind in Tabelle **Tabelle 8.1** zusammengefasst. Zur eindeutigen Zuordnung

Tabelle 8.1: Referenz-Signale der deuterierten Lösungsmittel

deuteriertes Lsgm.	Signal ^1H NMR	Signal ^{13}C NMR
CDCl_3	7.26 ppm	77.16 ppm
$\text{DMSO-}d_6$	2.50 ppm	39.52 ppm

der Signale wurden zudem 2D-Korrelationsmessungen wie COSY, HSQC und HMBC gemessen. Abkürzungen für die NMR-Spektroskopie sind in **Tabelle 8.2** zusammengefasst.

Tabelle 8.2: In der Auswertung der NMR-Spektroskopie verwendete Abkürzungen.

Multiplizität	Abkürzung
Singulett	s
breites Singulett	bs
Duplett	d
Triplett	t
Quintett	qt
Sextett	sext.
Oktett	oct.
Multipllett	m
symmetrisches Multipllett	m _c
Strukturbezeichnung	Abkürzung
Ar	Aromat
Benz	Benzyl
Bnth	Benzothiazol
Chin	Chinazolin
Indol	Indol
Phen	Phenyl
Pyrl	Pyrrol
Pyrn	Pyrimidinon
Pyrr	Pyrrolidin

8.2.3. Massenspektrometrie

Für die Aufnahme von Massenspektren wurden folgende Geräte verwendet:

LC-MS:

- Agilent 1100 HPLC system (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) mit einer Agilent Eclipse XDB-C8 Säule. Bruker Esquire LC ion trap mass spectrometer (Bruker Daltonics, Bremen, Deutschland) mit Elektrospray-Ionisation (ESI) im Positiv-Modus.

HR-MS:

- ESI-Massenspektrometer Thermo Fischer Q Exactive Plus MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), Hybrid Quadrupol-Orbitrap.

8.2.4. IR Spektroskopie

IR Spektren wurden auf einem Shimadzu IR Affinity-1S mit der Software LabSolutions IR gemessen (Shimadzu Deutschland GmbH, Duisburg, Deutschland).

8.2.5. Schmelzpunktbestimmung

Schmelzpunkte (Einfachmessung) wurden auf einem Stuart Scientific Melting Point Apparaturs SMP3 gemessen (Bibby Scientific Limited, Staffordshire, Großbritannien).

8.2.6. Röntgenkristallstrukturanalyse

Röntgenkristallstrukturanalyse wurde durchgeführt von Dr. D. SCHOLLMAYER am Institut für Organische Chemie, Johannes Gutenberg Universität (Mainz) auf einem Stoe IPDS 2T mit Cu and Mo-Röntgenröhren und Oxford Cryostream.

8.2.7. Flash Chromatografie

Für die Säulenchromatographie wurde das LaFlash System (VWR International GmbH, Hannover, Deutschland) mit vorgepackten Säulen (PuriFlash-30SIHP, 30 μm , 40 g, Interchim oder PuriFlash-15C18HP, 15 μm , 55 g, Interchim) verwendet. Die Rohprodukte wurden auf Kieselgel 60 (0.063-0.2 mm, Machery-Nagel GmbH & Co KG) oder Kieselgel RP-18 (PuriFlash IR-50 C18, 50 μm , Interchim) aufgebracht und in Vorsäulen (PuriFlash-DLE/12G, Interchim) gepackt.

8.2.8. HPLC

High-performance liquid chromatography (HPLC) wurde an einem Hewlett Packard Series 1050 (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) durchgeführt. Detektionswellenlänge = 254 nm, Injektionsvolumen = 20 μL , Flussrate = 1.5 mL/min, Lösungsmittel: A = MeOH, B = KH_2PO_4 -Puffer (0.01 M, pH = 2.3), C = Acetonitril.

Methoden:

- ZOBRA2~1 (1): Start: A = 20 %, B = 80 %; innerhalb von 8 min A = 85 %, B = 15 %; halten für 5 min; innerhalb von 1 min A = 40 %, B = 60 %; halten für 2 min; Dauer = 16 min.

- STAGC18A (2): Start: C = 5 %, B = 95 %; innerhalb von 7 min C = 50 %, B = 50 %; innerhalb von 1 min C = 5 %, B = 95 %; halten für 2 min; Dauer = 10 min
- STAGC18B (3): Start: C = 5 %, B = 95 %; halten für 2 min; innerhalb von 3 min C = 15 %, B = 85 %; innerhalb von 5 min C = 60 %, B = 40 %; innerhalb von 1 min C = 5 %, B = 95 %; halten für 3 min Dauer = 14 min.

Säulen:

- ZORBAX® Eclipse XDB-C8, 5 μm (150 x 4.6 mm, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), Methode 1
- STAGROMA® C18, 5 μm (125 x 4 mm, Stagroma AG, Reinach, Schweiz), Methoden 2 und 3

8.2.9. Mikrowellenreaktor

Mikrowellensynthesen wurden in einem CEM Discover Microwave Synthesizer (CEM GmbH, Kamp-Lintfort, Deutschland) unter Luftkühlung in *snap cap*-Mikrowellenvials durchgeführt.

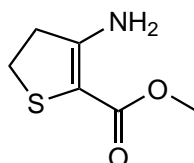
8.2.10. Hydrierapparatur

Die katalytische Hydrierung unter Hochdruck wurde in einer Hyscho HY 1000 Hydrierapparatur (Hyscho, Bonn, Deutschland) bei einem Wasserstoffdruck von 3 bar durchgeführt.

8.3. Synthesen

8.3.1. Serie 1

Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**)



$C_6H_9NO_2S$ (M_r 159.21)

Bei 0 °C und unter Stickstoffatmosphäre wurde 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU, 10.0 mL, 67.0 mmol) in abs. MeOH (25 mL) vorgelegt und Methylthioglycolat (**20**, 4.20 mL, 46.7 mmol) bei 0 °C zugegeben. Anschließend wurde Acrylnitril (**19**, 3.30 mL, 49.8 mmol) zugetropft und zunächst für 5 h bei 0 °C gerührt, dann für 16 h bei 80 °C. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand mit einer gesätt. Ammoniumchlorid-Lsg. gequenchet. Die wässr. Phase wurde mit EE (3 × 100 mL) extrahiert, die org. Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (30% EE/PE). Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

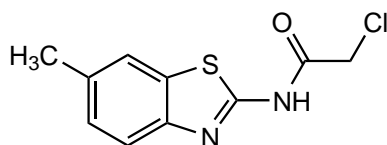
Ausbeute: 3.20 g (20.1 mmol, 43 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 7.08 (s, 2 H, NH_2), 3.57 (s, 3 H, CH_3), 2.96-2.91 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 2.85-2.78 (m, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 165.1 ($C=O$), 159.2 ($C-NH_2$), 85.9 ($SCC=O$), 50.3 (CH_3), 38.4 (SCH_2CH_2), 26.9 (SCH_2CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 159.8 [$M+H$]⁺, 316.9 [MMH]⁺.

HPLC (1): t_R = 3.8 min.

2-Chloro-*N*-(6-methylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (26)

$C_{10}H_9ClN_2OS$ (M_r 240.71)

2-Amino-6-methylbenzothiazol (**24**, 1.50 g, 9.13 mmol) wurde in DCM (25 mL) gelöst, mit TEA (890 μ L, 6.43 mmol) versetzt und zu einer Lösung aus 2-Chloracetylchlorid in DCM (5 mL) tropfenweise zugegeben. Anschließend wurde für 24 h bei RT gerührt. Das Produkt wurde abfiltriert, mit deion. Wasser gewaschen und i.Vak. getrocknet. 2-Chloro-*N*-(6-methylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**26**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

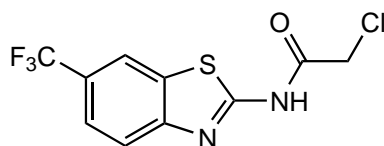
Ausbeute: 1.82 g (7.55 mmol, 84 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.64 (s, 1 H, NH), 7.78 (s, 1 H, $C^7_{Bnth}H$), 7.64 (d, 3J = 8.2 Hz, 1 H, $C^4_{Bnth}H$), 7.26 (d, 3J = 8.2 Hz, 1 H, $C^5_{Bnth}H$), 4.45 (s, 2 H, CH_2), 2.41 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 165.8 (C^2_{Bnth}), 156.6 ($C=O$), 146.5 (C^{3a}_{Bnth}), 133.3 (C^6_{Bnth}), 131.6 (C^{7a}_{Bnth}), 127.6 ($C^5_{Bnth}H$), 121.4 ($C^7_{Bnth}H$), 120.4 ($C^4_{Bnth}H$), 42.5 (CH_2), 21.0 (CH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 240.8 [M+H] $^+$.

HPLC (1): t_R = 2.3 min.

2-Chloro-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (28)

$C_{10}H_6ClF_3N_2OS$ (M_r 294.68)

Eine Lösung aus 2-Amino-6-(trifluormethyl)benzothiazol (**27**, 1.19 g, 5.47 mmol) und TEA (0.9 mL, 6.49 mmol) in DCM (9 mL) wurde tropfenweise zu einer Lösung aus 2-Chloracetylchlorid (0.45 mL, 5.65 mmol) in DCM (3 mL) gegeben. Es wurde anschließend für 24 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt, das Rohprodukt aus EtOH/H₂O umkristallisiert und das abfiltrierte Produkt i. Vak. getrocknet. 2-Chloro-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**28**) wurde als hellbraune Plättchen erhalten.

Ausbeute: 1.49 g (4.92 mmol, 90 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.96 (s, 1 H, NH), 8.52 (d, J_{FH} = 1.6 Hz, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.94 (d, ³ J = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.75 (d, ³ J = 8.5 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 4.50 (s, 2 H, CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 166.4 (C=O), 160.8 (C²_{Bnth}), 151.2 (C^{3a}_{Bnth}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 124.5 (d, ¹ J_{CF} = 271.8 Hz, CF₃), 123.9 (d, ² J_{CF} = 31.9 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.0 (d, ³ J_{CF} = 3.6 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.2 (C⁴_{Bnth}H), 120.0 (d, ³ J_{CF} = 4.0 Hz, C⁷_{Bnth}H), 42.5 (CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 294.8 [M+H]⁺.

HPLC (1): t_R = 6.0 min.

8.3.1.1. Synthese der Isothiocyanat-Derivate

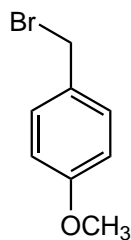
Methode A

Benzylbromid-Derivate. Zu einer Lösung des entsprechenden Benzylalkohols in DCM wurde bei 0 °C Phosphortribromid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde auf RT erwärmt und für 1 h gerührt. Es wurde mit einer gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lsg. gequench und mit Diethylether extrahiert. Die org. Phase wurde mit gesätt. Natriumthiosulfat-Lsg. und gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Rohprodukte wurden ohne weitere Aufreinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

Benzylisothiocyanat-Derivate. Die erzeugten Benzylbromid-Derivate wurden in abs. DMF aufgenommen und mit Kaliumthiocyanat und Natriumiodid bei 90 °C für 7 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in deion. Wasser aufgenommen und mit Diethylether extrahiert. Die org. Phase wurde dreimal mit deion. Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Rohprodukte wurden jeweils mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (5 % EE/PE).

Methode B

Isothiocyanat-Derivate. Das jeweilige Amin wurde in DCM oder THF aufgenommen und mit TEA für 10 min bei 0 °C gerührt. Thiophosgen wurde bei 0 °C tropfenweise zugegeben und das Reaktionsgemisch für weiter 20 min gerührt. Es wurde auf RT erwärmt und für 3 h gerührt. Die Lösung wurde mit wässr. HCl (0.1 M) angesäuert und mit DCM extrahiert. Die org. Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Rohprodukte wurden jeweils mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (5 % EE/PE).

4-Methoxybenzylbromid (30a)

C_8H_9BrO (M_r 201.06)

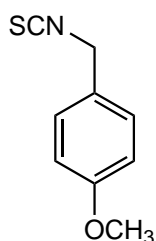
30a wurde erhalten ausgehend von 4-Methoxybenzylalkohol (**29a**, 696 mg, 5.04 mmol) mit Phosphortribromid (352 μ L, 3.75 mmol) in DCM (20 mL) nach **Methode A**. 4-Methoxybenzylbromid (**30a**) wurde als blassgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 913 mg (4.54 mmol, 90%)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 7.25 (m_C , 2 H, C_{Ar}^2H), 6.79 (m_C , 2 H, C_{Ar}^3H), 4.43 (s, 2 H, CH_2), 3.74 (s, 3 H, CH_3) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 159.7 (C_{Ar}^4), 130.4 (C_{Ar}^2H), 130.0 (C_{Ar}^1), 114.2 (C_{Ar}^3H), 55.3 (CH_3), 24.0 (CH_2) ppm.

HPLC (1): t_R = 5.1 min.

4-Methoxybenzylisothiocyanat (22c)

C_9H_9NOS (M_r 179.24)

22c wurde erhalten ausgehend von dem Benzylbromid **30a** (549 mg, 2.73 mmol) mit Kaliumthiocyanat (480 mg, 4.94 mmol) und Natriumiodid (60.0 mg, 0.40 mmol) in DMF (5 mL) nach **Methode A**. 4-Methoxybenzylisothiocyanat (**22c**) wurde als blassgelbes Öl erhalten.

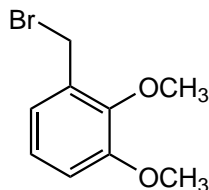
Ausbeute: 325 mg (1.81 mmol, 66%)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 7.19\text{--}7.14$ (m, 2 H, C_{Ar}^2H), 6.84 (m_C, 2 H, C_{Ar}^3H), 4.56 (s, 2 H, CH_2), 3.74 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 159.6(C_{Ar}^4)$, 131.9 (C_{Ar}^1), 128.4 (C_{Ar}^2H), 126.3 (N=C=S), 114.2 (C_{Ar}^3H), 55.3 (CH_3), 48.3 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 356.9$ [2M+H]⁺.

HPLC (1): $t_R = 5.2$ min.

2,3-Dimethoxybenzylbromid (30b)

$C_9H_{11}BrO_2$ (M_r 231.09)

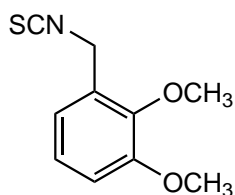
30b wurde erhalten ausgehend von 2,3-Dimethoxybenzylalkohol (**29b**, 842 mg, 5.01 mmol) mit Phosphortribromid (352 μ L, 3.75 mmol) in DCM (20 mL) nach **Methode A**. 2,3-Dimethoxybenzylbromid (**30b**) wurde als blassgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 845 mg (3.65 mmol, 73%)

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 7.02 (m_c , 1 H, C_{Ar}^5H), 6.96 (dd, 3J = 7.8 Hz, 4J = 1.9 Hz, 1 H, C_{Ar}^6H), 6.88 (dd, 3J = 8.0 Hz, 4J = 1.8 Hz, 1 H, C_{Ar}^4H), 4.57 (s, 2 H, CH_2), 3.96 (s, 3 H, C^2-OCH_3), 3.96 (s, 3 H, C^3-OCH_3) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 152.9 (C_{Ar}^3), 147.6 (C_{Ar}^2), 132.0 (C_{Ar}^1), 124.3 (C_{Ar}^5H), 122.6 (C_{Ar}^6H), 113.1 (C_{Ar}^4H), 61.0 (C^3-OCH_3), 55.9 (C^2-OCH_3), 28.3 (CH_2) ppm.

HPLC (1): t_R = 5.7 min.

2,3-Dimethoxybenzylisothiocyanat (22d)

$C_{10}H_{11}NO_2S$ (M_r 209.26)

22d wurde erhalten ausgehend von dem Benzylbromid **30b** (586 mg, 2.53 mmol) mit Kaliumthiocyanat (449 mg, 4.62 mmol) und Natriumiodid (58.0 mg, 0.39 mmol) in DMF (4 mL) nach **Methode A**. 2,3-Dimethoxybenzylisothiocyanat (**22d**) wurde als blassgelbes Öl erhalten.

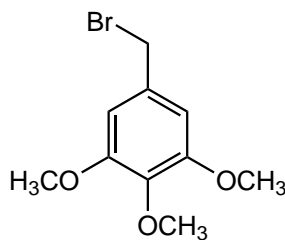
Ausbeute: 214 mg (1.02 mmol, 41 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 7.08$ (t, $^3J = 7.9$ Hz, 1 H, $C_{Ar}^5\text{H}$), 6.96-6.91 (m, 2 H, $C_{Ar}^{6/4}\text{H}$), 4.73 (s, 2 H, CH_2), 3.89 (s, 3 H, $\text{C}^2\text{-OCH}_3$), 3.87 (s, 3 H, $\text{C}^3\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 152.8(C_{Ar}^3)$, 146.6(C_{Ar}^2), 128.1 (C_{Ar}^1), 124.4 ($C_{Ar}^5\text{H}$), 120.4 ($C_{Ar}^6\text{H}$), 113.0 ($C_{Ar}^4\text{H}$), 61.1 ($\text{C}^2\text{-OCH}_3$), 56.0 ($\text{C}^3\text{-OCH}_3$), 44.1 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 417.0$ [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$.

HPLC (1): $t_R = 5.8$ min.

3,4,5-Trimethoxybenzylbromid (30c)

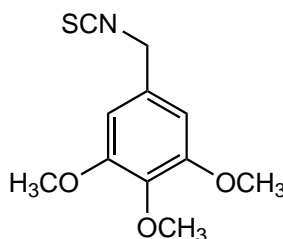
$C_{10}H_{13}BrO_3$ (M_r 261.12)

30c wurde erhalten ausgehend von 3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (**29c**, 490 μ L, 3.04 mmol) mit Phosphortribromid (210 μ L, 2.24 mmol) in DCM (12 mL) nach **Methode A**. 3,4,5-Trimethoxybenzylbromid (**30c**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 411 mg (1.57 mmol, 52 %).

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 181.0$ $[M-Br^-]^+$.

HPLC (2): $t_R = 5.6$ min.

3,4,5-Trimethoxybenzylisothiocyanat (22e)

$C_{11}H_{13}NO_3S$ (M_r 239.29)

22e wurde erhalten ausgehend von dem Benzylbromid **30c** (411 mg, 1.57 mmol) mit Kaliumthiocyanat (276 mg, 2.84 mmol) und Natriumiodid (33.0 mg, 0.22 mmol) in DMF (2 mL) nach **Methode A**. 3,4,5-Trimethoxybenzylisothiocyanat (**22e**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

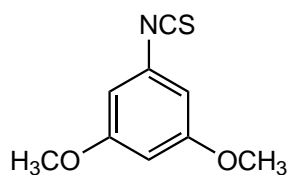
Ausbeute: 218 mg (0.91 mmol, 61 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 6.51$ (s, 2 H, $C_{Ar}^{2/6}H$), 4.64 (s, 2 H, CH_2), 3.87 (s, 6 H, $C^{3/5}\text{-OCH}_3$), 3.84 (s, 3 H, $C^4\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 153.7$ ($C_{Ar}^{3/5}$), 138.0 (C_{Ar}^4), 130.0 (C_{Ar}^1 , $\text{N}=\text{C}=\text{S}$), 104.1 ($C_{Ar}^{2/6}H$), 61.0 ($C^4\text{-OCH}_3$), 56.3 ($C^{3/5}\text{-OCH}_3$), 49.1 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 479.0$ [$2M+H$] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 6.1$ min.

3,5-Dimethoxyphenyl-1-isothiocyanat (22f)

$C_9H_9NO_2S$ (M_r 195.24)

22f wurde erhalten ausgehend von 3,5-Dimethoxyanilin (**100**, 767 mg, 5.00 mmol) mit TEA (2.8 mL, 20.2 mmol) und Thiophosgen (400 μ L, 5.22 mmol) in DCM (26 mL) nach **Methode B**. 3,5-Dimethoxyphenyl-1-isothiocyanat (**22f**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

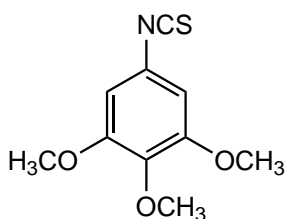
Ausbeute: 838 mg (4.29 mmol, 86 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 6.63 (d, 4J = 2.3 Hz, 2 H, $C_{Ar}^{2/6}H$), 6.51 (t, 4J = 2.3 Hz, 1 H, C_{Ar}^4H), 3.75 (s, 6 H, $C^{3/5}-OCH_3$) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 160.9 ($C_{Ar}^{3/5}$), 133.0 (N=C=S), 131.1 (C_{Ar}^1), 104.1 ($C_{Ar}^{2/6}H$), 100.8 (C_{Ar}^4H), 55.6 ($C^{3/5}-OCH_3$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 391.2 [2M+H] $^+$.

HPLC (2): t_R = 8.5 min.

3,4,5-Trimethoxyphenyl-1-isothiocyanat (22g)

$C_{10}H_{11}NO_3S$ (M_r 225.26)

22g wurde erhalten ausgehend von 3,4,5-Trimethoxyanilin (**101**, 458 mg, 2.50 mmol) mit TEA (1.4 mL, 2.61 mmol) und Thiophosgen (210 μ L, 2.74 mmol) in DCM (13 mL) nach **Methode B**. 3,4,5-Trimethoxyphenyl-1-isothiocyanat (**22g**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

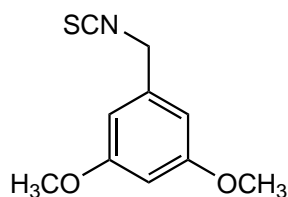
Ausbeute: 548 mg (2.43 mmol, 97 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 6.82 (s, 2 H, $C_{Ar}^{2/6}H$), 3.78 (s, 6 H, $C^{3/5}$ - OCH_3), 3.66 (s, 3 H, C^4 - OCH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 153.3 ($C_{Ar}^{3/5}$), 137.4 (C_{Ar}^4), 132.0 (N=C=S), 125.1 (C_{Ar}^1), 103.9 ($C_{Ar}^{2/6}H$), 60.1 (C^4 - OCH_3), 56.2 ($C^{3/5}$ - OCH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 225.9 [M+H] $^+$.

HPLC (2): t_R = 7.7 min.

3,5-Dimethoxybenzylisothiocyanat (22h)

$C_{10}H_{11}NO_2S$ (M_r 209.26)

22h wurde erhalten ausgehend von 3,5-Dimethoxybenzylamin (**102**, 841 mg, 5.00 mmol) mit TEA (2.8 mL, 20.2 mmol) und Thiophosgen (400 μ L, 5.22 mmol) in DCM (26 mL) nach **Methode B**. 3,5-Dimethoxybenzylisothiocyanat (**22h**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

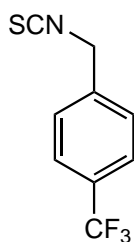
Ausbeute: 868 mg (4.15 mmol, 83 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 300 K): δ = 6.45 (d, 4J = 2.3 Hz, 2 H, $\text{C}_{Ar}^{2/6}\text{H}$), 6.42 (t, 4J = 2.3 Hz, 1 H, C_{Ar}^4H), 4.65 (s, 2 H, CH_2), 3.80 (s, 6 H, $\text{C}^{3/5}\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 300 K): δ = 161.2 ($\text{C}_{Ar}^{3/5}$), 136.5 (C_{Ar}^1), 104.8 ($\text{C}_{Ar}^{2/6}\text{H}$), 100.1 (C_{Ar}^4H), 55.4 ($\text{C}^{3/5}\text{-OCH}_3$), 48.7 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 419.1 [$2\text{M}+\text{H}$] $^+$.

HPLC (3): t_R = 10.1 min.

4-Trifluormethylbenzylisothiocyanat (22i)

$C_9H_6F_3NS$ (M_r 217.21)

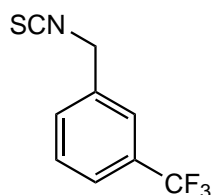
22i wurde erhalten ausgehend von 4-Trifluormethylbenzylamin (**103**, 715 μL , 5.02 mmol) mit TEA (2.8 mL, 20.2 mmol) und Thiophosgen (410 μL , 5.35 mmol) in DCM (27 mL) nach **Methode B**. 4-Trifluormethylbenzylisothiocyanat (**22i**) wurde als gelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 625 mg (2.88 mmol, 56 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 7.68$ (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2 H, $C_{Ar}^{3/5}H$), 6.42 (m, 2 H, $C_{Ar}^{2/6}H$), 4.82 (s, 2 H, CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 300 K): $\delta = 138.2$ (C_{Ar}^1), 130.7 (d, $^2J_{CF} = 32.8$ Hz, C_{Ar}^4), 129.9 (N=C=S), 127.1 ($C_{Ar}^{2/6}H$), 125.0 (d, $^3J_{CF} = 3.8$ Hz, $C_{Ar}^{3/5}H$), 123.8 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF_3), 48.2 (CH_2) ppm.

HPLC (1): $t_R = 5.6$ min.

3-Trifluormethylbenzylisothiocyanat (22j)

$C_9H_6F_3NS$ (M_r 217.21)

22j wurde erhalten ausgehend von 3-Trifluormethylbenzylamin (**104**, 720 μ L, 5.02 mmol) mit TEA (280 μ L, 2.02 mmol) und Thiophosgen (400 μ L, 5.22 mmol) in DCM (26 mL) nach **Methode B**. 3-Trifluormethylbenzylisothiocyanat (**22j**) wurde als oranges Öl erhalten.

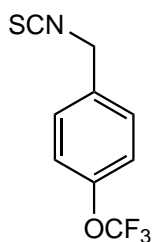
Ausbeute: 1.00 g (4.60 mmol, 92 %).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 7.63-7.59 (m, 1 H, C_{Ar}^2H), 7.57-7.53 (m, 3 H, C_{Ar}^4H , C_{Ar}^5H , C_{Ar}^6H), 4.80 (s, 2 H, CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 135.3 (C_{Ar}^1), 133.9 (N=C=S), 131.4 (d, $^2J_{CF}$ = 32.7 Hz, C_{Ar}^3), 130.1 (d, $^4J_{CF}$ = 1.7 Hz, C_{Ar}^5H), 129.6 (C_{Ar}^6H), 125.3 (d, $^3J_{CF}$ = 3.8 Hz, C_{Ar}^5H), 123.8 (d, $^1J_{CF}$ = 272.5 Hz, CF_3), 123.7 (d, $^3J_{CF}$ = 3.8 Hz, C_{Ar}^4H), 48.3 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 434.9 $[2M+H]^+$.

HPLC (1): t_R = 5.5 min.

4-Trifluormethoxybenzylisothiocyanat (22k)

$C_9H_6F_3NOS$ (M_r 233.21)

22k wurde erhalten ausgehend von 4-Trifluormethoxybenzylamin (**105**, 382 μ L, 2.50 mmol) mit TEA (1.4 mL, 10.1 mmol) und Thiophosgen (200 μ L, 2.61 mmol) in THF (13 mL) nach **Methode B**. 4-Trifluormethoxybenzylisothiocyanat (**22k**) wurde als gelbes Öl erhalten.

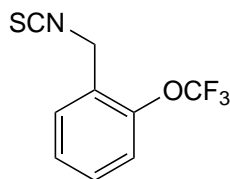
Ausbeute: 360 mg (1.55 mmol, 62 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , 300 K): δ = 7.40-7.36 (m, 2 H, $C_{Ar}^{2/6}H$), 7.27 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2 H, $C_{Ar}^{3/5}H$), 4.75 (s, 2 H, CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3 , 300 K): δ = 149.1 (d, $^3J_{CF} = 1.8$ Hz, C_{Ar}^4), 133.0 ($C_{Ar}^{2/6}H$), 128.4 (C_{Ar}^1), 125.5 (N=C=S), 120.4 (d, $^1J_{CF} = 257.7$ Hz, CF_3), 121.5 ($C_{Ar}^{3/5}H$), 48.0 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 466.9$ [$2M+H$] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 8.5$ min.

2-Trifluormethoxybenzylisothiocyanat (221)

$C_9H_6F_3NOS$ (M_r 233.21)

221 wurde erhalten ausgehend von 2-Trifluormethoxybenzylamin (**106**, 553 mg, 2.89 mmol) mit TEA (1.5 mL, 10.8 mmol) und Thiophosgen (230 μ L, 3.00 mmol) in DCM (14 mL) nach **Methode B**. 2-Trifluormethoxybenzylisothiocyanat (**221**) wurde als gelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 190 mg (0.82 mmol, 28 %).

1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 7.53-7.50 (m, 1 H, C_{Ar}^6H), 7.44-7.33 (m, 2 H, C_{Ar}^5H , C_{Ar}^3H), 7.31-7.27 (m, 1 H, C_{Ar}^4H), 4.81 (s, 2 H, CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$, 300 K): δ = 146.5 (d, $^3J_{CF}$ = 1.7 Hz, C_{Ar}^2), 130.1 (C_{Ar}^4H), 129.1 (C_{Ar}^6H), 127.5 (C_{Ar}^5H), 127.1 (N=C=S), 120.7 (C_{Ar}^1), 120.7 (C_{Ar}^3H), 120.6 (d, $^1J_{CF}$ = 258.7 Hz, CF_3), 44.8 (CH_2) ppm.

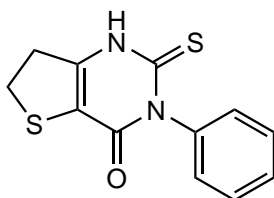
HPLC (3): t_R = 10.7 min.

8.3.1.2. Synthese der Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivate

Allgemeine Synthesevorschrift

Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) wurde unter Stickstoffatmosphäre vorgelegt. Die entsprechenden Isothiocyanate wurden zugegeben und die Edukte in abs. Pyridin gelöst. Es wurde bei 100-120 °C für 16 h gerührt. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und die Rohprodukte mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt.

3-Phenyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23a**)



$C_{12}H_{10}N_2OS_2$ (M_r 262.35)

23a wurde erhalten ausgehend von **21** (461 mg, 2.90 mmol) und Phenylisothiocyanat (**22a**, 420 μ L, 3.51 mmol) in Pyridin (9 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE, dann Aceton). Das erhaltene Produkt wurde im Anschluss zusätzlich mit EE gewaschen. 3-Phenyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23a**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 113 mg (0.43 mmol, 15 %).

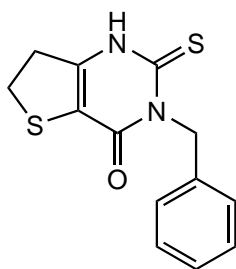
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 13.23 (s, 1 H, NH), 7.49-7.35 (m, 3 H, $C_{Phen}^{2/6}H$, C_{Phen}^4H), 7.19-7.16 (m, 2 H, $C_{Phen}^{3/5}H$), 3.41-3.36 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 3.28-3.22 (m, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 175.3 (C_{Pyrn}^2), 156.9 (C_{Pyrn}^4), 149.5 (C_{Pyrn}^6), 139.1 (C_{Phen}^1), 129.0 ($C_{Phen}^{3/5}H$), 128.6 ($C_{Phen}^{2/6}H$), 128.2 (C_{Phen}^4H), 114.4 (C_{Pyrn}^5), 34.6 (SCH_2CH_2), 29.0 (SCH_2CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 262.8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (1): $t_R = 4.2$ min.

3-Benzyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23b)



$C_{13}H_{12}N_2OS_2$ (M_r 276.38)

23b wurde erhalten ausgehend von **21** (596 mg, 3.74 mmol) und Benzylisothiocyanat (**22b**, 560 μ L, 4.22 mmol) in Pyridin (12 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE, dann Aceton). Das erhaltene Produkt wurde im Anschluss zusätzlich mit EE gewaschen. 3-Benzyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23b**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

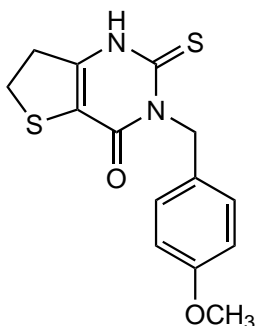
Ausbeute: 207 mg (0.75 mmol, 20 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 13.24$ (s, 1 H, NH), 7.30-7.21 (m, 5 H, $C_{Benz}^{2/6}H$, C_{Benz}^4H , $C_{Benz}^{3/5}H$), 5.53 (s, 2 H, CH_2), 3.38-3.32 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 3.24-3.18 (m, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 174.5$ (C_{Pyrn}^2), 156.6 (C_{Pyrn}^4), 149.3 (C_{Pyrn}^6), 136.2 (C_{Benz}^1), 128.2 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 127.2 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 127.0 (C_{Benz}^4H), 114.0 (C_{Pyrn}^5), 48.7 (CH_2), 34.5 (SCH_2CH_2), 28.9 (SCH_2CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 276.7$ $[M+H]^+$.

HPLC (1): $t_R = 5.4$ min.

3-(4-Methoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23c)

$C_{14}H_{14}N_2O_2S_2$ (M_r 306.40)

23c wurde erhalten ausgehend von **21** (269 mg, 1.69 mmol) und Benzylisothiocyanat **22c** (313 mg, 1.75 mmol) in Pyridin (5 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 3-(4-Methoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23c**) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

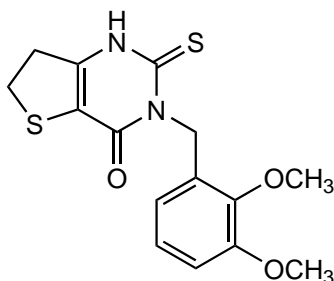
Ausbeute: 120 mg (0.39 mmol, 23 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 13.19 (s, 1 H, *NH*), 7.29 (d, 3J = 8.8 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 6.85 (d, 3J = 8.8 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}H$), 5.45 (s, 2 H, *N-CH*₂), 3.71 (s, 3 H, *CH*₃), 3.33 (t, 2 H, 3J = 8.0 Hz, *SCH*₂*CH*₂), 3.20 (t, 3J = 8.0 Hz, 2 H, *SCH*₂*CH*₂) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 174.4 (C_{Pyrn}^2), 158.4 (C_{Benz}^4), 156.6 (C_{Pyrn}^4), 149.2 (C_{Pyrn}^6), 129.1 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 128.2 (C_{Benz}^1), 114.1 (C_{Pyrn}^5), 113.5 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 55.0 (*CH*₃), 48.1 (*N-CH*₂), 34.5 (*SCH*₂*CH*₂), 28.9 (*SCH*₂*CH*₂) ppm.

HPLC (1): t_R = 5.3 min.

3-(2,3-Dimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23d)



$C_{15}H_{16}N_2O_3S_2$ (M_r 336.43)

23d wurde erhalten ausgehend von **21** (432 mg, 2.71 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22d** (495 mg, 2.37 mmol) in Pyridin (8 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). Das erhaltene Produkt wurde im Anschluss zusätzlich mit EE gewaschen. 3-(2,3-Dimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23d**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 226 mg (0.67 mmol, 28 %).

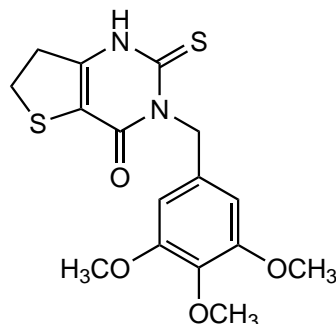
1H -NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.25 (s, 1 H, NH), 6.97-6.92 (m, 2 H, C_{Benz}^4H , C_{Benz}^5H), 6.35-6.32 (m, 1 H, C_{Benz}^6H), 5.52 (s, 2 H, N-CH₂), 3.80 (s, 6 H, C²-OCH₃, C³-OCH₃), 3.36 (t, 3J = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.24 (t, 3J = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 174.6 (C_{Pyrn}^2), 156.5 (C_{Pyrn}^4), 152.3 (C_{Benz}^2), 149.3 (C_{Pyrn}^6), 145.8 (C_{Benz}^3), 129.3 (C_{Benz}^1), 123.7 (C_{Benz}^5H), 117.0 (C_{Benz}^6H), 113.8 (C_{Pyrn}^5), 111.5 (C_{Benz}^4H), 59.6 (C²-OCH₃), 55.6 (C³-OCH₃), 44.5 (N-CH₂), 34.5 (SCH₂CH₂), 28.9 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 336.9 [M+H]⁺.

HPLC (1): t_R = 5.0 min.

3-(3,4,5-Trimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23e)



$C_{16}H_{18}N_2O_4S_2$ (M_r 366.45)

23e wurde erhalten ausgehend von **21** (122 mg, 0.77 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22e** (184 mg, 0.77 mmol) in Pyridin (3.5 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE). 3-(3,4,5-Trimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23e**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

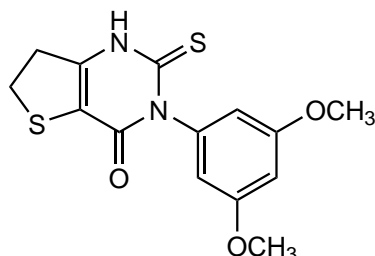
Ausbeute: 127 mg (0.35 mmol, 45 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 13.21 (s, 1 H, NH), 6.71 (s, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 5.46 (s, 2 H, N- CH_2), 3.71 (s, 6 H, $C^{3/5}$ - OCH_3), 3.62 (s, 3 H, C^4 - OCH_3) 3.37-3.31 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 3.24-3.18 (m, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 174.6 (C_{Pyrn}^2), 156.5 (C_{Pyrn}^4), 152.6 ($C_{Benz}^{3/5}$), 149.3 (C_{Pyrn}^6), 136.9 (C_{Benz}^4), 132.0 (C_{Benz}^1), 114.1 (C_{Pyrn}^5), 105.6 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 60.0 (C^4 - OCH_3), 55.9 ($C^{3/5}$ - OCH_3), 48.9 (N- CH_2), 34.5 (SCH_2CH_2), 28.9 (SCH_2CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 367.0 [$M+H$] $^+$.

HPLC (3): t_R = 8.9 min.

3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23f)

C₁₄H₁₄N₂O₃S₂ (M_r 322.40)

23f wurde erhalten ausgehend von **21** (271 mg, 1.70 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22f** (348 mg, 1.78 mmol) in Pyridin (7 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). Das erhaltene Produkt wurde im Anschluss zusätzlich mit EE gewaschen. 3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23f**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 111 mg (0.32 mmol, 20 %).

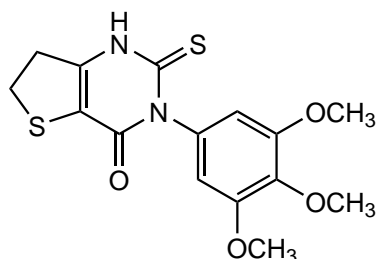
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.19 (s, 1 H, NH), 6.53 (t, ⁴*J* = 2.2 Hz, 1 H, C⁴_{Phen}H), 6.38 (t, ⁴*J* = 2.2 Hz, 2 H, C^{2/6}_{Phen}H), 3.73 (s, 6 H, C^{3/5}-OCH₃), 3.37 (t, 2 H, ³*J* = 8.0 Hz, SCH₂CH₂), 3.23 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 175.0 (C²_{Pyrrn}), 160.7 (C^{3/5}_{Phen}), 156.7 (C⁴_{Pyrrn}), 149.3 (C⁶_{Pyrrn}), 140.7 (C¹_{Phen}), 114.3 (C⁵_{Pyrrn}), 107.0 (C^{2/6}_{Phen}H), 100.0 (C⁴_{Phen}H), 55.3 (C^{3/5}-OCH₃), 34.5 (SCH₂CH₂), 29.9 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 323.2 [M+H]⁺.

HPLC (3): *t_R* = 8.5 min.

3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23g)



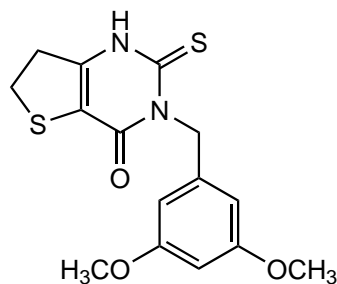
$C_{15}H_{16}N_2O_4S_2$ (M_r 352.42)

23g wurde erhalten ausgehend von **21** (183 mg, 1.15 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22g** (287 mg, 1.27 mmol) in Pyridin (3.5 mL). Bei der Reaktion fiel ein nahezu unlöslicher farbloser Feststoff aus, der abfiltriert und i. Vak. getrocknet wurde.

Ausbeute: 190 mg (max. 0.54 mmol, max. 47%)

Das Produkt wurde ohne Analytik in der nächsten Synthese eingesetzt.

3-(3,5-Dimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23h)



$C_{15}H_{16}N_2O_3S_2$ (M_r 336.42)

23h wurde erhalten ausgehend von **21** (227 mg, 1.43 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22h** (327 mg, 1.56 mmol) in Pyridin (6 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 3-(3,5-Dimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23h**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 173 mg (0.51 mmol, 36 %).

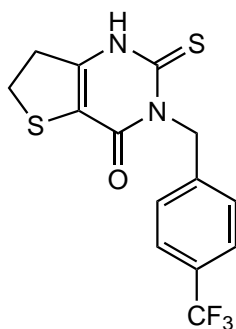
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.23 (s, 1 H, NH), 6.41-6.38 (m, 3 H, C^{2/6}_{Benz}H, C⁴_{Benz}H), 5.46 (s, 2 H, N-CH₂), 3.70 (s, 6 H, C^{3/5}-OCH₃), 3.38-3.33 (m, 2 H, SCH₂CH₂), 3.25-3.19 (m, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 174.6 (C²_{Pyrn}), 160.3 (C^{3/5}_{Benz}), 156.5 (C⁴_{Pyrn}), 149.4 (C⁶_{Pyrn}), 138.4 (C¹_{Benz}), 114.0 (C⁵_{Pyrn}), 105.4 (C^{2/6}_{Benz}H), 98.2 (C⁴_{Benz}H), 55.1 (C^{3/5}-OCH₃), 48.8 (N-CH₂), 34.5 (SCH₂CH₂), 28.9 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 337.0 [M+H]⁺.

HPLC (3): t_R = 9.2 min.

3-(4-Trifluormethylbenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23i)



C₁₄H₁₁F₃N₂OS₂ (M_r 344.37)

23i wurde erhalten ausgehend von **21** (358 mg, 2.25 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22i** (550 mg, 2.53 mmol) in Pyridin (7 mL). Das Rohprodukt wurde mit DCM gewaschen. 3-(4-Trifluormethylbenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23i**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 373 mg (1.08 mmol, 48 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.32 (s, 1 H, NH), 7.67 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 2 H, C^{3/5}_{Benz}H), 7.47 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 2 H, C^{2/6}_{Benz}H), 5.60 (s, 2 H, CH₂), 3.39-3.33 (m, 2 H,

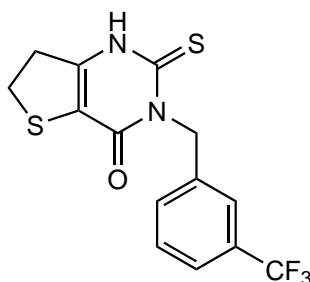
SCH₂CH₂), 3.26-3.20 (m, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 174.5 (*C*_{Pyrn}²), 156.6 (*C*_{Pyrn}⁴), 149.6 (*C*_{Pyrn}⁶), 141.1 (*C*_{Benz}¹), 127.6 (*C*_{Benz}^{2/6}H), 125.1 (d, ²*J*_{CF} = 32.2 Hz, *C*_{Benz}⁴), 125.1 (d, ³*J*_{CF} = 3.9 Hz, *C*_{Benz}^{3/5}H), 124.3 (d, ¹*J*_{CF} = 271.8 Hz, CF₃), 114.0 (*C*_{Pyrn}⁵), 48.6 (CH₂), 34.5 (SCH₂CH₂), 29.0 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 344.9 [M+H]⁺.

HPLC (**2**): *t*_R = 7.1 min.

3-(3-Trifluormethylbenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23j**)**



C₁₄H₁₁F₃N₂OS₂ (M_r 344.37)

23j wurde erhalten ausgehend von **21** (366 mg, 2.30 mmol) und dem Benzyliothiocyanat **22j** (598 mg, 2.75 mmol) in Pyridin (7 mL). Das Rohprodukt wurde mit DCM gewaschen. Das Produkt 3-(3-Trifluormethylbenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23j**) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 250 mg (0.73 mmol, 32 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.30 (s, 1 H, NH), 7.70 (s, 1 H, *C*_{Benz}²H), 7.63-7.52 (m, 3 H, *C*_{Benz}⁴H, *C*_{Benz}⁵H, *C*_{Benz}⁶H), 5.60 (s, 2 H, N-CH₂), 3.35 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.22 (t, ³*J* = 8.0 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

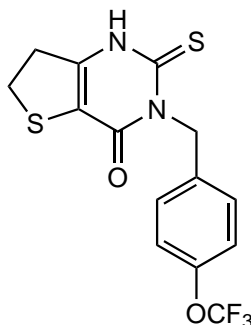
¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 174.4 (*C*_{Pyrn}²), 156.7 (*C*_{Pyrn}⁴), 149.6 (*C*_{Pyrn}⁶), 137.7 (*C*_{Benz}¹), 131.3 (*C*_{Benz}⁶H), 129.3 (*C*_{Benz}⁵H), 128.9 (d, ²*J*_{CF} = 31.4 Hz, *C*_{Benz}³), 124.1

(d, $^1J_{CF} = 272.3$ Hz, CF_3), 124.1 (d, $^3J_{CF} = 3.8$ Hz, C_{Benz}^2H), 123.9 (d, $^3J_{CF} = 3.7$ Hz, C_{Benz}^4H), 114.0 (C_{Pyrn}^5), 48.5 (N- CH_2), 34.5 (SCH₂CH₂), 28.9 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 344.9$ [M+H]⁺.

HPLC (1): $t_R = 5.0$ min.

3-(4-Trifluormethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (23k)



$C_{14}H_{11}F_3N_2O_2S_2$ (M_r 360.37)

23k wurde erhalten ausgehend von **21** (181 mg, 1.14 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **22k** (294 mg, 1.26 mmol) in Pyridin (3.5 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 3-(4-Trifluormethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**23k**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 112 mg (0.31 mmol, 27 %).

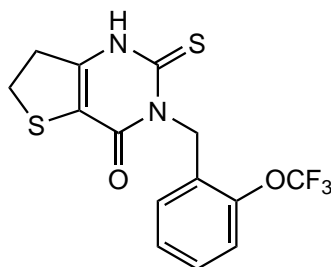
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 13.28$ (s, 1 H, NH), 7.43 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}H$), 7.30 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 5.54 (s, 2 H, N- CH_2), 3.34 (t, $^3J = 7.5$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.22 (t, $^3J = 7.7$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 174.4$ (C_{Pyrn}^2), 156.6 (C_{Pyrn}^4), 149.5 (C_{Pyrn}^6), 147.3 (C_{Benz}^4), 135.7 (C_{Benz}^1), 129.2 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 120.8 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 120.1 (d, $^1J_{CF} = 255.9$ Hz, CF_3), 114.1 (C_{Pyrn}^5), 48.2 (N- CH_2), 34.5 (SCH₂CH₂), 29.0 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 360.9$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 7.2$ min.

3-(2-Trifluormethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (231)



$C_{14}H_{11}F_3N_2O_2S_2$ (M_r 360.37)

231 wurde erhalten ausgehend von **21** (190 mg, 1.19 mmol) und dem Benzylisothiocyanat **221** (251 mg, 1.08 mmol) in Pyridin (5 mL). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 3-(2-Trifluormethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**231**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 222 mg (0.62 mmol, 58 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 13.33$ (s, 1 H, NH), 7.39-7.35 (m, 2 H, C_{Benz}^3H , C_{Benz}^4H), 7.33-7.28 (m, 1 H, C_{Benz}^5H), 7.01-6.99 (m, 1 H, C_{Benz}^6H), 5.57 (s, 2 H, CH_2), 3.41-3.34 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 3.28-3.22 (m, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 174.5$ (C_{Pyrn}^2), 156.6 (C_{Pyrn}^4), 149.6 (C_{Pyrn}^6), 146.0 (C_{Benz}^2), 128.6 (C_{Benz}^1), 128.5 (C_{Benz}^4H), 127.4 (C_{Benz}^5H), 126.8 (C_{Benz}^6H), 120.8 (C_{Benz}^3H), 120.3 (d, $^1J_{CF} = 257.0$ Hz, CF_3), 113.9 (C_{Pyrn}^5), 44.1 (CH_2), 34.6 (SCH_2CH_2), 29.0 (SCH_2CH_2) ppm.

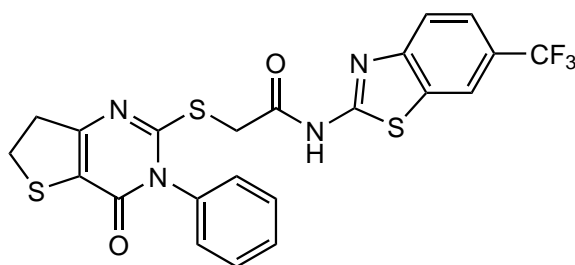
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 361.1$ $[M+H]^+$.

HPLC (3): $t_R = 9.6$ min.

8.3.1.3. Synthese der Zielverbindungen der Serie 1

Allgemeine Synthesevorschrift 1 zur Darstellung der Zielverbindungen

Alle Synthesen wurden entweder unter Stickstoffatmosphäre oder unter Ausschluss von Feuchtigkeit mittels CaCl₂-Rohr durchgeführt. Die Edukte wurden vorgelegt und in abs. DMF gelöst. TEA wurde zugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 80 °C erhitzt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches wurde mit deion. Wasser gequench und dreimal mit EE extrahiert. Die verein. org. Phasen wurden mit deion. Wasser und gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Rohprodukte wurden mittels Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt und wenn nötig zusätzlich umkristallisiert.

2-((4-Oxo-3-phenyl-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11a**)

C₂₂H₁₅F₃N₄O₂S₃ (M_r 520.56)

11a wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (220 mg, 0.75 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23a** (186 mg, 0.71 mmol) in DMF (7 mL) mit TEA (300 μL, 2.16 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 2-((4-Oxo-3-phenyl-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11a**) wurde nach Entfernen des Lösungsmittels als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 95.0 mg (0.18 mmol, 26 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.85 (s, 1 H, NH), 8.50 (m_c, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³J = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.76-7.73 (m, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.62-7.57 (m, 3 H, C^{3/5}_{Phen}H, C⁴_{Phen}H), 7.46-7.42 (m, 2 H, C^{2/6}_{Phen}H), 4.16 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.30 (t, ³J = 8.1 Hz,

2 H, SCH₂CH₂), 3.10 (t, ³J = 8.1 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.6 (CH₂C=O), 161.0 (C²_{Bnth}), 160.5 (C⁶_{Pyrn}), 158.5 (C²_{Pyrn}), 156.9 (C⁴_{Pyrn}), 151.3 (C^{3a}_{Bnth}), 135.4 (C¹_{Phen}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 130.2 (C^{3/5}_{Phen}H), 129.7 (C⁴_{Phen}H), 128.8 (C^{2/6}_{Phen}H), 124.5 (d, ¹J_{CF} = 271.7 Hz, CF₃), 123.8 (d, ²J_{CF} = 31.5 Hz, C⁶_{Bnth}), 122.9 (d, ³J_{CF} = 3.2 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.0 (C⁴_{Bnth}H), 119.9 (d, ³J_{CF} = 3.8 Hz, C⁷_{Bnth}H), 119.8 (C⁵_{Pyrn}), 37.1 (SCH₂CH₂), 36.1 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂CH₂) ppm.

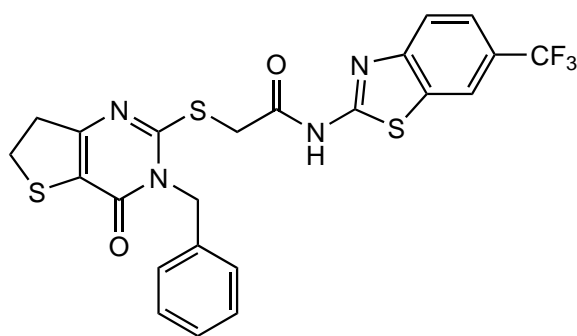
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 520.8 [M+H]⁺.

HPLC (1): *t*_R = 6.0 min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3173, 3150, 1707, 1647, 1614, 1572, 1544, 1483, 1468, 1385, 1321, 1308, 1244, 1144, 1120, 1084, 986, 891, 827, 756, 698 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 213 °C.

2-((3-Benzyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11b**)



C₂₃H₁₇F₃N₄O₂S₃ (M_r 534.60)

11b wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (235 mg, 0.80 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23b** (196 mg, 0.71 mmol) in DMF (7 mL) mit TEA (300 μL, 2.16 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 2-((3-Benzyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11b**) wurde als blassgelber Fest-

stoff erhalten.

Ausbeute: 278.0 mg (0.52 mmol, 73 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.92 (s, 1 H, NH), 8.49 (dd, ⁴*J* = 1.3 Hz, *J*_{FH} = 0.6 Hz, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.74 (dd, ³*J* = 8.6 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.40-7.25 (m, 5 H, C^{3/5}_{Benz}H, C⁴_{Benz}H, C^{2/6}_{Benz}H), 5.27 (s, 2 H, N-CH₂), 4.27 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.27 (t, ³*J* = 8.5 Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.04 (t, ³*J* = 8.5 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.5 (CH₂C=O), 161.0 (C²_{Bnth}), 160.4 (C⁶_{Pyrn}), 158.0 (C²_{Pyrn}), 157.1 (C⁴_{Pyrn}), 151.3 (C^{3a}_{Bnth}), 134.9 (C¹_{Benz}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 128.6 (C^{3/5}_{Benz}H), 127.7 (C⁴_{Benz}H), 127.0 (C^{2/6}_{Benz}H), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 271.9 Hz, CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 31.8 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.0 (d, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.0 (C⁴_{Bnth}H), 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 4.3 Hz, C⁷_{Bnth}H), 119.4 (C⁵_{Pyrn}), 47.1 (N-CH₂), 36.9 (SCH₂CH₂), 36.0 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂CH₂) ppm.

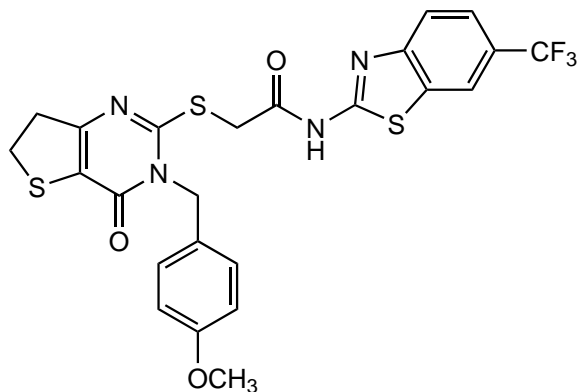
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 534.9 [M+H]⁺.

HPLC (1): *t*_R = 6.4 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3734, 2380, 2320, 1688, 1570, 1545, 1474, 1452, 1317, 1283, 1250, 1169, 1136, 1105, 1082, 1055, 901, 835, 760, 735, 696 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 179 °C.

2-((3-(4-Methoxybenzyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11c**)



$C_{24}H_{19}F_3N_4O_3S_3$ (M_r 564.62)

11c wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (98.6 mg, 0.34 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23c** (98 mg, 0.32 mmol) in DMF (4 mL) mit TEA (132 μ L, 0.95 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 2-((3-(4-Methoxybenzyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11c**) wurde als farblos-er Feststoff erhalten.

Ausbeute: 126 mg (0.23 mmol, 69 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.91 (s, 1 H, NH), 8.49 (dd, 4J = 1.2 Hz, J_{FH} = 0.7 Hz, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.75 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.24 (d, 3J = 8.8 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 6.92 (d, 3J = 8.8 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}H$), 5.19 (s, 2 H, N- CH_2), 4.26 (s, 2 H, $CH_2C=O$), 3.74 (s, 3 H, C^4-OCH_3), 3.26 (t, 3J = 8.6 Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 3.02 (t, 3J = 8.6 Hz, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.5 ($CH_2C=O$), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.3 (C_{Pyrn}^6), 158.8 (C_{Benz}^4), 157.9 (C_{Pyrn}^2), 157.0 (C_{Pyrn}^4), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 128.7 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 126.8 (C_{Benz}^1), 124.5 (d, $^1J_{CF}$ = 273.1 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.9 Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.4 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 119.9 (d, $^3J_{CF}$ = 4.1 Hz, C_{Bnth}^7H), 119.4 (C_{Pyrn}^5), 114.0 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 55.1 (C^4-OCH_3), 46.6 (N- CH_2), 36.9 (SCH_2CH_2), 35.9 ($CH_2C=O$), 28.4 (SCH_2CH_2) ppm.

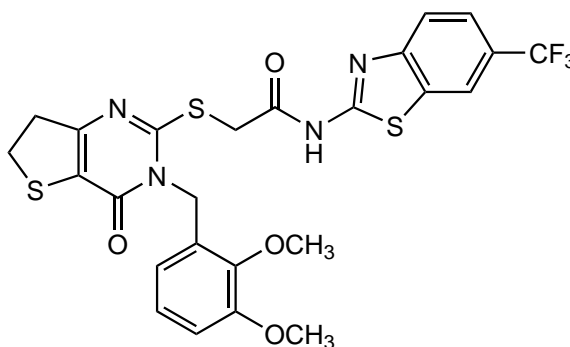
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 565.0$ $[M+H]^+$.

HPLC (1): $t_R = 6.4$ min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3194, 2960, 1707, 1686, 1572, 1528, 1512, 1472, 1387, 1325, 1273, 1244, 1161, 1132, 1105, 1086, 1042, 914, 818, 768, 650$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 196 °C.

2-((3-(2,3-Dimethoxybenzyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (11d)



$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_3$ (M_r 594.65)

11d wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (216 mg, 0.73 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23d** (240 mg, 0.71 mmol) in DMF (7 mL) mit TEA (290 μL , 2.09 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 2-((3-(2,3-Dimethoxybenzyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11d**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 378 mg (0.64 mmol, 89 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 12.89$ (s, 1 H, *NH*), 8.49 (dd, $^4J = 1.2$ Hz, $J_{FH} = 0.7$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.75 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.9$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.05-6.99 (m, 2 H, C_{Benz}^4H , C_{Benz}^5H), 6.36-6.33 (m, 1 H, C_{Benz}^6H), 5.27 (s, 2 H, *N-CH*₂), 4.25 (s, 2 H, *CH*₂*C=O*), 3.84 (s, 3 H, *C*²-*OCH*₃), 3.83 (s, 3 H, *C*³-*OCH*₃), 3.28 (t, $^3J = 8.7$ Hz, 2 H, *SCH*₂*CH*₂), 3.06 (t, $^3J = 8.7$ Hz, 2 H,

SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.4 (CH₂C=O), 161.0 (*C*_{Bnth}²), 160.4 (*C*_{Pyrrn}⁶), 158.1 (*C*_{Pyrrn}²), 157.0 (*C*_{Pyrrn}⁴), 152.3 (*C*_{Benz}²), 151.3 (*C*_{Bnth}^{3a}), 146.0 (*C*_{Benz}³), 132.9 (*C*_{Bnth}^{7a}), 127.9 (*C*_{Benz}¹), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 271.4 Hz, CF₃), 124.2 (*C*_{Benz}⁵H), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 32.0 Hz, *C*_{Bnth}⁶), 122.9 (d, ³*J*_{CF} = 3.3 Hz, *C*_{Bnth}⁵H), 121.0 (*C*_{Bnth}⁴H), 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 3.2 Hz, *C*_{Bnth}⁷H), 119.2 (*C*_{Pyrrn}⁵), 117.2 (*C*_{Benz}⁶H), 112.2 (*C*_{Benz}⁴H), 60.0 (C²-OCH₃), 55.7 (C³-OCH₃), 42.4 (N-CH₂), 36.9 (SCH₂CH₂), 35.9 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂CH₂) ppm.

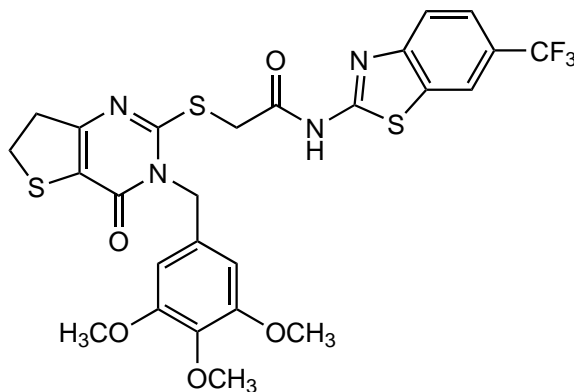
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 595.0 [M+H]⁺.

HPLC (1): *t*_R = 6.4 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2940, 2839, 1690, 1672, 1611, 1541, 1476, 1427, 1414, 1317, 1273, 1225, 1159, 1130, 1117, 1080, 1072, 997, 939, 897, 822, 745, 669 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 195 °C.

2-((4-Oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (11e)



$C_{26}H_{23}F_3N_4O_5S_3$ (M_r 624.67)

11e wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (74.1 mg, 0.25 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23e** (90.7 mg, 0.25 mmol) in DMF (3 mL) mit TEA (0.10 mL, 0.72 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 2-((4-Oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11e**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 98.1 mg (0.16 mmol, 63 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.93 (s, 1 H, NH), 8.49 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.74 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 6.66 (s, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 5.18 (s, 2 H, N- CH_2), 4.31 (s, 2 H, $CH_2C=O$), 3.77 (s, 6 H, $C^{3/5}-OCH_3$), 3.65 (s, 3 H, C^4-OCH_3), 3.25 (t, 3J = 8.6 Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 3.03 (t, 3J = 8.5 Hz, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.6 ($CH_2C=O$), 161.1 (C_{Bnth}^2), 160.3 (C_{Pyrn}^6), 158.0 (C_{Pyrn}^2), 157.1 (C_{Pyrn}^4), 152.9 (C_{Benz}^3), 151.4 (C_{Bnth}^{3a}), 137.4 (C_{Benz}^4), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 130.5 (C_{Benz}^1), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.6 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.8 Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.9 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.3 Hz, C_{Bnth}^7H), 119.4 (C_{Pyrn}^5), 105.0 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 60.0 (C^4-OCH_3), 56.0 ($C^{3/5}-OCH_3$), 47.5 (N- CH_2), 36.9 (SCH_2CH_2), 35.9 ($CH_2C=O$), 28.4 (SCH_2CH_2) ppm.

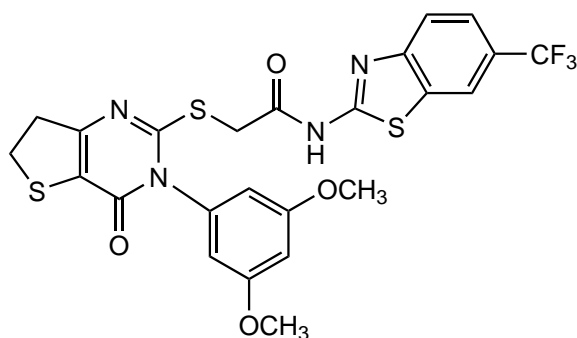
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 625.1$ $[M+H]^+$.

HPLC (**3**): $t_R = 10.2$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3184, 2928, 2849, 1659, 1541, 1483, 1423, 1317, 1273, 1244, 1157, 1119, 977, 885, 765, 677$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 217 °C.

2-((3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11f**)



$\text{C}_{24}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_3$ (M_r 580.62)

11f wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (72.2 mg, 0.25 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23f** (76.2 mg, 0.24 mmol) in DMF (3 mL) mit TEA (0.1 mL, 0.72 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). 2-((3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11f**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 93.7 mg (0.16 mmol, 68 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 12.85$ (s, 1 H, NH), 8.49 (dd, $^4J = 1.2$ Hz, $J_{FH} = 0.7$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^7\text{H}$), 7.92 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^4\text{H}$), 7.74 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.8$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^5\text{H}$), 6.70 (t, $^4J = 2.3$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Benz}^4\text{H}$), 6.64 (d, $^4J = 2.3$ Hz, 2 H, $\text{C}_{Benz}^{2/6}\text{H}$), 4.15 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C=O}$), 3.78 (s, 6 H, $\text{C}^{3/5}\text{-OCH}_3$), 3.29 (t, $^3J = 8.3$ Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 3.08 (t, $^3J = 8.3$ Hz, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 167.7$ ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 161.1 ($C_{\text{Phen}}^{3/5}$), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.4 (C_{Pyrn}^6), 158.6 (C_{Pyrn}^2), 156.7 (C_{Pyrn}^4), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 137.0 (C_{Phen}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 272.4$ Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3.9$ Hz, C_{Bnth}^5 H), 121.0 (C_{Bnth}^4 H), 120.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 4.1$ Hz, C_{Bnth}^7 H), 119.9 (C_{Pyrn}^5), 107.1 ($C_{\text{Phen}}^{2/6}$ H), 101.7 (C_{Phen}^4 H), 55.7 ($\text{C}^{3/5}\text{-OCH}_3$), 37.1 (SCH_2CH_2), 36.1 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 28.5 (SCH_2CH_2) ppm.

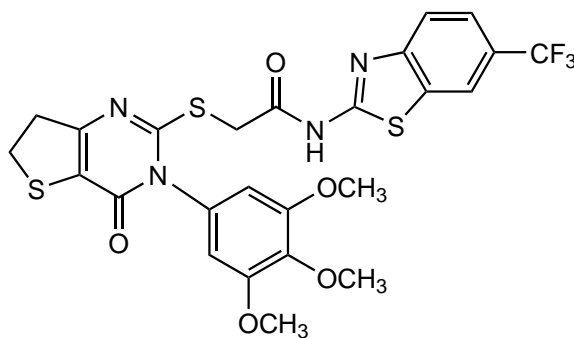
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 581.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (3): $t_R = 11.2$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3096, 2940, 2835, 1684, 1610, 1574, 1553, 1466, 1321, 1277, 1206, 1153, 1109, 922, 837, 727, 677$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 226 °C.

2-((4-Oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (11g)



$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_3$ (M_r 610.64)

11g wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (101 mg, 0.34 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23g** (116 mg, 0.33 mmol) in DMF (3 mL) mit TEA (130 μL , 0.94 mmol). Bei der Extraktion mit EE fiel ein blassgelber Feststoff aus. Es wurde stattdessen mit DCM extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt mit EE gewaschen. 2-((4-Oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11g**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 115 mg (0.19 mmol, 57 %).

Aufgrund der schlechten Löslichkeit konnte kein NMR gemessen werden.

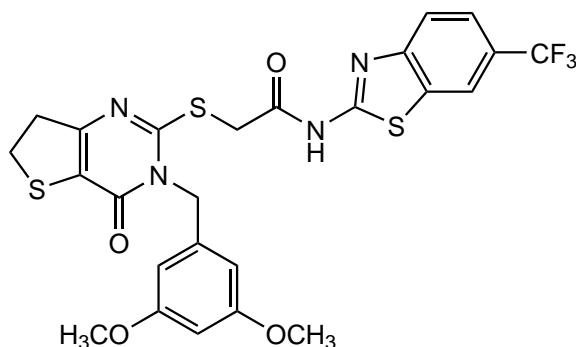
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 611.0$ $[M+H]^+$.

HPLC (3): $t_R = 10.2$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2992, 2943, 1707, 1692, 1599, 1568, 1545, 1505, 1477, 1420, 1321, 1279, 1234, 1157, 1128, 1107, 1084, 997, 760, 824, 716$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 287 °C.

2-((3-(3,5-Dimethoxybenzyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (11h)



$\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_3$ (M_r 594.64)

11h wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (100 mg, 0.34 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23h** (104 mg, 0.31 mmol) in DMF (3 mL) mit TEA (130 μL , 0.94 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). Es wurde zusätzlich aus EtOH umkristallisiert. 2-((3-(3,5-Dimethoxybenzyl)-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11h**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 87.4 mg (0.15 mmol, 48 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 12.91$ (s, 1 H, NH), 8.49 (bs, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^7\text{H}$),

7.92 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.74 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 6.45 (t, $^4J = 2.2$ Hz, 1 H, C_{Benz}^4H), 6.39 (t, $^4J = 2.1$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 5.19 (s, 2 H, N-CH₂), 4.28 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.74 (s, 6 H, C^{3/5}-OCH₃), 3.27 (t, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.04 (t, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 167.5$ (CH₂C=O), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.6 (C_{Benz}^3), 160.4 (C_{Pyrn}^6), 158.0 (C_{Pyrn}^2), 157.0 (C_{Pyrn}^4), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 137.1 (C_{Benz}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.5 (d, $^1J_{CF} = 271.7$ Hz, CF₃), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 122.9 (d, $^3J_{CF} = 4.9$ Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 119.9 (d, $^3J_{CF} = 4.6$ Hz, C_{Bnth}^7H), 119.3 (C_{Pyrn}^5), 105.1 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 98.8 (C_{Benz}^4H), 55.2 (C^{3/5}-OCH₃), 47.0 (N-CH₂), 36.9 (SCH₂CH₂), 35.9 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂CH₂) ppm.

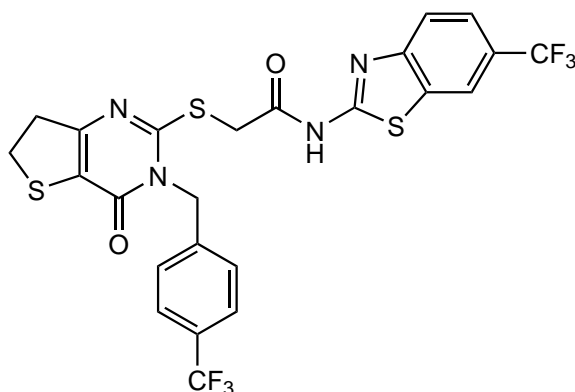
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 595.0$ [M+H]⁺.

HPLC (3): $t_R = 10.6$ min, 99 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3277, 2986, 2837, 1684, 1599, 1545, 1477, 1360, 1321, 1283, 1244, 1206, 1153, 1099, 1082, 843, 764$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 143 °C.

2-((4-Oxo-3-(4-(trifluormethyl)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (11i)



C₂₄H₁₆F₆N₄O₂S₃ (M_r 602.59)

11i wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker 28 (104 mg, 0.35 mmol) und

dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23i** (114 mg, 0.33 mmol) in DMF (4 mL) mit TEA (140 μ L, 1.90 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE). 2-((4-Oxo-3-(4-(trifluormethyl)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11i**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 155 mg (0.26 mmol, 78 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.92 (s, 1 H, NH), 8.49 (dd, ⁴*J* = 1.2 Hz, *J*_{FH} = 0.7 Hz, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.76-7.72 (m, 3 H, C⁵_{Bnth}H, C^{3/5}_{Benz}H), 7.48 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 2 H, C^{2/6}_{Benz}H), 5.37 (s, 2 H, N-CH₂), 4.28 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.28 (t, ³*J* = 8.5 Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.06 (t, ³*J* = 8.3 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.3 (CH₂C=O), 161.0 (C²_{Bnth}), 160.6 (C⁶_{Pyrn}), 157.8 (C²_{Pyrn}), 157.0 (C⁴_{Pyrn}), 151.3 (C^{3a}_{Bnth}), 139.7 (C¹_{Benz}), 131.9 (C^{7a}_{Bnth}), 128.2 (d, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C⁴_{Benz}), 127.6 (C^{2/6}_{Benz}H), 125.6 (q, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, C^{3/5}_{Benz}H), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 272.3 Hz, C⁶_{Bnth}-CF₃), 124.1 (d, ¹*J*_{CF} = 272.9 Hz, C⁴_{Benz}-CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C⁶_{Bnth}), 122.9 (d, ³*J*_{CF} = 3.2 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.0 (C⁴_{Bnth}H), 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 3.3 Hz, C⁷_{Bnth}H), 119.5 (C⁵_{Pyrn}), 46.8 (N-CH₂), 36.9 (SCH₂CH₂), 36.0 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂CH₂) ppm.

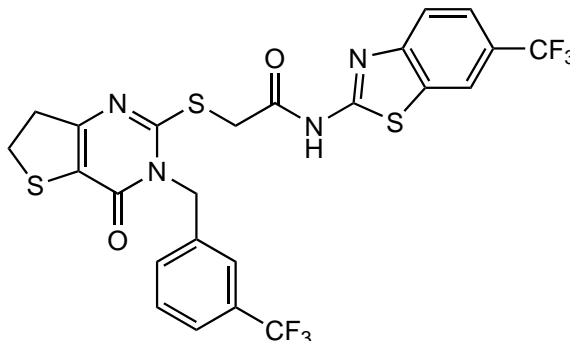
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 602.9 [M+H]⁺.

HPLC (3): *t*_R = 11.0 min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2912, 1709, 1670, 1570, 1553, 1543, 1479, 1317, 1283, 1175, 1165, 1134, 1109, 1082, 1067, 1049, 829, 673, 656 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 212 °C.

2-((4-Oxo-3-(3-(trifluormethyl)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (11j)



$C_{24}H_{16}F_6N_4O_2S_3$ (M_r 602.59)

11j wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (86.6 mg, 0.29 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23j** (103 mg, 0.30 mmol) in DMF (5 mL) mit TEA (120 μ L, 1.62 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE). Anschließend wurde aus EE umkristallisiert und mit EtOH gewaschen. 2-((4-Oxo-3-(3-(trifluormethyl)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11j**) wurde nach dem Trocknen als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 135 mg (0.22 mmol, 76 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.91 (s, 1 H, NH), 8.49 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.76-7.68 (m, 3 H, C_{Bnth}^5H , C_{Benz}^2H , C_{Benz}^4H), 7.62 (t, 3J = 7.6 Hz, 1 H, C_{Benz}^5H), 7.53 (d, 3J = 7.7 Hz, 1 H, C_{Benz}^6H), 5.36 (s, 2 H, N- CH_2), 4.30 (s, 2 H, $CH_2C=O$), 3.28 (t, 3J = 8.3 Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 3.05 (t, 3J = 8.3 Hz, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.3 ($CH_2C=O$), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.6 (C_{Pyrn}^6), 157.8 (C_{Pyrn}^2), 157.1 (C_{Pyrn}^4), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 136.4 (C_{Benz}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 130.9 (C_{Benz}^6H), 129.8 (C_{Benz}^5H), 129.3 (d, $^2J_{CF}$ = 31.8 Hz, C_{Benz}^3), 124.5 (d, $^1J_{CF}$ = 272.3 Hz, $C_{Bnth}^6-CF_3$), 124.5 (d, $^3J_{CF}$ = 3.4 Hz, C_{Benz}^2H), 124.0 (d, $^1J_{CF}$ = 272.9 Hz, $C_{Benz}^4-CF_3$), 124.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.2 Hz, C_{Benz}^4H), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.2 Hz, C_{Bnth}^6), 122.9 (d, $^3J_{CF}$ = 4.4 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 119.9 (d, $^3J_{CF}$ = 4.3 Hz, C_{Bnth}^7H), 119.5 (C_{Pyrn}^5),

46.8 (N-CH₂), 36.9 (SCH₂CH₂), 36.0 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂CH₂) ppm.

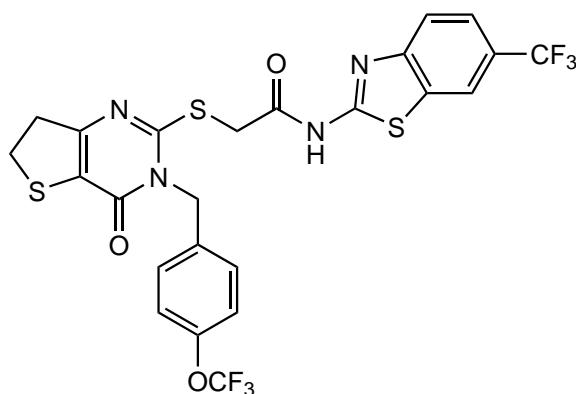
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 602.9$ [M+H]⁺.

HPLC (**3**): $t_R = 10.2$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2967, 1682, 1574, 1553, 1472, 1344, 1331, 1321, 1283, 1165, 1157, 1112, 1086, 1074, 916, 837, 829, 797, 700, 673, 660$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 223 °C.

2-((4-Oxo-3-(4-(trifluormethoxy)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11k**)



C₂₄H₁₆F₆N₄O₃S₃ (M_r 618.59)

11k wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (72.1 mg, 0.25 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **23k** (85.0 mg, 0.24 mmol) in DMF (3 mL) mit TEA (0.1 mL, 1.35 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE). 2-((4-Oxo-3-(4-(trifluormethoxy)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**11k**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 105 mg (0.17 mmol, 72%)

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 12.92$ (s, 1 H, NH), 8.49 (dd, ⁴*J* = 1.2 Hz, *J*_{FH} = 0.7 Hz, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.74 (dd, ³*J* = 8.5 Hz,

$^4J = 1.9$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5 H), 7.43-7.35 (m, 4 H, $C_{Benz}^{2/6}$ H, $C_{Benz}^{3/5}$ H), 5.29 (s, 2 H, N-CH₂), 4.28 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.27 (t, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.04 (t, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 167.4$ (CH₂C=O), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.5 (C_{Pyrn}^6), 157.8 (C_{Pyrn}^2), 157.0 (C_{Pyrn}^4), 151.4 (C_{Bnth}^{3a}), 147.7 (C_{Benz}^4), 134.4 (C_{Benz}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 129.0 ($C_{Benz}^{2/6}$ H), 124.5 (d, $^1J_{CF} = 272.0$ Hz, C_{Bnth}^6 -CF₃), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 4.4$ Hz, C_{Bnth}^5 H), 121.3 ($C_{Benz}^{3/5}$ H), 121.0 (C_{Bnth}^4 H), 120.0 (d, $^1J_{CF} = 256.4$ Hz, C_{Benz}^4 O-CF₃), 119.9 (d, $^3J_{CF} = 4.4$ Hz, C_{Bnth}^7 H), 119.5 (C_{Pyrn}^5), 46.6 (N-CH₂), 36.9 (SCH₂CH₂), 36.0 (CH₂C=O), 28.4 (SCH₂-CH₂) ppm.

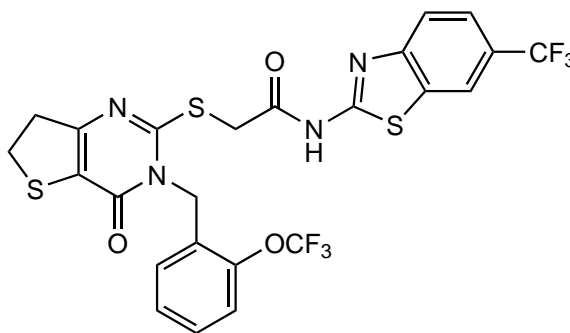
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 619.0$ [M+H]⁺.

HPLC (**3**): $t_R = 11.1$ min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2903, 1707, 1672, 1570, 1549, 1506, 1481, 1317, 1282, 1265, 1225, 1161, 1132, 1111, 1082, 891, 829, 775, 673$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 219 °C.

2-((4-Oxo-3-(2-(trifluormethoxy)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**111**)



C₂₄H₁₆F₆N₄O₃S₃ (M_r 618.59)

111 wurde erhalten ausgehend von dem Benzothiazol-Linker **28** (103 mg, 0.35 mmol) und dem Tetrahydrothienopyrimidinon-Derivat **231** (120 mg, 0.33 mmol) in DMF (3.5 mL) mit TEA (140 μ L, 1.01 mmol). Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie

(30 % EE/PE). 2-((4-Oxo-3-(2-(trifluormethoxy)benzyl)-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**111**) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 177 mg (0.29 mmol, 86%)

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.90 (s, 1 H, NH), 8.49 (bs, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.74 (dd, ³*J* = 8.5 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.51-7.43 (m, 2 H, C⁴_{Benz}H, C³_{Benz}H), 7.42-7.36 (s, 1 H, C⁵_{Benz}H), 6.99 (d, ³*J* = 7.2 Hz, 1 H, C⁶_{Benz}H), 5.31 (s, 2 H, N-CH₂), 4.27 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.29 (t, ³*J* = 8.6 Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 3.08 (t, ³*J* = 8.4 Hz, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.3 (CH₂C=O), 161.0 (C²_{Bnth}), 160.6 (C⁶_{Pyrn}), 157.9 (C²_{Pyrn}), 156.9 (C⁴_{Pyrn}), 151.3 (C^{3a}_{Bnth}), 146.0 (C²_{Benz}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 129.5 (C⁴_{Benz}H), 128.0 (C⁵_{Benz}H), 127.2 (C¹_{Benz}), 127.0 (C⁶_{Benz}H), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 272.0 Hz, C⁶_{Bnth}-CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 31.8 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.0 (d, ³*J*_{CF} = 3.2 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.0 (C⁴_{Bnth}H), 121.0 (C³_{Benz}H), 120.3 (d, ¹*J*_{CF} = 257.5 Hz, C²_{Benz}O-CF₃), 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 4.0 Hz, C⁷_{Bnth}H), 119.5 (C⁵_{Pyrn}), 42.1 (N-CH₂), 37.0 (SCH₂CH₂), 35.9 (CH₂C=O), 28.5 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 619.0 [M+H]⁺.

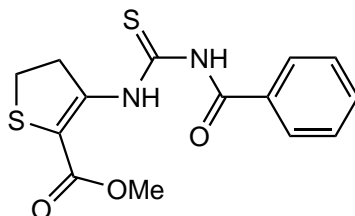
HPLC⁴: *t*_R = 11.1 min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2978, 1703, 1696, 1574, 1539, 1477, 1418, 1369, 1319, 1275, 1244, 1217, 1167, 1134, 1109, 1082, 893, 822, 762, 718, 669 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 196 °C.

8.3.1.4. Alternativer Syntheseweg zur Darstellung der Zielverbindungen der Serie 1

Methyl-3-(3-benzoylthioureido)-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**35**)



$C_{14}H_{14}N_2O_3S_2$ (M_r 322.40)

Methode A: Benzoylchlorid (**34**, 150 μ L, 1.29 mmol) wurde in eine Lösung aus Ammoniumthiocyanat (129 mg, 1.69 mmol) in Aceton (5 mL) getropft und das Reaktionsgemisch auf 75 °C erhitzt. Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**, 165 mg, 1.04 mmol) wurde in Aceton (8 mL) gelöst und zu dem heißen Reaktionsgemisch gegeben. Es wurde für 2 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend heiß filtriert. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und das Rohprodukt aus EtOH umkristallisiert. Methyl-3-(3-benzoylthioureido)-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**35**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Methode B: Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**, 507 mg, 3.18 mmol) wurde unter Stickstoffatmosphäre in abs. Toluol (8 mL) gelöst und tropfenweise mit Benzoylisothiocyanat (**38**, 450 μ L, 3.35 mmol) versetzt. Es wurde für 4 h bei 130 °C gerührt und anschließend abkühlen gelassen. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und das Rohprodukt aus EtOH umkristallisiert. Methyl-3-(3-benzoylthioureido)-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**35**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute Methode A: 172 mg (0.53 mmol, 53 %).

Ausbeute Methode B: 576 mg (1.79 mmol, 60 %).

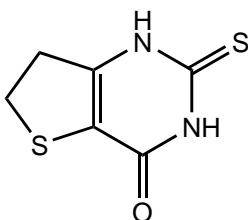
$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 13.59 (s, 1 H, O=C-NH), 9.00 (s, 1 H, S=C-NH), 7.86-7.83 (m, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 7.57 (m_c , 1 H, C_{Benz}^4H), 7.48-7.42 (m, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}H$), 3.87 (t, 3J = 8.6 Hz, 2 H, S- CH_2CH_2), 3.80 (s, 3 H, OCH₃), 3.16 (t, 3J = 8.6 Hz, 2 H, S- CH_2CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 176.7$ ($\text{C}=\text{S}$), 165.4 ($\text{C}=\text{O-NH}$), 163.9 ($\text{C}=\text{O-OCH}_3$), 144.0 ($\text{S-C-C}=\text{O}$), 133.7 ($\text{C}_{\text{Benz}}^4\text{H}$), 131.5 (C_{Benz}^1), 129.1 ($\text{C}_{\text{Benz}}^{3/5}\text{H}$), 127.7 ($\text{C}_{\text{Benz}}^{2/6}\text{H}$), 116.1 (NH-CCH_2), 52.5 (OCH_3), 38.0 ($\text{S-CH}_2\text{CH}_2$), 29.4 ($\text{S-CH}_2\text{CH}_2$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 323.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (1): $t_R = 5.9$ min.

2-Thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**36**)



$\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{OS}_2$ (M_r 186.25)

Methode A: Zu einer heißen Lösung aus KOH (84.5 mg, 1.51 mmol) in abs. EtOH (4 mL) wurde unter Feuchtigkeitsausschluss (CaCl_2 -Rohr) Methyl-3-(3-benzoylthioureido)-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**35**, 170 mg, 0.53 mmol) gegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 100 °C unter Rückfluss erhitzt. Das Salz wurde abfiltriert, mit EtOH gewaschen und in deion. Wasser aufgenommen. Es wurden 1.5 mL konz. HCl zugegeben und für 30 min bei RT gerührt. Das Produkt wurde abfiltriert und i. Vak. getrocknet. 2-Thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**36**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Methode B: Zu einer heißen Lösung aus KOH (407 mg, 7.25 mmol) in abs. EtOH (20 mL) wurde unter Feuchtigkeitsausschluss (CaCl_2 -Rohr) **35** (1.15 g, 6.16 mmol) gegeben und das Reaktionsgemisch für 4 h bei 105 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktion wurde deion. Wasser (15 mL) zugegeben und mit konz. HCl neutralisiert. Das ausgefallene Produkt wurde abfiltriert und i. Vak. getrocknet. 2-Thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**36**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute Methode A: 20.0 mg (0.11 mmol, 20 %).

Ausbeute Methode B: 531 mg (2.85 mmol, 80 %).

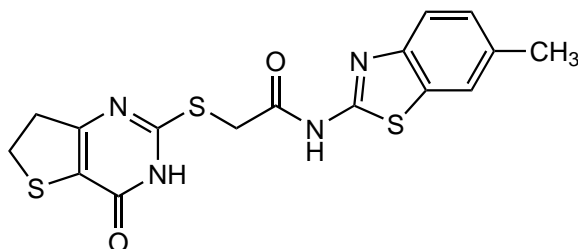
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.84 (s, 1 H, N¹_{Pyrrn}H), 12.49 (s, 1 H, N³_{Pyrrn}H), 3.33 (m_c, 2 H, S-CH₂CH₂), 3.15 (t, ³J = 8.2 Hz, 2 H, S-CH₂CH₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 173.6 (C²_{Pyrrn}), 157.0 (C⁴_{Pyrrn}), 150.1 (C⁶_{Pyrrn}), 114.7 (C⁵_{Pyrrn}), 34.3 (S-CH₂CH₂), 28.8 (S-CH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 370.9 [2M-H₂+H]⁺, 187.0 [M+H]⁺.

HPLC (1): t_R = 2.8 min.

***N*-(6-Methylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)acetamid (37)**



C₁₆H₁₄N₄O₂S₃ (M_r 390.49)

Zu einer Lösung aus Kaliumcarbonat (70.0 mg, 0.51 mmol) in DMF (3 mL) wurde 2-Thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**36**, 93.3 mg, 0.50 mmol) bei RT gegeben. Es wurde für 10 min gerührt und anschließend der Benzothiazol-Linker **26** (121 mg, 0.50 mmol) in DMF (2 mL) langsam zugetropft. Es wurde 1 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde mit deion Wasser (20 mL) versetzt und dreimal mit EE (je 50 mL) extrahiert. Aus der wässr. Phase ist ein farbloser Feststoff ausgefallen, der abfiltriert und i. Vak. getrocknet wurde. Die org. Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Gradient EE/PE).

Ausbeute: 118 mg (0.30 mmol, 60 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.96$ (bs, 1 H, $\text{N}^3_{\text{Pyrn}}\text{H}$), 12.60 (bs, 1 H, $\text{O}=\text{C-NH}$), 7.76 (bs, 1 H, $\text{C}^7_{\text{Bnth}}\text{H}$), 7.63 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1 H, $\text{C}^4_{\text{Bnth}}\text{H}$), 7.25 (dd, $^3J = 8.3$ Hz, $^4J = 1.2$ Hz, 1 H, $\text{C}^5_{\text{Bnth}}\text{H}$), 4.20 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 3.23 (t, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, $\text{S-CH}_2\text{CH}_2$), 3.05 (t, $^3J = 8.5$ Hz, 2 H, $\text{S-CH}_2\text{CH}_2$), 2.40 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 167.2$ ($\text{CH}_2\text{-C}=\text{O}$), 157.0 (C^2_{Pyrn}), 146.5 ($\text{C}^{3a}_{\text{Pyrn}}$), 133.1 (C^6_{Bnth}), 131.6 ($\text{C}^{7a}_{\text{Bnth}}\text{H}$), 120.3 (C^4_{Bnth}), 36.9 ($\text{S-CH}_2\text{CH}_2$), 34.1 ($\text{CH}_2\text{-C}=\text{O}$), 28.0 ($\text{S-CH}_2\text{CH}_2$), 21.0 (CH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 390.9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

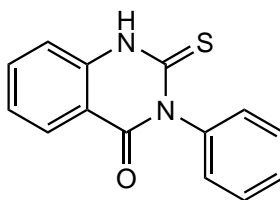
HPLC (1): $t_R = 5.8$ min.

8.3.2. Serie 2

8.3.2.1. Synthese der 2-Thioxo-dihydrochinazolinon-Derivate

Allgemeine Synthesevorschrift

Eine Mischung aus Anthranilsäure (**42**) und dem entsprechenden Isothiocyanat wurde unter Wasserausschluss (CaCl₂-Rohr) in abs. EtOH gelöst und mit TEA versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 2 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend heiß filtriert. Die Mutterlauge wurde i. Vak. eingengt und das Rohprodukt aus EtOH umkristallisiert.

3-Phenyl-2-thioxo-2,3-dihydrochinazolin-4(1H)-on (**41a**)

C₁₄H₁₀N₂OS (M_r 254.31)

107 wurde erhalten ausgehend von Anthranilsäure (**42**, 686 mg, 5.00 mmol) mit Phenylisothiocyanat (**22a**, 600 μ L, 5.02 mmol) und TEA (760 μ L, 5.48 mmol) in abs. EtOH (15 mL). 3-Phenyl-2-thioxo-2,3-dihydrochinazolin-4(1H)-on (**41a**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1.17 g (4.59 mmol, 92 %).

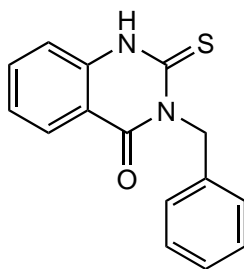
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.03 (s, 1 H, NH), 7.95 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.2 Hz, 1 H, C⁵_{Chin}H), 7.78 (m_c, 1 H, C⁷_{Chin}H), 7.51-7.40 (m, 4 H, C⁸_{Chin}H, C^{2/6}_{Phen}H, C⁴_{Phen}H), 7.34 (t, ³J = 7.6 Hz, 1 H, C⁶_{Chin}H), 7.29-7.26 (m, 2 H, C^{3/5}_{Phen}H) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 176.1 (C²_{Chin}), 159.8 (C⁴_{Chin}), 139.6 (C^{8a}_{Chin}), 139.3 (C¹_{Phen}), 135.6 (C⁷_{Chin}H), 129.0 (C^{3/5}_{Phen}H), 128.9 (C^{2/6}_{Phen}H), 128.1 (C⁴_{Phen}H), 127.4 (C⁵_{Chin}H), 124.3 (C⁶_{Chin}H), 116.2 (C^{4a}_{Chin}), 115.7 (C⁸_{Chin}H) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 254.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (1): $t_R = 3.8$ min.

3-Benzyl-2-thioxo-2,3-dihydrochinazolin-4(1H)-on (41b)



$C_{15}H_{12}N_2OS$ (M_r 268.33)

108 wurde erhalten ausgehend von Anthranilsäure (**42**, 688 mg, 5.02 mmol) mit Benzylisothiocyanat (**22b**, 670 μ L, 5.05 mmol) und TEA (760 μ L, 5.48 mmol) in abs. EtOH (15 mL). 3-Benzyl-2-thioxo-2,3-dihydrochinazolin-4(1H)-on (**41b**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1.25 g (4.67 mmol, 93 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 13.06$ (s, 1 H, NH), 7.95 (dd, $^3J = 8.0$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Chin}^5H), 7.78 (ddd, $^3J = 8.3$ Hz, $^3J = 7.2$ Hz, 1 H, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Chin}^7H), 7.42 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1 H, C_{Chin}^8H), 7.36-7.19 (m, 6 H, C_{Chin}^6H , $C_{Benz}^{2/6}H$, C_{Benz}^4H , $C_{Benz}^{3/5}H$), 5.67 (s, 2 H, CH_2) ppm.

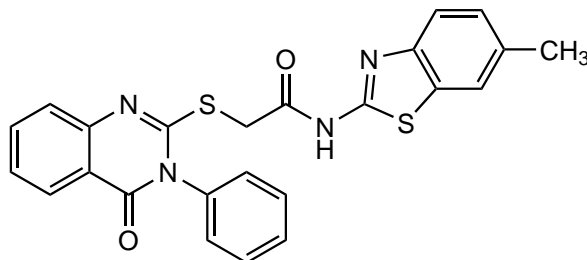
^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 175.5$ (C_{Chin}^2), 159.4 (C_{Chin}^4), 139.1 (C_{Chin}^{8a}), 136.6 (C_{Benz}^1), 135.6 (C_{Chin}^7H), 128.2 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 127.3 (C_{Chin}^5H), 127.1 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 126.9 (C_{Benz}^4H), 124.6 (C_{Chin}^6H), 115.7 (C_{Chin}^{4a}), 115.4 (C_{Chin}^8H) 48.8 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 268.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 7.1$ min.

8.3.2.2. Synthese der Zielverbindungen der Serie 2

N-(6-Methylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3-phenyl-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)thio)acetamid (**12a**)



$C_{24}H_{18}N_4O_2S_2$ (M_r 458.55)

109 wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiatol-Linker **26** (126 mg, 0.52 mmol) und das Chinazolin-Derivat **41a** (132 mg, 0.52 mmol) wurden zusammen mit TEA (208 μ L, 1.50 mmol) in abs. DMF (5 mL) erhitzt. Beim Quenchen mit deion. Wasser fiel ein farbloser Feststoff aus, der abfiltriert und i. Vak. getrocknet wurde.

Ausbeute: 208 mg (0.45 mmol, 87 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 12.36 (s, 1 H, NH), 8.06 (dd, 3J = 8.2 Hz, 4J = 1.5 Hz, 1 H, $C_{\text{Chin}}^5\text{H}$), 7.79-7.73 (m, 2 H, $C_{\text{Chin}}^7\text{H}$, $C_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 7.66 (d, 3J = 8.2 Hz, 1 H, $C_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 7.62-7.59 (m, 3 H, $C_{\text{Phen}}^4\text{H}$, $C_{\text{Phen}}^{3/5}\text{H}$), 7.54-7.50 (m, 2 H, $C_{\text{Phen}}^{2/6}\text{H}$), 7.46-7.41 (m, 2 H, $C_{\text{Chin}}^6\text{H}$, $C_{\text{Chin}}^8\text{H}$), 7.25 (dd, 3J = 8.2 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1 H, $C_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 4.21 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C=O}$), 2.40 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 167.3 ($\text{CH}_2\text{C=O}$), 160.5 (C_{Chin}^4), 157.1 (C_{Bnth}^2), 156.6 (C_{Chin}^2), 147.0 (C_{Chin}^{8a}), 146.5 (C_{Bnth}^{3a}), 135.7 (C_{Phen}^1), 134.9 ($C_{\text{Chin}}^7\text{H}$), 133.0 (C_{Bnth}^6), 131.6 (C_{Bnth}^{7a}), 130.0 ($C_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 129.6 ($C_{\text{Phen}}^{3/5}\text{H}$), 129.4 ($C_{\text{Phen}}^{2/6}\text{H}$), 127.4 ($C_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 126.6 ($C_{\text{Chin}}^5\text{H}$), 126.1 ($C_{\text{Chin}}^6\text{H}$), 125.7 ($C_{\text{Chin}}^8\text{H}$), 121.3 ($C_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 120.2 ($C_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 119.5 (C_{Chin}^{4a}), 36.0 ($\text{CH}_2\text{C=O}$), 20.9 (CH_3) ppm.

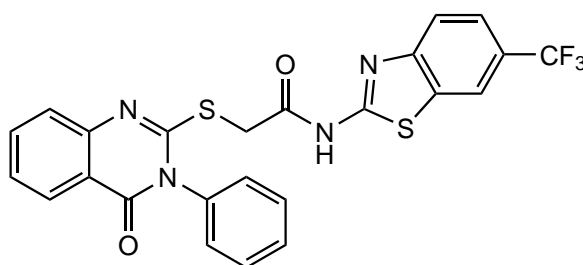
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 459.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (3): t_R = 10.2 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3491, 3059, 2982, 2914, 1684, 1663, 1574, 1551, 1472, 1319, 1306, 1261, 1209, 1150, 969, 808, 772, 756, 692 \text{ cm}^{-1}$.

Schmelzpunkt: 143 °C.

***N*-(6-Trifluormethylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3-phenyl-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)thio)acetamid (13a)**



$\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ (M_r 512.53)

110 wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (275 mg, 0.93 mmol) und das Chinazolin-Derivat **41a** (228 mg, 0.90 mmol) wurden zusammen mit TEA (370 μL , 2.67 mmol) in abs. DMF (9 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde aus EtOH umkristallisiert. *N*-(6-Trifluormethylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3-phenyl-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)thio)acetamid (**13a**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 405 mg (0.79 mmol, 88 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 13.00$ (s, 1 H, NH), 8.48 (dd, $^4J = 1.2$ Hz, $J_{FH} = 0.7$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 8.06 (mc, 1 H, $\text{C}_{\text{Chin}}^5\text{H}$), 7.96 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 7.78-7.72 (m, 2 H, $\text{C}_{\text{Chin}}^7\text{H}$, $\text{C}_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 7.64-7.59 (m, 3 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^4\text{H}$, $\text{C}_{\text{Phen}}^{3/5}\text{H}$), 7.55-7.51 (m, 2 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^{2/6}\text{H}$), 7.46-7.40 (m, 2 H, $\text{C}_{\text{Chin}}^6\text{H}$, $\text{C}_{\text{Chin}}^8\text{H}$), 4.25 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 168.0$ ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 161.2 (C_{Bnth}^2), 160.6 (C_{Chin}^4), 156.6 (C_{Chin}^2), 151.4 ($\text{C}_{\text{Bnth}}^{3a}$), 147.0 ($\text{C}_{\text{Chin}}^{8a}$), 135.7 (C_{Phen}^1), 134.9 ($\text{C}_{\text{Chin}}^7\text{H}$), 132.0 ($\text{C}_{\text{Bnth}}^{7a}$), 130.1 ($\text{C}_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 129.6 ($\text{C}_{\text{Phen}}^{3/5}\text{H}$), 129.4 ($\text{C}_{\text{Phen}}^{2/6}\text{H}$), 126.6 ($\text{C}_{\text{Chin}}^5\text{H}$), 126.1 ($\text{C}_{\text{Chin}}^6\text{H}$), 125.7 ($\text{C}_{\text{Chin}}^8\text{H}$), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF_3), 123.7 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.7$ Hz, $\text{C}_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 121.0 ($\text{C}_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 119.9 (d, $^3J_{CF} = 4.1$ Hz,

C_{Bnth}^7 H), 119.5 (C_{Chin}^{4a}), 36.1 ($CH_2C=O$) ppm.

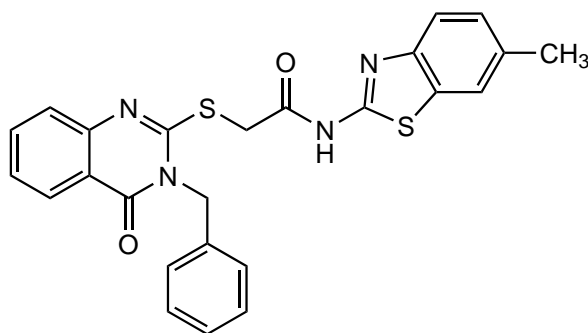
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 513.0$ [M+H]⁺.

HPLC (1): $t_R = 5.7$ min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3457, 2980, 2913, 1667, 1607, 1572, 1545, 1470, 1317, 1298, 1279, 1263, 1240, 1157, 1111, 1084, 972, 881, 825, 772, 762, 696, 692, 675$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 142 °C.

N-(6-Methylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3-benzyl-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)thio)acetamid (**12b**)



$C_{25}H_{20}N_4O_2S_2$ (M_r 472.58)

111 wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **26** (127 mg, 0.53 mmol) und das Chinazolin-Derivat **41b** (134 mg, 0.50 mmol) wurden zusammen mit TEA (208 μ L, 1.50 mmol) in abs. DMF (5 mL) erhitzt. Beim Quenchen mit deion. Wasser fiel ein hellbrauner Feststoff aus, der abfiltriert und i. Vak. getrocknet wurde.

Ausbeute: 223 mg (0.47 mmol, 94 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 12.70$ (s, 1 H, NH), 8.08 (dd, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz, 1 H, C_{Chin}^5 H), 7.75-7.70 (m, 2 H, C_{Chin}^7 H, C_{Bnth}^7 H), 7.66 (d, ³*J* = 8.1 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4 H), 7.45-7.23 (m, 8 H, C_{Phen}^4 H, $C_{Phen}^{3/5}$ H, $C_{Phen}^{2/6}$ H, C_{Chin}^6 H, C_{Chin}^8 H, C_{Bnth}^5 H), 5.53 (s, 2 H, N-CH₂), 4.32 (s, 2 H, CH₂C=O), 2.38 (s, 3 H, CH₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 167.1$ ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 160.7 (C_{Chin}^4), 157.1 (C_{Bnth}^2), 156.2 (C_{Chin}^2), 146.6 (C_{Chin}^{8a}), 146.5 (C_{Bnth}^{3a}), 135.5 (C_{Benz}^1), 134.9 ($C_{\text{Chin}}^7\text{H}$), 133.0 (C_{Bnth}^6), 131.6 (C_{Bnth}^{7a}), 128.6 ($C_{\text{Benz}}^{3/5}\text{H}$), 127.5 ($C_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 127.4 ($C_{\text{Benz}}^4\text{H}$), 126.9 ($C_{\text{Benz}}^{2/6}\text{H}$), 126.6 ($C_{\text{Chin}}^5\text{H}$), 126.2 ($C_{\text{Chin}}^6\text{H}$), 125.6 ($C_{\text{Chin}}^8\text{H}$), 121.3 ($C_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 120.2 ($C_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 118.7 (C_{Chin}^{4a}), 35.9 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 20.9 (CH_3) ppm.

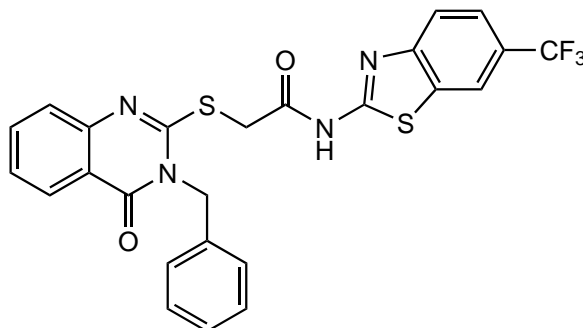
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 473.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (3): $t_R = 10.6$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3310, 1672, 1609, 1551, 1472, 1456, 1437, 1352, 1335, 1315, 1254, 1163, 1153, 962, 812, 770, 716, 694, 637$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 209 °C.

N-(6-Trifluormethylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3-benzyl-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)thio)acetamid (**13b**)



$\text{C}_{25}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ (M_r 526.55)

112 wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (127 mg, 0.43 mmol) und das Chinazolin-Derivat **41b** (112 mg, 0.42 mmol) wurden zusammen mit TEA (0.2 mL, 1.44 mmol) in abs. DMF (4 mL) erhitzt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE). *N*-(6-Trifluormethylbenzo[*d*]thiazol-2-yl)-2-((4-oxo-3-benzyl-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)thio)acetamid (**13b**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 193 mg (0.37 mmol, 88 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.05 (s, 1 H, NH), 8.48 (bs, C⁷_{Bnth}H), 8.08 (dd, ³*J* = 8.0 Hz, ⁴*J* = 1.2 Hz, 1 H, C⁵_{Chin}H), 7.95 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.76-7.69 (m, 2 H, C⁷_{Chin}H, C⁵_{Bnth}H), 7.45-7.39 (m, 1 H, C⁶_{Chin}H), 7.39-7.28 (m, 6 H, C^{2/6}_{Benz}H, C⁴_{Benz}H, C^{3/5}_{Benz}H, C⁸_{Chin}H), 5.36 (s, 2 H, N-CH₂), 4.25 (s, 2 H, CH₂C=O) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.9 (CH₂C=O), 161.2 (C²_{Bnth}), 160.8 (C⁴_{Chin}), 156.2 (C²_{Chin}), 151.4 (C^{3a}_{Bnth}), 146.6 (C^{8a}_{Chin}), 135.5 (C¹_{Benz}), 135.0 (C⁷_{Chin}H), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 128.6 (C^{3/5}_{Benz}H), 127.5 (C⁴_{Benz}H), 126.9 (C^{2/6}_{Benz}H), 126.7 (C⁵_{Chin}H), 126.2 (C⁶_{Chin}H), 125.6 (C⁸_{Chin}H), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 271.9 Hz, CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 32.0 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.0 (d, ³*J*_{CF} = 3.9 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.1 (C⁴_{Bnth}H), 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 4.5 Hz, C⁷_{Bnth}H), 118.7 (C^{4a}_{Chin}), 47.1 (N-CH₂), 35.9 (CH₂C=O) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 527.0 [M+H]⁺.

HPLC (3): *t*_R = 11.3 min, 99 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3321, 1680, 1670, 1608, 1578, 1549, 1537, 1472, 1329, 1283, 1265, 1246, 1163, 1146, 1121, 1086, 962, 893, 827, 772, 714, 692, 637 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 192 °C.

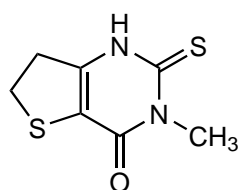
8.3.3. Serie 3

8.3.3.1. Synthese der alkylsubstituierten IWP-Derivate

Allgemeine Synthesevorschrift

Methyl-3-amino-4,5-dihydrothiophen-2-carboxylat (**21**) und die entsprechenden aliphatischen Isothiocyanate wurden zusammen mit Kalium-*tert*-butanolat in DMF und *tert*-Butanol gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für 4 h bei 160 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktion wurde mit deion. Wasser gequenchet, mit 1 N HCl neutralisiert und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Das Rohprodukt wurde aus EtOH umkristallisiert.

3-Methyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**44a**)



$C_7H_8N_2OS_2$ (M_r 200.27)

44a wurde erhalten ausgehend von **21** (166 mg, 1.04 mmol), Methylisothiocyanat (**43a**, 86.0 mg, 1.18 mmol) und Kalium-*tert*-butanolat (191 mg, 1.70 mmol) in DMF (8.5 mL) und *tert*-Butanol (2.5 mL). 3-Methyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**44a**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 73.2 mg (0.37 mmol, 35 %).

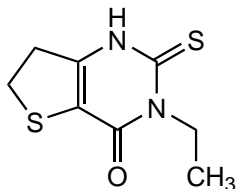
1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 13.33 (s, 1 H, NH), 3.53 (s, 3 H, CH₃), 3.37-3.31 (m, 2 H, SCH₂CH₂), 3.22-3.16 (m, 2 H, SCH₂CH₂) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 175.4 (C_{Pyrrn}^2), 156.7 (C_{Pyrrn}^4), 148.8 (C_{Pyrrn}^6), 113.6 (C_{Pyrrn}^5), 34.5 (SCH₂CH₂), 33.4 (CH₃), 28.8 (SCH₂CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 399.1 [2M-H₂+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 4.4$ min.

3-Ethyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (44b)



$C_8H_{10}N_2OS_2$ (M_r 214.30)

44b wurde erhalten ausgehend von **21** (160 mg, 1.00 mmol), Ethylisothiocyanat (**43b**, 103 μ L, 1.17 mmol) und Kalium-*tert*-butanolat (192 mg, 1.71 mmol) in DMF (8.5 mL) und *tert*-Butanol (2.5 mL). 3-Ethyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**44b**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

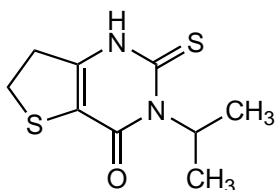
Ausbeute: 70.5 mg (0.33 mmol, 33 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 13.09$ (s, 1 H, NH), 4.32 (q, $^3J = 8.6$ Hz, 2 H, CH_2 - CH_3), 3.36-3.30 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 3.20-3.14 (m, 2 H, SCH_2CH_2), 1.16 (t, $^3J = 8.6$ Hz, 3 H, CH_2CH_3) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 173.6$ (C_{Pyrn}^2), 156.3 (C_{Pyrn}^4), 148.9 (C_{Pyrn}^6), 114.0 (C_{Pyrn}^5), 41.1 (CH_2CH_3), 34.4 (SCH_2CH_2), 28.8 (SCH_2CH_2), 11.5 (CH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 427.1$ [$2M-H_2+H$] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 7.7$ min.

3-Isopropyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (44c)

$C_9H_{12}N_2OS_2$ (M_r 228.33)

44c wurde erhalten ausgehend von **21** (242 mg, 1.52 mmol), Isopropylisothiocyanat (**43c**, 190 μ L, 1.78 mmol) und Kalium-*tert*-butanolat (282 mg, 2.51 mmol) in DMF (12.5 mL) und *tert*-Butanol (3.5 mL). 3-Isopropyl-2-thioxo-2,3,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-on (**44c**) wurde als brauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 144 mg (0.63 mmol, 41 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 13.02 (s, 1 H, NH), 5.94 (qt., 3J = 6.9 Hz, 1 H, CH(CH $_3$) $_2$), 3.33-3.28 (m, 2 H, SCH $_2$ CH $_2$), 3.18-3.12 (m, 2 H, SCH $_2$ CH $_2$), 1.16 (d, 3J = 6.9 Hz, 6 H, CH(CH $_3$) $_2$) ppm.

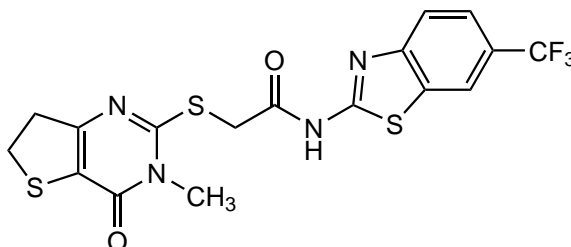
^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 174.8 (C^2_{Pyrn}), 157.0 (C^4_{Pyrn}), 148.2 (C^6_{Pyrn}), 115.3 (C^5_{Pyrn}), 53.0 (CH(CH $_3$) $_2$), 34.3 (SCH $_2$ CH $_2$), 28.7 (SCH $_2$ CH $_2$), 18.3 (CH(CH $_3$) $_2$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 455.2 [2M-H $_2$ +H] $^+$.

HPLC (2): t_R = 8.6 min.

8.3.3.2. Synthese der Zielverbindungen der Serie 3

2-((3-Methyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**14a**)



$C_{17}H_{13}F_3N_4O_2S_3$ (M_r 458.49)

14a wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (81.0 mg, 0.27 mmol) und **44a** (49.2 mg, 0.25 mmol) wurden zusammen mit TEA (0.1 mL, 0.72 mmol) in abs. DMF (3 mL) erhitzt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). Es wurde zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-Methyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**14a**) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 63.6 mg (0.14 mmol, 56 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.91 (s, 1 H, NH), 8.48 (bs, C_{Bnth}^7 H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4 H), 7.74 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 1.4 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5 H), 4.31 (s, 2 H, $CH_2C=O$), 3.45 (s, 3 H, CH_3), 3.23 (t, 3J = 8.5 Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 3.00 (t, 3J = 8.5 Hz, 2 H, SCH_2CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.6 ($CH_2C=O$), 161.0 (C_{Bnth}^2), 159.9 (C_{Pyrn}^6), 158.0 (C_{Pyrn}^2), 156.9 (C_{Pyrn}^4), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.5 (d, $^1J_{CF}$ = 271.7 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.7 Hz, C_{Bnth}^6), 122.9 (d, $^3J_{CF}$ = 3.2 Hz, C_{Bnth}^5 H), 121.0 (C_{Bnth}^4 H), 119.9 (d, $^3J_{CF}$ = 4.0 Hz, C_{Bnth}^7 H), 118.8 (C_{Pyrn}^5), 36.9 (SCH_2CH_2), 35.7 ($CH_2C=O$), 30.3 (CH_3), 28.3 (SCH_2CH_2) ppm.

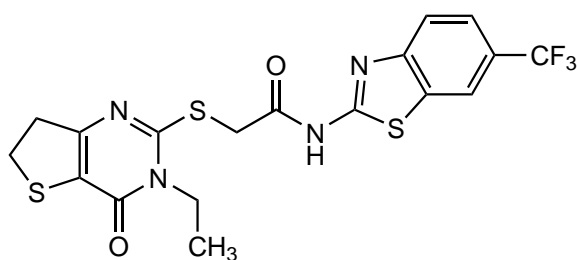
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 459.1 $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 6.9$ min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3183, 3134, 2978, 1681, 1651, 1537, 1485, 1412, 1315, 1275, 1246, 1161, 1107, 1082, 1051, 984, 885, 825, 758, 719, 677$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 136 °C.

2-((3-Ethyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (14b)



$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_3$ (M_r 472.52)

14b wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (86.0 mg, 0.29 mmol) und **44b** (55.1 mg, 0.26 mmol) wurden zusammen mit TEA (120 μL , 0.87 mmol) in abs. DMF (3 mL) erhitzt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (40 % EE/PE). Es wurde zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-Ethyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**14b**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 98.0 mg (0.21 mmol, 81 %).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 12.93$ (s, 1 H, NH), 8.48 (dd, $^4J = 1.2$ Hz, $J_{FH} = 0.6$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^7\text{H}$), 7.93 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^4\text{H}$), 7.74 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.9$ Hz, 1 H, $\text{C}_{Bnth}^5\text{H}$), 4.31 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C=O}$), 4.03 (q, $^3J = 7.1$ Hz, 2 H, CH_2CH_3), 3.23 (t, $^3J = 8.6$ Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 2.99 (t, $^3J = 8.6$ Hz, 2 H, SCH_2CH_2), 1.26 (t, $^3J = 7.1$ Hz, 3 H, CH_2CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 167.6$ ($\text{CH}_2\text{C=O}$), 161.1 (C_{Bnth}^2), 160.1 (C_{Pyrn}^6), 157.1 (C_{Pyrn}^2), 156.5 (C_{Pyrn}^4), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.5 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.3$ Hz, $\text{C}_{Bnth}^5\text{H}$),

121.0 (C_{Bnth}^4 H), 119.9 (d, $^3J_{CF} = 4.3$ Hz, C_{Bnth}^7 H), 119.3 (C_{Pyrn}^5), 39.7 (CH_2CH_3), 36.9 (SCH_2CH_2), 35.7 ($CH_2C=O$), 28.3 (SCH_2CH_2), 12.6 (CH_2CH_3) ppm.

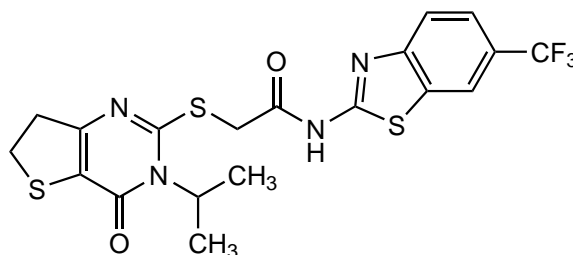
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 473.1$ [M+H]⁺.

HPLC (3): $t_R = 11.7$ min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3196, 2972, 1651, 1537, 1481, 1413, 1317, 1278, 1244, 1165, 1111, 1051, 980, 879, 814, 762, 719, 677$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 132 °C.

2-((3-Isopropyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (14c)



C₁₉H₁₇F₃N₄O₂S₃ (M_r 486.55)

14c wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (83.0 mg, 0.28 mmol) und **44c** (61.0 mg, 0.27 mmol) wurden zusammen mit TEA (0.1 mL, 0.72 mmol) in abs. DMF (3.5 mL) erhitzt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (30 % EE/PE). Es wurde zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-Isopropyl-4-oxo-3,4,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**14c**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 77.4 mg (0.16 mmol, 60 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 12.91$ (s, 1 H, NH), 8.48 (dd, $^4J = 1.3$ Hz, $J_{FH} = 0.6$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^7 H), 7.93 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4 H), 7.74 (dd, $^3J = 8.5$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5 H), 4.56 (bs, 1 H, CH(CH₃)₃), 4.26 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.20 (t, $^3J = 8.6$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 2.94 (t, $^3J = 8.4$ Hz, 2 H, SCH₂CH₂), 1.54 (d, $^3J = 6.7$ Hz,

6 H, CH(CH₃)₂) ppm.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 167.7$ (CH₂C=O), 161.1 (*C*_{Bnth}²), 159.2 (*C*_{Pyrrn}⁶), 157.4 (*C*_{Pyrrn}²), 157.2 (*C*_{Pyrrn}⁴), 151.3 (*C*_{Bnth}^{3a}), 132.0 (*C*_{Bnth}^{7a}), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 272.3 Hz, CF₃), 123.7 (d, ²*J*_{CF} = 31.8 Hz, *C*_{Bnth}⁶), 122.9 (d, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, *C*_{Bnth}⁵H), 121.0 (*C*_{Bnth}⁴H), 121.0 (*C*_{Pyrrn}⁵), 119.9 (d, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, *C*_{Bnth}⁷H), 53.8 (CH(CH₃)₂), 36.5 (SCH₂CH₂), 36.2 (CH₂C=O), 28.2 (SCH₂CH₂), 18.8 (CH(CH₃)₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 487.0 [M+H]⁺.

HPLC (**3**): *t*_R = 10.3 min, 97 %.

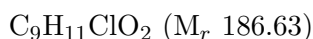
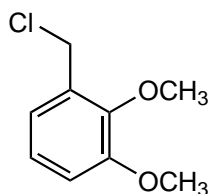
IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2976, 2941, 1697, 1680, 1570, 1537, 1487, 1449, 1414, 1317, 1275, 1246, 1161, 1115, 1082, 1051, 982, 883, 826, 764, 719, 671, 646$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 133 °C.

8.3.4. Serie 4

8.3.4.1. Synthese des Benzylchlorids 60e

2,3-Dimethoxybenzylchlorid (60e)



Zu einer Lösung aus 2,3-Dimethoxybenzylalkohol (**29b**, 1.22 g, 7.25 mmol) in Diethylether (24 mL) wurden Thionylchlorid (1.1 mL, 15.1 mmol) langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurde mit deion. Wasser (30 mL) gequenchet, dreimal mit EE extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und das Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Gradient EE/PE). 2,3-Dimethoxybenzylchlorid (**60e**) wurde als blassgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 228 mg (1.22 mmol, 17 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 7.06\text{-}6.99$ (m, 3 H, C_{Ar}^6H , C_{Ar}^4H , C_{Ar}^5H), 4.71 (bs, 2 H, CH_2), 3.81 (s, 6 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 152.4$ (C_{Ar}^3), 147.1 (C_{Ar}^2), 131.1 (C_{Ar}^1), 124.2 (C_{Ar}^5H), 122.2 (C_{Ar}^6H), 113.6 (C_{Ar}^4H), 60.6 ($\text{C}^2\text{-OCH}_3$), 55.8 ($\text{C}^3\text{-OCH}_3$), 41.4 (CH_2) ppm.

HR-MS (EI): $m/z = \text{ber.}: 186.04476$ $[\text{M}]^+$, gef.: 186.05532.

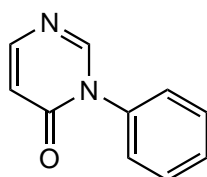
HPLC (2): $t_R = 7.1$ min.

8.3.4.2. Synthese der Phenylpyrimidinon-Derivate

Allgemeine Synthesevorschrift

Ein i. Vak. ausgeheiztes Molekularsieb (4 Å) wurde zusammen mit 4(3*H*)-Pyrimidinon (**45**), der entsprechenden Phenylboronsäure und einem Kupferkatalysator vorgelegt. Die Feststoffe wurden in DMSO gelöst und mit Pyridin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 90 °C erhitzt und über ein Röhrchen wurde Druckluft eingeleitet. Es wurde für mind. 4 h bei laufender Druckluft und 90 °C gerührt, anschließend abkühlen gelassen und abfiltriert. Das Filtrat wurde in deion. Wasser aufgenommen und dreimal mit EE extrahiert. Die verein. org. Phasen wurden je dreimal mit deion. Wasser und gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Wenn nötig wurde das Rohprodukt mittels Flash-Säulenchromatographie weiter aufgereinigt.

3-Phenylpyrimidin-4(3*H*)-on (**49a**)



C₁₀H₈N₂O (M_r 172.19)

49a wurde erhalten ausgehend von 4(3*H*)-Pyrimidinon (**45**, 193 mg, 2.01 mmol), Phenylboronsäure (**46a**, 487 mg, 3.99 mmol), Kupfer(II)-acetat (72.0 mg, 0.40 mmol) und Pyridin (330 µL, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung verwendet. 3-Phenylpyrimidin-4(3*H*)-on (**49a**) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 260 mg (1.51 mmol, 76 %).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 8.44 (bs, 1 H, C²_{Pyrrn}H), 7.99 (dd, ³J = 6.7 Hz, ⁴J = 0.5 Hz, 1 H, C⁶_{Pyrrn}H), 7.59-7.45 (m, 5 H, C_{Phen}H), 6.52 (dd, ³J = 6.7 Hz, ⁵J = 1.0 Hz, 1 H, C⁵_{Pyrrn}H) ppm.

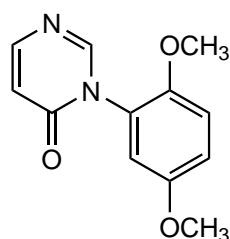
¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 159.8 (C⁴_{Pyrrn}), 153.5 (C⁶_{Pyrrn}H), 152.0 (C²_{Pyrrn}H),

137.1 (C_{Phen}^1), 129.2 ($C_{Phen}^{3/5}$ H), 128.9 (C_{Phen}^4 H), 127.1 ($C_{Phen}^{2/6}$ H), 115.6 (C_{Pyrn}^5 H) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 172.9$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 3.2$ min.

3-(2,5-Dimethoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (49b)



$C_{12}H_{12}N_2O_3$ (M_r 232.24)

49b wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 200 mg, 2.08 mmol), 2,5-Dimethoxyphenylboronsäure (**46b**, 735 mg, 4.04 mmol), Kupferbromid (77.0 mg, 0.54 mmol) und Pyridin (330 μ L, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2,5-Dimethoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (**49b**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

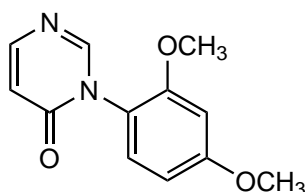
Ausbeute: 202 mg (0.87 mmol, 42 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 8.30$ (dd, $^4J = 0.6$ Hz, $^5J = 0.9$, 1 H, C_{Pyrn}^2 H), 7.96 (dd, $^3J = 6.7$ Hz, $^4J = 0.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6 H), 7.19-7.15 (m, 1 H, C_{Phen}^6 H), 7.09-7.05 (m, 2 H, C_{Phen}^3 H, C_{Phen}^4 H), 6.49 (dd, $^3J = 6.7$ Hz, $^5J = 1.0$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5 H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 159.5$ (C_{Pyrn}^4), 153.5 (C_{Pyrn}^6 H), 153.0 (C_{Phen}^2), 152.8 (C_{Pyrn}^2 H), 148.2 (C_{Phen}^5), 126.0 (C_{Phen}^1), 115.70 (C_{Pyrn}^5 H), 115.66 (C_{Phen}^3 H), 114.8 (C_{Phen}^4 H), 113.5 (C_{Phen}^6 H), 56.3 (C_{Phen}^2 -OCH₃), 55.7 (C_{Phen}^5 -OCH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 232.8$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 4.4$ min.

3-(2,4-Dimethoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (49c)

$C_{12}H_{12}N_2O_3$ (M_r 232.24)

49c wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 206 mg, 2.14 mmol), 2,4-Dimethoxyphenylboronsäure (**46c**, 732 mg, 4.02 mmol), Kupfer(I)-bromid (65.0 mg, 0.45 mmol) und Pyridin (330 μ L, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2,4-Dimethoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (**49c**) wurde als hellbrauner Feststoff erhalten.

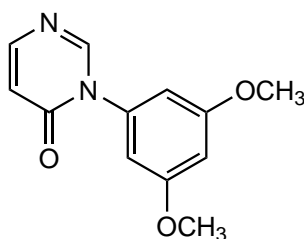
Ausbeute: 102 mg (0.44 mmol, 21 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.25 (bs, 1 H, C_{Pyrn}^2H), 7.95 (dd, 3J = 6.7 Hz, 4J = 0.4 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.27 (d, 3J = 8.6 Hz, 1 H, C_{Phen}^6H), 6.76 (d, 4J = 2.9 Hz, 1 H, C_{Phen}^3H), 6.64 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 2.6 Hz, 1 H, C_{Phen}^5H), 6.46 (dd, 3J = 6.7 Hz, 5J = 1.0 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.83 (s, 3 H, C^4-OCH_3), 3.76 (s, 3 H, C^2-OCH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 161.7 (C_{Phen}^4), 160.3 (C_{Pyrn}^4), 155.6 (C_{Phen}^2), 153.9 (C_{Pyrn}^6H), 153.8 (C_{Pyrn}^2H), 130.0 (C_{Phen}^6H), 119.1 (C_{Phen}^1), 116.1 (C_{Pyrn}^5H), 105.6 (C_{Phen}^5H), 99.8 (C_{Phen}^3H), 55.5 (C^2-OCH_3), 55.1 (C^4-OCH_3) ppm.

HR-MS (ESI): m/z = ber.: 233.09207 $[M+H]^+$, gef.: 233.09200.

HPLC (2): t_R = 4.4 min.

3-(3,5-Dimethoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (49d)

$C_{12}H_{12}N_2O_3$ (M_r 232.24)

49d wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 193 mg, 2.01 mmol), 3,5-Dimethoxyphenylboronsäure (**46d**, 727 mg, 3.99 mmol), Kupfer(I)-bromid (60.0 mg, 0.42 mmol) und Pyridin (330 μ L, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(3,5-Dimethoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (**49d**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

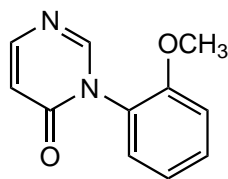
Ausbeute: 381 mg (1.64 mmol, 82 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.41 (bs, 1 H, C_{Pyrn}^2H), 7.98 (dd, $^3J = 6.7$ Hz, $^4J = 0.5$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 6.67 (d, $^4J = 2.2$ Hz, 2 H, $C_{Phen}^{2/6}H$), 6.64 (t, $^4J = 2.2$ Hz, 1 H, C_{Phen}^4H), 6.50 (dd, $^3J = 6.7$ Hz, $^5J = 1.0$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.78 (s, 6 H, OCH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 161.1 ($C_{Phen}^{3/5}$), 160.1 (C_{Pyrn}^4), 153.9 (C_{Pyrn}^6H), 152.4 (C_{Pyrn}^2H), 139.2 (C_{Phen}^1), 116.2 (C_{Pyrn}^5H), 106.1 ($C_{Phen}^{2/6}H$), 101.3 (C_{Phen}^4H), 56.1 (OCH_3) ppm.

HR-MS (ESI): m/z = ber.: 233.09207 $[M+H]^+$, gef.: 233.09200.

HPLC (2): t_R = 4.7 min.

3-(2-Methoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (49e)

$C_{11}H_{10}N_2O_2$ (M_r 202.21)

49e wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 193 mg, 2.01 mmol), 2-Methoxyphenylboronsäure (**46e**, 609 mg, 4.01 mmol), Kupfer(I)-bromid (77.3 mg, 0.54 mmol) und Pyridin (330 μ L, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2-Methoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (**49e**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

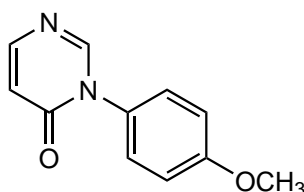
Ausbeute: 144 mg (0.71 mmol, 35 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.31 (s, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^2\text{H}$), 7.97 (d, 3J = 6.7 Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 7.50 (ddd, 3J = 8.3 Hz, 3J = 7.5 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1 H, $C_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 7.38 (dd, 3J = 7.7 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1 H, $C_{\text{Phen}}^6\text{H}$), 7.24 (dd, 3J = 8.4 Hz, 4J = 0.9 Hz, 1 H, $C_{\text{Phen}}^3\text{H}$), 6.49 (dd, 3J = 6.7 Hz, 5J = 0.9 Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 3.77 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 159.6 (C_{Pyrn}^4), 154.2 (C_{Phen}^2), 153.6 ($C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 153.0 ($C_{\text{Pyrn}}^2\text{H}$), 130.9 ($C_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 129.0 ($C_{\text{Phen}}^6\text{H}$), 125.6 (C_{Phen}^1), 120.6 ($C_{\text{Phen}}^5\text{H}$), 115.7 ($C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 112.6 ($C_{\text{Phen}}^3\text{H}$), 55.9 (OCH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 203.1 [M+H]⁺.

HPLC (2): t_R = 4.0 min.

3-(4-Methoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (49f)

$C_{11}H_{10}N_2O_2$ (M_r 202.21)

49f wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 201 mg, 2.09 mmol), 4-Methoxyphenylboronsäure (**46f**, 614 mg, 4.04 mmol), Kupfer(I)-bromid (83.9 mg, 0.58 mmol) und Pyridin (330 μ L, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(4-Methoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (**49f**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

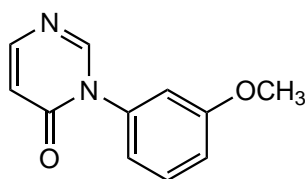
Ausbeute: 308 mg (1.52 mmol, 73 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.40 (s, 1 H, C_{Pyrn}^2H), 7.97 (d, 3J = 6.7 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.38 (d, 3J = 8.9 Hz, 2 H, $C_{Phen}^{2/6}H$), 7.07 (d, 3J = 8.9 Hz, 2 H, $C_{Phen}^{3/5}H$), 6.49 (dd, 3J = 6.7 Hz, 5J = 0.8 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.81 (s, 3 H, OCH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 160.1 (C_{Pyrn}^4), 159.4 (C_{Phen}^4), 153.5 (C_{Pyrn}^6H), 152.3 (C_{Pyrn}^2H), 129.8 (C_{Phen}^1), 128.3 ($C_{Phen}^{2/6}H$), 115.5 (C_{Pyrn}^5H), 114.3 ($C_{Phen}^{3/5}H$), 55.5 (OCH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 203.1 $[M+H]^+$.

HPLC (2): t_R = 4.0 min.

3-(3-Methoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (49g)

$C_{11}H_{10}N_2O_2$ (M_r 202.21)

49g wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 193 mg, 2.01 mmol), 3-Methoxyphenylboronsäure (**46g**, 610 mg, 4.01 mmol), Kupfer(I)-bromid (61.0 mg, 0.43 mmol) und Pyridin (330 μ L, 4.05 mmol) in DMSO (32 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(3-Methoxyphenyl)pyrimidin-4(3H)-on (**49g**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 267 mg (1.32 mmol, 66 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.43 (s, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^2\text{H}$), 7.98 (d, 3J = 6.7 Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 7.47-7.42 (m, 1 H, $C_{\text{Phen}}^5\text{H}$), 7.09-7.06 (m, 2 H, $C_{\text{Phen}}^{2/6}\text{H}$), 7.04-7.01 (m, 1 H, $C_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 6.51 (dd, 3J = 6.7 Hz, 5J = 0.9 Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 3.79 (s, 3 H, OCH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 159.8 (C_{Pyrn}^4), 159.7 (C_{Phen}^3), 153.5 ($C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 152.0 ($C_{\text{Pyrn}}^2\text{H}$), 138.2 (C_{Phen}^1), 130.0 ($C_{\text{Phen}}^5\text{H}$), 119.2 ($C_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 115.7 ($C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 114.8 ($C_{\text{Phen}}^6\text{H}$), 113.0 ($C_{\text{Phen}}^2\text{H}$), 55.5 (OCH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 203.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

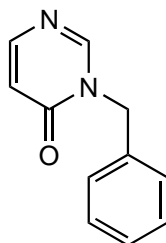
HPLC (2): t_R = 4.1 min.

8.3.4.3. Synthese der Benzylpyrimidinon-Derivate

Allgemeine Synthesevorschrift

Die Synthese der Benzylpyrimidinon-Derivate wurden im Rahmen dieser Arbeit von JOANA BAIER in ihrer Bachelorarbeit durchgeführt. Im Folgenden ist die allgemeine Synthesevorschrift genannt. Ein Äquivalent 4(3*H*)-Pyrimidinon (**45**) und 1.5 Äquivalente Kaliumhydroxid wurden in DMSO gelöst. Nach Entfernen des Rührfisches wurde die Apparatur mit Stickstoff gespült. 0.5 Äquivalente Eisen Nanopartikel (35-45 nm) sowie ein Äquivalent des entsprechenden Benzylchlorid-Derivats wurden zu der Lösung gegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 2 h bei 110 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen der Lösung wurde diese in Eis abdekantiert und mit wenigen mL 1 M HCl angesäuert. Die wässr. Phase wurde mit DCM extrahiert und die org. Phase mit deion. Wasser gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt.^[154]

3-Benzylpyrimidin-4(3*H*)-on (**65a**)



$C_{11}H_{10}N_2O$ (M_r 186.21)

65a wurde erhalten ausgehend von 4(3*H*)-Pyrimidinon (**45**, 101 mg, 1.05 mmol), Kaliumhydroxid (85.3 mg, 1.50 mmol), Eisenkatalysator (8.0 mg, 0.14 mmol) und Benzylchlorid (**60a**, 120 μ L, 1.00 mmol) in DMSO (2 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-Benzylpyrimidin-4(3*H*)-on (**65a**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 74.8 mg (0.40 mmol, 38 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 8.67 (s, 1 H, C²_{Pyrrn}H), 7.93 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 1 H, C⁶_{Pyrrn}H), 7.37-7.27 (m, 5 H, C_{Benz}H), 6.42 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 1 H, C⁵_{Pyrrn}H), 5.10 (s,

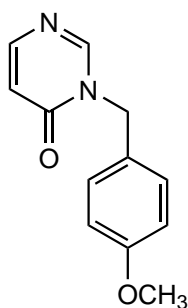
2 H, CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 160.0$ (C_{Pyrn}^4), 153.7 (C_{Pyrn}^6H), 152.9 (C_{Pyrn}^2H), 136.5 (C_{Benz}^1), 128.7 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 127.8 (C_{Benz}^4H), 127.77 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 115.3 (C_{Pyrn}^5H), 48.9 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 187.1$ $[M+H]^+$.

HPLC (**3**): $t_R = 7.4$ min.

3-(4-Methoxybenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (**65b**)



$C_{12}H_{12}N_2O_2$ (M_r 216.24)

65b wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 241 mg, 2.50 mmol), Kaliumhydroxid (213 mg, 3.79 mmol), Eisenkatalysator (7.2 mg, 0.13 mmol) und 4-Methoxybenzylchlorid (**60b**, 350 μ L, 2.50 mmol) in DMSO (3 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(4-Methoxybenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (**65b**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 270 mg (1.25 mmol, 50 %).

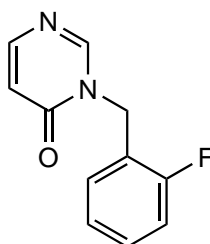
1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 8.66$ (s, 1 H, C_{Pyrn}^2H), 7.90 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.31 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 6.90 (d, $^3J = 6.9$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}H$), 6.40 (d, $^3J = 6.4$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.01 (s, 2 H, CH_2), 3.72 (s, 3 H, CH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 160.0$ (C_{Pyrn}^4), 159.9 (C_{Benz}^4), 153.6 (C_{Pyrn}^6H), 152.7 (C_{Pyrn}^2H), 129.6 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 128.4 (C_{Benz}^1), 115.2 (C_{Pyrn}^5H), 114.0 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 55.1 (CH_3), 48.4 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 217.1$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 4.8$ min.

3-(2-Fluorbenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (65c)



$C_{11}H_9FN_2O$ (M_r 204.20)

65c wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 247 mg, 2.57 mmol), Kaliumhydroxid (228 mg, 4.06 mmol), Eisenkatalysator (8.1 mg, 0.15 mmol) und 2-Fluorbenzylchlorid (**60c**, 300 μ L, 2.50 mmol) in DMSO (3 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2-Fluorbenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (**65c**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

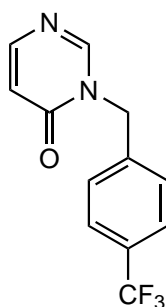
Ausbeute: 266 mg (1.31 mmol, 51 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 8.61$ (s, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^2\text{H}$), 7.94 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 7.39-7.33 (m, 1 H, $C_{\text{Benz}}^3\text{H}$), 7.24-7.15 (m, 3 H, $C_{\text{Benz}}^4\text{H}$, $C_{\text{Benz}}^5\text{H}$, $C_{\text{Benz}}^6\text{H}$), 6.42 (dd, $^3J = 6.6$ Hz, $^5J = 0.8$ Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 5.14 (s, 2 H, CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 160.2$ (d, $^1J_{CF} = 245.5$ Hz, C_{Benz}^2), 159.9 (C_{Pyrn}^4), 153.8 ($C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 153.0 (d, $^5J_{CF} = 2.2$ Hz, $C_{\text{Pyrn}}^2\text{H}$), 130.0 (d, $^3J_{CF} = 11.9$ Hz, $C_{\text{Benz}}^6\text{H}$), 130.0 ($C_{\text{Benz}}^5\text{H}$), 124.6 (d, $^3J_{CF} = 3.5$ Hz, $C_{\text{Benz}}^4\text{H}$), 123.0 (d, $^2J_{CF} = 14.1$ Hz, C_{Benz}^1), 115.6 (d, $^2J_{CF} = 20.9$ Hz, $C_{\text{Benz}}^3\text{H}$), 115.2 ($C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 44.0 (d, $^3J_{CF} = 4.0$ Hz, CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 205.1$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 5.0$ min.

3-(4-Trifluormethylbenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (65d)

$C_{12}H_9F_3N_2O$ (M_r 254.21)

65d wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 240 mg, 2.50 mmol), Kaliumhydroxid (223 mg, 3.97 mmol), Eisenkatalysator (7.4 mg, 0.13 mmol) und 4-Trifluormethylbenzylchlorid (**60d**, 370 μ L, 2.50 mmol) in DMSO (2.5 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(4-Trifluormethylbenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (**65d**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

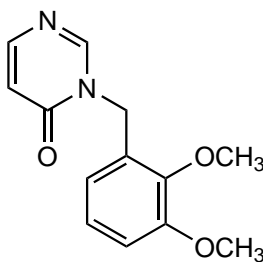
Ausbeute: 383 mg (1.51 mmol, 60 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.71 (s, 1 H, C_{Pyrn}^2H), 7.96 (dd, 3J = 6.6 Hz, 4J = 0.4 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.73 (d, 3J = 8.1 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}H$), 7.52 (d, 3J = 8.1 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 6.45 (dd, 3J = 6.6 Hz, 5J = 0.9 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.19 (s, 2 H, CH_2) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 160.0 (C_{Pyrn}^4), 153.9 (C_{Pyrn}^6H), 153.0 (C_{Pyrn}^2H), 141.1 (C_{Benz}^1), 128.3 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 128.3 (d, $^2J_{CF}$ = 31.4 Hz, C_{Benz}^4), 125.6 (q, $^3J_{CF}$ = 3.9 Hz, $C_{Benz}^{3/5}H$), 124.2 (d, $^1J_{CF}$ = 271.5 Hz, CF_3), 115.3 (C_{Pyrn}^5H), 48.8 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 255.0 $[M+H]^+$.

HPLC (2): t_R = 6.0 min.

3-(2,3-Dimethoxybenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (65e)

$C_{13}H_{14}N_2O_3$ (M_r 246.27)

65e wurde erhalten ausgehend von 4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 91.4 mg, 0.95 mmol), Kaliumhydroxid (82.7 mg, 1.47 mmol), Eisenkatalysator (3.0 mg, 53.7 μ mol) und 2,3-Dimethoxybenzylchlorid (**60e**, 173 mg, 0.93 mmol) in DMSO (2 mL). Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2,3-Dimethoxybenzyl)pyrimidin-4(3H)-on (**65e**) wurde als blassgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 110 mg (0.45 mmol, 47 %).

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 247.0$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 5.1$ min.

8.3.4.4. Synthese der 3-Phenyl/Benzyl-2-thioxo-pyrimidinon-Derivate

Allgemeine Synthesevorschrift

Erster Reaktionsschritt

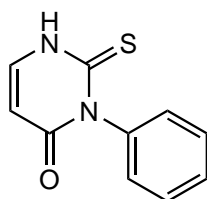
Eine Mischung aus dem entsprechenden Phenylpyrimidinon-Derivat und Natriumhydrogencarbonat wurde in einem Zweiphasen-Gemisch aus org. Phase und deion. Wasser gelöst. Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch 5-16 h bei RT gerührt. Anschließend wurde mit EE extrahiert und die verein. org. Phasen dreimal mit gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Zweiter Reaktionsschritt

Der Rückstand wurde in MeOH aufgenommen und mit TEA versetzt. Es wurde für 16 h bei RT gerührt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Die Rohprodukte wurden mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt.

Der zweite Syntheseschritt der 3-Benzyl-2-thioxo-pyrimidinon-Derivate wird jeweils separat aufgeführt, da es hier zu einigen Variationen kam. Die 3-Benzyl-2-thioxo-pyrimidinon-Derivate wurden im Rahmen dieser Arbeit von JOANA BAIER synthetisiert.

3-Phenyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**59a**)



$C_{10}H_8N_2OS$ (M_r 204.25)

Das Zwischenprodukt von **59a** wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49a** (176 mg, 1.03 mmol), Natriumhydrogencarbonat (512 mg, 6.09 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 300 μ L, 2.15 mmol) in Diethylether (3 mL) und deion. Wasser (3 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (430 μ L, 3.10 mmol) in MeOH

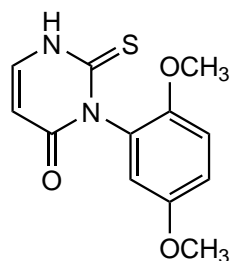
(6 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). Trotz der chromatographischen Aufreinigung, war die Verunreinigung so groß, dass keine NMR-Analytik vorgenommen wurde. Das Produkt wurde anschließend ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet. 3-Phenyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**59a**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 114 mg (max. 0.56 mmol, max. 54 %).

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 204.8$ [M+H]⁺.

HPLC (**3**): $t_R = 6.0$ min.

3-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**59b**)



C₁₂H₁₂N₂O₃S (M_r 264.30)

Das Zwischenprodukt von **59b** wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49b** (244 mg, 1.05 mmol), Natriumhydrogencarbonat (536 mg, 6.38 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 370 μL, 2.66 mmol) in Diethylether/EE (1:1, 6 mL) und deion. Wasser (3 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (451 μL, 3.25 mmol) in MeOH (12 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2,5-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**59h**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 209 mg (0.79 mmol, 79 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.59 (m_c, 1 H, N-*H*), 7.51 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 5.8 Hz, 1 H, C_{Pyrrn}⁶*H*), 7.06 (d, ³*J* = 9.0 Hz, 1 H, C_{Phen}³*H*), 6.95 (dd, ³*J* = 9.0 Hz, ⁴*J* = 3.0 Hz, 1 H, C_{Phen}⁴*H*), 6.77 (d, ⁴*J* = 3.0 Hz, 1 H, C_{Phen}⁶*H*), 5.99 (d, ³*J* = 7.6 Hz,

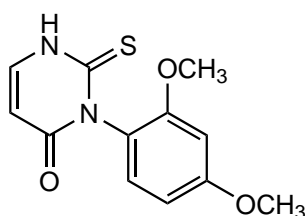
1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.71 (s, 3 H, C^5-OCH_3), 3.67 (s, 3 H, C^2-OCH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 178.0 (C_{Pyrn}^2), 160.6 (C_{Pyrn}^4), 153.7 (C_{Phen}^5), 148.8 (C_{Phen}^2), 141.8 (C_{Pyrn}^6H), 128.5 (C_{Phen}^1), 116.1 (C_{Phen}^6H), 114.8 (C_{Phen}^4H), 113.7 (C_{Phen}^3H), 105.0 (C_{Pyrn}^5H), 56.6 (C^2-OCH_3), 56.0 (C^5-OCH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 265.0 [M+H] $^+$.

HPLC (2): t_R = 5.0 min.

3-(2,4-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (59i)



$C_{12}H_{12}N_2O_3S$ (M_r 264.30)

Das Zwischenprodukt von **59d** wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49c** (125 mg, 0.54 mmol), Natriumhydrogencarbonat (278 mg, 3.31 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 194 μ L, 1.39 mmol) in Diethylether/EE (1:1, 6 mL) und deion. Wasser (3 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (237 μ L, 1.71 mmol) in MeOH (6 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2,4-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**59i**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 114 mg (0.43 mmol, 78 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.54 (s, 1 H, N-H), 7.48 (d, 3J = 7.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.00 (d, 3J = 8.6 Hz, 1 H, C_{Phen}^6H), 6.66 (d, 4J = 2.6 Hz, 1 H, C_{Phen}^3H), 6.56 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 2.6 Hz, 1 H, C_{Phen}^5H), 5.97 (d, 3J = 7.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.80 (s, 3 H, C^4-OCH_3), 3.70 (s, 3 H, C^2-OCH_3) ppm.

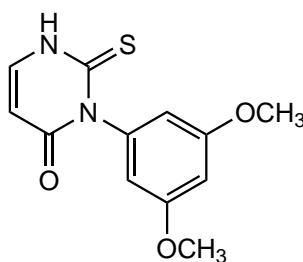
^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 178.1 (C_{Pyrn}^2), 160.4 (C_{Pyrn}^4), 160.4 (C_{Phen}^2), 154.9 (C_{Phen}^2), 141.2 (C_{Pyrn}^6H), 129.9 (C_{Phen}^6H), 120.5 (C_{Phen}^1), 105.1 (C_{Phen}^5H), 104.4

(C_{Pyrn}^5 H), 99.3 (C_{Phen}^3 H), 55.7 (C^2 -OCH₃), 55.4 (C^4 -OCH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 265.0$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 4.8$ min.

3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (59j)



C₁₂H₁₂N₂O₃S (M_r 264.30)

59c wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49d** (350 mg, 1.51 mmol), Natriumhydrogencarbonat (759 mg, 9.03 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 529 μ L, 3.80 mmol) in Diethylether (6 mL) und deion. Wasser (6 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (645 μ L, 4.65 mmol) in MeOH (15 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**59j**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 280 mg (1.06 mmol, 70 %).

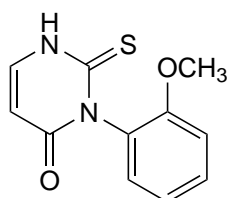
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 12.62$ (bs, 1 H, N-*H*), 7.50 (dd, ³*J* = 7.6 Hz, ³*J* = 5.1 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6 H), 6.52 (t, ⁴*J* = 2.3 Hz, 1 H, C_{Phen}^4 H), 6.38 (d, ⁴*J* = 2.3 Hz, 2 H, $C_{Phen}^{2/6}$ H), 6.01 (d, ³*J* = 7.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5 H), 3.73 (s, 6 H, $C^{3/5}$ -OCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 177.5$ (C_{Pyrn}^2), 160.8 ($C_{Phen}^{3/5}$), 160.5 (C_{Pyrn}^4), 141.2 (C_{Pyrn}^6 H), 140.7 (C_{Phen}^1), 106.9 ($C_{Phen}^{2/6}$ H), 104.9 (C_{Pyrn}^5 H), 100.0 (C_{Phen}^4 H), 55.4 ($C^{3/5}$ -OCH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 265.0$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 4.9$ min.

3-(2-Methoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (59e)



$C_{11}H_{10}N_2O_2S$ (M_r 234.27)

59e wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49e** (118 mg, 0.59 mmol), Natriumhydrogencarbonat (307 mg, 3.65 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 210 μ L, 1.51 mmol) in Diethylether/EE (1:1, 10 mL) und deion. Wasser (5 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (258 μ L, 1.86 mmol) in MeOH (10 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (50 % EE/PE). 3-(2-Methoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**59e**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

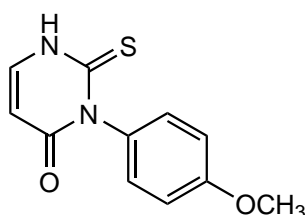
Ausbeute: 101 mg (0.43 mmol, 74 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.62$ (m_c , 1 H, N-*H*), 7.52 (dd, $^3J = 7.6$ Hz, $^3J = 5.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.37 (ddd, $^3J = 8.2$ Hz, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Phen}^4H), 7.13-7.11 (m, 2 H, C_{Phen}^3H , C_{Phen}^6H), 6.99 (dt, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.0$ Hz, 1 H, C_{Phen}^5H), 6.00 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.72 (s, 3 H, C^2-OCH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 177.6$ (C_{Pyrn}^2), 160.2 (C_{Pyrn}^4), 154.1 (C_{Phen}^2), 141.4 (C_{Pyrn}^6H), 129.8 (C_{Phen}^4H), 129.6 (C_{Phen}^6H), 127.5 (C_{Phen}^1), 120.6 (C_{Phen}^5H), 112.3 (C_{Phen}^3H), 104.5 (C_{Pyrn}^5H), 55.7 (C^2-OCH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 235.0$ [M+H] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 4.4$ min.

3-(4-Methoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (59f)

$C_{11}H_{10}N_2O_2S$ (M_r 234.27)

59f wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49f** (206 mg, 1.02 mmol), Natriumhydrogencarbonat (527 mg, 6.27 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 353 μ L, 2.54 mmol) in Diethylether/EE (1:1,8 mL) und deion. Wasser (8 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (430 μ L, 3.10 mmol) in MeOH (22 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(4-Methoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**59f**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

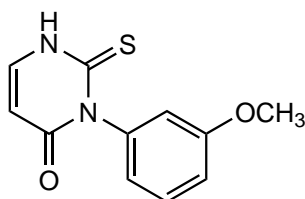
Ausbeute: 170 mg (0.73 mmol, 71 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.61 (s, 1 H, N-H), 7.51 (d, 3J = 7.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.08 (d, 3J = 8.9 Hz, 2 H, $C_{Phen}^{2/6}H$), 6.98 (d, 3J = 8.9 Hz, 2 H, $C_{Phen}^{3/5}H$), 6.02 (d, 3J = 7.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 3.79 (s, 3 H, $C^4\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 178.1 (C_{Pyrn}^2), 160.9 (C_{Pyrn}^4), 158.7 (C_{Phen}^4), 141.2 (C_{Pyrn}^6H), 131.8 (C_{Phen}^1), 129.5 ($C_{Phen}^{2/6}H$), 114.3 ($C_{Phen}^{3/5}H$), 104.9 (C_{Pyrn}^5H), 55.3 ($C^4\text{-OCH}_3$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 235.0 $[M+H]^+$.

HPLC (2): t_R = 4.4 min.

3-(3-Methoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (59g)

$C_{11}H_{10}N_2O_2S$ (M_r 234.27)

59g wurde erhalten ausgehend von dem Pyrimidinon-Derivat **49g** (205 mg, 1.01 mmol), Natriumhydrogencarbonat (565 mg, 6.73 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 353 μ L, 2.54 mmol) in Diethylether/EE (1:1, 8 mL) und deion. Wasser (8 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (430 μ L, 3.10 mmol) in MeOH (20 mL) bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-(3-Methoxyphenyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**59g**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

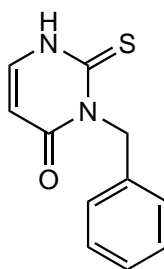
Ausbeute: 183 mg (0.78 mmol, 77 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.65 (s, 1 H, N-H), 7.52-7.36 (m, 2 H, $C^6_{Pyrn}H$, $C^2_{Phen}H$), 6.96-6.74 (m, 3 H, $C^4_{Phen}H$, $C^5_{Phen}H$, $C^6_{Phen}H$), 6.03 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, $C^5_{Pyrn}H$), 3.75 (s, 3 H, C^3_{Phen} -OCH₃) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 178.1 (C^2_{Pyrn}), 161.1 (C^4_{Pyrn}), 160.4 (C^3_{Phen}), 141.7 ($C^6_{Pyrn}H$), 140.6 (C^1_{Phen}), 130.2 ($C^5_{Phen}H$), 121.1 ($C^6_{Phen}H$), 114.1 ($C^2_{Phen}H$), 105.4 ($C^5_{Pyrn}H$), 55.7 (C^3_{Phen} -OCH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 235.0 [M+H]⁺.

HPLC (2): t_R = 4.5 min.

3-Benzyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (66b)

$C_{11}H_{10}N_2OS$ (M_r 218.27)

66b wurde erhalten ausgehend von **65a** (186 mg, 1.01 mmol), Natriumhydrogencarbonat (489 mg, 5.82 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 320 μ L, 2.30 mmol) in EE (5 mL) und deion. Wasser (5 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (180 μ L, 1.30 mmol) in MeOH (20 mL) bei RT umgesetzt. Das ausgefallene Zwischenprodukt wurde erneut in MeOH (5.0 mL) aufgenommen und mit TEA versetzt (180 μ L, 1.30 mmol). Es wurde für 2 h bei 80 °C gerührt und für 16 h bei RT. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-Benzyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**66b**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

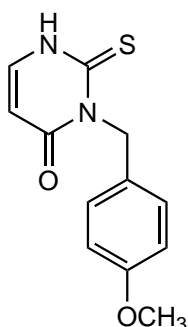
Ausbeute: 62.2 mg (0.29 mmol, 29 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.67 (bs, 1 H, N-*H*), 7.50 (dd, $^3J = 7.4$ Hz, $^3J = 3.2$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.32-7.21 (m, 5 H, $C_{Benz}H$), 5.99 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.50 (s, 2 H, CH_2) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 177.1 (C_{Pyrn}^2), 160.4 (C_{Pyrn}^4), 141.1 (C_{Pyrn}^6H), 136.2 (C_{Benz}^1), 128.3 ($C_{Benz}^{3/5}H$), 127.2 (C_{Benz}^4H), 127.0 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 104.3 (C_{Pyrn}^5H), 48.4 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 219.0$ [M+H] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 5.6$ min.

3-(4-Methoxybenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (66c)

$C_{12}H_{12}N_2O_2S$ (M_r 248.30)

66c wurde erhalten ausgehend von **65b** (251 mg, 1.16 mmol), Natriumhydrogencarbonat (586 mg, 6.97 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 380 μ L, 2.73 mmol) in EE (5 mL) und deion. Wasser (5 mL). Dieses wurde im zweiten Schritt mit TEA (215 μ L, 1.55 mmol) in MeOH (10 mL) bei 80 °C für 5 h umgesetzt. Das Zwischenprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt und erneut in MeOH (5.0 mL) und deion. Wasser (5 mL) aufgenommen und mit TEA versetzt (214 μ L, 1.54 mmol). Es wurde für 4 h bei 80 °C gerührt. Die wässr. Phase wurde mit EE extrahiert, die org. Phase mit gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Produkt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt (Gradient EE/PE). 3-(4-Methoxybenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**66c**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 65.5 mg (0.26 mmol, 23 %).

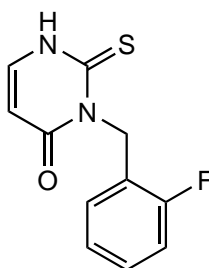
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.63 (bs, 1 H, N-*H*), 7.47 (dd, 3J = 7.5 Hz, 3J = 5.7 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6 H), 7.28 (d, 3J = 8.7 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}$ H), 6.85 (d, 3J = 8.8 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}$ H), 5.97 (dd, 3J = 7.5 Hz, 4J = 0.7 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5 H), 5.43 (s, 2 H, CH_2), 3.71 (s, 3 H, C^4 -OCH₃) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 176.9 (C_{Pyrn}^2), 160.4 (C_{Pyrn}^4), 158.1 (C_{Benz}^4), 140.9 (C_{Pyrn}^6 H), 129.1 ($C_{Benz}^{2/6}$ H), 128.2 (C_{Benz}^1), 113.6 ($C_{Benz}^{3/5}$ H), 104.4 (C_{Pyrn}^5 H), 55.1 (C^4 -OCH₃), 47.7 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 248.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (**2**): $t_R = 6.5$ min.

3-(2-Fluorbenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (66d)



$C_{11}H_9FN_2OS$ (M_r 236.26)

66d wurde erhalten ausgehend von **65c** (223 mg, 1.09 mmol), Natriumhydrogencarbonat (552 mg, 6.57 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 360 μ L, 2.59 mmol) in EE (5 mL) und deion. Wasser (5 mL). Das nach dem ersten Syntheseschritt isolierte Zwischenprodukt wurde in MeOH (8 mL) gelöst, mit TEA (201 μ L, 1.45 mmol) versetzt und für 16 h bei 80 °C gerührt. Nach Abfiltrieren des Niederschlags wurde die Mutterlauge mittels Flash-Säulenchromatographie aufgereinigt. Sowohl der Niederschlag als auch das aus der Mutterlauge erhaltene Produkt wurden in einem nächsten Syntheseschritt erneut in MeOH (8 mL) gelöst, mit TEA (201 μ L, 1.45 mmol) versetzt und für 3 h wurde bei 80 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (Gradient EE/PE). 3-(2-Fluorbenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**66d**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 55.4 mg (0.23 mmol, 22 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.74$ (d, $^3J = 5.5$ Hz, 1 H, N-H), 7.54 (dd, $^3J = 7.5$ Hz, $^3J = 5.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.32-7.26 (m, 1 H, C_{Benz}^4H), 7.22-7.17 (m, 1 H, C_{Benz}^3H), 7.11 (td, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.0$ Hz, 1 H, C_{Benz}^5H), 7.00-6.97 (m, 1 H, C_{Benz}^6H), 6.02 (dd, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.3$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.53 (s, 2 H, CH_2) ppm.

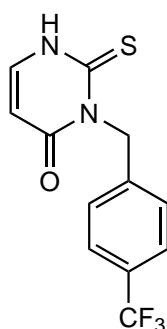
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 177.1$ (C_{Pyrn}^2), 160.3 (C_{Pyrn}^4), 159.9 (d, $^1J_{CF} = 244.3$ Hz, C_{Benz}^2), 141.3 (C_{Pyrn}^6H), 128.8 (d, $^3J_{CF} = 8.1$ Hz, C_{Benz}^4H), 127.0 (d,

$^3J_{CF} = 4.1$ Hz, C_{Benz}^6 H), 124.4 (d, $^4J_{CF} = 3.4$ Hz, C_{Benz}^5 H), 122.9 (d, $^2J_{CF} = 14.1$ Hz, C_{Benz}^1), 115.2 (d, $^2J_{CF} = 21.0$ Hz, C_{Benz}^3 H), 104.2 (C_{Pyrn}^5 H), 42.8 (d, $^3J_{CF} = 5.5$ Hz, CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 237.0$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 5.8$ min.

3-(4-Trifluormethylbenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (66a)



$C_{12}H_9F_3N_2OS$ (M_r 286.27)

66a wurde erhalten ausgehend von **65d** (298 mg, 1.17 mmol), Natriumhydrogencarbonat (597 mg, 7.11 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 380 μ L, 2.73 mmol) in EE (5 mL) und deion. Wasser (5 mL). Das nach dem ersten Syntheseschritt isolierte Zwischenprodukt wurde in MeOH (10 mL) gelöst, mit TEA (433 μ L, 3.12 mmol) versetzt und für 4 h bei 80 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (Gradient EE/PE). 3-(4-Trifluormethylbenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**66a**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 142 mg (0.50 mmol, 42 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.75$ (m_c, 1 H, N-H), 7.67 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{3/5}$ H), 7.54 (dd, $^3J = 7.5$ Hz, $^3J = 5.8$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6 H), 7.47 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}$ H), 6.02 (dd, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5 H), 5.58 (s, 2 H, CH_2) ppm.

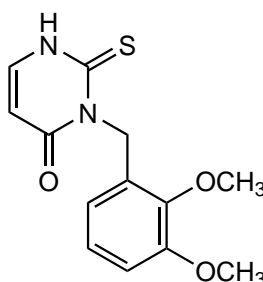
^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 177.1$ (C_{Pyrn}^2), 160.4 (C_{Pyrn}^4), 141.3 (C_{Pyrn}^6 H), 141.1 (C_{Benz}^1), 127.9 (d, $^2J_{CF} = 35.2$ Hz, C_{Benz}^4), 127.7 ($C_{Benz}^{2/6}$ H), 125.2 (q, $^3J_{CF} = 3.8$ Hz,

$C_{Benz}^{3/5}H$), 124.3 (d, $^1J_{CF} = 272.3$ Hz, CF_3), 104.3 (C_{Pyrn}^5H), 48.2 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 286.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 6.6$ min.

3-(2,3-Dimethoxybenzyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (66e)



$C_{13}H_{14}N_2O_3S$ (M_r 278.33)

66e wurde erhalten ausgehend von **65e** (110 mg, 0.45 mmol), Natriumhydrogencarbonat (225 mg, 2.68 mmol) und Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 150 μ L, 1.08 mmol) in EE (3 mL) und deion. Wasser (3 mL). Das nach dem ersten Syntheseschritt isolierte Zwischenprodukt wurde in MeOH (4 mL) gelöst, mit TEA (163 μ L, 1.18 mmol) versetzt und für 3 h bei 80 °C gerührt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (Gradient EE/PE). Die isolierte Zwischenstufe wurde erneut in MeOH (4 mL) aufgenommen und mit TEA (163 μ L, 1.18 mmol) versetzt. Es wurde für 5 h bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und säulenchromatographisch aufgereinigt (Gradient EE/PE).

Ausbeute: 23.3 mg (83.7 μ mol; 19 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.69$ (m_c , 1 H, N-*H*), 7.53 (dd, $^3J = 7.5$ Hz, $^3J = 5.8$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 6.94-6.93 (m, 2 H, C_{Benz}^6H , C_{Benz}^5H), 6.33 (dd, $^3J = 6.5$ Hz, $^4J = 2.8$ Hz, 1 H, C_{Benz}^4H), 6.00 (dd, $^3J = 7.5$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.50 (s, 2 H, CH_2), 3.80 (s, 6 H, OCH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 177.2$ (C_{Pyrn}^2), 160.4 (C_{Pyrn}^4), 152.4 (C_{Benz}^3), 145.9 (C_{Benz}^2), 141.1 (C_{Pyrn}^6H), 129.3 (C_{Benz}^1), 123.8 (C_{Benz}^6H), 117.0 (C_{Benz}^4H), 111.5

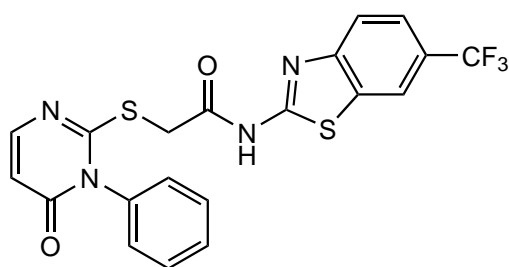
(C_{Benz}^5H), 104.2 (C_{Pyrn}^5H), 59.7 ($C_{Benz}^2-OCH_3$), 55.7 ($C_{Benz}^3-OCH_3$), 44.2 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 278.9 [M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 6.6$ min.

8.3.4.5. Synthese der Zielverbindungen der Serie 4

2-((3-Phenyl-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15a**)



$C_{20}H_{13}F_3N_4O_2S_2$ (M_r 462.47)

15a wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (146 mg, 0.50 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59a** (131 mg, 0.50 mmol) wurden zusammen mit TEA (0.2 mL, 1.44 mmol) in abs. DMF (5 mL) erhitzt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). Es wurde zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-Phenyl-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15a**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 102 mg (0.22 mmol, 44 %).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.87$ (s, 1 H, NH), 8.48 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.85 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.75 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.63-7.58 (m, 3 H, C_{Phen}^4H , $C_{Phen}^3/5H$), 7.45-7.43 (m, 2 H, $C_{Phen}^{2/6}H$), 6.29 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 4.21 (s, 2 H, $CH_2C=O$) ppm.

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 167.3$ ($CH_2C=O$), 162.5 (C_{Pyrn}^2), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.7 (C_{Pyrn}^4), 152.3 (C_{Pyrn}^6H), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 135.5 (C_{Phen}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 130.1

(C_{Phen}^4 H), 129.7 ($C_{Phen}^{3/5}$ H), 128.7 ($C_{Phen}^{2/6}$ H), 124.5 (d, $^1J_{CF} = 271.7$ Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6 H), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.1$ Hz, C_{Bnth}^5 H), 121.0 (C_{Bnth}^4 H), 119.9 (d, $^3J_{CF} = 4.4$ Hz, C_{Bnth}^7 H), 111.0 (C_{Pyrn}^5 H), 36.0 ($CH_2C=O$) ppm.

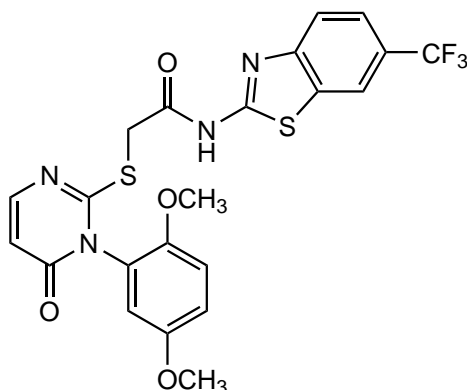
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 463.0$ [M+H]⁺.

HPLC (3): $t_R = 9.6$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3132, 3036, 2989, 1713, 1667, 1549, 1478, 1314, 1267, 1248, 1238, 1152, 1117, 1078, 1047, 1003, 993, 980, 833, 826, 795, 770, 698, 677, 644$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 213 °C.

2-((3-(2,5-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (15b)



$C_{22}H_{17}F_3N_4O_4S_2$ (M_r 522.52)

15b wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (202 mg, 0.69 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59b** (173 mg, 0.65 mmol) wurden zusammen mit TEA (270 μ L, 1.95 mmol) in abs. DMF (7 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-(2,5-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (**15b**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 243 mg (0.46 mmol, 71 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.87$ (s, 1 H, NH), 8.50 (s, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.83 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.75 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.22 (d, $^3J = 9.1$ Hz, 1 H, C_{Phen}^3H), 7.13 (dd, $^3J = 9.1$ Hz, $^4J = 2.9$ Hz, 1 H, C_{Phen}^4H), 7.04 (d, $^4J = 2.9$ Hz, 1 H, C_{Phen}^6H), 6.25 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 4.20 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 3.753 (s, 3 H, $C_{Phen}^2\text{-OCH}_3$), 3.745 (s, 3 H, $C_{Phen}^5\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 167.4$ ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 163.1 (C_{Pyrn}^2), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.2 (C_{Pyrn}^4), 153.4 (C_{Phen}^5), 152.4 ($C_{Pyrn}^6\text{H}$), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 148.6 (C_{Phen}^2), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.9$ Hz, CF_3), 124.1 (C_{Phen}^1), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.3$ Hz, $C_{Bnth}^5\text{H}$), 121.1 ($C_{Bnth}^4\text{H}$), 120.0 (d, $^3J_{CF} = 4.1$ Hz, $C_{Bnth}^7\text{H}$), 116.8 ($C_{Phen}^4\text{H}$), 115.6 ($C_{Phen}^6\text{H}$), 113.9 ($C_{Phen}^3\text{H}$), 110.8 ($C_{Pyrn}^5\text{H}$), 56.4 ($C_{Phen}^5\text{-OCH}_3$), 55.8 ($C_{Phen}^2\text{-OCH}_3$), 36.0 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) ppm.

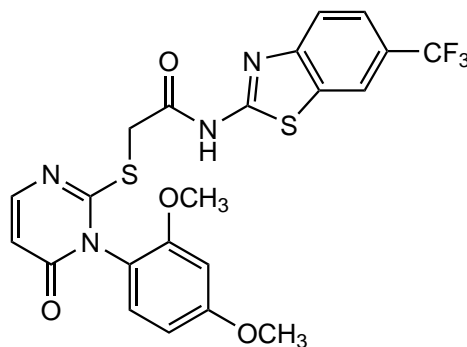
HR-MS (ESI): $m/z = \text{ber.}: 523.07216$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{gef.}: 523.07159$.

HPLC (2): $t_R = 7.4$ min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3138, 3059, 2968, 2930, 1711, 1665, 1568, 1553, 1510, 1481, 1414, 1369, 1340, 1317, 1269, 1236, 1225, 1215, 1171, 1153, 1134, 1101, 1078, 1038, 1011, 978, 961, 880, 839, 831, 800, 787, 766, 752, 677$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 186 °C.

2-((3-(2,4-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (15d)



$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$ (M_r 522.52)

15d wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (117 mg, 0.40 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59d** (93.3 mg, 0.35 mmol) wurden zusammen mit TEA (158 μ L, 1.14 mmol) in abs. DMF (4 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (40 % EE/PE). 2-((3-(2,4-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15d**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 109 mg (0.21 mmol, 59 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.87 (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.82 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.75 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 1.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.26 (d, 3J = 8.6 Hz, 1 H, C_{Phen}^6H), 6.80 (d, 4J = 2.5 Hz, 1 H, C_{Phen}^3H), 6.68 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 2.5 Hz, 1 H, C_{Phen}^5H), 6.23 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 4.18 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 3.85 (s, 3 H, $C_{Phen}^4\text{-OCH}_3$), 3.78 (s, 3 H, $C_{Phen}^2\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.5 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 163.9 (C_{Pyrn}^2), 162.1 (C_{Phen}^4), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.5 (C_{Pyrn}^4), 155.6 (C_{Phen}^2), 152.4 (C_{Pyrn}^6H), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 130.6 (C_{Phen}^6H), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.8 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.9 Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.6 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.1 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.2 Hz, C_{Bnth}^7H), 116.5 (C_{Phen}^1), 110.9 (C_{Pyrn}^5H), 105.8 (C_{Phen}^5H), 99.6 (C_{Phen}^3H), 56.1 ($C_{Phen}^2\text{-OCH}_3$), 55.7 ($C_{Phen}^4\text{-OCH}_3$), 35.9 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) ppm.

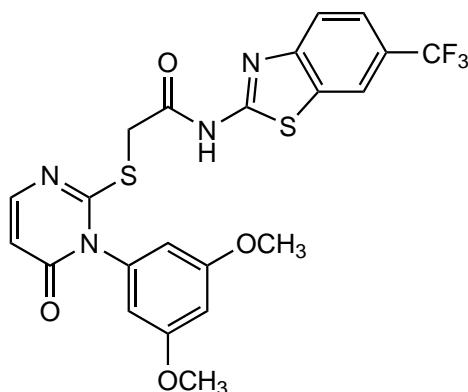
HR-MS (ESI): m/z = ber.: 523.07216 $[\text{M}+\text{H}]^+$, gef.: 523.07156.

HPLC (2): t_R = 7.4 min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3067, 2976, 2941, 1688, 1612, 1587, 1570, 1541, 1508, 1485, 1439, 1416, 1317, 1269, 1246, 1209, 1159, 1115, 1082, 1028, 995, 883, 824, 797, 748, 718, 677, 644 cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 113 $^\circ\text{C}$.

2-((3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15c**)



$C_{22}H_{17}F_3N_4O_4S_2$ (M_r 522.52)

15c wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (223 mg, 0.76 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59c** (185 mg, 0.70 mmol) wurden zusammen mit TEA (291 μ L, 2.10 mmol) in abs. DMF (7 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 2-((3-(3,5-Dimethoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15c**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 248 mg (0.48 mmol, 68 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.88 (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.83 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.75 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 1.1 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 6.70 (t, 4J = 2.1 Hz, 1 H, C_{Phen}^4H), 6.64 (d, 4J = 2.1 Hz, 2 H, $C_{Phen}^{2/6}H$), 6.26 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 4.20 (s, 2 H, $CH_2C=O$), 3.79 (s, 6 H, $C_{Phen}^{3/5}-OCH_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.5 ($CH_2C=O$), 162.5 (C_{Pyrn}^2), 161.1 ($C_{Phen}^{3/5}$), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.5 (C_{Pyrn}^4), 152.2 (C_{Pyrn}^6H), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 137.2 (C_{Phen}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 272.3 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.7 Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.5 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.1 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.2 Hz, C_{Bnth}^7H), 111.0 (C_{Pyrn}^5H), 106.9 ($C_{Phen}^{2/6}H$), 101.7 (C_{Phen}^4H), 55.7 ($C_{Phen}^{3/5}-OCH_3$), 36.0 ($CH_2C=O$) ppm.

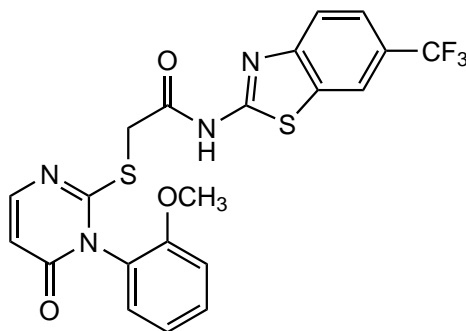
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 522.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 7.6$ min, 98 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2957, 1668, 1611, 1511, 1498, 1427, 1317, 1269, 1248, 1206, 1190, 1153, 1111, 1082, 1061, 1022, 962, 893, 839, 826, 716, 689, 679$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 135 °C.

2-((3-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluoromethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (15e)



$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2$ (M_r 492.49)

15e wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (112 mg, 0.38 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59e** (85.6 mg, 0.37 mmol) wurden zusammen mit TEA (150 μL , 1.08 mmol) in abs. DMF (4 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (40 % EE/PE). 2-((3-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (**15e**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 170 mg (0.35 mmol, 95 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 12.88$ (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 7.92 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 7.84 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 7.74 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 7.56 (mc, 1 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 7.37 (dd, $^3J = 7.7$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^6\text{H}$), 7.28 (dd, $^3J = 8.4$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^3\text{H}$), 7.13 (dt, $^3J = 7.6$ Hz, $^4J = 1.1$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^5\text{H}$), 6.26 (d, $^3J = 6.6$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 4.20 (d,

$^4J = 1.4$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 3.80 (s, 3 H, $\text{C}_{\text{Phen}}^2\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 167.4$ ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 163.1 (C_{Pyrn}^2), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.2 (C_{Pyrn}^4), 154.6 (C_{Phen}^2), 152.5 ($\text{C}_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 151.3 ($\text{C}_{\text{Bnth}}^{3a}$), 132.1 ($\text{C}_{\text{Phen}}^4\text{H}$), 132.0 ($\text{C}_{\text{Bnth}}^{7a}$), 124.6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 271.9$ Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.4$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.7 (C_{Phen}^1), 123.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3.9$ Hz, $\text{C}_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 121.11 ($\text{C}_{\text{Phen}}^5\text{H}$), 121.06 ($\text{C}_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 120.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 4.9$ Hz, $\text{C}_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 113.0 ($\text{C}_{\text{Phen}}^3\text{H}$), 110.8 ($\text{C}_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 56.0 ($\text{C}_{\text{Phen}}^2\text{-OCH}_3$), 35.8 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) ppm.

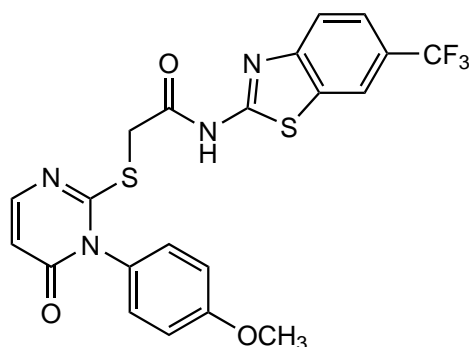
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 492.9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (2): $t_R = 7.2$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2957, 2924, 2855, 1668, 1603, 1541, 1485, 1414, 1317, 1261, 1161, 1117, 1082, 1022, 995, 883, 824, 748, 718, 677, 646$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 98 °C.

2-((3-(4-Methoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluoromethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (15f)



$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2$ (M_r 492.49)

15f wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (161 mg, 0.55 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59f** (123 mg, 0.53 mmol) wurden zusammen mit TEA (217 μL , 1.57 mmol) in abs. DMF (6 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). Es wurde anschließend zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-(4-Methoxyphenyl)-4-oxo-

3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15f**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 183 mg (0.37 mmol, 71 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.89 (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.83 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 1 H, C⁶_{Pyrn}H), 7.75 (dd, ³*J* = 8.9 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.34 (d, ³*J* = 9.0 Hz, 2 H, C^{2/6}_{Phen}H), 7.12 (d, ³*J* = 8.9 Hz, 2 H, C^{3/5}_{Phen}H), 6.26 (d, ³*J* = 6.6 Hz, 1 H, C⁵_{Pyrn}H), 4.20 (s, 2 H, CH₂C=O), 3.84 (s, 3 H, C⁴_{Phen}-OCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.5 (CH₂C=O), 163.2 (C²_{Pyrn}), 161.0 (C²_{Bnth}), 160.97 (C⁴_{Pyrn}), 160.3 (C⁴_{Phen}), 152.3 (C⁶_{Pyrn}H), 151.3 (C^{3a}_{Bnth}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 130.0 (C^{2/6}_{Phen}H), 128.0 (C¹_{Phen}), 124.6 (d, ¹*J*_{CF} = 272.3 Hz, CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.1 (d, ³*J*_{CF} = 4.2 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.1 (C⁴_{Bnth}H), 120.0 (d, ³*J*_{CF} = 4.1 Hz, C⁷_{Bnth}H), 114.9 (C^{3/5}_{Phen}H), 110.9 (C⁵_{Pyrn}H), 55.5 (C⁴_{Phen}-OCH₃), 36.1 (CH₂C=O) ppm.

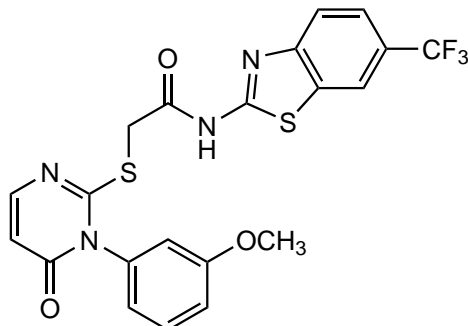
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 492.9 [M+H]⁺.

HPLC (2): *t*_R = 7.4 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3071, 2970, 2841, 1699, 1605, 1591, 1568, 1541, 1510, 1487, 1464, 1414, 1398, 1337, 1321, 1302, 1275, 1248, 1180, 1173, 1157, 1136, 1115, 1082, 1051, 1024, 1015, 999, 905, 849, 831, 719, 665 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 223 °C.

2-((3-(3-Methoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluoromethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15g**)



$C_{21}H_{15}F_3N_4O_3S_2$ (M_r 492.49)

15g wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (171 mg, 0.58 mmol) und das 2-Thioxo-pyrimidinon-Derivat **59g** (130 mg, 0.55 mmol) wurden zusammen mit TEA (229 μ L, 1.65 mmol) in abs. DMF (6 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). Es wurde anschließend zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-(3-Methoxyphenyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**15g**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 230 mg (0.47 mmol, 84 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 12.89 (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.84 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.75 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.51 (t, 3J = 8.1 Hz, 1 H, C_{Phen}^5H), 7.15 (m_c, 1 H, C_{Phen}^6H), 7.07 (t, 4J = 2.1 Hz, 1 H, C_{Phen}^2H), 7.00 (m_c, 1 H, C_{Phen}^4H), 6.28 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 4.21 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C=O}$), 3.81 (s, 3 H, $\text{C}_{Phen}^3\text{-OCH}_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): δ = 167.5 ($\text{CH}_2\text{C=O}$), 162.6 (C_{Pyrn}^2), 161.1 (C_{Bnth}^2), 160.6 (C_{Pyrn}^4), 160.2 (C_{Phen}^3), 152.3 (C_{Pyrn}^6), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 136.6 (C_{Phen}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 130.6 (C_{Phen}^5), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.4 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 32.4 Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.3 Hz, C_{Bnth}^5), 121.1 (C_{Bnth}^4), 120.7 (C_{Phen}^4), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.3 Hz, C_{Bnth}^7), 115.8 (C_{Phen}^6), 114.4 (C_{Phen}^2), 111.1 (C_{Pyrn}^5), 55.6 ($C_{Phen}^3\text{-OCH}_3$), 36.0 ($\text{CH}_2\text{C=O}$) ppm.

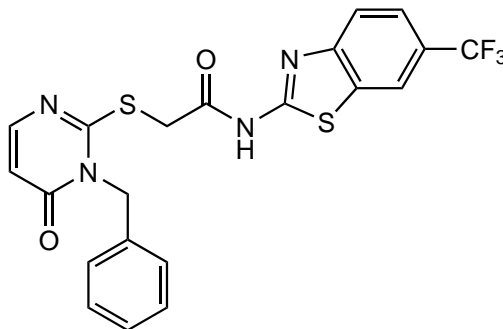
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 492.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 7.4$ min, 99 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3140, 3059, 2967, 2936, 2363, 1714, 1667, 1607, 1568, 1553, 1483, 1466, 1416, 1369, 1315, 1285, 1265, 1250, 1192, 1159, 1152, 1132, 1113, 1080, 1032, 1011, 980, 961, 835, 829, 789, 718, 691, 677, 646$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 194 °C.

2-((3-Benzyl-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (16a)



$\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$ (M_r 476.49)

16a wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (80.3 mg, 0.27 mmol) und **66b** (57.0 mg, 0.26 mmol) wurden zusammen mit TEA (108 μL , 0.78 mmol) in abs. DMF (3 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 101 mg (0.21 mmol, 82 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 300 K): $\delta = 12.94$ (s, 1 H, NH), 8.49 (bs, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 7.92 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 7.80 (d, $^3J = 6.5$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 7.74 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 7.39-7.32 (m, 2 H, $\text{C}_{\text{Benz}}^{3/5}\text{H}$), 7.32-7.27 (m, 3 H, $\text{C}_{\text{Benz}}^4\text{H}$, $\text{C}_{\text{Benz}}^{2/6}\text{H}$), 6.27 (d, $^3J = 6.5$ Hz, 1 H, $\text{C}_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 5.28 (s, 2 H, N- CH_2), 4.32 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C=O}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 167.3$ ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$), 162.2 (C_{Pyrn}^2), 161.1 (C_{Bnth}^2), 160.9 (C_{Pyrn}^4), 152.2 ($C_{\text{Pyrn}}^6\text{H}$), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 134.9 (C_{Benz}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 128.7 ($C_{\text{Benz}}^{3/5}\text{H}$), 127.7 ($C_{\text{Benz}}^4\text{H}$), 127.0 ($C_{\text{Benz}}^{2/6}\text{H}$), 124.6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 271.4$ Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{\text{CF}} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 3.5$ Hz, $C_{\text{Bnth}}^5\text{H}$), 121.1 ($C_{\text{Bnth}}^4\text{H}$), 120.0 (d, $^3J_{\text{CF}} = 4.2$ Hz, $C_{\text{Bnth}}^7\text{H}$), 110.2 ($C_{\text{Pyrn}}^5\text{H}$), 47.0 (N-CH_2), 35.9 ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) ppm.

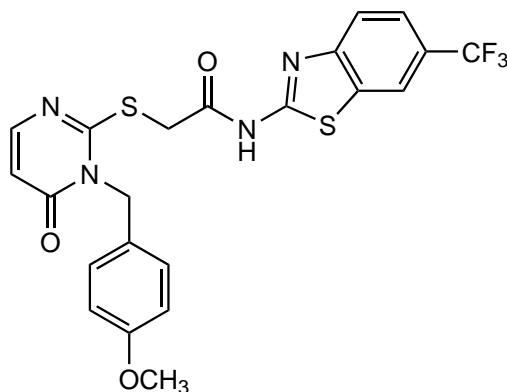
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 259.0$ [$\text{M-C}_8\text{H}_4\text{F}_3\text{N}_2\text{S}^-$] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 8.2$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3056, 2916, 2847, 1738, 1695, 1649, 1557, 1493, 1427, 1373, 1319, 1281, 1263, 1244, 1155, 1123, 1113, 1082, 1051, 984, 881, 149, 822, 806, 791, 760, 743, 719, 698, 681, 644$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 190 °C.

2-((3-(4-Methoxybenzyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluoromethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (16b)



$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2$ (M_r 506.52)

16b wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (72.2 mg, 0.25 mmol) und **66c** (57.8 mg, 0.23 mmol) wurden zusammen mit TEA (96.9 μL , 0.70 mmol) in abs. DMF (3 mL) erhitzt. Das Produkt fiel beim Aufnehmen in DCM aus und wurde abfiltriert. Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 46.9 mg (92.6 μmol , 40 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.95 (s, 1 H, NH), 8.49 (bs, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.78 (d, ³*J* = 6.5 Hz, 1 H, C⁶_{Pyrn}H), 7.74 (d, ³*J* = 8.6 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.25 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 2 H, C^{2/6}_{Benz}H), 6.92 (d, ³*J* = 8.5 Hz, 2 H, C^{3/5}_{Benz}H), 6.25 (d, ³*J* = 6.4 Hz, 1 H, C⁵_{Pyrn}H), 5.21 (s, 2 H, N-CH₂), 4.32 (s, 2 H, CH₂C=O) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 167.4 (CH₂C=O), 162.1 (C²_{Pyrn}), 161.2 (C²_{Bnth}), 160.9 (C⁴_{Pyrn}), 158.8 (C⁴_{Benz}), 152.1 (C⁶_{Pyrn}H), 151.4 (C^{3a}_{Bnth}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 128.8 (C^{2/6}_{Benz}H), 126.8 (C¹_{Benz}), 124.6 (d, ¹*J*_{CF} = 271.8 Hz, CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 32.3 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.0 (d, ³*J*_{CF} = 3.3 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.0 (C⁴_{Bnth}H), 120.0 (d, ³*J*_{CF} = 4.2 Hz, C⁷_{Bnth}H), 114.0 (C^{3/5}_{Benz}H), 110.2 (C⁵_{Pyrn}H), 55.1 (C⁴_{Benz}-OCH₃), 46.5 (N-CH₂), 36.0 (CH₂C=O) ppm.

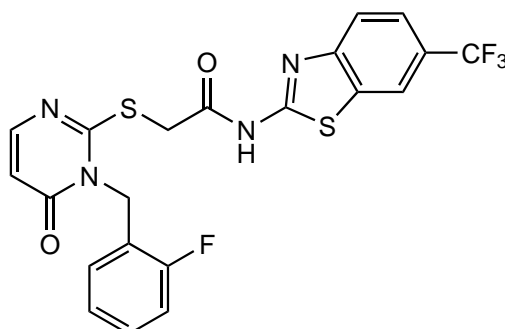
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 288.9 [M-C₈H₄F₃N₂S⁻]⁺.

HPLC (2): *t*_R = 7.8 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2936, 2849, 1649, 1612, 1560, 1516, 1497, 1429, 1416, 1373, 1285, 1256, 1244, 1159, 1111, 1084, 1049, 1034, 986, 883, 853, 827, 799, 773, 746, 718, 677, 646 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 204 °C.

2-((3-(2-Fluorbenzyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (16c)



C₂₁H₁₄F₄N₄O₂S₂ (M_r 494.48)

16c wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker

28 (67.7 mg, 0.23 mmol) und **66d** (48.5 mg, 0.21 mmol) wurden zusammen mit TEA (85.3 μ L, 0.62 mmol) in abs. DMF (2 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 82.2 mg (0.17 mmol, 81 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.94 (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.83 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.75 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.41-7.35 (m, 1 H, C_{Benz}^4H), 7.30-7.25 (m 1 H, C_{Benz}^3H), 7.19 (td, 3J = 7.5 Hz, 4J = 1.1 Hz, 1 H, C_{Benz}^5H), 7.06-7.02 (m, 1 H, C_{Benz}^6H), 6.28 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.31 (s, 2 H, N- CH_2), 4.33 (s, 2 H, $CH_2C=O$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.2 ($CH_2C=O$), 162.1 (C_{Pyrn}^2), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.8 (C_{Pyrn}^4), 159.9 (d, $^1J_{CF}$ = 245.1 Hz, C_{Benz}^2), 152.3 (C_{Pyrn}^6H), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 129.7 (d, $^3J_{CF}$ = 8.2 Hz, C_{Benz}^4H), 127.5 (d, $^3J_{CF}$ = 3.5 Hz, C_{Benz}^6H), 124.9 (d, $^4J_{CF}$ = 3.4 Hz, C_{Benz}^5H), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.8 Hz, CF_3), 123.9 (d, $^2J_{CF}$ = 31.5 Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF}$ = 3.5 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.8 (d, $^2J_{CF}$ = 14.0 Hz, C_{Benz}^1), 121.1 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.1 Hz, C_{Bnth}^7H), 115.6 (d, $^2J_{CF}$ = 21.0 Hz, C_{Benz}^3H), 110.2 (C_{Pyrn}^5H), 41.0 (d, $^3J_{CF}$ = 5.0 Hz, N- CH_2), 35.8 ($CH_2C=O$) ppm.

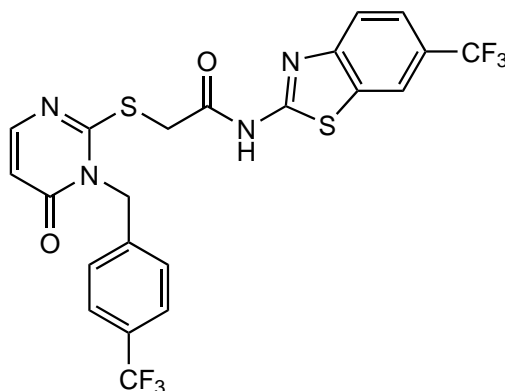
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 276.9 [$M-C_8H_4F_3N_2S^-$] $^+$.

HPLC (2): t_R = 7.8 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3142, 3048, 2968, 2916, 1736, 1697, 1647, 1555, 1437, 1414, 1377, 1315, 1283, 1265, 1246, 1231, 1155, 1115, 1084, 1051, 999, 976, 883, 849, 826, 804, 789, 756, 718, 679, 646 cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 159 $^\circ\text{C}$.

2-((3-(4-Trifluormethylbenzyl)-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-N-(6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)acetamid (16d)



$C_{22}H_{14}F_6N_4O_2S_2$ (M_r 544.49)

16d wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (105 mg, 0.36 mmol) und **66a** (97.5 mg, 0.34 mmol) wurden zusammen mit TEA (142 μ L, 1.02 mmol) in abs. DMF (3.5 mL) erhitzt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (40 % EE/PE). Es wurde ein farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 71.1 mg (0.13 mmol, 38 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.94 (s, 1 H, NH), 8.50 (bs, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.83 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 7.76-7.74 (m, 3 H, C_{Bnth}^5H , $C_{Benz}^{3/5}H$), 7.49 (d, 3J = 8.1 Hz, 2 H, $C_{Benz}^{2/6}H$), 6.29 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 5.38 (s, 2 H, N- CH_2), 4.33 (s, 2 H, $CH_2C=O$) ppm.

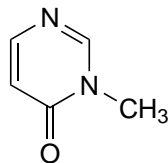
^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.2 ($CH_2C=O$), 162.1 (C_{Pyrn}^2), 161.0 (C_{Bnth}^2), 160.9 (C_{Pyrn}^4), 152.3 (C_{Pyrn}^6H), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 139.8 (C_{Benz}^1), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 128.2 (d, $^2J_{CF}$ = 31.8 Hz, C_{Benz}^4), 127.6 ($C_{Benz}^{2/6}H$), 125.7 (q, $^3J_{CF}$ = 3.7 Hz, $C_{Benz}^{3/5}H$), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 272.5 Hz, $C_{Bnth}^6-CF_3$), 124.2 (d, $^1J_{CF}$ = 271.4 Hz, $C_{Benz}^4-CF_3$), 123.9 (d, $^2J_{CF}$ = 32.1 Hz, C_{Bnth}^6), 123.1 (d, $^3J_{CF}$ = 3.1 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.1 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.2 Hz, C_{Bnth}^7H), 110.3 (C_{Pyrn}^5H), 46.7 (N- CH_2), 35.9 ($CH_2C=O$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 326.9 [$M-C_8H_4F_3N_2S^-$] $^+$.

HPLC (2): t_R = 8.4 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3065, 2978, 2922, 1695, 1655, 1620, 1562, 1493, 1429, 1383, 1369, 1319, 1285, 1263, 1252, 1240, 1221, 1165, 1153, 1136, 1118, 1111, 1086, 1049, 1016, 984, 868, 852, 826, 799, 772, 746, 731, 719, 677, 640 \text{ cm}^{-1}$.

Schmelzpunkt: 200 °C.

8.3.5. Synthese des alkylsubstituierten Pyrimidinon-Derivats**3-Methylpyrimidin-4(3H)-on (73)**

$C_5H_6N_2O$ (M_r 110.12)

4(3H)-Pyrimidinon (**45**, 239 mg, 2.49 mmol) wurde in MeOH gelöst (6 mL) und Kaliumcarbonat (795 mg, 5.75 mmol) sowie Methyljodid (266 μ L, 4.27 mmol) wurden zugegeben. Es wurde für 16 h unter Rückfluss erhitzt, anschließend abkühlen gelassen und filtriert. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die wässr. Phase wurde dreimal mit Chloroform (je 50 mL) extrahiert und die verein. org. Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Es wurde über Celite filtriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-Methylpyrimidin-4(3H)-on (**73**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

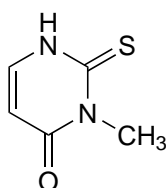
Ausbeute: 98.1 mg (0.89 mmol, 36 %)

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 8.45 (bs, 1 H, $C_{\text{Pyrim}}^2\text{H}$), 7.90 (d, 3J = 6.6 Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrim}}^6\text{H}$), 6.38 (dd, 3J = 6.6 Hz, 5J = 0.9 Hz, 1 H, $C_{\text{Pyrim}}^5\text{H}$), 3.39 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 160.7 (C_{Pyrim}^4), 153.7 ($C_{\text{Pyrim}}^6\text{H}$), 153.1 ($C_{\text{Pyrim}}^2\text{H}$), 114.5 ($C_{\text{Pyrim}}^5\text{H}$), 33.8 (CH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 111.3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HPLC (2): t_R = 2.1 min.

3-Methyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (74)

C₅H₆N₂OS (M_r 142.18)

73 (93.6 mg, 0.85 mmol) und Natriumhydrogencarbonat (434 mg, 5.17 mmol) wurden vorgelegt und in einer Mischung aus Diethylether (3.5 mL) und deion. Wasser (3.5 mL) gelöst. Unter kräftigem Rühren wurde Chlorthioameisensäure-*O*-phenylester (**51**, 300 μL, 2.15 mmol) zugetropft und das Reaktionsgemisch für 5.5 h bei RT gerührt. Es wurde in reichlich EE aufgenommen und die Phasen separiert. Die org. Phase wurde dreimal mit deion. Wasser und gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in MeOH (10 mL) aufgenommen und mit TEA (365 μL, 2.63 mmol) versetzt. Es wurde für 16 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 3-Methyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**74**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 91.8 mg (0.65 mmol, 76 %).

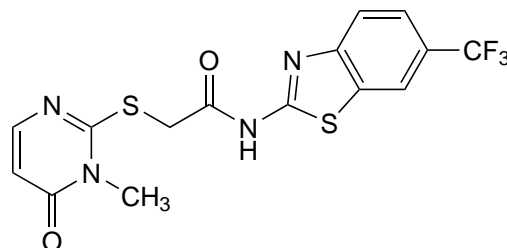
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.57 (bs, 1 H, NH), 7.45 (dd, ³*J* = 7.5 Hz, ³*J* = 5.8 Hz, 1 H, C_{Pyrrn}⁶H), 5.94 (dd, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 1.4 Hz, 1 H, C_{Pyrrn}⁵H), 3.50 (s, 3 H, CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 176.7 (C_{Pyrrn}²), 160.5 (C_{Pyrrn}⁴), 140.7 (C_{Pyrrn}⁶H), 103.9 (C_{Pyrrn}⁵H), 33.0 (CH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 143.1 [M+H]⁺.

HPLC (2): *t*_R = 3.6 min.

2-((3-Methyl-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (75)



$C_{15}H_{11}F_3N_4O_2S_2$ (M_r 400.39)

75 wurde nach der allgemeinen Synthesevorschrift 1 erhalten. Der Benzothiazol-Linker **28** (126 mg, 0.43 mmol) und 3-Methyl-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**74**, 57.0 mg, 0.40 mmol) wurden zusammen mit TEA (167 μ L, 1.20 mmol) in abs. DMF (4 mL) erhitzt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Flash-Säulenchromatographie (Gradient EE/PE). Es wurde zusätzlich aus EtOH/Wasser umkristallisiert. 2-((3-Methyl-4-oxo-3,4-dihydropyrimidin-2-yl)thio)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**75**) wurde als farblose Nadeln erhalten.

Ausbeute: 126 mg (0.32 mmol, 79 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.95 (bs, 1 H, NH), 8.51 (s, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.93 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.76 (dd, 3J = 8.5 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.74 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^6H), 6.17 (d, 3J = 6.5 Hz, 1 H, C_{Pyrn}^5H), 4.37 (s, 2 H, CH_2), 3.47 (s, 3 H, CH_3) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 167.4 ($CH_2C=O$), 162.1 (C_{Pyrn}^2), 161.1 (C_{Bnth}^2), 160.7 (C_{Pyrn}^4), 151.8 (C_{Pyrn}^6H), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 272.5 Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF}$ = 31.8 Hz, C_{Bnth}^6), 123.1 (d, $^3J_{CF}$ = 3.4 Hz, C_{Bnth}^5H), 121.1 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF}$ = 4.0 Hz, C_{Bnth}^7H), 109.7 (C_{Pyrn}^5H), 35.7 (CH_3), 30.2 (CH_3) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 182.9 [$M-CH_3SO_3^-$] $^+$.

HPLC (2): t_R = 6.9 min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3171, 3130, 3057, 2988, 2941, 1661, 1568, 1545, 1491, 1410, 1377, 1317, 1281, 1242, 1221, 1157, 1119, 1084, 1051, 986, 924, 880, 835, 826, 791, 743, 719, 677, 648$ cm^{-1} .

Schmelzpunkt: 224 °C.

8.3.6. Serie 5

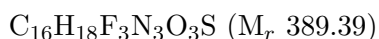
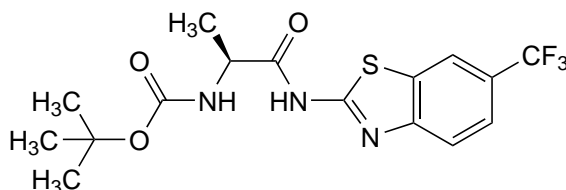
8.3.6.1. Kupplung von Benzothiazol **27** mit Boc-geschützten Aminosäuren

Allgemeine Synthesevorschrift

Die Kupplungen der *N*-Boc-geschützten Aminosäuren wurden im Rahmen dieser Arbeit von KEVIN BRESSLER in seiner Bachelorarbeit durchgeführt.

Die jeweilige *N*-Boc-geschützte L-Aminosäure wurde zusammen mit 2-Amino-6-(trifluormethyl)benzothiazol (**27**) und Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) in DCM vorgelegt. Es wurde tropfenweise DIPEA zugegeben und das Reaktionsgemisch bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand in EE aufgenommen. Es wurde mit 5 % Kaliumhydrogensulfat-Lsg., mit Natriumchlorid-Lsg., mit 5 % Natriumhydrogencarbonat-Lsg. und nochmal mit Natriumchlorid-Lsg. gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Einige der Rohprodukte wurden anschließend säulenchromatographisch gereinigt.^[161]

(S)-*tert*-Butyl-(1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbammat (**82a**)



82a wurde erhalten ausgehend von **27** (240 mg, 1.10 mmol), Boc-Ala-OH (**77a**, 189 mg, 1.00 mmol), PyBOP (573 mg, 1.10 mmol) und DIPEA (340 μL , 2.00 mmol) in DCM (1.0 mL). Es wurde für 3.5 h bei RT gerührt. *(S)*-*tert*-Butyl-(1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbammat (**82a**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 380 mg (0.96 mmol, 96 %).

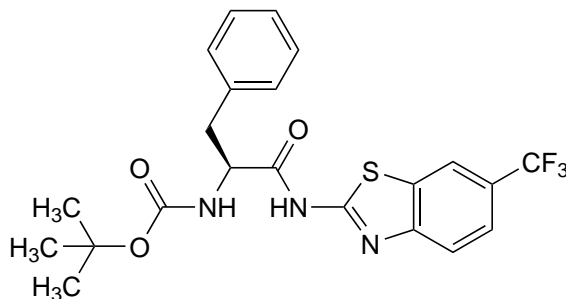
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.70$ (s, 1 H, Bnth-NH), 8.50 (s, 1 H, $C_{Bnth}^7\text{H}$), 7.91 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1 H, $C_{Bnth}^4\text{H}$), 7.74 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1 H, $C_{Bnth}^5\text{H}$), 7.38 (d, $^3J = 7.0$ Hz, 1 H, NH-Boc), 4.29 (quint, $^3J = 6.9$ Hz, 1 H, O=CCHCH $_3$), 1.40-1.20 (m, 9 H, O(CH $_3$) $_3$), 1.30 (d, $^3J = 7.1$ Hz, 3 H, O=CCHCH $_3$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 173.6$ (HN-(C=O)CH), 161.2 (C_{Bnth}^2), 155.3 (O=COTBu), 151.4 (C_{Bnth}^{3a}), 132.1 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF $_3$), 123.7 (d, $^2J_{CF} = 31.1$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.3$ Hz, $C_{Bnth}^5\text{H}$), 121.0 ($C_{Bnth}^4\text{H}$), 120.0 (d, $^3J_{CF} = 4.3$ Hz, $C_{Bnth}^7\text{H}$), 78.4 (C(CH $_3$) $_3$), 50.0 (CHCH $_3$), 28.2 (C(CH $_3$) $_3$), 17.3 (CHCH $_3$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 412.0$ [MNa] $^+$, 390.0 [M+H] $^+$.

HPLC (**2**): $t_R = 7.6$ min.

(*S*)-*tert*-Butyl-(1-oxo-3-phenyl-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbamate (**82b**)



$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ (M_r 465.49)

82b wurde erhalten ausgehend von **27** (240 mg, 1.10 mmol), Boc-Phe-OH (**77b**, 265 mg, 1.00 mmol), PyBOP (572 mg, 1.10 mmol) und DIPEA (340 μL , 2.00 mmol) in DCM (1.0 mL). Es wurde für 1.5 h bei RT gerührt. (*S*)-*tert*-Butyl-(1-oxo-3-phenyl-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbamate (**82b**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 431 mg (0.93 mmol, 93 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.91$ (s, 1 H, Bnth-NH), 8.51 (s, 1 H,

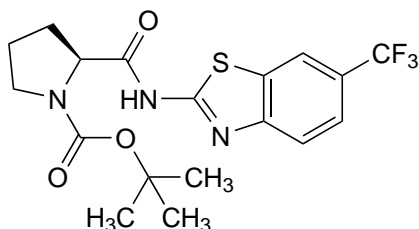
$C_{Bnth}^7(H)$, 7.92 (d, $^3J = 8.3$ Hz, 1 H, $C_{Bnth}^4(H)$), 7.75 (dd, $^3J = 8.7$ Hz, $^4J = 1.7$ Hz, 1 H, $C_{Bnth}^5(H)$), 7.45-7.36 (m, 3 H, NH-Boc, $C_{Phen}^{2/6}(H)$), 7.29 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 2 H, $C_{Phen}^{3/5}(H)$), 7.22-7.18 (m, 1 H, $C_{Phen}^4(H)$), 4.49 (m_c, 1 H, O=CCHCH₂), 3.06 (dd, $^3J = 13.5$ Hz, $^4J = 4.1$ Hz, 1 H, Ph-CH_{2a}), 2.85 (dd, $^3J = 13.4$ Hz, $^4J = 10.7$ Hz, 1 H, Ph-CH_{2b}), 1.31-1.19 (m, 9 H, O(CH₃)₃) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 172.7$ (HN-(C=O)CH), 161.1 (C_{Bnth}^2), 155.6 (O=COTBu), 151.4 (C_{Bnth}^{3a}), 137.5 (C_{phen}^1), 132.1 (C_{Bnth}^{7a}), 129.3 ($C_{Phen}^{2/6}H$), 128.2 ($C_{Phen}^{3/5}H$), 126.5 (C_{Phen}^4H), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF₃), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.3$ Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 120.0 (d, $^3J_{CF} = 4.0$ Hz, C_{Bnth}^7H), 78.7 (C(CH₃)₃), 56.3 (CHCH₂), 36.7 (CH₂), 28.1 (C(CH₃)₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 466.1$ [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 8.8$ min.

(*S*)-*tert*-Butyl-2-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamoyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**82c**)



C₁₈H₂₀F₃N₃O₃S (M_r 415.43)

82c wurde erhalten ausgehend von **27** (240 mg, 1.10 mmol), Boc-Pro-OH (**77c**, 216 mg, 1.00 mmol), PyBOP (573 mg, 1.10 mmol) und DIPEA (340 μ L, 2.00 mmol) in DCM (1.0 mL). Es wurde für 6 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). (*S*)-*tert*-Butyl-2-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamoyl)pyrrolidin-1-carboxylat (**82c**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 218 mg (0.52 mmol, 52 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 12.81$ (s, 1 H, Bnth-NH), 8.51 (s, 1 H,

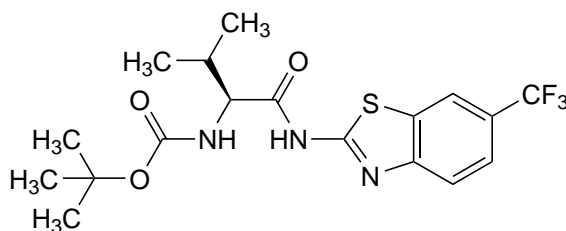
C_{Bnth}^7H), 7.91 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.74 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 4.47-4.39 (m, 1 H, O=CCH), 3.49-3.32 (m, 2 H, $C_{Pyr}^5H_2$), 2.31-2.20 (m, 1 H, $C_{Pyr}^3H_{2a}$), 1.98-1.77 (m, 3 H, $C_{Pyr}^3H_{2b}$, $C_{Pyr}^4H_2$), 1.39-1.22 (m, 9 H, O(CH₃)₃) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 173.2$ (HN-(C=O)CH), 161.2 (C_{Bnth}^2), 152.8 (O=COTBu), 151.4 (C_{Bnth}^{3a}), 132.1 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 272.0$ Hz, CF₃), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 2.9$ Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 120.1 (d, $^3J_{CF} = 4.2$ Hz, C_{Bnth}^7H), 78.9 (C(CH₃)₃), 59.6 (C_{Pyr}^2H), 46.5 (C_{Pyr}^5H), 30.4 (C_{Pyr}^3H), 28.0 (C(CH₃)₃), 23.8 (C_{Pyr}^4H) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 438.0$ [MNa]⁺, 416.0 [M+H]⁺.

HPLC (2): $t_R = 8.0$ min.

(*S*)-*tert*-Butyl-(3-methyl-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)butan-2-yl)carbamate (**82d**)



C₁₈H₂₂F₃N₃O₃S (M_r 417.13)

82d wurde erhalten ausgehend von **27** (363 mg, 1.66 mmol), Boc-Val-OH (**77d**, 327 mg, 1.51 mmol), PyBOP (860 mg, 1.65 mmol) und DIPEA (510 μ L, 3.00 mmol) in DCM (2.0 mL). Es wurde für 1 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). (*S*)-*tert*-Butyl-(3-methyl-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)butan-2-yl)carbamate (**82d**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 470 mg (1.13 mmol, 75 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 12.71$ (bs, 1 H, Bnth-NH), 8.50 (s, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.92 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.75 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.6$ Hz, 1 H,

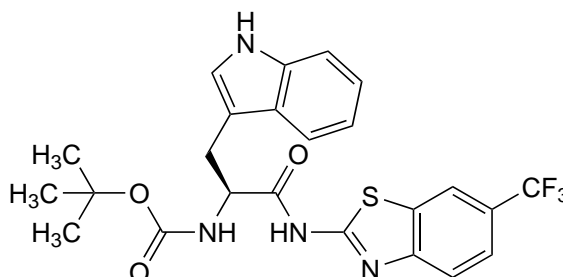
$C_{Bnth}^5(H)$, 7.24 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1 H, NH-Boc), 4.13 (t, $^3J = 7.6$ Hz, 1 H, O=CCH), 2.09-2.01 (m, 1 H, $CH(CH_3)_2$), 1.38-1.25 (m, 9 H, $O(CH_3)_3$), 0.91-0.89 (m, 6 H, $CH(CH_3)_2$) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 172.6$ (HN-(C=O)CH), 160.9 (C_{Bnth}^2), 155.7 (O=COTBu), 151.3 (C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF_3), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.9$ Hz, $C_{Bnth}^5(H)$), 121.0 ($C_{Bnth}^4(H)$), 120.0 (d, $^3J_{CF} = 4.5$ Hz, $C_{Bnth}^7(H)$), 78.4 ($C(CH_3)_3$), 59.8 (O=CCH), 30.0 ($CH(CH_3)_2$), 27.9 ($C(CH_3)_3$), 19.1 ($CHCH_{3a}$), 18.5 ($CHCH_{3b}$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 440.0$ [MNa] $^+$, 418.0 [M+H] $^+$.

HPLC (2): $t_R = 8.4$ min.

(*S*)-*tert*-Butyl-(3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbamate (**82e**)



$C_{24}H_{23}F_3N_4O_3S$ (M_r 504.14)

82e wurde erhalten ausgehend von **27** (360 mg, 1.65 mmol), Boc-Trp-OH (**77e**, 456 mg, 1.50 mmol), PyBOP (859 mg, 1.65 mmol) und DIPEA (510 μ L, 3.00 mmol) in DCM (2.0 mL). Es wurde für 2 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). (*S*)-*tert*-Butyl-(3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbamate (**82e**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 421 mg (0.83 mmol, 56 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.93$ (bs, 1 H, Bnth-NH), 10.86 (s, 1 H,

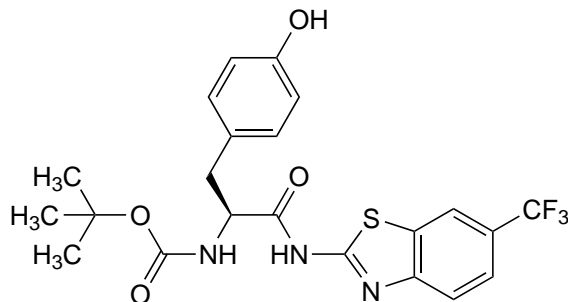
NH_{Indol}), 8.51 (s, 1 H, C_{Bnth}^7H), 7.91 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.75 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.8$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 7.74 (d, $^3J = 7.6$ Hz, 1 H, C_{Indol}^4H), 7.32 (d, $^3J = 8.4$ Hz, 1 H, C_{Indol}^7H), 7.26 (m, 1 H, NH -Boc), 7.21 (s, 1 H, C_{Indol}^2H), 7.05 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 1 H, C_{Indol}^6H), 6.96 (t, $^3J = 7.4$ Hz, 1 H, C_{Indol}^5H), 4.57-4.44 (m, 1 H, $O=CCH$), 3.21-3.16 (m, 1 H, CH_{2a}), 3.06-3.00 (m, 1 H, CH_{2b}), 1.32-1.15 (m, 9 H, $O(CH_3)_3$) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 173.1$ (HN-($C=O$)CH), 161.2 (C_{Bnth}^2), 155.5 ($O=COtBu$), 151.4 (C_{Bnth}^{3a}), 136.1 (C_{Indol}^{7a}), 132.1 (C_{Bnth}^{7a}), 127.2 (C_{Indol}^{3a}), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.9$ Hz, CF_3), 124.3 (C_{Indol}^2H), 123.8 (d, $^2J_{CF} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.0 (d, $^3J_{CF} = 3.8$ Hz, C_{Bnth}^5H), 121.0 (C_{Bnth}^4H), 120.9 (C_{Indol}^6H), 120.0 (d, $^3J_{CF} = 4.6$ Hz, C_{Bnth}^7H), 118.8 (C_{Indol}^4H), 118.3 (C_{Indol}^5H), 111.3 (C_{Indol}^7H), 109.3 (C_{Indol}^3), 78.4 ($C(CH_3)_3$), 55.4 ($O=CCH$), 28.2 ($C(CH_3)_3$), 27.3 ($CHCH_2$) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 505.0$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 8.5$ min.

(*S*)-*tert*-Butyl-(3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbamate (**82f**)



$C_{22}H_{22}F_3N_3O_4S$ (M_r 481.49)

82f wurde erhalten ausgehend von **27** (361 mg, 1.65 mmol), Boc-Tyr-OH (**77f**, 422 mg, 1.50 mmol), PyBOP (865 mg, 1.66 mmol) und DIPEA (510 μ L, 3.00 mmol) in DCM (2.0 mL). Es wurde für 1 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). (*S*)-*tert*-Butyl-(3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-yl)carbamate (**82f**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 48.0 mg (0.10 mmol, 7 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.84 (s, 1 H, Bnth-NH), 9.22 (s, 1 H, OH), 8.50 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.92 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.75 (dd, ³*J* = 8.6 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.34-7.25 (m, 1 H, NH-Boc), 7.13 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 2 H, C^{2/6}_{Phen}H), 6.65 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 2 H, C^{3/5}_{Phen}H), 4.43-4.28 (m, 1 H, O=CCH), 2.95-2.85 (m, 1 H, CH_{2a}), 2.77-2.71 (m, 1 H, CH_{2b}), 1.33-1.20 (m, 9 H, O(CH₃)₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 172.8 (HN-(C=O)CH), 161.1 (C²_{Bnth}), 156.0 (C⁴_{Phen}), 155.6 (O=C*Ot*Bu), 151.4 (C^{3a}_{Bnth}), 132.0 (C^{7a}_{Bnth}), 130.3 (C^{2/6}_{Phen}H), 127.4 (C¹_{Phen}), 124.6 (d, ¹*J*_{CF} = 271.9 Hz, CF₃), 123.8 (d, ²*J*_{CF} = 31.7 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.0 (d, ³*J*_{CF} = 3.5 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.0 (C⁴_{Bnth}H), 120.0 (d, ³*J*_{CF} = 3.9 Hz, C⁷_{Bnth}H), 114.9 (C^{3/5}_{Phen}H), 78.4 (C(CH₃)₃), 56.6 (O=CCH), 36.0 (CH₂), 28.2 (C(CH₃)₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 482.0 [M+H]⁺.

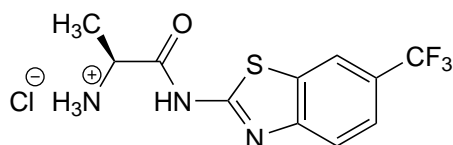
HPLC (2): *t*_R = 7.6 min.

8.3.6.2. Synthese der Hydrochloride

Allgemeine Synthesevorschrift

Die zuvor synthetisierten Kupplungsprodukte wurden in Dioxan gelöst und mit einer 4 M HCl/Dioxan-Lösung versetzt. Es wurde für 24 h gerührt und i. Vak. eingengt. Die weitere Aufreinigung wird im jeweiligen Unterabschnitt detailliert beschrieben. Die Synthese der Hydrochloride wurde im Rahmen dieser Arbeit von K. Breßler durchgeführt.^[161]

(*S*)-1-Oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammoniumchlorid (**83a**)



C₁₁H₁₀F₃N₃OSxHCl (M_r 325.73)

83a wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82a** (180 mg, 0.46 mmol) in

Dioxan (2.0 mL) mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung (4.6 mL, 18.4 mmol). Es wurde für 24 h bei RT gerührt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und mit EE gewaschen. Die wässr. Phase wurde i. Vak. eingengt. (*S*)-1-Oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammoniumchlorid (**83a**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 91.0 mg (0.28 mmol, 61 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.34 (s, 1 H, Bnth-NH), 8.69 (bs, 3 H, NH₃), 8.55 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.95 (d, ³J = 8.4 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.77 (dd, ³J = 8.7 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 4.31-4.22 (m, 1 H, C=OCH), 1.53 (d, ³J = 7.1 Hz, 3 H, CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 170.2 (HN-(C=O)CH), 160.6 (C²_{Bnth}), 151.1 (C^{3a}_{Bnth}), 132.1 (C^{7a}_{Bnth}), 124.6 (d, ¹J_{CF} = 272.3 Hz, CF₃), 124.1 (d, ²J_{CF} = 32.0 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.2 (d, ³J_{CF} = 2.9 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.3 (C⁴_{Bnth}H), 120.2 (d, ³J_{CF} = 4.5 Hz, C⁷_{Bnth}H), 48.7 (O=CCH), 16.7 (CH₃) ppm.

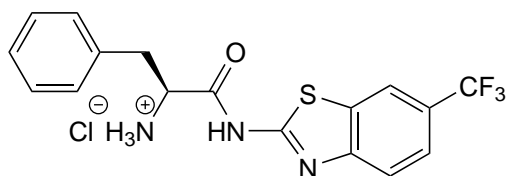
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 289.9 [M-Cl⁻]⁺.

HPLC (**2**): *t_R* = 7.2 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2963, 2874, 1703, 1570, 1547, 1501, 1414, 1319, 1269, 1250, 1165, 1113, 1082, 1051, 964, 880, 827, 795, 721, 691, 642 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 168 °C.

(*S*)-1-Oxo-3-phenyl-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammoniumchlorid (**83b**)



C₁₇H₁₄F₃N₃OSxHCl (M_r 401.83)

83b wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82b** (135 mg, 0.29 mmol) in Di-

oxan (1.5 mL) mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung (2.9 mL, 11.6 mmol). Es wurde für 24 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde aus 2-Propanol umkristallisiert. (*S*)-1-Oxo-3-phenyl-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammoniumchlorid (**83b**) wurde nach dem Trocknen als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 109 mg (0.27 mmol, 93 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.33 (s, 1 H, Bnth-NH), 8.74 (bs, 3 H, NH₃), 8.56 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.95 (d, ³*J* = 8.2 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.77 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.29 (m_c, 5 H, C_{Phen}H), 4.46 (bs, 1 H, C=OCH), 3.30-3.18 (m, 2 H, CH₂) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 168.7 (HN-(C=O)CH), 160.2 (C²_{Bnth}), 151.1 (C^{3a}_{Bnth}), 134.3 (C¹_{Phen}), 132.1 (C^{7a}_{Bnth}), 129.6 (C^{3/5}_{Phen}H), 128.7 (C^{2/6}_{Phen}H), 127.4 (C⁴_{Phen}H), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 271.8 Hz, CF₃), 124.2 (d, ²*J*_{CF} = 31.8 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.2 (d, ³*J*_{CF} = 4.0 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.4 (C⁴_{Bnth}H), 120.2 (d, ³*J*_{CF} = 3.8 Hz, C⁷_{Bnth}H), 53.9 (O=CCH), 36.6 (CH₂) ppm.

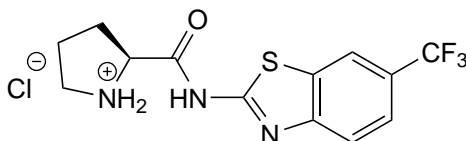
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 365.9 [M-Cl⁻]⁺.

HPLC (2): *t*_R = 8.7 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2967, 2889, 2835, 1709, 1558, 1541, 1477, 1416, 1331, 1302, 1285, 1271, 1250, 1188, 1169, 1150, 1132, 1105, 1092, 1072, 976, 939, 924, 874, 847, 816, 783, 758, 737, 719, 710, 698, 692, 640 cm⁻¹.

Zersetzungstemp.: 235 °C.

(*S*)-2-((6-(Trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamoyl)pyrrolidin-1-iumchlorid (**83c**)



C₁₃H₁₂F₃N₃OSxHCl (M_r 351.77)

83c wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82c** (120 mg, 0.29 mmol) in Dioxan (2.5 mL) mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung (2.9 mL, 11.6 mmol). Es wurde für 24 h bei RT gerührt. Das Produkt wurde mit eiskaltem 2-Propanol gewaschen. (*S*)-2-((6-(Trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)carbamoyl)pyrrolidin-1-iumchlorid (**83c**) wurde nach dem Trocknen als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 59.0 mg (0.17 mmol, 59 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.36 (bs, 1 H, Bnth-NH), 10.37 (bs, 1 H, NH_{2a}), 8.97 (bs, 1 H, NH_{2b}), 8.56 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.96 (d, ³*J* = 8.4 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.77 (dd, ³*J* = 8.4 Hz, ⁴*J* = 1.3 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 4.59 (t, ³*J* = 7.7 Hz, 1 H, C=OCH), 3.34-3.24 (m, 2 H, C⁵_{Pyr}H₂), 2.47-2.40 (m, 1 H, C³_{Pyr}H_{2a}), 2.10-2.02 (m, 1 H, C³_{Pyr}H_{2b}), 1.99-1.92 (m, 2 H, C⁴_{Pyr}H₂) ppm.

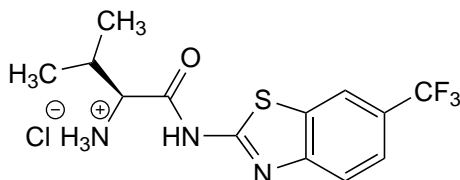
¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 168.7 (HN-(C=O)CH), 160.5 (C²_{Bnth}), 151.2 (C^{3a}_{Bnth}), 132.1 (C^{7a}_{Bnth}), 124.5 (d, ¹*J*_{CF} = 271.6 Hz, CF₃), 124.1 (d, ²*J*_{CF} = 31.9 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.2 (d, ³*J*_{CF} = 4.0 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.4 (C⁴_{Bnth}H), 120.2 (d, ³*J*_{CF} = 4.5 Hz, C⁷_{Bnth}H), 59.3 (O=CCH), 45.8 (C⁵_{Pyr}H₂), 29.3 (C³_{Pyr}H₂), 23.5 (C⁴_{Pyr}H₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 315.9 [M-Cl⁻]⁺.

HPLC (2): *t*_R = 8.9 min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2970, 2899, 2723, 1697, 1549, 1466, 1414, 1360, 1323, 1265, 1248, 1161, 1111, 1086, 1053, 1009, 947, 878, 822, 793, 746, 719, 691, 642 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 226 °C.

(S)-3-Methyl-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)amino)butan-2-ammoniumchlorid (83d)

$C_{13}H_{14}F_3N_3OS \cdot xHCl$ (M_r 353.79)

83d wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82d** (204 mg, 0.49 mmol) in Dioxan (4 mL) mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung (4.9 mL, 19.6 mmol). Es wurde für 4 h bei RT gerührt. Ein farbloser Feststoff wurde abfiltriert, mit Dioxan gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 149 mg (0.42 mmol, 86 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 13.31 (bs, 1 H, Bnth-NH), 8.71 (bs, 3 H, NH₃), 8.55 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.96 (d, 3J = 8.8 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.77 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 1.6 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 4.12-4.06 (M, 1 H, C=OCH), 2.28 (oct, 1 H, CH(CH₃)₂), 1.00 (dd, 3J = 6.8 Hz, 4J = 3.4 Hz, 6 H, CH(CH₃)₂) ppm.

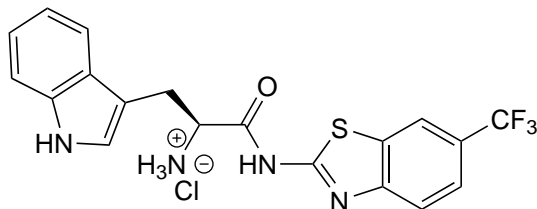
^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 168.9 (HN-(C=O)CH), 160.3 (C²_{Bnth}), 151.1 (C^{3a}_{Bnth}), 132.1 (C^{7a}_{Bnth}), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.8 Hz, CF₃), 124.2 (d, $^2J_{CF}$ = 31.9 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.3 (d, $^3J_{CF}$ = 3.3 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.4 (C⁴_{Bnth}H), 120.3 (d, $^3J_{CF}$ = 4.0 Hz, C⁷_{Bnth}H), 57.6 (O=CCH), 30.0 (CH(CH₃)₂), 18.4 (CH_{3a}), 17.9 (CH_{3b}) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 317.9 [M-Cl⁻]⁺.

HPLC (2): t_R = 7.7 min, 97 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3161, 3073, 2976, 2847, 2174, 1748, 1694, 1572, 1537, 1504, 1418, 1393, 1348, 1317, 1279, 1240, 1209, 1186, 1171, 1119, 1084, 1059, 1009, 945, 918, 891, 835, 806, 783, 772, 719, 700, 667, 644 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 204 °C.

(S)-3-(1*H*-Indol-3-yl)-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammoniumchlorid (83e)

$C_{19}H_{15}F_3N_4OS \cdot HCl$ (M_r 440.87)

83e wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82e** (168 mg, 0.33 mmol) in Dioxan (2 mL) mit 4 M HCl/Dioxan-Lösung (3.6 mL, 14.4 mmol). Es wurde für 24 h bei RT gerührt. Ein brauner Feststoff wurde abfiltriert, mit Dioxan gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 128 mg (0.29 mmol, 81 %).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 13.40 (bs, 1 H, Bnth-NH), 11.10 (s, 1 H, NH_{Indol}), 8.71 (bs, 3 H, NH₃), 8.55 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.94 (d, 3J = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.77 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 1.5 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.66 (d, 3J = 7.9 Hz, 1 H, C⁴_{Indol}H), 7.34 (d, 3J = 8.1 Hz, 1 H, C⁷_{Indol}H), 7.24 (bs, 1 H, C²_{Indol}H), 7.04 (t, 3J = 7.5 Hz, 1 H, C⁶_{Indol}H), 6.91 (t, 3J = 7.4 Hz, 1 H, C⁵_{Indol}H), 4.43 (sext., 3J = 5.8 Hz, 1 H, C=OCH), 3.40 (t, 3J = 5.7 Hz, 2 H, CHCH₂) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 169.3 (HN-(C=O)CH), 160.5 (C²_{Bnth}), 151.1 (C^{3a}_{Bnth}), 136.3 (C^{7a}_{Indol}), 132.1 (C^{7a}_{Bnth}), 127.0 (C^{3a}_{Indol}), 125.1 (C²_{Indol}H), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.9 Hz, CF₃), 124.1 (d, $^2J_{CF}$ = 31.6 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.2 (d, $^3J_{CF}$ = 3.1 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.3 (C⁶_{Indol}H), 121.2 (C⁴_{Bnth}H), 120.2 (d, $^3J_{CF}$ = 4.0 Hz, C⁷_{Bnth}H), 118.5 (C⁵_{Indol}H, C⁴_{Indol}H), 111.5 (C⁷_{Indol}H), 106.2 (C³_{Indol}), 53.1 (O=CCH), 27.0 (CHCH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 404.9 [M-Cl⁻]⁺.

HPLC (2): t_R = 8.5 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 3381, 3030, 2924, 2853, 1709, 1572, 1541, 1497, 1422, 1348, 1317, 1269,

1238, 1198, 1165, 1119, 1082, 951, 914, 872, 835, 799, 746, 712, 665, 642 cm⁻¹.

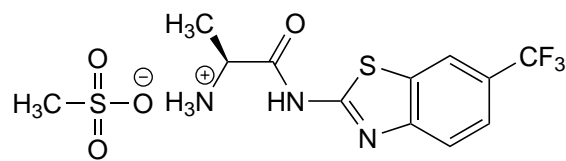
Zersetzungstemp.: 218 °C.

8.3.6.3. Synthese der Mesilate

Allgemeine Synthesevorschrift

Die entsprechende Zwischenstufe wurde in einem 12:1-Gemisch aus Toluol/2- Propanol gelöst und mit Methansulfonsäure versetzt. Es wurde für 24 h bei 50 °C unter Stickstoffatmosphäre gerührt und anschließend auf 10 °C abgekühlt.

(*S*)-1-Oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammonium-methansulfonat (**84a**)



C₁₁H₁₀F₃N₃OS_xCH₃O₃S (M_r 385.38)

84a wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82a** (162 mg, 0.42 mmol) in Toluol (3.3 mL) und 2-Propanol (0.6 mL) mit Methansulfonsäure (41.0 μL, 0.63 mmol). Nach Abkühlen auf 10 °C wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an RP-Kieselgel gereinigt (Gradient MeOH/H₂O). (*S*)-1-Oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammoniummethansulfonat (**84a**) wurde als farbloser Feststoff erhalten.

Ausbeute: 27.0 mg (69.0 μmol, 16 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 13.14 (s, 1 H, Bnth-NH), 8.57 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 8.36 (bs, 3 H, NH₃), 7.97 (d, ³J = 8.5 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.79 (dd, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 1.7 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 4.21 (m_c, 1 H, C=OCH), 2.33 (s, 3 H, SCH₃), 1.51 (d, ³J = 7.1 Hz, 3 H, CHCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 170.0 (HN-(C=O)CH), 160.6 (C²_{Bnth}), 151.1

(C_{Bnth}^{3a}), 132.0 (C_{Bnth}^{7a}), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.8$ Hz, CF_3), 124.2 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.3 (d, $^3J_{CF} = 3.5$ Hz, C_{Bnth}^5 H), 121.4 (C_{Bnth}^4 H), 120.3 (d, $^3J_{CF} = 4.1$ Hz, C_{Bnth}^7 H), 48.9 (O=CCH), 39.8 (SCH₃), 16.7 (CHCH₃) ppm.

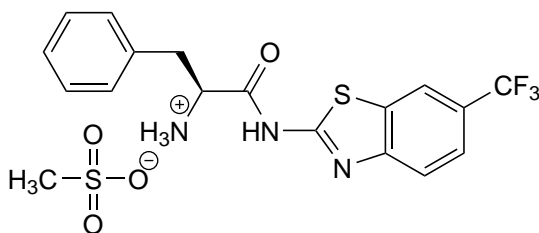
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 289.9$ [M-CH₃SO₃⁻]⁺.

HPLC (2): $t_R = 9.6$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3148, 2940, 1705, 1614, 1557, 1416, 1319, 1271, 1159, 1113, 1082, 1042, 964, 880, 826, 777, 746, 721, 691$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt.: 148 °C.

(S)-1-Oxo-(3-phenyl)-1-((6-(trifluormethyl)benzo[d]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammonium-methansulfonat (84b)



C₁₇H₁₅F₃N₃OSxCH₃O₃S (M_r 461.47)

84b wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82b** (135 mg, 0.29 mmol) in Toluol (2.7 mL) und 2-Propanol (0.5 mL) mit Methansulfonsäure (28.3 μL, 0.44 mmol). Beim Abkühlen auf 10 °C fiel ein farbloser Feststoff aus. Dieser wurde abfiltriert, mit Toluol und 2-Propanol gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 75.4 mg (0.16 mmol, 55 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 13.30$ (s, 1 H, Bnth-NH), 8.69 (bs, 3 H, NH₃), 8.56 (s, 1 H, C_{Bnth}^7 H), 7.95 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4 H), 7.78 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 1.4$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5 H), 7.35-7.23 (m, 5 H, CH_{Phen}), 4.45 (bs, 1 H, C=OCH), 3.30-3.16 (m, 2 H, CHCH₂), 2.34 (s, 3 H, SCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 168.7$ (HN-(C=O)CH), 160.2 (C_{Bnth}^2), 151.2

(C_{Bnth}^{3a}), 134.3 (C_{Phen}^1), 132.1 (C_{Bnth}^{7a}), 129.6 ($C_{Phen}^{2/6}$ H), 128.7 ($C_{Phen}^{3/5}$ H), 127.4 (C_{Phen}^4 H), 124.5 (d, $^1J_{CF} = 272.0$ Hz, CF_3), 124.2 (d, $^2J_{CF} = 31.8$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.2 (d, $^3J_{CF} = 3.1$ Hz, C_{Bnth}^5 H), 121.4 (C_{Bnth}^4 H), 120.2 (d, $^3J_{CF} = 4.2$ Hz, C_{Bnth}^7 H), 53.9 (O=CCH), 39.8 (SCH₃), 36.6 (CHCH₂) ppm.

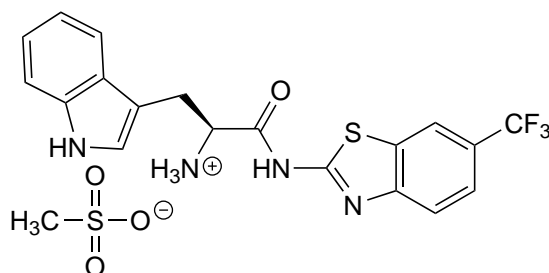
LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 366.0$ [M-CH₃SO₃⁻]⁺.

HPLC (**2**): $t_R = 8.7$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 2897, 2361, 1709, 1558, 1479, 1416, 1329, 1302, 1271, 1250, 1188, 1169, 1150, 1134, 1107, 1092, 1074, 976, 874, 816, 785, 758, 737, 692$ cm⁻¹.

Zersetzungstemp.: 230 °C.

(*S*)-3-(1*H*-Indol-3-yl)-1-oxo-1-((6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)amino)propan-2-ammonium-methansulfonat (**84e**)



C₁₉H₁₆F₃N₄OS_xCH₃O₃S (M_r 500.51)

84e wurde erhalten ausgehend von dem Kupplungsderivat **82e** (180 mg, 0.36 mmol) in Toluol (5.0 mL) und 2-Propanol (2.0 mL) mit Methansulfonsäure (35.0 μL, 0.54 mmol). Beim Abkühlen auf 10 °C fiel ein farbloser Feststoff aus. Dieser wurde abfiltriert, mit eiskaltem 2-Propanol gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 58.0 mg (0.12 mmol, 32 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 13.34$ (bs, 1 H, Bnth-NH), 11.06 (bs, 1 H, NH_{Indol}), 8.56 (s, 1 H, C_{Bnth}^7 H), 8.41 (bs, 3 H, NH₃), 7.96 (d, $^3J = 8.1$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4 H), 7.78 (d, $^3J = 8.5$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5 H), 7.67 (d, $^3J = 7.9$ Hz, 1 H, C_{Indol}^4 H), 7.36 (d, $^3J =$

8.1 Hz, 1 H, $C_{Indol}^7(H)$), 7.22 (s, 1 H, $C_{Indol}^2(H)$), 7.08-7.04 (m, 1 H, $C_{Indol}^6(H)$), 6.94 (t, $^3J = 6.5$ Hz, 1 H, $C_{Indol}^5(H)$), 4.38 (bs, 1 H, C=OCH), 3.53-3.26 (m, 2 H, CHCH₂), 2.35 (s, 3 H, SCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): $\delta = 169.2$ (HN-(C=O)CH), 160.5 (C_{Bnth}^2), 151.2 (C_{Bnth}^{3a}), 136.3 (C_{Indol}^{7a}), 132.1 (C_{Bnth}^{7a}), 127.0 (C_{Indol}^{3a}), 125.2 ($C_{Indol}^2(H)$), 124.6 (d, $^1J_{CF} = 271.9$ Hz, CF₃), 124.2 (d, $^2J_{CF} = 31.9$ Hz, C_{Bnth}^6), 123.2 (d, $^3J_{CF} = 3.7$ Hz, $C_{Bnth}^5(H)$), 121.4 ($C_{Indol}^6(H)$), 121.3 ($C_{Bnth}^4(H)$), 120.2 (d, $^3J_{CF} = 4.9$ Hz, $C_{Bnth}^7(H)$), 118.5 ($C_{Indol}^5(H)$), 118.4 ($C_{Indol}^4(H)$), 111.6 ($C_{Indol}^7(H)$), 106.2 (C_{Indol}^3), 53.3 (O=CCH), 39.8 (SCH₃), 27.2 (CHCH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 404.9$ [M-CH₃SO₃⁻]⁺.

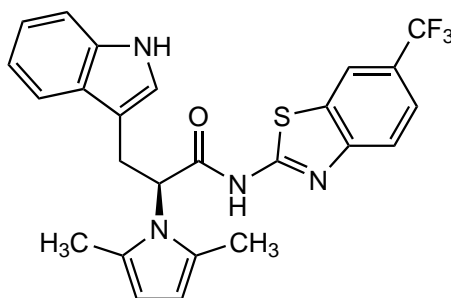
HPLC (**2**): $t_R = 8.4$ min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu} = 3312, 2938, 1707, 1558, 1533, 1458, 1416, 1319, 1277, 1202, 1161, 1117, 1086, 1042, 951, 878, 826, 799, 777, 737, 694$ cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 208 °C.

8.3.6.4. Funktionalisierung der Aminofunktion

(*S*)-2-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)propanamid (**86**)



C₂₅H₂₁F₃N₄OS (M_r 482.53)

Es wurde das Hydrochlorid **83e** (71 mg, 0.16 mmol) in THF (2 mL) und DMF (1 mL) gelöst. TEA wurde zugegeben (22.2 μ L, 0.16 mmol) und es wurde für 30 min bei 0 °C gerührt.

Es wurden 2,5-Hexandion (**85**, 22.2 μL , 0.19 mmol) und Iod (5.0 mg, 19.7 μmol) hinzugegeben. Nach 24 h Reaktionszeit bei RT wurde das Reaktionsgemisch in DCM aufgenommen und die org. Phase mit Natriumthiosulfat-Lsg. und Natriumhydrogencarbonat-Lsg. gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (95 % PE/EE). (*S*)-2-(2,5-Dimethyl-1*H*-pyrrol-1-yl)-3-(1*H*-indol-3-yl)-*N*-(6-(trifluormethyl)benzo[*d*]thiazol-2-yl)propanamid (**86**) wurde als orangefarbener Feststoff erhalten.

Ausbeute: 31.0 mg (64.2 μmol , 40 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 12.97 (s, 1 H, Bnth-NH), 10.79 (s, 1 H, NH_{Indol}), 8.54 (s, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 7.90 (d, 3J = 7.8 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.75 (dd, 3J = 8.6 Hz, 4J = 1.7 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.60 (d, 3J = 7.8 Hz, 1 H, C⁴_{Indol}H), 7.30 (d, 3J = 8.4 Hz, 1 H, C⁷_{Indol}H), 7.05 (td, 3J = 7.5 Hz, 4J = 1.1 Hz, 1 H, C⁶_{Indol}H), 6.96 (td, 3J = 7.4 Hz, 4J = 1.0 Hz, 1 H, C⁵_{Indol}H), 6.65 (d, 3J = 2.3 Hz, 1 H, C²_{Indol}H), 5.59 (s, 2 H, C^{3/4}_{Pyr}H), 5.26 (s, 1 H, C=OCH), 3.69 (dd, 2J = 14.7 Hz, 3J = 5.4 Hz, 1 H, CHCH_{2a}), 3.31 (dd, 2J = 14.8 Hz, 3J = 10.0 Hz, 1 H, CHCH_{2b}), 2.00 (s, 6 H, CH₃) ppm.

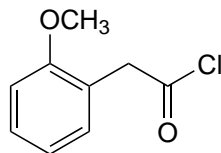
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): δ = 170.5 (HN-(C=O)CH), 161.3 (C²_{Bnth}), 151.3 (C^{3a}_{Bnth}), 135.9 (C^{7a}_{Indol}), 132.1 (C^{7a}_{Bnth}), 128.5 (C^{2/5}_{Pyr}), 127.2 (C^{3a}_{Indol}), 124.6 (d, $^1J_{CF}$ = 271.5 Hz, CF₃), 123.9 (d, $^2J_{CF}$ = 32.0 Hz, C⁶_{Bnth}), 123.9 (C²_{Indol}H), 123.1 (d, $^3J_{CF}$ = 3.2 Hz, C⁵_{Bnth}H), 121.1 (C⁴_{Bnth}H), 120.9 (C⁶_{Indol}H), 120.1 (d, $^3J_{CF}$ = 3.8 Hz, C⁷_{Bnth}H), 118.4 (C⁵_{Indol}H, C⁴_{Indol}H), 111.3 (C⁷_{Indol}H), 109.0 (C³_{Indol}), 106.4 (C^{3/4}_{Pyr}H), 58.7 (O=CCH), 26.6 (CHCH₂), 13.4 (CH₃) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): m/z = 483.0 [M+H]⁺.

HPLC (2): t_R = 8.7 min, 97 %.

8.3.7. Synthese eines DFG-*out*-Inhibitors

2-(2-Methoxyphenyl)acetylchlorid (**91**)



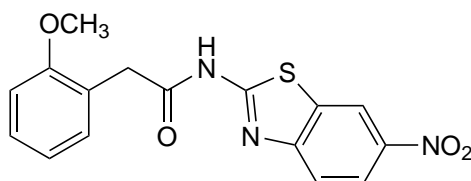
$C_9H_9ClO_2$ (M_r 184.62)

2-(2-Methoxyphenyl)essigsäure (**90**, 333 mg, 2.00 mmol) wurde zusammen mit Thionylchlorid (292 μ L, 4.00 mmol) und DMF (7.70 μ L, 0.10 mmol) in der Mikrowelle (max. 90 Watt) für 10 min erhitzt. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. 2-(2-Methoxyphenyl)acetylchlorid (**91**) wurde als braune Kristalle erhalten.

Ausbeute: 266 mg (1.44 mmol, 72 %).

Das Rohprodukt wurde anschließend direkt ohne Analytik weiterverwendet.

2-(2-Methoxyphenyl)-*N*-(6-nitrobenzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**87**)



$C_{16}H_{13}N_3O_4S$ (M_r 343.36)

Das Rohprodukt von **91** (266 mg, 1.44 mmol) wurde zusammen mit 6-Nitrobenzo[*d*]thiazol-2-amin (**92**, 280 mg, 1.43 mmol) in einem Mikrowellenvial vorgelegt und in THF (3 mL) gelöst. Es wurde für 30 min auf 120 °C in der Mikrowelle erhitzt (max. 100 Watt). Anschließend wurde in DCM aufgenommen und mit 0.1 M HCl, mit gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lsg. und mit gesätt. Natriumchlorid-Lsg. gewaschen. Die org. Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde

mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). 2-(2-Methoxyphenyl)-*N*-(6-nitrobenzo[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**87**) wurde als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 148 mg (0.43 mmol, 30 %).

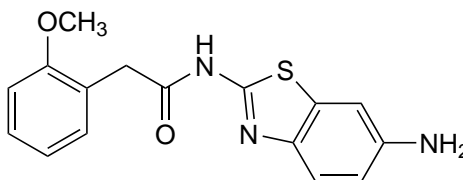
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.94 (s, 1 H, NH), 9.04 (d, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1 H, C⁷_{Bnth}H), 8.28 (dd, ³*J* = 9.0 Hz, ⁴*J* = 2.4 Hz, 1 H, C⁵_{Bnth}H), 7.90 (d, ³*J* = 8.9 Hz, 1 H, C⁴_{Bnth}H), 7.31-7.24 (m, 2 H, C⁶_{Phen}H, C⁴_{Phen}H), 7.00 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 1 H, C³_{Phen}H), 6.93 (t, ³*J* = 7.4 Hz, 1 H, C⁵_{Phen}H), 3.86 (s, 2 H, CH₂), 3.74 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 171.2 (CH₂C=O), 163.6 (C²_{Bnth}), 157.3 (C²_{Phen}), 153.6 (C^{3a}_{Bnth}), 142.9 (C⁶_{Bnth}), 132.2 (C^{7a}_{Bnth}), 131.3 (C⁶_{Phen}H), 128.6 (C⁴_{Phen}H), 122.8 (C¹_{Phen}), 121.8 (C⁵_{Bnth}H), 120.6 (C⁴_{Bnth}H), 120.3 (C⁵_{Phen}H), 119.7 (C⁷_{Bnth}H), 110.8 (C³_{Phen}H), 55.5 (OCH₃), 36.8 (CH₂) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): *m/z* = 343.9 [M+H]⁺.

HPLC (2): *t*_R = 7.4 min.

2-(2-Methoxyphenyl)-*N*-(6-amino[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**88**)



C₁₆H₁₅N₃O₂S (M_r 313.38)

87 (202 mg, 0.59 mmol) wurde in einer 500 mL Hochdruckflasche in reichlich MeOH gelöst und mit einer Spatelspitze Pd-C (10 %) versetzt. Die Druckflasche wurde dreimal evakuiert und mit H₂-Gas gespült. Es wurde ein Druck von 3 bar eingestellt und für 3 h bei RT geschüttelt. Das überschüssige Gas wurde evakuiert, der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie gereinigt (Gradient EE/PE). Das Produkt 2-(2-Methoxyphenyl)-*N*-(6-amino[*d*]thiazol-2-yl)acetamid (**88**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

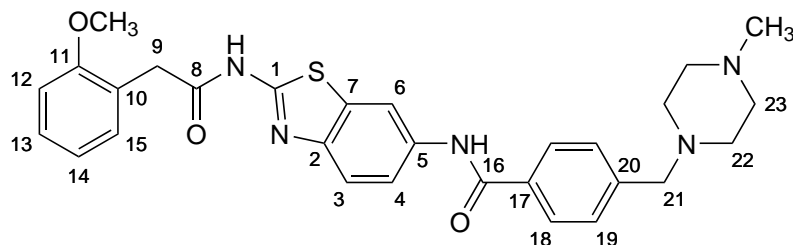
Ausbeute: 142 mg (0.45 mmol, 77 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 12.13$ (s, 1 H, NH), 7.41 (d, $^3J = 8.6$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^4H), 7.28-7.24 (m, 1 H, C_{Phen}^4H), 7.22 (dd, $^3J = 7.4$ Hz, $^4J = 1.5$ Hz, 1 H, C_{Phen}^6H), 6.98-6.97 (m, 2 H, C_{Phen}^3H , C_{Bnth}^7H), 6.91 (dt, $^3J = 7.4$ Hz, $^4J = 0.9$ Hz, 1 H, C_{Phen}^5H), 6.70 (dd, $^3J = 8.6$ Hz, $^4J = 2.2$ Hz, 1 H, C_{Bnth}^5H), 5.16 (s, 2 H, NH_2), 3.75 (s, 2 H, CH_2), 3.74 (s, 3 H, OCH_3) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , 300 K): $\delta = 169.6$ ($CH_2C=O$), 157.3 (C_{Phen}^2), 153.2 (C_{Bnth}^2), 145.7 (C_{Bnth}^6), 139.7 (C_{Bnth}^{3a}), 132.9 (C_{Bnth}^{7a}), 131.1 (C_{Phen}^6H), 128.4 (C_{Phen}^4H), 123.3 (C_{Phen}^1), 120.8 (C_{Bnth}^4H), 120.2 (C_{Phen}^5H), 114.4 (C_{Bnth}^5H), 110.8 (C_{Phen}^3H), 104.1 (C_{Bnth}^7H), 55.5 (OCH_3), 36.7 (CH_2) ppm.

LC-MS (ESI-MS, 70 eV): $m/z = 313.9$ $[M+H]^+$.

HPLC (2): $t_R = 6.3$ min.

***N*-(2-(2-(2-Methoxyphenyl)acetamido)benzo[*d*]thiazol-6-yl)-4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzamid (18)**

$C_{29}H_{31}N_5O_3S$ (M_r 529.66)

88 (68.0 mg, 0.22 mmol) wurde zusammen mit 4-((4-Methylpiperazin-1-yl)methyl)benzoesäure (**89**, 94.6 mg, 0.40 mmol) und O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU **93**, 132 mg, 0.35 mmol) in abs. DMF (4 mL) gelöst und für 30 min bei RT gerührt. Es wurde *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA, 183 μ L, 1.08 mmol) zugetropft und für 30 min bei 90 °C in der Mikrowelle erhitzt (max. 90 Watt). Anschließend wurde in 1 M NaOH aufgenommen (49 mL) und dreimal mit EE extrahiert. Die org. Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flash-Säulenchromatographie an RP-Phase gereinigt (Gradient MeOH/H₂O). Das Produkt *N*-(2-(2-(2-Methoxyphenyl)acetamido)benzo[*d*]thiazol-6-yl)-4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)benzamid (**18**) wurde als blassgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 44.4 mg (83.9 μ mol, 39 %).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 12.47 (bs, 1 H, C⁸-NH), 10.37 (s, 1 H, C¹⁶-NH), 8.44 (s, 1 H, C⁶H), 7.93 (d, ³*J* = 7.7 Hz, 2 H, C¹⁸H), 7.73 (bs, 2 H, C³H, C⁴H), 7.44 (d, ³*J* = 7.7 Hz, 2 H, C¹⁹H), 7.29-7.23 (m 2 H, C¹⁵H, C¹³H), 6.99 (d, ³*J* = 8.0 Hz, 1 H, C¹²H), 6.92 (t, ³*J* = 7.2 Hz, 1 H, C¹⁴H), 3.81 (s, 2 H, C⁹H₂), 3.75 (s, 3 H, OCH₃), 3.52 (s, 2 H, C²¹H₂), 2.43-2.25 (m, 8 H, C²²H₂, C²³H₂), 2.14 (s, 3 H, N-CH₃) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 300 K): δ = 170.3 (C⁸), 165.4 (C¹⁶), 157.32 (C¹), 157.27 (C¹¹), 144.9 (C²), 142.3 (C²⁰), 135.2 (C⁵), 133.6 (C¹⁷), 131.8 (C⁷), 131.2 (C¹⁵H), 128.7 (C¹⁹H), 128.5 (C¹³H), 127.7 (C¹⁸H), 123.1 (C¹⁰), 120.4 (C⁴H), 120.3 (C¹⁴H), 119.8 (C³H), 112.8 (C⁶H), 110.8 (C¹²H), 61.7 (C²¹H₂), 55.5 (OCH₃), 54.7 (C²³H₂), 52.6 (C²²H₂), 45.8

(N-CH₃), 36.7 (C⁹H₂) ppm.

HR-MS (ESI): m/z = gef.: 530.22184 [M+H]⁺, ber.: 530.22204 .

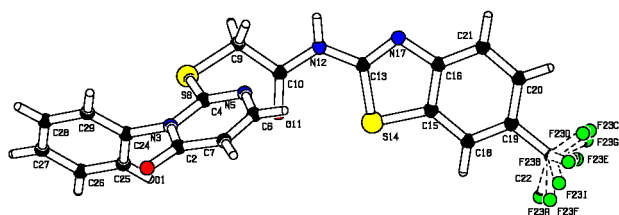
HPLC (3): t_R = 10.9 min, 100 %.

IR (ATR): $\tilde{\nu}$ = 2934, 2799, 1651, 1607, 1530, 1495, 1462, 1402, 1327, 1246, 1107, 1049, 1009, 860, 814, 750, 714 cm⁻¹.

Schmelzpunkt: 97-100 °C.

9 Anhang

9.1. Röntgenkristallstruktur Daten



Kristalldaten für LKP-091 (**15a**)

Summenformel	$C_{20}H_{13}F_3N_4O_2S_2$
Molgewicht	463 g mol^{-1}
Raumgruppe	$P 2_1/n$ (monoklin)
Absorption	$\mu = 0.32 \text{ mm}^{-1}$
Kristallgröße	$0.04 \times 0.05 \times 0.58 \text{ mm}^3$ farblose Nadel
Gitterkonstanten	$a = 8.4476(3) \text{ \AA}$
(berechnet aus	$b = 23.9483(11) \text{ \AA}$ $\beta = 90.867(3)^\circ$
8507 Reflexen mit	$c = 9.9537(3) \text{ \AA}$
$2.5^\circ < \theta < 28.4^\circ$)	$V = 2013.48(14) \text{ \AA}^3$ $z = 4$ $F(000) = 944$
Temperatur	-80°C
Dichte	$d_{\text{rön}} = 1.526 \text{ g cm}^{-3}$

Datensammlung

Diffraktometer	STOE IPDS 2T
Strahlung	Mo- K_α Graphitmonochromator
Scan-Typ	ω scans
Scan-Breite	1°
Meßbereich	$2^\circ \leq \theta \leq 28^\circ$ $-11 \leq h \leq 9$ $-31 \leq k \leq 26$ $-13 \leq l \leq 13$
Reflexzahl: gemessen	10497
unabhängige	4770 ($R_{\text{int}} = 0.0338$)
beobachtete	3304 ($ F /\sigma(F) > 4.0$)

Datenkorrektur, Strukturlösung und -verfeinerung

Korrekturen	Lorentz- und Polarisationskorrektur
Lösung	Programm: SIR-2004 (Direkte Methoden)
Verfeinerung	Programm: SHELXL-2018 (Vollmatrixverfahren). 337 verfeinerte Parameter, gewichtete Verfeinerung: $w=1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0558*P)^2 + 1.92*P]$ wobei $P=(\text{Max}(F_o^2,0) + 2*F_c^2)/3$. Wasserstoffatome geometrisch eingefügt und reitend verfeinert, Nichtwasserstoffatome anisotrop verfeinert.
Diskrepanzfaktor	wR2 = 0.1413 (R1 = 0.0541 für beobachtete Reflexe, 0.0884 für alle Reflexe)
Fitgüte	S = 1.028
maximale Änderung der Parameter	0.001 * e.s.d
maximale Peakhöhe in diff. Fouriersynthese	0.62, -0.36 eÅ ⁻³
Bemerkung	CF ₃ -Gruppe stark fehlgeordnet

Endkoordinaten und äquivalente Auslenkungsparameter (Å)

$$U_{\ddot{a}q} = (1/3) \cdot \sum \sum_{ij} a_i \cdot a_j \cdot \mathbf{a}_i \mathbf{a}_j$$

Atom	X	Y	Z	$U_{\ddot{a}q}$
O1	0.4424(3)	0.13954(9)	0.3765(2)	0.0450(7)
C2	0.4082(3)	0.1734(1)	0.4638(3)	0.0360(8)
N3	0.3378(3)	0.22457(9)	0.4265(2)	0.0332(6)
C4	0.2904(3)	0.2626(1)	0.5213(3)	0.0343(8)
N5	0.3070(3)	0.2552(1)	0.6498(2)	0.0392(7)
C6	0.3803(3)	0.2068(1)	0.6892(3)	0.0403(9)
C7	0.4321(3)	0.1671(1)	0.6051(3)	0.0403(9)
S8	0.20323(9)	0.32364(3)	0.45574(7)	0.0382(2)
C9	0.1497(3)	0.3573(1)	0.6084(3)	0.0395(8)
C10	0.2886(3)	0.3799(1)	0.6910(3)	0.0372(8)
O11	0.4202(2)	0.38630(9)	0.6487(2)	0.0467(7)
N12	0.2463(3)	0.3935(1)	0.8183(2)	0.0398(7)
C13	0.3485(4)	0.4107(1)	0.9191(3)	0.0403(9)
S14	0.54904(9)	0.42149(3)	0.89106(8)	0.0453(2)
C15	0.5686(4)	0.4354(1)	1.0621(3)	0.0478(10)
C16	0.4238(4)	0.4310(1)	1.1248(3)	0.050(1)
N17	0.2968(3)	0.4175(1)	1.0402(2)	0.0470(8)
C18	0.7073(5)	0.4491(1)	1.1345(4)	0.060(1)
C19	0.6940(5)	0.4556(2)	1.2709(4)	0.064(1)
C20	0.5510(6)	0.4495(2)	1.3352(4)	0.072(2)
C21	0.4120(5)	0.4381(1)	1.2637(3)	0.061(1)
C22	0.8405(6)	0.4664(2)	1.3533(5)	0.083(2)
F23A	0.966(1)	0.4808(7)	1.276(1)	0.103(4)
F23B	0.871(2)	0.4188(4)	1.427(2)	0.099(4)
F23C	0.828(1)	0.5067(4)	1.442(1)	0.061(2)
F23D	0.795(4)	0.443(2)	1.478(2)	0.164(10)
F23F	0.980(2)	0.439(1)	1.329(3)	0.079(6)
F23E	0.883(3)	0.5177(6)	1.391(3)	0.101(7)
F23G	0.799(2)	0.4926(7)	1.469(1)	0.093(4)
F23H	0.946(2)	0.5022(6)	1.289(2)	0.089(4)
F23I	0.932(1)	0.4228(4)	1.379(1)	0.061(3)
C24	0.3217(3)	0.2366(1)	0.2841(3)	0.0341(8)
C25	0.4220(4)	0.2745(1)	0.2267(3)	0.0402(9)
C26	0.4063(4)	0.2855(1)	0.0903(3)	0.048(1)
C27	0.2932(4)	0.2578(1)	0.0141(3)	0.051(1)
C28	0.1975(4)	0.2185(1)	0.0719(3)	0.049(1)
C29	0.2108(3)	0.2074(1)	0.2080(3)	0.0411(9)

anisotrope Auslenkungsparameter

Atom	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{12}	U_{13}	U_{23}
O1	0.054(1)	0.041(1)	0.040(1)	0.0103(10)	-0.0077(9)	-0.0038(9)
C2	0.036(1)	0.036(1)	0.036(1)	-0.001(1)	-0.007(1)	0.002(1)
N3	0.037(1)	0.033(1)	0.029(1)	0.0003(10)	-0.0065(9)	-0.0007(9)
C4	0.032(1)	0.038(1)	0.033(1)	-0.001(1)	-0.007(1)	-0.001(1)
N5	0.045(1)	0.043(1)	0.029(1)	0.002(1)	-0.0084(9)	0.0002(10)
C6	0.044(2)	0.047(2)	0.030(1)	0.001(1)	-0.009(1)	0.005(1)
C7	0.044(2)	0.039(2)	0.038(1)	0.001(1)	-0.009(1)	0.006(1)
S8	0.0472(4)	0.0368(4)	0.0304(3)	0.0053(3)	-0.0102(3)	-0.0017(3)
C9	0.041(1)	0.041(2)	0.036(1)	0.006(1)	-0.011(1)	-0.008(1)
C10	0.042(1)	0.031(1)	0.038(1)	0.003(1)	-0.010(1)	-0.002(1)
O11	0.042(1)	0.051(1)	0.046(1)	-0.0021(10)	-0.0073(9)	-0.0047(10)
N12	0.042(1)	0.040(1)	0.037(1)	-0.004(1)	-0.0103(10)	-0.005(1)
C13	0.049(2)	0.032(1)	0.039(1)	-0.002(1)	-0.015(1)	-0.002(1)
S14	0.0469(4)	0.0365(4)	0.0520(4)	0.0002(3)	-0.0171(3)	-0.0059(3)
C15	0.062(2)	0.030(1)	0.051(2)	0.005(1)	-0.026(2)	-0.006(1)
C16	0.075(2)	0.034(2)	0.040(2)	-0.004(1)	-0.022(2)	-0.002(1)
N17	0.064(2)	0.040(1)	0.037(1)	-0.010(1)	-0.015(1)	-0.002(1)
C18	0.070(2)	0.036(2)	0.074(2)	0.008(2)	-0.039(2)	-0.012(2)
C19	0.085(3)	0.040(2)	0.066(2)	0.010(2)	-0.046(2)	-0.010(2)
C20	0.123(4)	0.047(2)	0.046(2)	0.002(2)	-0.039(2)	-0.006(2)
C21	0.096(3)	0.044(2)	0.043(2)	-0.008(2)	-0.018(2)	-0.004(1)
C22	0.097(3)	0.071(3)	0.081(3)	0.018(2)	-0.048(2)	-0.016(2)
F23A	0.076(5)	0.119(8)	0.113(6)	0.017(5)	-0.058(4)	-0.049(6)
F23B	0.094(7)	0.080(5)	0.122(7)	0.023(4)	-0.071(5)	0.009(5)
F23C	0.070(5)	0.042(3)	0.070(4)	-0.017(3)	-0.034(3)	-0.011(3)
F23D	0.16(2)	0.17(2)	0.17(2)	-0.007(10)	-0.003(9)	-0.006(10)
F23F	0.078(10)	0.08(1)	0.08(1)	-0.014(8)	-0.013(7)	-0.011(8)
F23E	0.10(1)	0.09(1)	0.11(1)	-0.008(8)	-0.012(9)	-0.002(9)
F23G	0.106(7)	0.078(8)	0.093(7)	-0.016(5)	-0.045(5)	-0.047(6)
F23H	0.078(6)	0.079(6)	0.108(7)	0.005(5)	-0.050(5)	-0.012(5)
F23I	0.063(5)	0.054(4)	0.066(5)	0.013(4)	-0.032(4)	-0.007(4)
C24	0.040(1)	0.035(1)	0.027(1)	0.006(1)	-0.005(1)	0.000(1)
C25	0.047(2)	0.038(2)	0.035(1)	0.003(1)	-0.003(1)	0.002(1)
C26	0.064(2)	0.043(2)	0.038(2)	0.012(1)	0.006(1)	0.006(1)
C27	0.070(2)	0.055(2)	0.029(1)	0.028(2)	-0.003(1)	0.001(1)
C28	0.055(2)	0.055(2)	0.038(2)	0.015(2)	-0.015(1)	-0.009(1)
C29	0.042(2)	0.044(2)	0.037(1)	0.004(1)	-0.008(1)	-0.004(1)

9.2. SELEKTIVITÄTSPROFIL DER VERBINDUNG **11c** IN EINEM PANEL VON 320 KINASEN

Endkoordinaten und isotrope Auslenkungsparameter der Wasserstoffatome (Å)

Atom	X	Y	Z	U_{iso}
H6	0.39561	0.20084	0.78288	0.0484
H7	0.48456	0.13498	0.63969	0.0484
H9A	0.07721	0.38863	0.58648	0.0474
H9B	0.09073	0.33041	0.66412	0.0474
H12	0.14525	0.39096	0.83779	0.0478
H18	0.80583	0.45359	1.09102	0.073
H20	0.54768	0.45322	1.43017	0.087
H21	0.31312	0.43529	1.30744	0.073
H25	0.50078	0.29294	0.27938	0.0482
H26	0.47344	0.31212	0.04921	0.058
H27	0.28146	0.26603	-0.07892	0.062
H28	0.12202	0.19884	0.01833	0.059
H29	0.14492	0.18026	0.24854	0.0493

9.2. Selektivitätsprofil der Verbindung 11c in einem Panel von 320 Kinasen

Tabelle 9.1: *Screening* gegen 320 Wildtyp-Proteinkinasen. Angabe der Daten erfolgt in % Restaktivität im Vergleich zur Kontrolle. Die Klassifizierung der Proteinkinase-Familien erfolgte nach MANNING *et al.*:^[6] **AGC:** Enthält PKA, PKG und PKC Familien; **CAMK:** Kalzium/Calmodulin-abhängige Kinasen; **CK1:** Casein Kinase 1 ähnliche; **CMGC:** Enthält CDK, MAPK, GSK3 und CLK Familien; **TK:** Tyrosinkinasen; **TKL:** Tyrosinkinasen ähnliche; **STE:** Hefehomologe der Steril 7, Steril 11 und Steril 20 Kinasen. Daten adaptiert von GARCIA-REYES und WITT *et al.*^[20] © (2018) American Chemical Society. Gemessen von ProQinase GmbH (Freiburg, Deutschland).

Kinase name	Kinase familie	1 μ M	10 μ M
ABL1	TK	103	66
ABL2	TK	106	14
ACK1	TK	103	17
ACV-R1	TKL	111	87
ACV-R1B	TKL	91	91
ACV-R2A	TKL	90	77
ACV-R2B	TKL	88	84
ACV-RL1	TKL	99	93
AKT1 aa106-480	AGC	91	78
AKT2 aa107-481	AGC	105	95
AKT3 aa106-479	AGC	94	93
ALK (GST-HIS-tag)	TK	100	7

Kinasename	Kinasefamilie	1 μ M	10 μ M
AMPK-alpha1 aa1-550	CAMK	88	97
ARK5	CAMK	98	90
ASK1	STE	99	91
Aurora-A	OTHER	89	75
Aurora-B	OTHER	90	73
Aurora-C	OTHER	93	68
AXL	TK	95	24
BLK	TK	89	8
BMPR1A	TKL	108	95
BMX	TK	101	5
B-RAF	TKL	92	87
BRK	TK	86	10
BRSK1	CAMK	112	93
BRSK2	CAMK	121	89
BTK	TK	98	9
BUB1B	OTHER	99	64
CAMK1D	CAMK	95	90
CAMK2A	CAMK	95	72
CAMK2B	CAMK	90	78
CAMK2D	CAMK	98	90
CAMK2G	CAMK	81	66
CAMK4	CAMK	97	90
CAMKK1	OTHER	99	98
CAMKK2	OTHER	106	88
CDC42BPA	AGC	98	89
CDC42BPB	AGC	86	81
CDC7/DBF4	OTHER	96	57
CDK1/CycA2	CMGC	94	91
CDK1/CycB1	CMGC	109	96
CDK1/CycE1	CMGC	104	83
CDK16/CycY	CMGC	101	93
CDK19/CycC	CMGC	99	87
CDK2/CycA2	CMGC	97	94
CDK2/CycE1	CMGC	100	86
CDK3/CycC	CMGC	99	85
CDK3/CycE1	CMGC	103	94
CDK4/CycD1	CMGC	102	116
CDK4/CycD3	CMGC	96	89
CDK5/p25NCK	CMGC	83	93
CDK5/p35NCK	CMGC	101	99
CDK6/CycD1	CMGC	94	100
CDK6/CycD3	CMGC	96	85
CDK7/CycH/MAT1	CMGC	102	101
CDK8/CycC	CMGC	109	88
CDK9/CycK	CMGC	91	69
CDK9/CycT1	CMGC	117	75
CHK1	CAMK	108	108
CHK2	CAMK	98	63

9.2. SELEKTIVITÄTSPROFIL DER VERBINDUNG **11c** IN EINEM PANEL VON 320 KINASEN

Kinasename	Kinasefamilie	1 μM	10 μM
CK1-alpha1	CK1	94	78
CK1-delta	CK1	58	23
CK1-epsilon	CK1	87	34
CK1-gamma1	CK1	94	85
CK1-gamma2	CK1	98	81
CK1-gamma3	CK1	98	82
CK2-alpha1	OTHER	99	101
CK2-alpha2	OTHER	100	96
CLK1	CMGC	106	29
CLK2	CMGC	123	83
CLK3	CMGC	83	67
CLK4	CMGC	98	37
COT	STE	80	83
CSF1-R	TK	87	9
CSK	TK	105	11
DAPK1	CAMK	93	81
DAPK2	CAMK	87	77
DAPK3	CAMK	91	85
DCAMKL2	CAMK	76	90
DDR2	TK	96	90
DMPK	AGC	94	80
DNA-PK	ATYPICAL	84	99
DYRK1A	CMGC	112	89
DYRK1B	CMGC	100	85
DYRK2	CMGC	91	83
DYRK3	CMGC	104	97
DYRK4	CMGC	86	76
EEF2K	ATYPICAL	100	79
EGF-R	TK	93	7
EIF2AK2	OTHER	113	110
EIF2AK3	OTHER	102	103
EPHA1	TK	106	48
EPHA2	TK	91	12
EPHA3	TK	95	46
EPHA4	TK	106	103
EPHA5	TK	94	39
EPHA6	TK	110	18
EPHA7	TK	99	28
EPHA8	TK	92	33
EPHB1	TK	99	12
EPHB2	TK	104	82
EPHB3	TK	105	18
EPHB4	TK	84	9
ERBB2	TK	98	31
ERBB4	TK	115	31
ERK1	CMGC	101	91
ERK2	CMGC	103	81
ERK5	CMGC	97	77
ERK7	CMGC	101	98

Kinasename	Kinasefamilie	1 μ M	10 μ M
FAK aa2-1052	TK	101	57
FER	TK	87	10
FES	TK	92	14
FGF-R1	TK	109	36
FGF-R2	TK	96	7
FGF-R3	TK	109	7
FGF-R4	TK	102	26
FGR	TK	89	40
FLT3	TK	101	57
FRK	TK	90	19
FYN	TK	101	7
GRK2	AGC	91	94
GRK3	AGC	95	93
GRK4	AGC	86	65
GRK5	AGC	93	72
GRK6	AGC	91	84
GRK7	AGC	105	97
GSG2	OTHER	88	57
GSK3-alpha	CMGC	103	86
GSK3-beta	CMGC	104	91
HCK	TK	97	11
HIPK1	CMGC	105	95
HIPK2	CMGC	92	96
HIPK3	CMGC	89	83
HIPK4	CMGC	95	86
HRI	OTHER	91	75
IGF1-R	TK	94	4
IKK-alpha	OTHER	86	75
IKK-beta	OTHER	95	103
IKK-epsilon	OTHER	86	72
INS-R	TK	100	52
INSR-R	TK	100	43
IRAK1	TKL	83	83
IRAK4 (untagged)	TKL	101	12
ITK	TK	115	30
JAK1 aa583-1154 wt	TK	100	86
JAK2	TK	78	67
JAK3	TK	95	46
JNK1	CMGC	102	87
JNK2	CMGC	100	80
JNK3	CMGC	98	90
KIT	TK	111	66
LCK	TK	93	15
LIMK1	TKL	103	68
LIMK2	TKL	94	88
LRRK2	TKL	100	95
LTK	TK	98	6
LYN	TK	96	8

9.2. SELEKTIVITÄTSPROFIL DER VERBINDUNG **11c** IN EINEM PANEL VON 320 KINASEN

Kinasename	Kinasefamilie	1 μ M	10 μ M
MAP3K1	STE	91	77
MAP3K10	STE	107	67
MAP3K11	STE	85	123
MAP3K7/MAP3K7IP1	STE	100	79
MAP3K9	STE	95	98
MAP4K2	STE	93	69
MAP4K4	STE	98	92
MAP4K5	STE	95	88
MAPKAPK2	CAMK	85	59
MAPKAPK3	CAMK	100	30
MAPKAPK5	CAMK	112	105
MARK1	CAMK	87	80
MARK2	CAMK	112	92
MARK3	CAMK	105	88
MARK4	CAMK	98	81
MATK	TK	94	15
MEK1	STE	84	80
MEK2	STE	95	57
MEK5	STE	87	77
MEKK2	STE	102	89
MEKK3	STE	101	87
MELK	CAMK	94	84
MERTK	TK	62	10
MET	TK	93	59
MINK1	STE	101	83
MKK4	STE	93	94
MKK6 S207D/T211D**	STE	90	89
MKK7	STE	89	76
MKNK1	CAMK	98	99
MKNK2	CAMK	93	47
MLK4	TKL	106	90
MST1	STE	95	93
MST2	STE	92	68
MST3	STE	95	89
MST4	STE	108	103
mTOR	ATYPICAL	105	96
MUSK	TK	110	52
MYLK	CAMK	86	50
MYLK2	CAMK	104	86
MYLK3	CAMK	88	76
NEK1	OTHER	103	73
NEK11	OTHER	96	105
NEK2	OTHER	93	85
NEK3	OTHER	91	69
NEK4	OTHER	95	65
NEK6	OTHER	96	95
NEK7	OTHER	87	86
NEK9	OTHER	91	60
NIK	STE	97	86

Kinasename	Kinasefamilie	1 μ M	10 μ M
NLK	CMGC	96	78
p38-alpha	CMGC	93	81
p38-beta	CMGC	111	96
p38-delta	CMGC	97	79
p38-gamma	CMGC	104	107
PAK1	STE	94	45
PAK2	STE	104	14
PAK3	STE	82	26
PAK4	STE	99	106
PAK6	STE	99	58
PAK7	STE	85	56
PASK	CAMK	98	83
PBK	OTHER	87	70
PDGFR-alpha	TK	89	66
PDGFR-beta	TK	104	51
PDK1	AGC	97	12
PHKG1	CAMK	99	59
PHKG2	CAMK	112	74
PIM1	CAMK	101	69
PIM2	CAMK	95	75
PIM3	CAMK	111	114
PKA	AGC	97	13
PKC-alpha	AGC	93	79
PKC-beta1	AGC	91	83
PKC-beta2	AGC	109	93
PKC-delta	AGC	102	87
PKC-epsilon	AGC	104	99
PKC-eta	AGC	108	87
PKC-gamma	AGC	96	90
PKC-iota	AGC	93	79
PKC-mu	AGC	106	93
PKC-nu	AGC	94	71
PKC-theta	AGC	92	92
PKC-zeta	AGC	100	112
PKMYT1	OTHER	92	66
PLK1	OTHER	92	92
PLK3	OTHER	102	97
PRK1	AGC	106	80
PRK2	AGC	98	89
PRKD2	CAMK	100	94
PRKG1	AGC	85	16
PRKG2	AGC	95	85
PRKX	AGC	85	64
PYK2	TK	103	50
RAF1 Y340D/Y341D (untagged)**	TKL	91	97
RET	TK	86	7
RIPK2	TKL	88	85
RIPK5	TKL	103	96

9.2. SELEKTIVITÄTSPROFIL DER VERBINDUNG **11c** IN EINEM PANEL VON 320 KINASEN

Kinasename	Kinasefamilie	1 μ M	10 μ M
ROCK1	AGC	95	78
ROCK2	AGC	97	94
RON	TK	118	14
ROS	TK	94	57
RPS6KA1	AGC	80	99
RPS6KA2	AGC	96	79
RPS6KA3	AGC	108	55
RPS6KA4	AGC	89	83
RPS6KA5	AGC	101	84
RPS6KA6	AGC	93	94
S6K	AGC	95	85
S6K-beta	AGC	97	85
SAK	OTHER	92	59
SGK1	AGC	100	81
SGK2	AGC	91	82
SGK3	AGC	93	92
SIK1	CAMK	91	82
SIK2	CAMK	100	76
SIK3	CAMK	94	92
SLK	STE	108	89
SNARK	CAMK	129	51
SNK	OTHER	95	90
SRC (GST-HIS-tag)	TK	99	15
SRMS	TK	82	29
SRPK1	CMGC	95	44
SRPK2	CMGC	95	44
STK17A	CAMK	89	36
STK23	CAMK	102	101
STK25	STE	93	89
STK33	CAMK	92	87
STK39	STE	119	105
SYK aa1-635	TK	106	13
TAOK2	STE	98	100
TAOK3	STE	91	72
TBK1	OTHER	100	96
TEC	TK	109	30
TGFB-R1	TKL	98	80
TGFB-R2	TKL	93	92
TIE2	TK	89	9
TLK1	AGC	81	39
TLK2	AGC	95	87
TNK1	TK	100	27
TRK-A	TK	95	25
TRK-B	TK	113	11
TRK-C	TK	102	39
TSF1	OTHER	99	90
TSK2	CAMK	98	95
TSSK1	CAMK	99	88

Kinasename	Kinasefamilie	1 μ M	10 μ M
TTBK1	CK1	96	93
TTBK2	CK1	94	84
TTK	OTHER	96	82
TXK	TK	123	91
TYK2	TK	99	57
TYRO3	TK	101	9
VEGF-R1	TK	105	31
VEGF-R2	TK	94	9
VEGF-R3	TK	93	44
VRK1	CK1	113	105
VRK2	CK1	79	84
WEE1	OTHER	103	87
WNK1	OTHER	102	75
WNK2	OTHER	90	113
WNK3	OTHER	85	48
YES	TK	107	11
ZAK	TKL	100	78
ZAP70	TK	87	5

9.2. SELEKTIVITÄTSPROFIL DER VERBINDUNG **11c** IN EINEM PANEL VON 320
KINASEN

9.3. Abkürzungsverzeichnis

A, Ala	Alanin
AB	Adeninbindende-Region
Abk.	Abkürzung(en)
ABL1	<i>Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1</i>
abs.	absolutem
ADME	Absorption, Distribution, Metabolismus, Elimination
AGC	Enthält PKA, PKC und PKG Familien
APC	Adenomatous-polyposis-coli
Ar	Aromat
AS	Aminosäure
Atm.	Atmosphäre
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	<i>attenuated total reflection</i>
Ausb.	Ausbeute
ber.	berechnet
BM	Bindemodus
Bn, Benz	Benzyl
Bnth	Benzthiazol
Boc	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonat
BPHL	<i>Biphenyl hydrolase like</i>
bs	breites Singulett
Bu	Butyl
C, Cys	Cystein
CAMK	Kalzium/Calmodulin-abhängige Kinasen
Chin	Chinazolin
CK1	Casein Kinase 1
CMGC	Enthält CDK, MAPK, GSK3 und CLK Familien
COSY	<i>correlation spectroscopy</i>
CRY	Cryptochrom
d	Duplett
CDK5	Cyclin-abhängige Kinase 5
D, Asp	Asparaginsäure
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en

9.3. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

DCM	Dichlormethan
deion.	deionisiertes
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
Dnmt1	DNA Methyltransferase 1
DS	<i>docking score</i>
DVL	Dishevelled
E, Glu	Glutaminsäure
EC ₅₀	mittlere effektive Konzentration
EE	Ethylacetat
ER α	Estrogen Rezeptors α
ESI	Elektrosprayionisation
Et	Ethyl
<i>et al.</i>	und Andere
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
F, Phe	Phenylalanin
Fa.	Firma
FDA	Food and Drug Administration
g	Gramm
G, Gly	Glycin
gef.	gefunden
gesätt.	gesättigt
GSK3 β	<i>Glycogen synthase kinase 3 beta</i>
h	Stunden
H, His	Histidin
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorphosphat
hERG	<i>human Ether-a-go-go Related Gene</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
HP	hydrophobe Tasche (<i>pocket</i>)

HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HR	hydrophobe Region
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
Hz	Hertz
I, Ile	Isoleucin
IC ₅₀	mittlere inhibitorische Konzentration
IFD	<i>induced fit docking</i>
Indol	Indol
<i>i</i> Pr	Isopropyl
IR	Infrarot
i. Vak.	im Vakuum
IWP	<i>inhibitors of wnt production</i>
<i>J</i>	Kopplungskonstante
K (NMR)	Kelvin
K, Lys	Lysin
konz.	konzentrierte
KPG	Kerngezogenes Präzisions-Glasgerät
L, Leu	Leucin
LAT1	<i>Large neutral amino acids transporter small subunit 1</i>
LC	Flüssigchromatographie <i>liquid chromatography</i>
LEF	<i>Lymphoid enhancer-binding factor</i>
Lit.	Literatur
LRP	<i>Low-density lipoprotein receptor-related protein</i>
Lsg.	Lösung
Lsgm.	Lösungsmittel
m	Multiplett
M	Molar
M, Met	Methionin
MAPK	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
max.	maximal
m _c	symmetrisches Multiplett
Me	Methyl

MeOH	Methanol
min	Minuten
MHz	Megahertz
mL	Milliliter
mmol	Millimol
M_r	Molekulargewicht
MS	Massenspektroskopie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
μL	Mikroliter
μM	Mikromolar
μmol	Mikromol
n	Angabe einer Anzahl
N, Asn	Asparagin
n.d.	nicht bestimmt (<i>not determined</i>)
NFAT	<i>nuclear factor of activated T-cells</i>
nM	Nanomolar
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl
oct	Oktett
OPLS	<i>Optimized Potential for Liquid Simulations</i>
org.	organische(n)
P	Phosphat
PB	Phosphatbindende-Region
pdb	Protein Data Bank
PE	Petrolether
PER	<i>period circadian protein homolog</i>
Ph, Phen	Phenyl
PK	Proteinkinase
Porcn	Porcupine
ppm	<i>parts per million</i>
Pro	Prolin
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium -hexafluorophosphat

Pyrn	Pyrimidinon
Pyrl	Pyrrol
Pyrr	Pyrrolidin
Q, Gln	Glutamin
qt	Quintett
R, Arg	Arginin
R(Struktur)	Rest
RCSB	<i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics</i>
Reinh.	Reinheit
RNA	Ribonukleinsäure
RO5	<i>rule of five</i>
RP	<i>reversed-phase</i>
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
s.	siehe
S, Ser	Serin
sext.	Sextett
smKI	Niedermolekularer (<i>small molecule</i>) Kinaseinhibitor
SP	Zucker Tasche (<i>sugar pocket</i>)
STE	Hefehomologe der Steril 7, Steril 11 und Steril 20 Kinasen
t	Triplett
T, Thr	Threonin
Taut	Tautomer
TCF	T-Zell Faktor
THF	Tetrahydrofuran
TEA	Triethylamin
TK	Tyrosinkinase
TKL	Tyrosinkinasen ähnliche
t_R	Retentionszeit
TV	Transkriptionsvariante
V, Val	Valin
verein.	vereinigten
vgl.	vergleiche

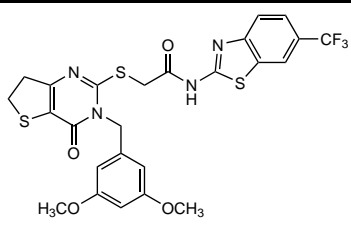
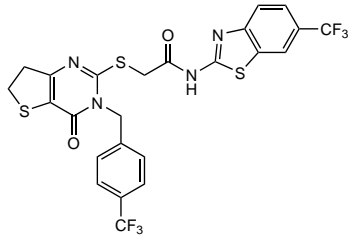
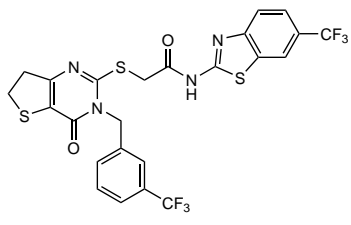
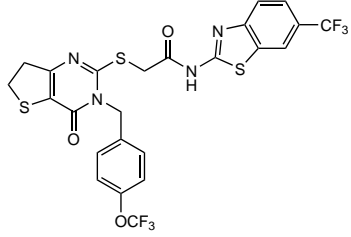
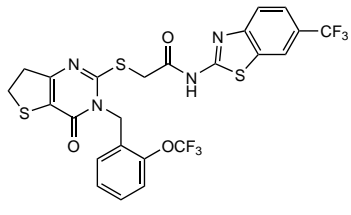
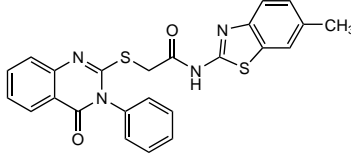
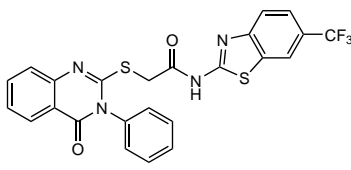
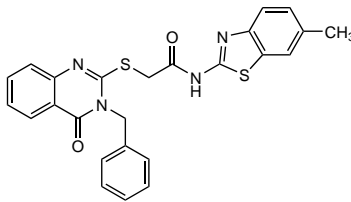
9.3. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

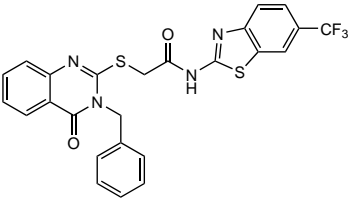
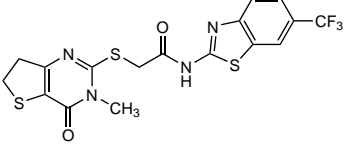
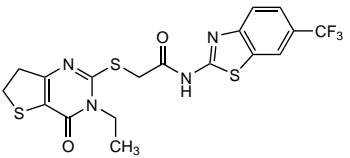
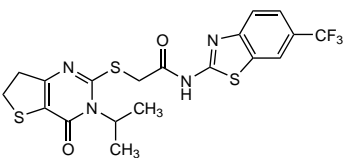
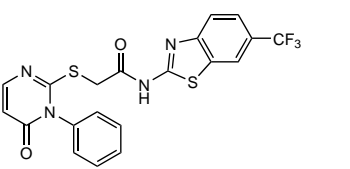
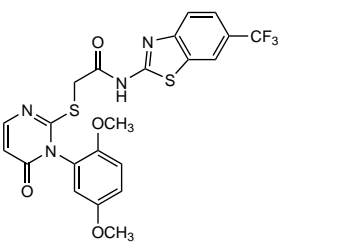
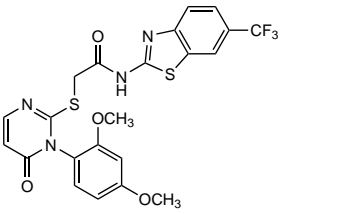
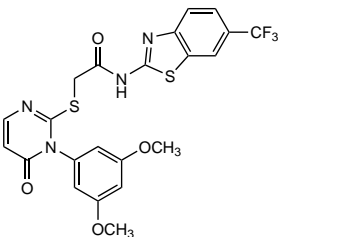
W, Trp	Tryptophan
wässr.	wässrige
Wnt	<i>wingless int-1</i>
wt	Wildtyp
X	beliebige Aminosäure
XP	<i>extra precision</i>
Y, Tyr	Tyrosin
Zersetzungstemp.	Zersetzungstemperatur
2D	Zweidimensional
3D	Dreidimensional
°C	Grad Celsius
#	Molekülnummer

9.4. Molekülverzeichnis der Zielverbindungen

#	Laborcode	Zielverbindung
11a	LKP-009	
11b	LKP-010	
11c	LKP-027	
11d	LKP-033	
11e	LKP-064	
11f	LKP-070	
11g	LKP-059	

9.4. MOLEKÜLVERZEICHNIS DER ZIELVERBINDUNGEN

#	Laborcode	Zielverbindung
11h	LKP-065	
11i	LKP-052	
11j	LKP-045	
11k	LKP-054	
11l	LKP-068	
12a	LKP-046	
13a	LKP-042	
12b	LKP-047	

#	Laborcode	Zielverbindung
13b	LKP-050	
14a	LKP-079	
14b	LKP-081	
14c	LKP-084	
15a	LKP-091	
15b	LKP-104	
15d	LKP-105	
15c	LKP-106	

9.4. MOLEKÜLVERZEICHNIS DER ZIELVERBINDUNGEN

#	Laborcode	Zielverbindung
15e	LKP-112	
15f	LKP-114	
15g	LKP-115	
16a	JB-012	
16b	JB-009	
16c	JB-019	
16d	JB-018	

#	Laborcode	Zielverbindung
75	LKP-120	
83a	KB-004	
83b	KB-005	
83c	KB-008	
83d	KB-012	
83e	KB-015	
84a	KB-003	
84b	KB-006	
84g	KB-015	
86	KB-017	
18	LW-004	

Erklärung zu §8 Abs. 1 der Promotionsordnung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Christian Peifer im Fachbereich Pharmazeutische und Medizinische Chemie des Pharmazeutischen Institutes der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel im Zeitraum von November 2015 bis Dezember 2019 angefertigt.

Hiermit erkläre ich, Lydia Witt (geb. Kuhl), an Eides statt, dass Inhalt und Form dieser Abhandlung, abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer, selbstständig von mir erarbeitet und zusammengestellt wurden. Es wurden keine weiteren Hilfsmittel und Quellen als die angegebenen verwendet. Die Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) entstanden und hat an keiner anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen. Es handelt sich um meinen ersten Promotionsversuch und mir wurde kein akademischer Grad entzogen.

Ort, Datum

Lydia Witt

Teile dieser Arbeit wurden bereits in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht:

B. García-Reyes, L. Witt, B. Jansen, E. Karasu, T. Gehring, J. Leban, D. Henne-Bruns, C. Pichlo, E. Brunstein, U. Baumann, F. Wessler, B. Rathmer, D. Schade, C. Peifer, U. Knippschild, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 4087–4102.

C. Liu, L. Witt, C. Ianes, J. Bischof, M.-T. Bammert, J. Baier, S. Kirschner, D. Henne-Bruns, P. Xu, M. Kornmann, C. Peifer, U. Knippschild, *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 6184.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich vielen Leuten meinen großen Dank aussprechen, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zuallererst danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Christian Peifer, der mich schon als Bachelorstudentin in seinem Arbeitskreis willkommen geheißen hat. Durch die Bereitstellung des interessanten Forschungsthemas, durch kreative und finanzielle Freiheit und durch seine wissenschaftliche Unterstützung, hat er diese Arbeit ermöglicht. Prof. Dr. Uwe Knippschild und seinem Team danke ich für die tolle Kooperation und die Testung meiner Verbindungen.

Insbesondere Balbina García-Reyes, Congxing Liu, Chiara Ianes und Joachim Bischof danke ich für die gemeinsame Arbeit an den wissenschaftlichen Veröffentlichungen.

Meinen Kollegen am Pharmazeutischen Institut danke ich vor allem für die freundschaftliche Atmosphäre. Ich habe mich die vielen Jahre am Institut immer aufgehoben gefühlt. Jakob hat mich schon bei meiner Bachelorarbeit betreut und hatte auch in den folgenden Jahren immer Zeit für Fragen oder auch einfach eine Runde Doppelkopf. Danke für die vielen Stunden an heimischen Esstischen! Der gleiche Dank gilt natürlich auch dem erweiterten AK-Mitglied Annika, die nicht nur eine willkommene Doppelkopf-Partnerin war, sondern auch die ein oder andere Synthese für mich übernommen hat. Martin, Boris, Rebecca, Eugen, Melanie Zindler und Dorian haben mich als Küken in ihre Mitte aufgenommen und die Freizeit mit dem ein oder anderen Weihnachtsmarkt-, KiWo- oder Weinmesse-Ausflug versüßt. Linda und Melanie Krebs haben die Frauenpower im Arbeitskreis verstärkt und waren mir bei zahlreichen Mensa-Runden immer eine willkommene Gesellschaft. Theo und Björn haben mich vor allem die letzten Jahre meiner Doktorarbeit als Büro-Kollegen begleitet. Das gemeinsame Interesse Fotografie hat uns viele schöne Bilder, Diskussionen und die ein oder andere Suche nach den neuesten Objektiven beschert! Als neuestes Mitglied des AKs danke ich Stefan, dass er es auf sich nimmt mich thematisch zu beerben und diese Arbeit fortzuführen. Theo, Björn, Melli, Linda, Stefan, Dorian und Britta danke ich außerdem für das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Martin Schütt und Melissa Zietz danke ich für die NMR-Messungen und Herrn Dr. Ulrich

Girreser für seine Hilfe bei analytischen Fragen. Bei Herrn Dr. Dieter Schollmeyer und bei Prof. Dr. Ulrich Baumann möchte ich mich für die Röntgenkristallstrukturanalysen bedanken. Sven Wichmann danke ich für die massenspektroskopischen Messungen und Kalle Bock danke ich für seine Hilfe wenn mal wieder irgendetwas nicht so funktioniert hat, wie es sollte. Ein großer Dank gilt auch Susanne Voss, der guten Seele des Instituts. Meinem F3-Pratikanten Björn Jansen und meinen Bachelorstudenten Joana Baier und Kevin Breßler danke ich für den Beitrag zu meinem Forschungsprojekt.

Rebecca, Tamara, Andre, Dorian, Björn, Britta und Philipp danke ich für die gemeinsam Zeit bei der Betreuung des OC-Praktikums und für viele boshafte Lacher beim Korrigieren der OC-Klausuren.

Ein großer Dank gilt auch meinen Freundinnen Marina und Ann-Kathrin, die mit Chemie so gar nichts am Hut haben und mich deswegen, wann immer ich es brauchte, aus meiner Blase raus holen konnten!

Der größte Dank gilt meiner Familie, angefangen bei meinen Eltern Uta und André Kuhl, meinen Brüdern Nikolas, David und Jakob und nicht zuletzt meinem Ehemann Christopher. Ohne ihn und seine grenzenlose Unterstützung wäre so vieles nicht möglich gewesen. Danke, dass du mir immer den Rücken freigehalten hast und unserem Sohn ein so großartiger und liebender Vater bist!

Literaturverzeichnis

- [1] B. W. Stewart, C. Wild, *World cancer report 2014*, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, **2014**.
- [2] J. Zhang, P. L. Yang, N. S. Gray, *Nat. Rev. Cancer* **2009**, *9*, 28–39.
- [3] K. S. Bhullar, N. O. Lagarón, E. M. McGowan, I. Parmar, A. Jha, B. P. Hubbard, H. P. V. Rupasinghe, *Mol. Cancer* **2018**, *17*, 48.
- [4] C. M. Lovly, A. T. Shaw, *Clin. Cancer Res.* **2014**, *20*, 2249–2256.
- [5] G. Klebe, *Wirkstoffdesign: Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2nd ed., **2009**.
- [6] G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science* **2002**, *298*, 1912–1934.
- [7] P. Cohen, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2002**, *1*, 309–315.
- [8] S. K. Hanks, T. Hunter, *The FASEB J.* **1995**, *9*, 576–596.
- [9] N. Dhanasekaran, E. Premkumar Reddy, *Oncogene* **1998**, *17*, 1447–1455.
- [10] R. A. Lindberg, A. M. Quinn, T. Hunter, *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 114–119.
- [11] S. R. Fuhs, T. Hunter, *Curr. Opin. Cell. Biol.* **2017**, *45*, 8–16.
- [12] S. D. Gross, R. A. Anderson, *Cell. Signal.* **1998**, *10*, 699–711.
- [13] U. Knippschild, A. Gocht, S. Wolff, N. Huber, J. Löhler, M. Stöter, *Cell. Signal.* **2005**, *17*, 675–689.
- [14] U. Knippschild, M. Krüger, J. Richter, P. Xu, B. García-Reyes, C. Peifer, J. Halekotte, V. Bakulev, J. Bischof, *Front. Oncol.* **2014**, *4*, 96.
- [15] R. M. Xu, G. Carmel, R. M. Sweet, J. Kuret, X. Cheng, *EMBO J.* **1995**, *14*, 1015–1023.
- [16] K. L. Longenecker, P. J. Roach, T. D. Hurley, *J. Mol. Biol.* **1996**, *257*, 618–631.

- [17] P. R. Graves, D. W. Haas, C. H. Hagedorn, A. A. DePaoli-Roach, P. J. Roach, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 6394–6401.
- [18] Z. Fang, C. Grütter, D. Rauh, *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 58–70.
- [19] C. Pichlo, E. Brunstein, U. Baumann, *Crystal structure of human Casein Kinase I delta in complex with IWP-2*, PDB: 5OKT, Köln, **2018**.
- [20] B. García-Reyes, L. Witt, B. Jansen, E. Karasu, T. Gehring, J. Leban, D. Henne-Bruns, C. Pichlo, E. Brunstein, U. Baumann, F. Wesseler, B. Rathmer, D. Schade, C. Peifer, U. Knippschild, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 4087–4102.
- [21] H. Flotow, P. J. Roach, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 3724–3727.
- [22] O. Marin, V. H. Bustos, L. Cesaro, F. Meggio, M. A. Pagano, M. Antonelli, C. C. Allende, L. A. Pinna, J. E. Allende, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 10193–10200.
- [23] F. Kawakami, K. Suzuki, K. Ohtsuki, *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, *31*, 193–200.
- [24] L. H. Rosenberg, M. Lafitte, V. Quereda, W. Grant, W. Chen, M. Bibian, Y. Noguchi, M. Fallahi, C. Yang, J. C. Chang, W. R. Roush, J. L. Cleveland, D. R. Duckett, *Sci. Transl. Med.* **2015**, *7*, 318ra202.
- [25] P. Adler, J. Mayne, K. Walker, Z. Ning, D. Figeys, *J. Proteome Res.* **2019**, *18*, 3383–3393.
- [26] J. W. Lee, T. Hirota, E. C. Peters, M. Garcia, R. Gonzalez, C. Y. Cho, X. Wu, P. G. Schultz, S. A. Kay, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, *50*, 10608–10611.
- [27] A. Monastyrskiy, N. Nilchan, V. Quereda, Y. Noguchi, C. Ruiz, W. Grant, M. Cameron, D. Duckett, W. Roush, *Biorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 590–602.
- [28] B. S. Winkler, F. Oltmer, J. Richter, J. Bischof, P. Xu, T. Burster, F. Leithäuser, U. Knippschild, *Front. Cell. Dev. Biol.* **2015**, *3*, 9.
- [29] P. Xu, C. Ianes, F. Gärtner, C. Liu, T. Burster, V. Bakulev, N. Rachidi, U. Knippschild, J. Bischof, *Gene* **2019**, *715*, 144005.
- [30] Z.-H. Gao, J. M. Seeling, V. Hill, A. Yochum, D. M. Virshup, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 1182–1187.

- [31] S. Amit, A. Hatzubai, Y. Birman, J. S. Andersen, E. Ben-Shushan, M. Mann, Y. Ben-Neriah, I. Alkalay, *Genes Dev.* **2002**, *16*, 1066–1076.
- [32] C. Penas, V. Ramachandran, S. Simanski, C. Lee, F. Madoux, R. J. Rahaim, R. Chauhan, O. Barnaby, S. Schurer, P. Hodder, J. Steen, W. R. Roush, N. G. Ayad, *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 18893–18903.
- [33] L. Behrend, M. Stöter, M. Kurth, G. Rutter, J. Heukeshoven, W. Deppert, U. Knippschild, *Eur. J. Cell Biol.* **2000**, *79*, 240–251.
- [34] H. Okamura, C. Garcia-Rodriguez, H. Martinson, J. Qin, D. M. Virshup, A. Rao, *Mol. Cell. Biol.* **2004**, *24*, 4184–4195.
- [35] Z. H. Gao, J. Metherall, D. M. Virshup, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *268*, 562–566.
- [36] Y. Sugiyama, N. Hatano, N. Sueyoshi, I. Suetake, S. Tajima, E. Kinoshita, E. Kinoshita-Kikuta, T. Koike, I. Kameshita, *Biochem. J.* **2010**, *427*, 489–497.
- [37] J. von Blume, U. Knippschild, F. Dequiedt, G. Giamas, A. Beck, A. Auer, J. van Lint, G. Adler, T. Seufferlein, *EMBO J.* **2007**, *26*, 4619–4633.
- [38] U. Knippschild, D. M. Milne, L. E. Campbell, A. J. DeMaggio, E. Christenson, M. F. Hoekstra, D. W. Meek, *Oncogene* **1997**, *15*, 1727–1736.
- [39] P. Sharma, M. Sharma, N. D. Amin, R. W. Albers, H. C. Pant, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 11156–11160.
- [40] A. Yamamoto, A. Friedlein, Y. Imai, R. Takahashi, P. J. Kahle, C. Haass, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 3390–3399.
- [41] J. Walter, R. Fluhrer, B. Hartung, M. Willem, C. Kaether, A. Capell, S. Lammich, G. Multhaup, C. Haass, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 14634–14641.
- [42] A. D. Watts, N. H. Hunt, Y. Wanigasekara, G. Bloomfield, D. Wallach, B. D. Roufogalis, G. Chaudhri, *EMBO J.* **1999**, *18*, 2119–2126.
- [43] G. Giamas, L. Castellano, Q. Feng, U. Knippschild, J. Jacob, R. S. Thomas, R. C. Coombes, C. L. Smith, L. R. Jiao, J. Stebbing, *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 3110–3123.

- [44] F. Camacho, M. Cilio, Y. Guo, D. M. Virshup, K. Patel, O. Khorkova, S. Styren, B. Morse, Z. Yao, G. A. Keesler, *FEBS Lett.* **2001**, *489*, 159–165.
- [45] K. M. Walton, K. Fisher, D. Rubitski, M. Marconi, Q.-J. Meng, M. Sládek, J. Adams, M. Bass, R. Chandrasekaran, T. Butler, M. Griffor, F. Rajamohan, M. Serpa, Y. Chen, M. Claffey, M. Hastings, A. Loudon, E. Maywood, J. Ohren, A. Doran, T. T. Wager, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2009**, *330*, 430–439.
- [46] K. Jiang, Y. Liu, J. Fan, G. Epperly, T. Gao, J. Jiang, J. Jia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, E4842–50.
- [47] C. B. Green, J. S. Takahashi, J. Bass, *Cell* **2008**, *134*, 728–742.
- [48] K. Eckel-Mahan, P. Sassone-Corsi, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2009**, *16*, 462–467.
- [49] Y. Isojima, M. Nakajima, H. Ukai, H. Fujishima, R. G. Yamada, K.-h. Masumoto, R. Kiuchi, M. Ishida, M. Ukai-Tadenuma, Y. Minami, R. Kito, K. Nakao, W. Kishimoto, S.-H. Yoo, K. Shimomura, T. Takao, A. Takano, T. Kojima, K. Nagai, Y. Sakaki, J. S. Takahashi, H. R. Ueda, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 15744–15749.
- [50] J.-P. Etchegaray, K. K. Machida, E. Noton, C. M. Constance, R. Dallmann, M. N. Di Napoli, J. P. DeBruyne, C. M. Lambert, E. A. Yu, S. M. Reppert, D. R. Weaver, *Mol. Cell. Biol.* **2009**, *29*, 3853–3866.
- [51] J. K. Cheong, D. M. Virshup, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2011**, *43*, 465–469.
- [52] S. Flament, A. Delacourte, P. Delaère, C. Duyckaerts, J. J. Hauw, *Acta Neuropathol.* **1990**, *80*, 212–215.
- [53] K. Yasojima, J. Kuret, A. J. DeMaggio, E. McGeer, P. L. McGeer, *Brain Res.* **2000**, *865*, 116–120.
- [54] G. Li, H. Yin, J. Kuret, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 15938–15945.
- [55] A. Venerando, O. Marin, G. Cozza, V. H. Bustos, S. Sarno, L. A. Pinna, *Cell. Mol. Life Sci.* **2010**, *67*, 1105–1118.
- [56] J. Jiang, C.-C. Hui, *Dev. Cell* **2008**, *15*, 801–812.
- [57] H. Clevers, R. Nusse, *Cell* **2012**, *149*, 1192–1205.

- [58] P. Polakis, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2012**, *4*, 1–13.
- [59] F. Wu, Y. Zhang, B. Sun, A. P. McMahon, Y. Wang, *Cell Chem. Biol.* **2017**, *24*, 252–280.
- [60] R. Nusse, H. Clevers, *Cell* **2017**, *169*, 985–999.
- [61] S. Umar, Y. Wang, A. P. Morris, J. H. Sellin, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2007**, *292*, G599–607.
- [62] J. M. Peters, R. M. McKay, J. P. McKay, J. M. Graff, *Nature* **1999**, *401*, 345–350.
- [63] C. Y. Logan, R. Nusse, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2004**, *20*, 781–810.
- [64] G. Davidson, W. Wu, J. Shen, J. Bilic, U. Fenger, P. Stannek, A. Glinka, C. Niehrs, *Nature* **2005**, *438*, 867–872.
- [65] W. Swiatek, H. Kang, B. A. Garcia, J. Shabanowitz, G. S. Coombs, D. F. Hunt, D. M. Virshup, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 12233–12241.
- [66] C.-M. Cruciat, C. Dolde, R. E. A. de Groot, B. Ohkawara, C. Reinhard, H. C. Korswagen, C. Niehrs, *Science* **2013**, *339*, 1436–1441.
- [67] Y. Xing, W. K. Clements, D. Kimelman, W. Xu, *Genes Dev.* **2003**, *17*, 2753–2764.
- [68] N.-C. Ha, T. Tono-zuka, J. L. Stamos, H.-J. Choi, W. I. Weis, *Mol. Cell* **2004**, *15*, 511–521.
- [69] X. Zeng, K. Tamai, B. Doble, S. Li, H. Huang, R. Habas, H. Okamura, J. Woodgett, X. He, *Nature* **2005**, *438*, 873–877.
- [70] G. Wu, H. Huang, J. Garcia Abreu, X. He, *PloS ONE* **2009**, *4*, e4926.
- [71] E. Cerami, J. Gao, U. Dogrusoz, B. E. Gross, S. O. Sumer, B. A. Aksoy, A. Jacobsen, C. J. Byrne, M. L. Heuer, E. Larsson, Y. Antipin, B. Reva, A. P. Goldberg, C. Sander, N. Schultz, *Cancer Discov.* **2012**, *2*, 401–404.
- [72] J. Gao, B. A. Aksoy, U. Dogrusoz, G. Dresdner, B. Gross, S. O. Sumer, Y. Sun, A. Jacobsen, R. Sinha, E. Larsson, E. Cerami, C. Sander, N. Schultz, *Sci. Signal* **2013**, *6*, p11.

- [73] I.-C. Tsai, M. Woolf, D. W. Neklason, W. W. Branford, H. J. Yost, R. W. Burt, D. M. Virshup, *Int. J. Cancer* **2007**, *120*, 1005–1012.
- [74] B. Schitteck, T. Sinnberg, *Mol. Cancer* **2014**, *13*, 231.
- [75] A. Kumar, V. Rajendran, R. Sethumadhavan, R. Purohit, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2014**, *32*, 394–405.
- [76] J. Richter, K. Ullah, P. Xu, V. Alscher, A. Blatz, C. Peifer, J. Halekotte, J. Leban, D. Vitt, K. Holzmann, V. Bakulev, L. A. Pinna, D. Henne-Bruns, A. Hillenbrand, M. Kornmann, F. Leithäuser, J. Bischof, U. Knippschild, *Int. J. Cancer* **2015**, *136*, 2799–2810.
- [77] C. Peifer, M. Abadleh, J. Bischof, D. Hauser, V. Schattell, H. Hirner, U. Knippschild, S. Laufer, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7618–7630.
- [78] J. Richter, J. Bischof, M. Zaja, H. Kohlhof, O. Othersen, D. Vitt, V. Alscher, I. Pospiech, B. García-Reyes, S. Berg, J. Leban, U. Knippschild, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 7933–7946.
- [79] J. Bischof, J. Leban, M. Zaja, A. Grothey, B. Radunsky, O. Othersen, S. Strobl, D. Vitt, U. Knippschild, *Amino Acids* **2012**, *43*, 1577–1591.
- [80] C. Liu, L. Witt, C. Ianes, J. Bischof, M.-T. Bammert, J. Baier, S. Kirschner, D. Henne-Bruns, P. Xu, M. Kornmann, C. Peifer, U. Knippschild, *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, *20*, 6184.
- [81] R. Roskoski, *Pharmacol. Res.* **2016**, *103*, 26–48.
- [82] A. C. Dar, K. M. Shokat, *Annu. Rev. Biochem.* **2011**, *80*, 769–795.
- [83] F. Zuccotto, E. Ardini, E. Casale, M. Angiolini, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2681–2694.
- [84] L. K. Gavrin, E. Saiah, *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 41–51.
- [85] V. Lamba, I. Ghosh, *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*, 2936–2945.
- [86] P. Traxler, P. Furet, *Pharmacol. Ther.* **1999**, *82*, 195–206.
- [87] B. Nagar, O. Hantschel, M. A. Young, K. Scheffzek, D. Veach, W. Bornmann, B. Clarkson, G. Superti-Furga, J. Kuriyan, *Cell* **2003**, *112*, 859–871.

- [88] B. Nagar, W. G. Bornmann, P. Pellicena, T. Schindler, D. R. Veach, W. T. Miller, B. Clarkson, J. Kuriyan, *Cancer Res.* **2002**, *62*, 4236–4243.
- [89] Z. Zhao, H. Wu, L. Wang, Y. Liu, S. Knapp, Q. Liu, N. S. Gray, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9*, 1230–1241.
- [90] J. Halekotte, L. Witt, C. Ianes, M. Krüger, M. Bührmann, D. Rauh, C. Pichlo, E. Brunstein, A. Luxenburger, U. Baumann, U. Knippschild, J. Bischof, C. Peifer, *Molecules* **2017**, *22*, 522.
- [91] N. P. Shanware, L. M. Williams, M. J. Bowler, R. S. Tibbetts, *BMP Rep.* **2009**, *42*, 142–147.
- [92] S. Fischer, S. C. Koeberle, S. A. Laufer, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2011**, *21*, 1843–1866.
- [93] O. Benek, L. Hroch, L. Aitken, F. Gunn-Moore, L. Vinklarova, K. Kuca, D. I. Perez, C. Perez, A. Martinez, Z. Fisar, K. Musilek, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2018**, *33*, 665–670.
- [94] I. G. Salado, M. Redondo, M. L. Bello, C. Perez, N. F. Liachko, B. C. Kraemer, L. Miguel, M. Lecourtois, C. Gil, A. Martinez, D. I. Perez, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2755–2772.
- [95] B. Chen, M. E. Dodge, W. Tang, J. Lu, Z. Ma, C.-W. Fan, S. Wei, W. Hao, J. Kilgore, N. S. Williams, M. G. Roth, J. F. Amatruda, C. Chen, L. Lum, *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 100–107.
- [96] H. Clevers, *Cell* **2006**, *127*, 469–480.
- [97] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *46*, 3–26.
- [98] N. Vale, *Biomedical Chemistry. Current Trends and Developments*, De Gruyter, s.l., **2016**.
- [99] H. K. Han, G. L. Amidon, *AAPS PharmSci.* **2000**, *2*, E6.
- [100] B. S. Vig, P. J. Lorenzi, S. Mittal, C. P. Landowski, H.-C. Shin, H. I. Mosberg, J. M. Hilfinger, G. L. Amidon, *Pharm. Res.* **2003**, *20*, 1381–1388.

- [101] B. S. Vig, K. M. Huttunen, K. Laine, J. Rautio, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2013**, *65*, 1370–1385.
- [102] O. Helen Chan, B. H. Stewart, *Drug Discov. Today* **1996**, *1*, 461–473.
- [103] A. P. Li, *Drug Discov. Today* **2001**, *6*, 357–366.
- [104] C. Yang, G. S. Tirucherai, A. K. Mitra, *Expert Opin. Biol. Ther.* **2001**, *1*, 159–175.
- [105] M. Brandsch, I. Knütter, E. Bosse-Doenecke, *J. Pharm. Pharmacol.* **2008**, *60*, 543–585.
- [106] J. Soul-Lawton, E. Seaber, N. On, R. Wootton, P. Rolan, J. Posner, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, *39*, 2759–2764.
- [107] P. de Miranda, M. R. Blum, *J. Antimicrob. Chemother.* **1983**, *12 Suppl B*, 29–37.
- [108] H. Vergin, C. Kikuta, H. Mascher, R. Metz, *Arzneimittelforschung* **1995**, *45*, 508–515.
- [109] P. V. Balimane, I. Tamai, A. Guo, T. Nakanishi, H. Kitada, F. H. Leibach, A. Tsuji, P. J. Sinko, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *250*, 246–251.
- [110] T. Hatanaka, M. Haramura, Y.-J. Fei, S. Miyauchi, C. C. Bridges, P. S. Ganapathy, S. B. Smith, V. Ganapathy, M. E. Ganapathy, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *308*, 1138–1147.
- [111] I. Kim, X.-Y. Chu, S. Kim, C. J. Provoda, K.-D. Lee, G. L. Amidon, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 25348–25356.
- [112] M. Scalise, M. Galluccio, L. Console, L. Pochini, C. Indiveri, *Front. Chem.* **2018**, *6*, 243.
- [113] J. Huttunen, S. Peltokangas, M. Gynther, T. Natunen, M. Hiltunen, S. Auriola, M. Ruponen, K.-S. Vellonen, K. M. Huttunen, *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 12860.
- [114] *Handbook of pharmaceutical salts: Properties, selection, and use*, (Eds.: P. H. Stahl, C. G. Wermuth), Verl. Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zürich and Weinheim, 2nd ed., **2011**.
- [115] *Pharmaceutical salts and co-crystals, Vol. 16*, (Eds.: J. Wouters, L. Quéré), RSC Publishing, Cambridge, **2012**.

- [116] A. V. Trask, W. D. S. Motherwell, W. Jones, *Int. J. Pharm.* **2006**, *320*, 114–123.
- [117] *Developing solid oral dosage forms: Pharmaceutical theory and practice*, (Ed.: Y. Qiu), Elsevier/Academic Press, Amsterdam u.a., 1st ed., **2009**.
- [118] G. S. Paulekuhn, J. B. Dressman, C. Saal, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6665–6672.
- [119] D. P. Elder, R. Holm, H. L. d. Diego, *Int. J. Pharm.* **2013**, *453*, 88–100.
- [120] A. Tilborg, B. Norberg, J. Wouters, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *74*, 411–426.
- [121] X. Wang, J. Moon, M. E. Dodge, X. Pan, L. Zhang, J. M. Hanson, R. Tuladhar, Z. Ma, H. Shi, N. S. Williams, J. F. Amatruda, T. J. Carroll, L. Lum, C. Chen, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 2700–2704.
- [122] R. A. Friesner, R. B. Murphy, M. P. Repasky, L. L. Frye, J. R. Greenwood, T. A. Halgren, P. C. Sanschagrin, D. T. Mainz, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6177–6196.
- [123] W. Sherman, T. Day, M. P. Jacobson, R. A. Friesner, R. Farid, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 534–553.
- [124] W. Sherman, H. S. Beard, R. Farid, *Chem. Biol. Drug Des.* **2006**, *67*, 83–84.
- [125] M. D. Eldridge, C. W. Murray, T. R. Auton, G. V. Paolini, R. P. Mee, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1997**, *11*, 425–445.
- [126] T. Young, R. Abel, B. Kim, B. J. Berne, R. A. Friesner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 808–813.
- [127] R. Abel, T. Young, R. Farid, B. J. Berne, R. A. Friesner, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2817–2831.
- [128] G. M. Sastry, M. Adzhigirey, T. Day, R. Annabhimoju, W. Sherman, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2013**, *27*, 221–234.
- [129] P. Artursson, J. Karlsson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, *175*, 880–885.
- [130] M. C. Sanguinetti, M. Tristani-Firouzi, *Nature* **2006**, *440*, 463–469.
- [131] Expert Working Group, *Guidance for Industry*, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research, **Oktober 2005**.

- [132] H. Tecele, F. Feru, H. Liu, C. Kuhn, G. Rennie, M. Morris, J. Shao, A. C. Cheng, D. Gikunju, J. Miret, R. Coli, S. H. Xi, S. L. Clugston, S. Low, S. Kazmirski, Y.-H. Ding, Q. Cao, T. L. Johnson, G. D. Deshmukh, J. P. DiNitto, J. C. Wu, J. M. English, *Chem. Biol. Drug Des.* **2009**, *74*, 547–559.
- [133] S. Röhm, B.-T. Berger, M. Schröder, A. Chaikuad, R. Winkel, K. F. W. Hekking, J. J. C. Benningshof, G. Müller, R. Tesch, M. Kudolo, M. Forster, S. Laufer, S. Knapp, *J. Med. Chem.* **2019**, *XX*.
- [134] J. Zimmermann, B. Sutter, M. H. Bürger (Novartis AG), *WO 99/03854*, **1998**.
- [135] E. Hernández-Núñez, H. Tlahuext, R. Moo-Puc, H. Torres-Gómez, R. Reyes-Martínez, R. Cedillo-Rivera, C. Nava-Zuazo, G. Navarrete-Vazquez, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 2975–2984.
- [136] G. L'abbé, S. Leurs, I. Sannen, W. Dehaen, *Tetrahedron* **1993**, *1993*, 4439–4446.
- [137] R. M. Arnold, C. D. McNitt, V. V. Popik, J. Locklin, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 5307–5309.
- [138] E. S. Spencer, E. J. Dale, A. L. Gommans, M. T. Rutledge, C. T. Vo, Y. Nakatani, A. B. Gamble, R. A. J. Smith, S. M. Wilbanks, M. B. Hampton, J. D. A. Tyndall, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *93*, 501–510.
- [139] S.-D. Cho, H.-J. Kim, C. Ahn, J. R. Falck, D.-S. Shin, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8215–8217.
- [140] S. N. Sirakanyan, D. Spinelli, A. Geronikaki, A. A. Hovakimyan, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 7638–7646.
- [141] Y.-H. Song, H. Y. Son, *J. Heterocyclic Chem.* **2011**, *48*, 597–603.
- [142] D. Font, M. Heras, J. M. Villalgorido, *J. Comb. Chem.* **2003**, *5*, 311–321.
- [143] M. A. Mohamed, R. R. Ayyad, T. Z. Shower, A. A.-M. Abdel-Aziz, A. S. El-Azab, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *112*, 106–113.
- [144] A. Davoodnia, M. Bakavoli, S. Mohseni, N. Tavakoli-Hoseini, *Monatsh. Chem.* **2008**, *139*, 963–965.

- [145] P. Y. Lam, C. G. Clark, S. Saubern, J. Adams, M. P. Winters, D. M. Chan, A. Combs, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2941–2944.
- [146] D. A. Evans, J. L. Katz, T. R. West, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2937–2940.
- [147] D. M. Chan, K. L. Monaco, R.-P. Wang, M. P. Winters, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2933–2936.
- [148] K. Sanjeeva Rao, T.-S. Wu, *Tetrahedron* **2012**, *68*, 7735–7754.
- [149] J. C. Vantourout, H. N. Miras, A. Isidro-Llobet, S. Sproules, A. J. B. Watson, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 4769–4779.
- [150] K. F. Abd El Kader, S. A. El Bialy, M. B. El-Ashmawy, D. W. Boykin, *Heterocycl. Commun.* **2012**, *18*, 193–197.
- [151] C.-Y. Liu, Y. Li, J.-Y. Ding, D.-W. Dong, F.-S. Han, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 2373–2381.
- [152] J. Xu, J.-C. Yadan, *Synlett* **1995**, 239–241.
- [153] R. F. Pratt, K. K. Kraus, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2431–2434.
- [154] J. Baier, *Bachelorarbeit*, CAU, Kiel, **Juni 2019**.
- [155] N. Ajvazi, S. Stavber, *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 2430–2433.
- [156] Y. Kimura, D. Matsuura, *IJOC* **2013**, *03*, 1–7.
- [157] C.-H. Lee, S.-M. Lee, B.-H. Min, D.-S. Kim, C.-H. Jun, *Org. Lett.* **2018**, *20*, 2468–2471.
- [158] T. Ogura, T. Usuki, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 2807–2815.
- [159] S. M. Roopan, F. R. N. Khan, B. K. Mandal, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2309–2311.
- [160] Y. Nakao, H. Idei, K. S. Kanyiva, T. Hiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 15996–15997.
- [161] K. Breßler, *Bachelorarbeit*, CAU, Kiel, **August 2019**.
- [162] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen: Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden*, Springer Spektrum, Berlin and Heidelberg, 3rd ed., **2015**.

- [163] E. Breitmaier, G. Jung, *Organische Chemie: Grundlagen, Verbindungsklassen, Reaktionen, Konzepte, Molekülstruktur, Naturstoffe, Syntheseplanung, Nachhaltigkeit ; 145 Tabellen*, Thieme, Stuttgart, 7th ed., **2012**.
- [164] C. R. Gardner, B. B. Cheung, J. Koach, D. S. Black, G. M. Marshall, N. Kumar, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 6877–6884.
- [165] M. Nejman, A. Śliwińska, A. Zwierzak, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8536–8541.
- [166] I. W. Ashworth, B. G. Cox, B. Meyrick, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 8117–8125.
- [167] E. Frérot, J. Coste, A. Pantaloni, M.-N. Dufour, P. Jouin, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 259–270.
- [168] R. A. Coats, S.-L. Lee, K. A. Davis, K. M. Patel, E. K. Rhoads, M. H. Howard, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1734–1737.
- [169] I. O. Ryzhkov, I. A. Andreev, G. M. Belov, A. V. Kurkin, M. A. Yurovskaya, *Chem. Heterocycl. Comp.* **2011**, *47*, 182–193.
- [170] E. Johannes, *Dissertation*, CAU, Kiel, **2015**.
- [171] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397–4398.
- [172] S. C. F. Freimooser, *Dissertation*, Universität Ulm, Ulm, **2018**.
- [173] AK Prof. Knippschild, *Aktuelle Arbeiten*, Universität Ulm, Ulm, **2019**.
- [174] B. García-Reyes, *Dissertation*, Universität Ulm, Ulm, **2018**.
- [175] M.-T. Bammert, *Masterarbeit*, Universität Ulm, Ulm, **2019**.
- [176] J. G. Topliss, *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 1006–1011.
- [177] J. G. Topliss, *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 463–469.
- [178] J. C. Shelley, A. Cholleti, L. L. Frye, J. R. Greenwood, M. R. Timlin, M. Uchimaya, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2007**, *21*, 681–691.
- [179] J. R. Greenwood, D. Calkins, A. P. Sullivan, J. C. Shelley, *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2010**, *24*, 591–604.
- [180] M. P. Jacobson, R. A. Friesner, Z. Xiang, B. Honig, *J. Mol. Biol.* **2002**, *320*, 597–608.

- [181] M. P. Jacobson, D. L. Pincus, C. S. Rapp, T. J. F. Day, B. Honig, D. E. Shaw, R. A. Friesner, *Proteins* **2004**, *55*, 351–367.
- [182] E. Harder, W. Damm, J. Maple, C. Wu, M. Reboul, J. Y. Xiang, L. Wang, D. Lupyan, M. K. Dahlgren, J. L. Knight, J. W. Kaus, D. S. Cerutti, G. Krilov, W. L. Jorgensen, R. Abel, R. A. Friesner, *J. Chem. Theory Comput.* **2015**, *12*, 281–296.
- [183] R. Farid, T. Day, R. A. Friesner, R. A. Pearlstein, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3160–3173.
- [184] T. Halgren, *Chem. Biol. Drug Des.* **2007**, *69*, 146–148.
- [185] T. A. Halgren, *J. Chem. Inf. Model.* **2009**, *49*, 377–389.