

# Synthese, Charakterisierung und biologische Evaluation neuartiger Rezeptortyrosinkinase-Inhibitoren mit Pyrimido[4,5-b]indolstruktur gegen Tumorerkrankungen



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften  
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

der Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Biowissenschaften

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Herrn Apotheker Tim Fischer

geb. am 30.06.1988 in Blankenburg (Harz)

Gutachter:

1. Prof. Dr. Andreas Hilgeroth
2. Prof. Dr. Andreas Langner
3. Prof. Dr. Christoph Ritter

verteidigt am 15. September 2020



## Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde vom November 2013 bis Dezember 2016 am Institut für Pharmazie - Institutsbereich Pharmazeutische Chemie und Klinische Pharmazie - der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg unter der Betreuung von Prof. Dr. Andreas Hilgeroth angefertigt. Finanzielle Unterstützung erhielt diese Arbeit durch die Graduiertenförderung des Landes Sachsen-Anhalt im Zeitraum von Januar 2014 bis Dezember 2016.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Andreas Hilgeroth für die Überlassung des interessanten Themas und für die Freiheit bei der Bearbeitung dessen. Im Weiteren danke ich dem gesamten technischen Personal des Instituts für Pharmazie, die zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben. So danke ich Frau Manuela Woigk für die Anfertigung der Massenspektren, Frau Heike Rudolf für die Aufnahme der IR-Spektren und Herrn Dr. Dieter Ströhl sowie seinen Mitarbeitern für die Aufnahme der NMR-Spektren. Frau Bärbel Brandt danke ich für die Durchführung der Elementaranalysen, sowie Herrn Dirk Stolzenhain für stetige Hilfsbereitschaft und einige nette Gespräche.

Darüber hinaus danke ich Herrn Prof. Dr. Imming für die Unterstützung bezüglich der MPLC-Arbeiten bzw. für die Zurverfügungstellung der zugehörigen Materialien. Herrn Prof. Dr. Wolfgang Sippl und Herrn Abdulkarim Najjar danke ich für die Durchführung der Dockingstudien und die damit verbundenen Erkenntnisse zu Bindungsmodi der synthetisierten Verbindungen. Herrn PD Dr. Matthias Schmidt danke ich für die Durchführung der reinheitsbezogenen HPLC-Untersuchungen. Für die Anfertigung der Proteinkinaseassays danke ich Herrn Dr. Frank Totzke und Herrn Dr. Christoph Schächtele von der ProQinase GmbH bzw. Herrn Dr. Vladimir Krystof vom Labor für Wachstumsregulatoren (Olomouc). Den Mitarbeitern des National Cancer Institutes (NCI) der USA danke ich für die Bearbeitung der NCI-60 Cell-Line-Screenings.

Des Weiteren danke ich Herrn Thomas Krüger für die synthetischen Arbeiten, welche Eingang in die vorliegende Dissertation fanden. Den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Hilgeroth danke ich für viele gemeinsame Labortage und dass Spaß und Unterhaltung dabei stets eine wichtige Rolle innehatten. Herrn Marcel Klemm und Herrn Thomas Wetzlar der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Imming danke ich sowohl für ihre fachliche Meinung als auch für zahlreiche Gespräche sonstiger Natur. Herrn Erik Borski sowie Frau Dagmar Fischer und Herrn Thomas Fischer danke ich für das gründliche Korrekturlesen des Dissertationsentwurfs und die fortwährende Unterstützung bei der Umsetzung meines Promotionsvorhabens.

Frau Marisa Thiele danke ich ebenfalls für ihre direkte Meinung und Korrekturen zur Promotionschrift, aber vor allem für Geduld, Toleranz und Motivation ohne welche die vorliegende Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen wäre.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>1</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>IX</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>XII</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1. Die Krebserkrankung.....	1
1.1.1. Epidemiologie.....	1
1.1.2. Symptome .....	1
1.1.3. Ursachen .....	2
1.1.4. Diagnose.....	3
1.2. Therapie .....	4
1.2.1. Konventionelle Chemotherapie .....	5
1.2.2. Moderne gezielte Therapien .....	6
1.3. Konzepte.....	9
1.3.1. „Oncogene Addiction“ .....	9
1.3.2. „Hallmarks of Cancer“ .....	11
1.4. Rezeptortyrosinkinasen (RTKs).....	16
1.4.1. Der EGF-Rezeptor/ErbB-Familie .....	16
1.4.1.1. Allgemein.....	16
1.4.1.2. Stand der Forschung .....	18
1.4.2. Der VEGF-Rezeptor.....	23
1.4.2.1. Allgemein.....	23
1.4.2.2. Stand der Forschung .....	25
1.4.3. Der PDGF-Rezeptor .....	28
1.4.3.1. Allgemein.....	28
1.4.3.2. Stand der Forschung .....	29
1.4.4. Der IGF-Rezeptor.....	33
1.4.4.1. Allgemein.....	33
1.4.4.2. Stand der Forschung .....	34
1.5. Die ATP-Bindungstasche .....	36
1.6. Resistenz und Selektivität .....	41
1.6.1. Ausgewählte Resistenzmechanismen .....	41

1.6.2.	Selektivitätsüberlegungen.....	44
<b>2.</b>	<b>Zielstellung und Darlegung der Synthesestrategie .....</b>	<b>47</b>
2.1.	Synthesestrategie.....	47
2.2.	Zielstellung .....	50
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>52</b>
3.1.	Synthese kommerziell nicht verfügbarer Aniline .....	52
3.2.	Synthese substituierter Pyrimidine.....	52
3.2.1.	Synthese 4-aminosubstituierter Pyrimidin-2,6-triamine .....	52
3.2.2.	Synthese Pyrimidin-4,6-diamine mit alternativer 2-Substitution .....	55
3.2.2.1.	Synthese 2-alkylaminosubstituierter Pyrimidin-4,6-triamine .....	55
3.2.2.2.	Synthese 2-thioether-/2-unsubstituierter Pyrimidin-4,6-diamine.....	57
3.2.3.	Strukturbeleg substituierter Pyrimidine .....	59
3.2.3.1.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen substituierter Pyrimidine .....	59
3.2.3.2.	<sup>13</sup> C-NMR-Untersuchungen substituierter Pyrimidine .....	64
3.3.	Synthese 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	66
3.3.1.	Synthese 4-benzylaminsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	68
3.3.2.	Synthese 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .	70
3.3.3.	Synthese 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole mit alternativer 2-Substitution.....	75
3.3.4.	Strukturbeleg 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	78
3.3.4.1.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 4-benzylaminsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole	78
3.3.4.2.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	81
3.3.4.3.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole mit alternativer 2-Substitution .....	84
3.3.4.4.	<sup>13</sup> C-NMR-Untersuchungen 4-benzylaminsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	87
3.3.4.5.	<sup>13</sup> C-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	90
3.4.	Synthese 6-substituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	92
3.4.1.	Synthese 6-alkoxysubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	93
3.4.2.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 6-alkoxysubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	95
3.4.3.	Synthese 6-carboxylsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	97
3.4.4.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 6-carboxylsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole ...	101
3.4.5.	<sup>13</sup> C-NMR-Untersuchungen 6-carboxylsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole ..	104
3.5.	Synthese analoger Bicyclen.....	106
3.5.1.	Synthese 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9 <i>H</i> -Purin-6-amine.....	106

3.5.2.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9 <i>H</i> -Purin-6-amine .....	109
3.5.3.	<sup>13</sup> C-NMR-Untersuchungen 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9 <i>H</i> -Purin-6-amine .....	112
3.5.4.	Synthese 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine.....	114
3.5.5.	<sup>1</sup> H-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine.....	117
3.5.6.	<sup>13</sup> C-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine.....	120
3.5.7.	Synthese <i>N</i> -(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5 <i>H</i> -pyrrolo[3,2- <i>d</i> ]pyrimidin-4-amin .....	122
3.5.8.	Strukturbeleg <i>N</i> -(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5 <i>H</i> -pyrrolo[3,2- <i>d</i> ]pyrimidin-4-amin .....	124
3.6.	In-vitro-Testung an Rezeptortyrosinkinasen (RTKs).....	126
3.6.1.	Erster Entwicklungszyklus: 4- und 4,7-disubstituierte 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole	126
3.6.2.	Zweiter Entwicklungszyklus: 4- und 4,6-disubstituierte 9 <i>H</i> -Pyrimido-[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole ohne bzw. mit alternativer 2-Substitution.....	129
3.7.	In-vitro-Testung an <i>NCI-60 cell-line-panel</i> .....	134
3.8.	Docking-Untersuchungen.....	140
<b>4.</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>142</b>
4.1.	Zusammenfassung.....	142
4.2.	Ausblick .....	145
<b>5.</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>147</b>
5.1.	Synthese und Charakterisierung der Verbindungen .....	147
5.1.1.	Methoden, Geräte und Chemikalien.....	147
5.1.1.1.	Schmelzbereichsbestimmung .....	147
5.1.1.2.	NMR-Spektroskopie .....	147
5.1.1.3.	Massenspektrometrie .....	148
5.1.1.4.	IR-Spektroskopie .....	148
5.1.1.5.	Elementaranalyse.....	148
5.1.1.6.	Chromatographie .....	148
5.1.2.	Beschreibung der Verbindungen.....	152
5.1.2.1.	Allgemeine Angaben .....	152
5.1.2.2.	Allgemeine Arbeitsvorschriften.....	152
5.1.2.3.	Synthese kommerziell nicht verfügbarer Reagenzien.....	156
5.1.2.3.1.	Synthese Alkoxyaniline.....	156
5.1.2.3.2.	Synthese Benzyloxyaniline .....	158
5.1.2.3.3.	Synthese Ethinylaniline .....	166

5.1.2.3.4.	Synthese 2-substituierter 1,4-Benzochinone.....	168
5.1.2.4.	Synthese substituierter Pyrimidine.....	170
5.1.2.4.1.	Synthese 4-aminosubstituierter Pyrimidin-2,6-triamine .....	170
5.1.2.4.2.	Synthese Pyrimidin-4,6-diamine mit alternativer 2-Substitution .....	193
5.1.2.4.2.1.	Synthese 2-alkylaminosubstituierter Pyrimidin-4,6-triamine .....	193
5.1.2.4.2.2.	Synthese 2-thioether-/2-unsubstituierter Pyrimidin-4,6-diamine.....	199
5.1.2.5.	Synthese 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	207
5.1.2.5.1.	Synthese 4-benzylaminsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	207
5.1.2.5.2.	Synthese 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole	231
5.1.2.5.3.	Synthese 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole mit alternativer 2-Substitution.....	254
5.1.2.5.4.	Synthese 6-alkoxy-substituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	260
5.1.2.5.5.	Synthese 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	269
5.1.2.6.	Synthese analoger Bicyclen.....	281
5.1.2.6.1.	Synthese 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9H-Purin-6-amine.....	281
5.1.2.6.2.	Synthese 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine.....	297
5.1.2.6.3.	Synthese <i>N</i> -(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5H-pyrrolo[3,2- <i>d</i> ]pyrimidin-4-amin .....	314
5.2.	Biochemische Untersuchungen.....	317
5.2.1.	<sup>33</sup> PanQinase-Assay der ProQinase GmbH .....	317
5.2.2.	NCI-60 cell-line-panel (One-Dose- und Five-Dose-Screening) .....	318
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>320</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>A</b>
	<b>Angaben zu Person und Bildungsgang/Publikationsliste.....</b>	<b>B</b>
	<b>Anhang .....</b>	<b>C</b>

## Abkürzungsverzeichnis

4-DMAP	4-Dimethylaminophenol
5-FU	5-Fluorouracil
5-HT <sub>3</sub>	5-Hydroxytryptamin-Rezeptor (Subtyp)
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abl1	<i>abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1</i>
AGC-Familie	Gruppe Kinasefamilien benannt nach Kinasefamilien A,G und C
Akt	<i>protein kinase B</i>
aliph.	aliphatisch
ALK	<i>anaplastic lymphoma kinase</i>
aromat.	aromatisch
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	abgeschwächte Totalreflexion
AXL	<i>tyrosine-protein kinase receptor UFO</i>
Bad	<i>Bcl-2-associated death promoter</i>
Bak	<i>Bcl-2 homologous antagonist/killer</i>
Bax	<i>Bcl-2-associated X protein</i>
BC	<i>breast cancer</i> (Brustkarzinome)
Bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i>
Bcl-x <sub>L</sub>	<i>B-cell lymphoma-extra large</i>
BCR-ABL	<i>breakpoint cluster region-abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1</i> ( <i>fusion gene</i> )
ber.	berechnet
Bim	<i>Bcl-2-like protein 11</i>
BRAF	B-Raf-Kinase (Gen)
bzgl.	bezüglich
CA-125	<i>cancer antigen 125</i>
CAMK-Familie	Gruppe Kinasefamilien benannt nach Calcium- und Calmodulin-regulierten Kinasen
CAPOX	Chemotherapie-Schema aus Capecitabin und Oxaliplatin
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CD95L/CD95/FADD	<i>cluster of differentiation 95 ligand/cluster of differentiation 95/ Fas-</i> <i>associated protein with death domain</i>
CHL	<i>classic Hodgkin's lymphoma</i>
CK1 $\alpha$	<i>casein kinase 1<math>\alpha</math></i>
c-Kit	Stammzellwachstumsfaktorrezeptor
c-Myc	<i>cellular myelocytomatosis</i> (Gen)
CDKs	<i>cyclin-dependent kinases</i>
CLL	<i>chronic lymphocytic leukemia</i>
CMGC-Familie	Gruppe Kinasefamilien benannt nach Kinasefamilien CDK, MAPK, GSK3 und CLK
CML	<i>chronic myeloid leukemia</i>
CT	Computertomographie
CRC	<i>colorectal cancer</i> (Kolonrektalkarzinome)
CRK3	<i>cysteine-rich receptor-like protein kinase 3</i>
DAPK1	<i>death-associated protein kinase 1</i>
DCR	<i>disease control rate</i>
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DFS	<i>disease-free survival</i>
DMF	Dimethylformamid



DMPK	dystrophia myotonica protein kinase
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTT	Dithiothreitol
EA	Elementaranalyse
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EFC-T	Chemotherapie-Schema aus Epirubicin, Fluorouracil und Cisplatin gefolgt von Docetaxel-Monotherapie
EGF(R)	<i>epidermal growth factor (receptor)</i>
ELK1	<i>ETS like-1 protein</i>
EMT	<i>epithelial-mesenchymal transition</i>
EOC	Chemotherapie-Schema aus Epirubicin, Oxaliplatin und Capecitabin
EPCs	<i>endothelial progenitor cells</i>
eq.	equivalent (Äquivalent(e))
ERK	<i>extracellular signal-regulated kinases</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation
ErbB	Rezeptorfamilie des epidermalen Wachstumsfaktors
Fas/FasR	Synonym: CD95L/CD95
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF(R)	<i>fibroblast growth factor (receptor)</i>
FoxO	<i>forkhead box O</i>
GC	<i>gastric cancer</i> (Magenkarzinome)
gef.	gefunden
GIST	Gastrointestinale Stromatumoren
GIT	Gastrointestinaltrakt
GRB2	<i>growth factor receptor-bound protein 2</i>
GST	Glutathion-S-Transferase
GTP	Guanosintriphosphat
GSK-3	<i>glycogen synthase kinase 3</i>
GYC-Familie	Gruppe Kinasefamilien
HAc	Essigsäure
HCC	<i>hepatocellular carcinoma</i> (Leberzellkarzinome)
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
HER2	<i>human epidermal growth factor receptor 2</i>
HIFs	<i>hypoxia-inducible factors</i>
HNSCC	<i>head and neck squamous-cell carcinoma</i> (Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Halsbereichs)
HPCs	<i>haematopoietic progenitor cells</i>
HPV	humane Papillomviren
IC <sub>50</sub>	halbmaximale inhibitorische Konzentration
IGF(R)	<i>insulin-like growth factor (receptor)</i>
IGFBP	<i>insulin-like growth factor-binding protein</i>
IR	Infrarot
JAK2	<i>just-another-kinase 2, janus kinase 2</i>
k <sub>cat</sub>	Wechselzahl (Enzymkinetik)
K <sub>i</sub>	Affinitätskonstante
K-Ras	GTPase mit eingeschränkter Funktionalität aus mutierten Gen KRAS ( <i>Kirsten rat sarcoma</i> )
Lit.	Literaturangabe
MAK	monoklonaler Antikörper
MAPK	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
MARK1	<i>microtubule affinity regulating kinase 1</i>
MDM2	<i>mouse double minute 2 homolog</i>

MEK1	<i>mitogen-activated protein kinase kinase 1</i>
MEKK2	<i>mitogen-activated protein kinase kinase kinase 2</i>
Met	<i>hepatocyte growth factor receptor</i>
miR-503	<i>microRNA 503</i> (nicht-kodierendes RNA-Segment-post-transkriptionelle Regulation der Genexpression)
MLK4	<i>mitogen-activated protein kinase kinase kinase 21</i>
mM	metastasierendes Melanom
MMP-2	<i>matrix metalloproteinase-2</i>
MRP2	<i>multidrug resistance-associated protein 2</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Massenspektrometrie
mTOR	<i>mechanistic/mammalian target of rapamycin</i>
mTORC	<i>mechanistic/mammalian target of rapamycin complex</i>
NaAc	Natriumacetat
NFκB	<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells</i>
NHL	<i>non-Hodgkin lymphoma</i>
NK1	Neurokinin 1
NMP	N-Methyl-2-pyrrolidon
NMR	Kernspinresonanz
Noxa	<i>phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1</i> (lat.: Noxa – Schaden)
NSCLC	<i>non-small cell lung cancer</i> (nicht-kleinzellige Lungenkarzinome)
OC	<i>ovarian cancer</i> (Ovarialkarzinome)
OS	<i>overall survival</i> (Gesamtüberleben)
p27	<i>cyclin-dependent kinase inhibitor 1B</i>
p53	<i>tumor protein p53, tumor suppressor p53</i>
PAP	Papanicolaou-Test
PC	<i>prostate cancer</i> (Prostatakarzinome)
PD-1	<i>programmed cell death protein 1</i>
PD-L1	<i>programmed cell death 1 ligand 1</i>
PDK1	<i>phosphoinositide-dependent kinase 1</i>
PDGF(R)	<i>platelet-derived growth factor (receptor)</i>
PEG	Polyethylenglycol
PFS	<i>progression-free survival</i>
PI3Ks	<i>phosphoinositide 3-kinases</i>
PKCα	<i>protein kinase C alpha</i>
ppm	<i>parts per million</i>
PPY	4-(1-Pyrrolidinyl)pyridin
PTEN	<i>phosphatase and tensin homolog</i>
Puma	<i>p53 upregulated modulator of apoptosis</i>
Ras	GTPase mit Beteiligung an Zellsignalweiterleitung ( <i>rat sarcoma</i> )
Raf	Proteinkinase/Signaltransduktor des MAP-Kinase-Wegs ( <i>rat fibrosarcoma</i> )
RCC	<i>renal-cell carcinoma</i> (Nierenkarzinome)
RKI	Robert Koch-Institut
(O)RR	(objective) response rate
RT	Raumtemperatur
RTKs	Rezeptortyrosinkinasen
SCCHN	Synonym: HNSCC
SCLC	<i>small cell lung cancer</i> (kleinzellige Bronchialkarzinome)
SDS-PAGE	<i>sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis</i>
SHC	<i>Src homology 2 domain containing</i> (Adaptorprotein)
Slug	<i>zinc finger protein SNAI2</i> (Transkriptionsfaktor)
Snail	<i>zinc finger protein SNAI1</i> (Transkriptionsfaktor)
SOS	<i>son of sevenless</i>

SREBP	<i>sterol regulatory element-binding protein</i>
STATs	<i>signal transducers and activators of transcription</i>
STE-Familie	Gruppe Kinasefamilien benannt nach ( <i>homologs of yeast sterile 7, sterile 11, sterile 20 kinases</i> )
subst.	substituiert
TGF	<i>transforming growth factor</i>
TFA	<i>trifluoroacetic acid</i> (Trifluoressigsäure)
TK-Familie	Gruppe Kinasefamilien benannt nach Hauptsubstrat Tyrosinreste
TKL-Familie	Gruppe Kinasefamilien benannt nach Ähnlichkeit zur TK-Familie aber Hauptsubstrat Serin-/Threoninreste ( <i>tyrosin kinase-like</i> )
tlw.	teilweise
tnBC	<i>triple-negative breast cancer</i> (triple-negatives Mammakarzinom)
TNM	Tumorklassifikation nach Tumor, Nodus und Metastasen
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
TSP-1	Thrombospondin
tttf	<i>time-to-treatment-failure</i> (Zeit bis zum Therapieversagen)
Twist	<i>twist-related protein 1</i> (Transkriptionsfaktor)
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
UC	<i>urothelial cancer</i> (Urothelkarzinome)
uPar	<i>plasminogen activator receptor (urokinase-type)</i>
u.U.	unter Umständen
v.a.	vor allem
VEGF(R)	<i>vascular endothelial growth factor (receptor)</i>
VHL	Von-Hippel-Lindau
WHO	Weltgesundheitsorganisation
Wee1	<i>Wee1-like protein kinase</i>
wt	Wildtyp
XIAP	<i>X-linked inhibitor of apoptosis protein</i>
ZC	<i>cervical cancer</i> (Zervixkarzinome)
Zeb	<i>zinc finger E-box-binding homeobox 1</i> (Transkriptionsfaktor)
ZNS	Zentralnervensystem
z.T.	zum Teil

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Inzidenztrends und Mortalitätstrends Krebs .....	2
Abb. 2: Potenzielle Probleme onkogeneselektiver Therapie .....	11
Abb. 3: Kennzeichen von Krebs (HANAHAH und WEINBERG-Hallmarks of Cancer 2000) .....	12
Abb. 4: Extrinsische und intrinsische Regulation Apoptose .....	13
Abb. 5: Übersicht Wachstumsfaktoren und nachgeschaltete Signalkaskaden .....	14
Abb. 6: Liganden-induzierte Konformationsänderung RTKs/Transphosphorylierung (EGF/EGFR) .....	16
Abb. 7: Wachstumsfaktoren und RTKs (ErbB-Familie); <i>Downstream</i> -Signalnetzwerk EGFR .....	17
Abb. 8: PFS und ttf von Gefitinib/Afatinib (LUX-LUNG 7).....	19
Abb. 9: VEGF/R-Signalkaskade und nachgeschaltete <i>Downstream</i> -Signalwege.....	23
Abb. 10: Wachstumsfaktoren und RTKs (PDGFR-Familie); Wirkung Signaltransduktion.....	29
Abb. 11: PFS und OS von Add-On Nintedanib zu Docetaxel (NSCLC).....	31
Abb. 12: IGF/R-Signalkaskade und nachgeschaltete <i>Downstream</i> -Signalwege .....	33
Abb. 13: PFS und OS von Add-On Figitumumab zu Paclitaxel/Carboplatin (NSCLC).....	34
Abb. 14: OS von Add-On Figitumumab zu Paclitaxel/Carboplatin mit Einfluss IGF1-Konz. (NSCLC).....	35
Abb. 15: ATP-Bindungstasche nach VULPETTI mit ATP und Erlotinib; räumliche Darstellung ATP-Bindungstasche mit Erlotinib .....	37
Abb. 16: Kovalenter Bindungsmodus Afatinib an EGFR T790M; Cysteinseitenketten in ATP-Bindungstasche verschiedener RTKs .....	39
Abb. 17: Auswahl chemischer Strukturen zugelassener RTKIs.....	40
Abb. 18: Auswahl Resistenzmechanismen Heterodimerisierung und Rezeptorcrosstalk .....	42
Abb. 19: Auswahl Resistenzmechanismen ( <i>Downstream</i> -Signalnetzwerk) EGFR-selektive Inhibition .....	43
Abb. 20: Humanes Kinom-Dendrogramm nach CELL SIGNALING TECHNOLOGY® .....	45
Abb. 21: Dendrogramm Kinaseaffinitäten der RTKIs Erlotinib, Afatinib und Vandetanib .....	46
Abb. 22: Literaturmethoden Synthese 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indole .....	48
Abb. 23: 2-Stufen-Synthesestrategie 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indole.....	49
Abb. 24: 2-Stufen-Synthesestrategie 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indole und geplante Derivatisierungsmöglichkeiten .....	50
Abb. 25: Übertragung geplanter Derivatisierungen 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indole auf ATP-Bindungstasche nach VULPETTI .....	52
Abb. 26: Synthese 4-aminosubstituierter Pyrimidin-2,6-triamine .....	53
Abb. 27: Synthese 2-aminoalkylsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indole .....	55
Abb. 28: Synthese 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol.....	56
Abb. 29: Synthese 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol .....	57
Abb. 30: Synthese 2-thioether- bzw. 2-unsubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indole .....	57

Abb. 31: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren (stacked) <b>7d</b> und <b>7k</b> .....	59
Abb. 32: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>8k</b> .....	61
Abb. 33: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren (stacked) <b>8k</b> und <b>13a</b> .....	63
Abb. 34: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren (stacked) <b>21a - c</b> .....	64
Abb. 35: NENITZESCU-Reaktion zu 2,4-disubstituierten 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-olen.....	67
Abb. 36: MPLC-Trennung Verbindung <b>47a</b> und <b>47b</b> .....	72
Abb. 37: Hypothese: Entstehung <b>47b</b> über 1,4-Addition an 2-Amino- 4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-6 <i>H</i> -pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-on.....	73
Abb. 38: Hypothese: Entstehung <b>47b</b> über nucleophilen Angriff am Carbonylkohlenstoff.....	73
Abb. 39: Umsetzungsprobleme 2-unsubstituierter Verbindungen (NENITZESCU-Reaktion).....	76
Abb. 40: Hypothese: Entstehung 5-chlorierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	77
Abb. 41: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>30</b> .....	80
Abb. 42: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren (stacked) <b>29a</b> und <b>29b</b> .....	81
Abb. 43: Energieminimierte Modelle <b>47a</b> und <b>65</b> (MMFF94-Kraftfeldmethode).....	83
Abb. 44: <sup>1</sup> H-NMR-Spektren (stacked) <b>47a</b> und <b>47b</b> .....	84
Abb. 45: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>70</b> .....	86
Abb. 46: <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HSQC-Korrelationsspektrum <b>29a</b> .....	88
Abb. 47: <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum <b>29b</b> .....	90
Abb. 48: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>75</b> .....	96
Abb. 49: Geplante Veresterung <b>47a</b> über EDC-HCl und 4-DMAP.....	98
Abb. 50: Synthese 6-carboxylestersubstituierter 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	98
Abb. 51: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>92</b> .....	103
Abb. 52: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>93</b> .....	103
Abb. 53: <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum <b>88</b> .....	105
Abb. 54: Synthese 4-anilino- bzw. 4-anilino-9-alkylsubstituierter 9 <i>H</i> -Purin-6-amine.....	107
Abb. 55: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>101e</b> .....	111
Abb. 56: <sup>13</sup> C-NMR-Spektrum <b>102a</b> .....	114
Abb. 57: Synthese 4-anilino- bzw. 4-anilino-7-alkylsubstituierter 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine.....	115
Abb. 58: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>108f</b> .....	119
Abb. 59: <sup>1</sup> H- <sup>13</sup> C-HSQC-Korrelationsspektrum <b>108i</b> .....	121
Abb. 60: Synthese <i>N</i> -(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5 <i>H</i> -pyrrolo[3,2- <i>d</i> ]pyrimidin-4-amin.....	123
Abb. 61: <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum <b>114</b> .....	125
Abb. 62: Testsubstanzen NCI 60 cell-line-panel ( <i>One-Dose-Screening</i> ).....	134
Abb. 63: NCI 60 cell-line-panel ( <i>Five-Dose-Screening</i> ) Konzentrations-Wachstumshemmungskurven <b>60</b> .....	139

Abb. 64: Docking: **27** und **32** in ATP-Bindungstasche EGFR (Proteinrückgrat);  
    **33a** in ATP-Bindungstasche EGFR (Visualisierung Polarität)..... 140

Abb. 65: Docking: **65** in ATP-Bindungstasche EGFR (Proteinrückgrat und Visualisierung Polarität) .. 141

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Wirkmechanismus/Substanzvertreter konventioneller Zytostatika (Auswahl) .....	5
Tabelle 2: Zugelassene MAKs bei Tumorindikation (Auswahl) .....	7
Tabelle 3: Zugelassene <i>small molecules</i> bei Tumorindikation (Auswahl) .....	8
Tabelle 4: Chemische Verschiebung $\delta_{C-5}$ (Charakterisierung Reaktivität der Enaminkomponente) .....	49
Tabelle 5: Synthetisierte 4-aminosubstituierte Pyrimidin-2,6-triamine .....	54
Tabelle 6: Synthetisierte 4-benzyloxyanilinosubstituierte Pyrimidin-2,6-triamine .....	55
Tabelle 7: Synthetisierte Pyrimidin-4,6-di- bzw. -triamine mit alternativer 2-Substitution.....	58
Tabelle 8: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 4-aminosubstituierter Pyrimidine (Auswahl) .....	60
Tabelle 9: Chemische Verschiebung $\delta_{C-5}$ (Umsetzung und Ausbeute NENITZESCU-Reaktion).....	65
Tabelle 10: Synthetisierte benzylaminoanellierte 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	68
Tabelle 11: Isomerenverhältnisse von 7-Methyl- zu 8-Methylderivaten (NENITZESCU-Reaktion).....	69
Tabelle 12: Synthetisierte anilinoanellierte 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	71
Tabelle 13: Synthetisierte benzyloxyanilinoanellierte 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	74
Tabelle 14: Synthetisierte 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole mit 2-Derivatisierung .....	75
Tabelle 15: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 4-benzoanellierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole (Auswahl) ...	79
Tabelle 16: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 4-anilino- bzw. 4-benzyloxyanilinoanellierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole (Auswahl).....	82
Tabelle 17: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole mit 2-Derivatisierung (Auswahl) .....	85
Tabelle 18: Daten $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren 4-benzoanellierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole (Auswahl) ..	87
Tabelle 19: Daten $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren 4-anilino- bzw. 4-benzyloxyanilinoanellierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole ohne/mit 2-Derivatisierung (Auswahl) .....	91
Tabelle 20: Synthetisierte 6-alkoxysubstituierte 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	94
Tabelle 21: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 6-alkoxysubstituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole (Auswahl).....	95
Tabelle 22: Synthetisierte 6-carboxylsubstituierte 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	100
Tabelle 23: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole (Auswahl).....	102
Tabelle 24: Daten $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole (Auswahl).....	105
Tabelle 25: Synthetisierte 6-anilino- und 6-benzyloxyanilinosubstituierte 9H-Purin-6-amine bzw. zusätzlich 9-alkylierter Derivate.....	108
Tabelle 26: Vergleich Literaturdaten und exp. Messdaten <b>100</b> .....	109
Tabelle 27: Daten $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 6-anilino- und 6-benzyloxyanilinosubstituierter 9H-Purin-6-amine bzw. zusätzlich 9-alkylierter Derivate (Auswahl) .....	110

Tabelle 28: Daten <sup>13</sup> C-NMR-Spektren 6-anilino- und 6-benzyloxyanilinosubstituierter 9 <i>H</i> -Purin-6-amine bzw. zusätzlich 9-alkylierter Derivate (Auswahl) .....	113
Tabelle 29: Synthetisierte 4-anilino- und 4-benzyloxyanilinosubstituierte 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine bzw. zusätzlich 7-alkylierter Derivate.....	116
Tabelle 30: Vergleich Literaturdaten und exp. Messdaten <b>107</b> .....	117
Tabelle 31: Daten <sup>1</sup> H-NMR-Spektren 4-anilino- und 4-benzyloxyanilinosubstituierter 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine bzw. zusätzlich 7-alkylierter Derivate (Auswahl).....	118
Tabelle 32: Daten <sup>13</sup> C-NMR-Spektren 4-benzyloxyanilinosubstituierter 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine (Auswahl).....	121
Tabelle 33: Vergleich Literaturdaten und exp. Messdaten <b>113</b> .....	124
Tabelle 34: Daten <sup>1</sup> H-NMR-Spektren 4-substituierter 5 <i>H</i> -Pyrrolo[3,2- <i>d</i> ]pyrimidine .....	125
Tabelle 35: 1.Testzyklus: 4-anilinosubstituierte 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole .....	126
Tabelle 36: 1.Testzyklus: 4-benzylaminsubstituierte 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole.....	127
Tabelle 37: 1.Testzyklus: IC <sub>50</sub> - und K <sub>i</sub> -Werte für RTKs EGFR wt, VEGFR2 und IGF-1R .....	128
Tabelle 38: 2.Testzyklus: 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierte 9 <i>H</i> -Pyrimido[4,5- <i>b</i> ]indol-6-ole ohne/mit 2- bzw. 6-Derivatisierung .....	130
Tabelle 39: 2.Testzyklus: 6- bzw. 4-anilinosubstituierte 9 <i>H</i> -Purin-6-amine bzw. 7 <i>H</i> -Pyrrolo[2,3- <i>d</i> ]pyrimidine.....	130
Tabelle 40: 2.Testzyklus: IC <sub>50</sub> - und K <sub>i</sub> -Werte für RTKs EGFR wt und PDGFRβ.....	131
Tabelle 41: 2.Testzyklus: IC <sub>50</sub> -Werte <b>28a</b> für diverse Proteinkinasen .....	133
Tabelle 42: Daten NCI-60 <i>One-Dose-Screening</i> (Auswahl) .....	135
Tabelle 43: Expressionsmuster RTKs in Zelllinien des NCI 60.....	136
Tabelle 44: GI <sub>50</sub> , TGI und LC <sub>50</sub> von <b>60</b> aus NCI 60 <i>Five-Dose-Screening</i> (Auswahl) .....	138





# 1. Einleitung

## 1.1. Die Krebserkrankung

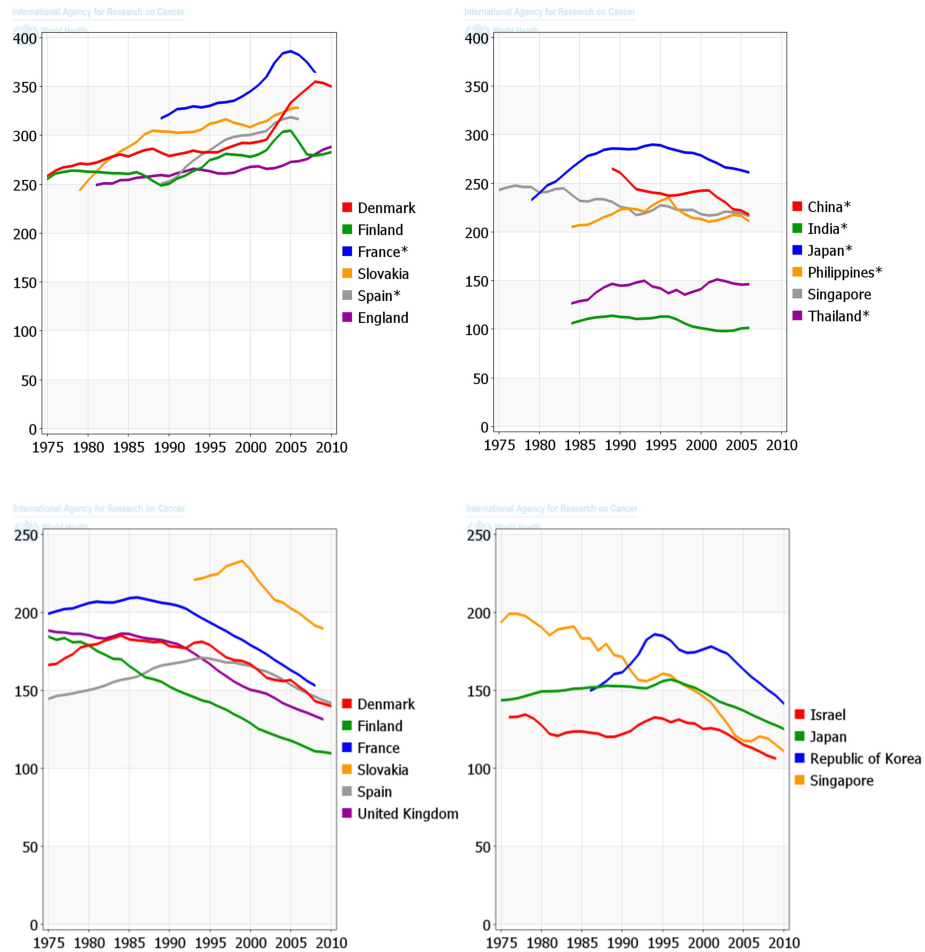
Krebs ist ein Oberbegriff für verschiedene Erkrankungen, bei denen der kontrollierte Ablauf von Zellapoptose und Zellteilung bzw. -wachstum (Proliferation) aus dem homöostatischen Gleichgewicht entartet. Es resultiert eine unkontrollierte Vermehrung von zumeist genetisch veränderten Zellen. Da die Entartung von nahezu jedem Körperzelltyp ausgehen kann, sind Erscheinung, Symptomatik und Verlauf mannigfaltig. Zellvermehrung der Blutzellen bzw. von Vorläuferzellen werden als hämatologische Tumoren bezeichnet. Im Gegensatz dazu bilden andere Krebs-erkrankungen zumeist räumliche Gewebsansammlungen, welche als solide Tumoren bezeichnet werden. Je nach Verhalten bzgl. Invasivität, Destruktivität und Metastasierung ist eine Unterscheidung in benigne und maligne Tumoren möglich. Die vorliegende Arbeit widmet sich spezifischen Regulationsprozessen innerhalb der entarteten Tumorzellbiologie bzw. der pharmakologischen Beeinflussung dieser.

### 1.1.1. Epidemiologie

Im Jahr 2013 erkrankten nach Daten des Robert Koch-Instituts ca. 480 000 Menschen in Deutschland an Krebs. Dem gegenüber stand eine Anzahl von etwa 223 000 krebsbezogenen Sterbefällen. Bei einem mittleren Erkrankungsalter von 67,2 und 68,3 Jahren für Frauen bzw. Männer ist ersichtlich, dass ein altersbedingter Einfluss vorhanden ist. Das mittlere Sterbealter wiederum lag bei 74,3 und 72,6 Jahren für Frauen respektive Männer. Daraus resultiert eine mittlere 5-Jahres-Überlebensrate von 66 % für Frauen und 61 % für Männer. Prognostisch geht das Zentrum für Krebsregisterdaten von 519 000 Neuerkrankungen für das Jahr 2020 aus<sup>1</sup>. Neben der stetigen Alterung der Bevölkerung sind weitere Risikofaktoren wie Tabak- und Alkoholkonsum, Exposition mit Umweltgiften und der Wandel in Ernährung und Sexualität die Ursache für ein fortwährendes Ansteigen der Neuerkrankungen. Für einen zusätzlichen Anstieg der Neuerkrankungsrate sorgt eine stetige Verbesserung in Diagnostik und Früherkennung. Gemessen an den benannten Risikofaktoren ist verständlich, dass nach Zahlen der WHO gerade in Industrie-nationen eine steigende Inzidenz zu beobachten ist, während in weniger entwickelten Regionen die Trends eine Stagnation belegen. Daten hingegen zeigen, dass in Industrieländern die Weiterentwicklung von Diagnostik und Therapie dazu führen, dass die Mortalitätsraten sinken (vgl. Abb. 1)<sup>2</sup>.

### 1.1.2. Symptome

Aufgrund der diversen Möglichkeiten für ein malignes Wachstum im Körper ist auch das pathologische Erscheinungsbild höchst variabel. Zudem stehen die Symptome in engem Zusammenhang zu Tumorstadium und -ausdehnung. Nach Einschätzung des NCI zählen folgende Symptome zu möglichen Ausprägungen eines Tumors, sind aber i.d.R. auch durch andere pathologische Veränderungen erklärbar.



**Abb. 1:** Darstellung Inzidenztrends (oben) und Mortalitätstrends (unten) nach altersstandardisierter Rate pro 100 000 Männer und Land<sup>2</sup>

- veränderte Leberflecke
- Verdickungen (Knötchen) unter der Haut, u.a. weibliche Brust, Lymphknoten
- Schluckbeschwerden, Appetitlosigkeit
- andauernde Heiserkeit bzw. andauernder Husten
- unerklärliche Gewichtszunahme oder -abnahme
- starkes nächtliches Schwitzen
- Blut in Exkrementen
- Schwäche, Abgeschlagenheit, Müdigkeit und Fieber
- starke Schmerzen

### 1.1.3. Ursachen

Die Störung der Homöostase zwischen Apoptose und Proliferation wird nach mehrheitlicher Meinung mit dem Mehrschrittmodell erklärt<sup>3</sup>. Jeder „Schritt“ bezeichnet dabei Veränderung in einem Gen, welches für Kontrolle des Zellvermehrungszyklus kodiert. Dabei wird im Wesentlichen in Tumorsuppressor- und Protoonkogene unterschieden. Tumorsuppressorgene, wie p53 oder PTEN, sorgen im physiologischen Zellzyklus z.B. dafür, dass DNA-Schäden vor weiterer Reduplikation repariert werden<sup>4</sup> oder Zellproliferationssignale begrenzt werden<sup>5</sup>. Bei Versagen des Regulationsmechanismus muss sich physiologisch i.d.R. der Zelltod anschließen, da ansonsten die genetische

Veränderung weiter vermehrt wird. Demgegenüber stehen die für Zellproliferation und -differenzierung verantwortlichen Protoonkogene. Mutationsbasierte Änderungen innerhalb dieser Gene können u.a. dazu führen, dass Zellproliferationssignale durch dauerhaft aktive Rezeptoren (z.B. BCR-ABL-Fusionsprotein bei CML<sup>6</sup>), Überexpression von Wachstumsmediatoren (z.B. VEGF-Überexpression in RCC<sup>7</sup>) oder Überempfindlichkeit/Autarkie von Wachstumssignalen (z.B. HER2-Überexpression bei Mammakarzinom<sup>8,9</sup>) überhand nehmen. NOWELL *et al.* geht davon aus, dass durch fehlende Reparatur bzw. Apoptose und steigende Proliferationsrate, welche das Potenzial für zusätzliche Mutationen steigert, eine Zelle während der Karzinogenese 6-7 Mutationen bis zur Malignität benötigt<sup>3</sup>. Neben der generellen Fehlermöglichkeit bei Duplizierung des genetischen Materials sind vor allem Umwelteinflüsse wie ionisierende Strahlung und mutagene Chemikalien grundlegend. Aber auch erbliche Veränderungen sind bekannt. Da trotz aller genetischen Veränderungen körpereigene Zellen vorliegen, ist das Immunsystem i.d.R. nicht in der Lage, maligne Zellen zu identifizieren bzw. zu entfernen<sup>3</sup>. Neuere Therapieoptionen wie die *Checkpoint*-Inhibitoren stärken die immunologische Erkennung der entarteten Zellen durch das Immunsystem (vgl. 1.2.2).

### 1.1.4. Diagnose

Aufgrund der diversen Arten und Ausprägungen von malignen Erkrankungen ist sowohl die Symptomatik als auch die Diagnostik äußerst vielfältig. Grundsätzlich gilt, dass eine zeitlich frühe Diagnose die Prognose für die Behandlung und das Heilungspotenzial verbessert. Jedoch steht dieses auch in Abhängigkeit zu Krebsart, Patientenkonstitution und Behandlungsstandards. In Kombination mit der alters- und expositionsbasierten Wahrscheinlichkeitssteigerung für eine Erkrankung sind Screening-Methoden vielfach Teil von amtlichen Empfehlungen. So sind z.B. Kolos-/Sigmoidoskopie und Hämooculttest Bestandteil der S3-Leitlinie zur Darmkrebsvorsorge für Menschen ab 55 bzw. 50 Jahren. Weiterhin ist zumindestens der Hämooculttest auch Bestandteil von arbeitsmedizinischen Vorsorge-untersuchungen<sup>10</sup>. Ebenso sind mammographische Untersuchungen für Frauen ab 50 Jahren bzw. palpative Untersuchungen von Brust und Lymphabfluss für Frauen ab 30 Jahren feste Bestandteile der Leitlinien zur Diagnose des Mammakarzinoms<sup>11</sup>. Die Mammographie konnte als Methode nachweislich die Brustkrebsmortalität senken<sup>12</sup>. Hingegen scheitert dieses bei der Koloskopie noch an der Akzeptanz der Bevölkerung<sup>13</sup>, obwohl ein vergleichbares Potenzial vorhanden ist<sup>14</sup>. Für die Diagnostik der Zervixkarzinome stehen mit PAP- und HPV-Test ebenfalls routinemäßige Screening-Methoden zur Verfügung, welche durch die zugehörige S3-Leitlinie empfohlen werden<sup>15</sup>. Zusätzlich steht mit der HPV-Impfung für diese spezielle Tumorform bzw. die damit assoziierte Virusinfektion ein Impfstoff zur Prävention zur Verfügung.

Demgegenüber stehen einige biomarkerassoziierte Methoden, welche aber in Sensitivität und Spezifität so stark eingeschränkt sind, dass ihre Anwendung nur bei Hochrisikopatienten und in Kombination mit bildgebenden Verfahren empfehlenswert ist. Dazu zählen u.a. die Kombination aus Messung des Alpha-Fetoproteins mit Sonographie oder aus Bestimmung von CA-125 und Sonographie bei Verdacht auf Leberkrebs respektive maligne Erkrankung der Ovarien. Problematisch hierbei ist v.a., dass auch benigne Konditionen eine entsprechende Erhöhung der Tumormarker bewirken können. Zusätzliche Untersuchungen verursachen Kosten und Gesundheitsschäden, welche nicht durch signifikante Mortalitätsreduktion oder eine höhere Lebensqualität gerechtfertigt

werden<sup>16</sup>. Daher eignen sich viele Biomarker nur für die Überwachung von Therapien bzw. Diagnostik eines Rezidivs. Insgesamt stehen nur für wenige Tumoren zuverlässige Diagnostikmethoden zur Verfügung, hingegen führen weiterführende Diagnostik unspezifischer Krankheitssymptome und Zufallsbefunde während anderer Untersuchungen häufiger zur Krankheitserkennung. Nachdem eine Neoplasie als wahrscheinlich diagnostiziert wurde, sind v.a. bildgebende Verfahren wie CT, Röntgen, MRT und Sonographie, aber auch histologische und genetische Untersuchungen von Biopsaten erforderlich zur Diagnosesicherung. Im Weiteren erfolgt über zuvor genannte Verfahren das Staging der Erkrankung, um die bestmögliche Therapieoption zu erarbeiten. Es sei angemerkt, dass Typisierung von Zellgenetik und -proteinexpression für einige Tumorerkrankungen bzw. Anwendbarkeit moderner gezielter Therapien maßgeblich sind.

## 1.2. Therapie

Krebs kann und muss je nach Art, Ausdehnung und Malignität mit verschiedenen Methoden (u.a. Operation, Bestrahlungs- und Chemotherapie) bzw. Kombinationen daraus behandelt werden. Man unterscheidet Behandlungen in kurative, bei Möglichkeit auf Heilung, und palliative Ansätze bei Fokus auf Symptom- und Komplikationslinderung. In der Regel wird das Behandlungsziel durch den Tumor bzw. dessen Charakteristika limitiert. Eine verbreitete Möglichkeit zur Tumorbeschreibung bietet die TNM-Klassifikation, bei welcher anhand numerischer Stufen die Tumorgröße ( $T_{0-4}$ ) bzw. die Eindringtiefe ins Gewebe, die Beteiligung umliegender Lymphknoten ( $N_{0-3}$ ) und das Vorhandensein von Metastasierung ( $M_{0-1}$ ) klassifiziert wird<sup>17</sup>. Zusätzlich kann nach mikroskopischer Biopsatbeurteilung der Grad der Entdifferenzierung ( $G_{1-4}$ ) bestimmt werden, welcher i.d.R. mit der Malignität korreliert und die Aggressivität der Behandlung determiniert. Je nach Staging/Grading sind verschiedene Szenarien bzw. Kombinationen der genannten Behandlungsmethoden möglich. Werden nach operativer Entfernung des Primärtumors verbliebene Tumorzellen, beteiligte Lymphknoten und Metastasen mit Radio- bzw. Chemotherapie behandelt, so spricht man von adjuvanter Therapie. Hingegen bezeichnet eine neoadjuvante Vorgehensweise eine präoperative Verkleinerung der Tumorlast durch Chemo- oder Radiotherapie, um die Operabilität zu verbessern.

Chirurgische Operabilität wird limitiert durch die Lage und Größe des Tumors bzw. die Eindringtiefe in umliegendes gesundes Gewebe. Beteiligte Lymphknoten können evtl. ebenfalls operativ entfernt werden. Jedoch wird bei erhöhten Lymphknotenbefall oder gar Metastasierung der Einsatz weiterer Behandlungsmethoden unausweichlich. Hämatologische Tumoren entziehen sich einer operativen Behandlung. Strahlungstherapie ist eine ebenso unselektive Methode der Tumorzellentfernung wie eine chirurgische Operation, bietet aber ebenfalls den Vorteil der lokalen Steuerbarkeit. Durch die Bestrahlungsdosis entstehen für Tumorzellen irreparable DNA-Schäden, welche in Apoptose münden. Dabei kann Strahlung äußerlich und innerlich eingebracht werden, wobei ein verringerter körperlicher Eingriff einer gezielteren Einflussnahme entgegensteht. Zu den Vertretern der inneren Strahlungstherapie zählen die Verwendung von <sup>131</sup>Iod bei Schilddrüsentumoren<sup>18</sup> und die Brachytherapie bei Gebärmutterhals-<sup>19</sup>, Prostata-<sup>20</sup> und Brusttumoren. Die dritte Hauptsäule der modernen Tumorthherapie ist die Chemotherapie. Da sie im Rahmen dieser Arbeit auch den höchsten Stellenwert besitzt, erfolgt eine ausführlichere Betrachtung im folgenden Abschnitt. Grundsätzlich ist dabei die Unterscheidung in konventionelle

Chemotherapie, basierend auf zumeist älteren und unselektiveren Chemotherapeutika, und moderne gezielte Therapien möglich. Die klinische Situation gestaltet sich zumeist so, dass ein Rückgrat aus konventioneller Chemotherapie unverzichtbar ist und moderne gezielte Therapien gewissen Patientengruppen zum zusätzlichen Vorteil gereichen. Auf weitere Behandlungsarten, wie u.a. immuno- und hormontherapeutische Ansätze, sei nur am Rand dieser Arbeit verwiesen.

### 1.2.1. Konventionelle Chemotherapie

Zu den konventionellen Chemotherapeutika werden Substanzklassen gezählt, welche basierend auf einem relativ unselektiven Mechanismus Zellteilung und Zellwachstum inhibieren. Dementsprechend besteht ihre Wirkung v.a. auf sich schnell teilende und wachsende Tumorzellen, aber auch auf gesundes Gewebe mit hoher Teilungsrate (z.B. Epithelzellen der Schleimhäute). Tabelle 1 zeigt eine Auswahl an Substanzklassen inklusive derer Angriffspunkte und Substanzbeispielen.

**Tabelle 1:** Wirkmechanismus und Substanzvertreter verschiedener konventioneller Zytostatika (Auswahl)

Substanzgruppe	Wirkmechanismus	Substanzvertreter
<b>Alkylantien</b>	Alkylierung und (Quer-)vernetzung von DNA-Strängen, Inhibition der DNA-Replikation	Cyclophosphamid, Cisplatin, Carboplatin
<b>Interkalantien</b>	nicht-kovalente Einlagerung in DNA, Inhibition der DNA-Replikation	Epirubicin, Doxorubicin
<b>Mitose-inhibitoren</b>	Hemmung Aufbau der Mikrotubuli, Inhibition Mitose Hemmung Abbau der Mikrotubuli, Inhibition Mitose	Vinorelbin, Vinblastin Docetaxel, Paclitaxel
<b>Topoisomerase-inhibitoren</b>	Hemmung der Topoisomerasen 1 und 2	Irinotecan, Etoposid
<b>Antimetabolite</b>	Hemmung Aufbau DNA-Basen, Aufbau fehlerhafter DNA-/RNA-Stänge	Pemetrexed, 5-Fluorouracil, Gemcitabin

Aus verschiedenen Gründen (vgl. u.a. 1.6.1) werden niemals alle Tumorzellen durch therapeutische Intervention erfasst, sondern es erfolgt eine anteilige Eradikation. Durch Kombination verschiedener Substanzklassen zu komplexeren Therapieschemata und zyklische Wiederholung lässt sich der Anteil der vernichteten Tumorzellen erhöhen. Es wird davon ausgegangen, dass pro Therapiezyklus der Anteil, aber nicht die absolute Zahl, an untergehenden Tumorzellen konstant ist<sup>21</sup>. Darüber hinaus wird durch kombinierte Substanzklassen nicht nur der Anteil an untergehendem Tumorgewebe gesteigert, sondern auch durch Streuung der unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAWs) versucht, diese auf ein tolerables Maß zu reduzieren. Die Resistenzbildung wird ebenfalls verlangsamt. Interessanterweise scheinen Tumorarten insofern konsistent unterschiedlich, dass die Etablierung von verschiedenen Therapielinien möglich ist. Die zyklische Applikation der Zytostatika erfolgt meist intravenös, da nur wenige konventionelle Chemotherapeutika als bioverfügbare Oralien zur Verfügung stehen. Neben der Tumoridentität bestimmen v.a. therapeutisches Ziel (kurativ/palliativ bzw. adjuvant/neoadjuvant) und der physiologische Zustand des Patienten (u.a. ECOG-Performance-Status<sup>22</sup>) über Art und Intensität der therapeutischen Maßnahmen<sup>23</sup>. So steht z.B. das Therapieschema FOLFIRINOX bei fortgeschrittenem Pankreaskarzinom trotz vergleichsweise

guter Überlebenswerte nur Patienten zur Verfügung, die ausreichend physisch und psychisch stabil sind.

Entsprechend der Profile ihrer UAWs erfolgt neben der Applikation der Chemotherapeutika eine zusätzliche Medikation zur Reduktion der Arzneimittelnebenwirkungen auf ein tolerables Maß. Zu den häufigsten Gründen für ein Therapieversagen zählt der Abbruch bzw. Dosisreduktion aufgrund nicht tolerabler Toxizität. Neben substanzspezifischeren UAWs (z.B. Kardiotoxizität der Anthracycline<sup>24</sup>, Nephrotoxizität der Platinanaloga<sup>25</sup> Cis- und Carboplatin) verfügen die klassischen Zytostatika über ähnliche Nebenwirkungen, welche in Ausmaß und Relevanz stark differieren. So resultieren, aufgrund der Wirkung auf schnell teilende Zellen des Blutbildungssystems, Leuko-, Thrombo- und Erythrozytopenien bzw. im Endeffekt Immunschwäche, Gerinnungsstörungen und Anämie. Die Verwendung von rekombinanten Wachstumsfaktoren wie Filgrastim (Neupogen®) und Darbepoetin Alpha (Aranesp®) reduziert das Ausmaß und die Dauer der benannten UAWs. Die variierend ausgeprägte emetogene Wirkung von Zytostatika lässt sich auf verschiedene Gründe zurückführen. So führt die Schädigung des GIT bzw. der Schleimhäute, neben Resorptionsstörungen und Diarrhö, auch zu verzögerter Übelkeit. Akute Fälle von Übelkeit bei intravenöser Applikation beruhen auf Reizung des Brechzentrums durch Freisetzung von u.a. Serotonin und Substanz P. So sind die Platinanaloga Cis- und Oxaliplatin besonders stark emetogen. Für Cisplatin konnte belegt werden, dass die frühe Phase des Erbrechens (3 - 16 h nach Applikation) durch Ausschüttung der Mediatoren Serotonin und Substanz P und die späte Phase des Erbrechens (24 - 72 h nach Applikation) mehrheitlich durch Substanz P ausgelöst wird<sup>26</sup>. Durch Einsatz von NK1-Rezeptorantagonisten wie Aprepitant, 5-HT<sub>3</sub>-Antagonisten wie Ondansetron und Substanzen wie Clemastin und Dexamethason lässt sich inzwischen meist eine hinreichende Kontrolle der Übelkeit ermöglichen. Für den stigmatisierenden Haarausfall durch Schädigung der Haarfollikel und die Appetitlosigkeit durch Schädigung der Schleimhäute des GIT stehen leider nur symptomatische Therapieansätze zur Verfügung.

## 1.2.2. Moderne gezielte Therapien

Unter modernen gezielten Therapien werden alle Ansätze zusammengefasst, welche aufgrund ihres pharmakologischen Wirkmechanismus relativ selektiv Unterschiede von Tumorzellen gegenüber normalen Körperzellen nutzen. Die ersten kommerziell eingesetzten Präparate dieser Therapierichtung wurden bereits Ende der 90er Jahre zugelassen und befinden sich bereits im generischen Markt. Durch Identifikation neuer Targets und in Reaktion auf Resistenzphänomene wächst der Markt immer noch stetig. Wie im Abschnitt 1.3 zu Konzepten ausführlicher dargestellt, kommt es bei Ausbildung von Malignität zu kompletter Umstrukturierung des zellulären Signalnetzwerks. Daraus resultieren u.a. Einbindung bzw. Verstärkung von Signalketten, welche in gesunden Zellen von untergeordneter bzw. redundanter Bedeutung sind. Darüber hinaus kommt es zu Entfernung von Rückkopplungsmechanismen und auch von *Back-Up*-Strukturen mit ähnlicher Funktion. Das maligne Signalnetzwerk wird aufgrund zuvor beschriebener Phänomene wesentlich abhängiger von spezifischen Signalwegen bzw. -molekülen als das einer nicht entarteten Zelle, welches von WEINSTEIN *et al.*, im unter 1.3.1 beschriebenen Konzept der „*Oncogene Addiction*“, dargelegt wird. Infolgedessen ist, der Theorie nach, eine Inhibition selektiver Signalwege hinreichend

effektiv für einen zytostatischen bzw. zytotoxischen Effekt. Verschiedene Beispiele belegen, dass die Inhibition einer solchen Abhängigkeit durchaus möglich ist. Jedoch zeigt die Praxis auch, dass gezielte Therapien v.a. im Bereich der monoklonalen Antikörper (MAKs) zusätzlich zu konventionellen Zytostatika eingesetzt werden müssen bzw. der Einsatz als Monotherapie auf spezielle Therapieindikationen oder palliatives Therapiesetting limitiert ist. Konzeptionell lassen sich die Wirkstoffe in zwei Kategorien untergliedern. Einerseits handelt es sich um Proteinwirkstoffe, welche aufgrund von Antigen-Antikörperreaktion äußerst gezielt an Targetstrukturen binden. Der gebundene MAK inhibiert Wechselwirkungen des Targets und somit dessen Wirkung in der deregulierten Signalkette. Eine erleichterte Antwort des körpereigenen Immunsystems auf die „markierte“ Zielstruktur über Aktivierung des Komplementsystems und der zellgetragenen Immunantwort steht ebenfalls in Diskussion um die Wirkqualität der MAKs<sup>27, 28</sup>. Nachteilig ist, dass aufgrund der proteinogenen Struktur die Anwendung von MAKs auf Strukturen des Zelläußeren bzw. auch auf frei zirkulierende Targets limitiert ist. Tabelle 2 zeigt eine Auswahl von MAKs, ihren Zielstrukturen und den therapeutischen Einsatzfeldern.

**Tabelle 2:** MAKs im therapeutischen Einsatz bei Tumorindikation (Auswahl)

Verbindung	Handelsname	Zulassung	Target	Indikation
<b>Rituximab</b>	Mabthera®, Truxima®, Rixathon®	1998 (Mabthera®)	CD20	NHL, CLL
<b>Trastuzumab</b>	Herceptin®, Herzuma®, Kanjinti®	2000 (Herceptin®)	HER2	eBC, mBC, mGC
<b>Bevacizumab</b>	Avastin®	2005	VEGF	mCRC, mBC, mNSCLC, mRCC, aOC, mZC
<b>Cetuximab</b>	Erbix®	2004	EGFR	mCRC, SCCHN
<b>Ramucirumab</b>	Cyramza®	2014	VEGFR2	mCRC, aGC, mNSCLC
<b>Nivolumab</b>	Opdivo®	2015	PD-1	mM, mNSCLC, mRCC, CHL, SCCHN, mUC
<b>Olaratumab</b>	Lartruvo®	2016	PDGFRα	Weichteilsarkom

a(Indikation)-fortgeschrittene Erkrankung, e(Indikation)-frühe Erkrankung, m(Indikation)-metastasierende Erkrankung; Indikationen entsprechend Abkürzungsverzeichnis

Demgegenüber stehen kleine v.a. synthetische Moleküle (*small molecules*), welche aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften deregulierte Signalnetzwerke im Zellinneren der entarteten Zelle adressieren können. Je nach gewählter Targetstruktur ist eine Selektivität, aufgrund der Ähnlichkeit zu weiteren zellulären Strukturen, deutlich schwieriger zu erzielen. So adressieren *small molecules* bei Tumorindikation häufig die ATP-Bindungstasche von RTKs, welche aufgrund des natürlichen Bindungspartners ATP für diverse Kinasen relativ konservierte Proteinbereiche darstellen. Infolgedessen ist eine Off-Target-Inhibition für nahezu alle Marktpräparate bekannt<sup>29</sup>, welches im Abschnitt 1.6.2 beleuchtet wird. Tabelle 3 zeigt eine Auswahl von im onkologischen Sektor eingesetzten Wirkstoffen.



**Tabelle 3:** *small molecules* im therapeutischen Einsatz bei Tumorindikation (Auswahl)

Verbindung	Handelsname	Zulassung	Target	Indikation
<b>Erlotinib</b>	Tarceva®	2005	EGFR	mNSCLC, mPC
<b>Afatinib</b>	Giotrif®	2013	EGFR, HER2	mNSCLC
<b>Lapatinib</b>	Tyverb®	2008	HER2, EGFR	mBC
<b>Sunitinib</b>	Sutent®	2006	VEGFR1-3, PDGFR $\alpha/\beta$ , c-Kit	mRCC, GIST
<b>Axitinib</b>	Inlyta®	2012	VEGFR1-3, PDGFR $\alpha/\beta$ , c-kit	mRCC
<b>Regorafenib</b>	Stivarga®	2013	VEGFR1-3, PDGFR $\beta$ , c-kit	mCRC, GIST, HCC
<b>Alectinib</b>	Alcensa®	2017	ALK	aNSCLC

a(Indikation)-fortgeschrittene Erkrankung, m(Indikation)-metastasierende Erkrankung; Indikationen entsprechend Abkürzungsverzeichnis

An der Auswahl der MAKs und *small molecules* ist zu sehen, dass u.a. deregulierte RTKs bzw. deren nachgeschaltete Signalnetzwerke im Fokus stehen. Aufgrund der Beteiligung an Wachstums- bzw. Überlebensprozessen und den vielfältigen Möglichkeiten an Entartungen (u.a. Genamplifikation, Proteinüberexpression, Mutation mit Veränderung der Rezeptorfunktionalität, Etablierung von autokrinen Schleifen) sind RTKs geeignete Zielstrukturen für die therapeutische Intervention<sup>30</sup>. Weitere Targetgruppen, v.a. im Bereich der MAKs, sind Oberflächenrezeptoren, welche ausschließlich oder im verstärkten Maß von Tumorzellen exprimiert werden. So sind z.B. CD20 und CD22 häufig adressierte Zelloberflächenproteine bei verschiedenen Leukämieformen, die nach erfolgter Antikörper-Target-Bindung der Immunantwort zugeführt werden. Ein weiterer Ansatz ist die therapeutische Blockade von PD-1 bzw. PD-L1, welche verschiedene Tumoren zur Immuno-evasion gegenüber dem körpereigenen Immunsystem befähigen<sup>31</sup>.

Entsprechend ihrer UAWs sind gezielte Therapien weitaus diverser als die klassischer Zytostatika. Häufig stehen dabei relevante Nebenwirkungen im engen Kontext zum inhibierten Target. So werden sowohl für die niedermolekularen EGFR-Inhibitoren Gefitinib und Erlotinib, als auch für den MAK Cetuximab dermale Nebenwirkungen, z.T. des Grades 3 und 4, beschrieben. Ursächlich ist wahrscheinlich die hohe Expression von EGF-Rezeptoren in verschiedenen Hautzelltypen z.B. im Bereich der Keratinozytenreifung. Infolge der Inhibition resultieren Hautausschläge und entzündliche Prozesse der Haarfollikel<sup>32</sup>. Interessanterweise zeigen Studien eine Korrelation zwischen Hautausschlag und therapeutischen Ansprechen und/oder Überleben<sup>33</sup>. Der duale Inhibitor von EGFR und HER2 Lapatinib ist ebenfalls v.a. durch dermale UAW gekennzeichnet, wohingegen die ausschließliche Inhibition von HER2 durch z.B. Trastuzumab oder Pertuzumab mit relevanter Toxizität für das Myokard assoziiert ist. Daher ist besonders die Kombination mit den ebenfalls kardiotoxischen Anthracyclinen kritisch. HER2 scheint an der Aufrechterhaltung und Funktionalität der Myokardzellen beteiligt zu sein, so dass durch Inhibition eine Schwächung der Herzleistung resultiert<sup>34</sup>. Antiangiogene Therapien, also die Inhibition von VEGF durch Bevacizumab, aber auch die Inhibition von VEGFR durch Verbindungen wie Sunitinib und Regorafenib führen zu spezifischen Nebenwirkungen wie erhöhter Blutungsneigung, vermehrten thrombotischen

Ereignissen und erhöhtem Blutdruck. Aufgrund der Inhibition der VEGF/VEGFR-Signalkaskade verlieren Endothelzellen die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und es kommt zu verringerter Einlagerung von Matrixproteinen in Gefäßen. Infolgedessen resultiert bei traumatischer Einwirkung erhöhte Blutungsneigung bzw. durch Freilegung des subendothelialen Gewebes eine verstärkte Thromboseneigung<sup>34</sup>. Die neueren Inhibitoren von PD-1 und PD-L1 (*Checkpoint*-Inhibitoren) werden durch autoimmune UAWs geeint. So können entzündliche Reaktionen in vielen Geweben beobachtet werden, die i.d.R. geringgradig sind. Selten kommt es zu starken bzw. fatalen Immunreaktionen, welchen durch eine immunsuppressive Medikation entgegengewirkt wird, die aber bemerkenswerterweise keinen Einfluss auf die Tumorthherapie hat<sup>35</sup>.

Bei Bewertung des Nebenwirkungsprofils von gezielten Therapien ist anzufügen, dass das Ausmaß der UAWs i.d.R. geringer ist als bei konventioneller Chemotherapie. Weiterhin steht der Effekt meist in engem Zusammenhang zur Inhibition des Targets in einem anderen Gewebe. Es ist also fraglich, ob eine Isolation von Wirkung und UAW möglich ist, eine symptomatische Behandlung die einzige Alternative ist oder sogar die Nutzung als Surrogatparameter anzustreben ist. Momentan ist das Management der UAWs aufgrund geringerer Erfahrungen schlechter als bei den konventionellen Zytostatika.

### 1.3. Konzepte

Bei der Betrachtung warum moderne gezielte Therapien, trotz multifaktorieller Entwicklung und etablierten Überlebensmechanismen von Tumorzellen, in der Lage sind, selektive Wachstumsinhibition bzw. teils Tumorzellapoptose zu erzeugen, ist das von WEINSTEIN *et al.* begründete Konzept der „*Oncogene Addiction*“ äußerst hilfreich. Bezieht man die für die vorliegende Arbeit als relevant betrachteten RTKs auf dieses Konzept bzw. betrachtet deren Rolle in der Tumorigenese, so zeigen sich die RTKs als Target der onkologischen Therapie mit möglichen Ansatzpunkten für zukünftige Therapien. Die von HANAHAN und WEINBERG *et al.* beschriebenen Kennzeichen von Tumoren dienen dabei als Referenzpunkte für relevante Prozesse der Tumorentstehung. Beide Theorien werden in den folgenden Abschnitten beschrieben.

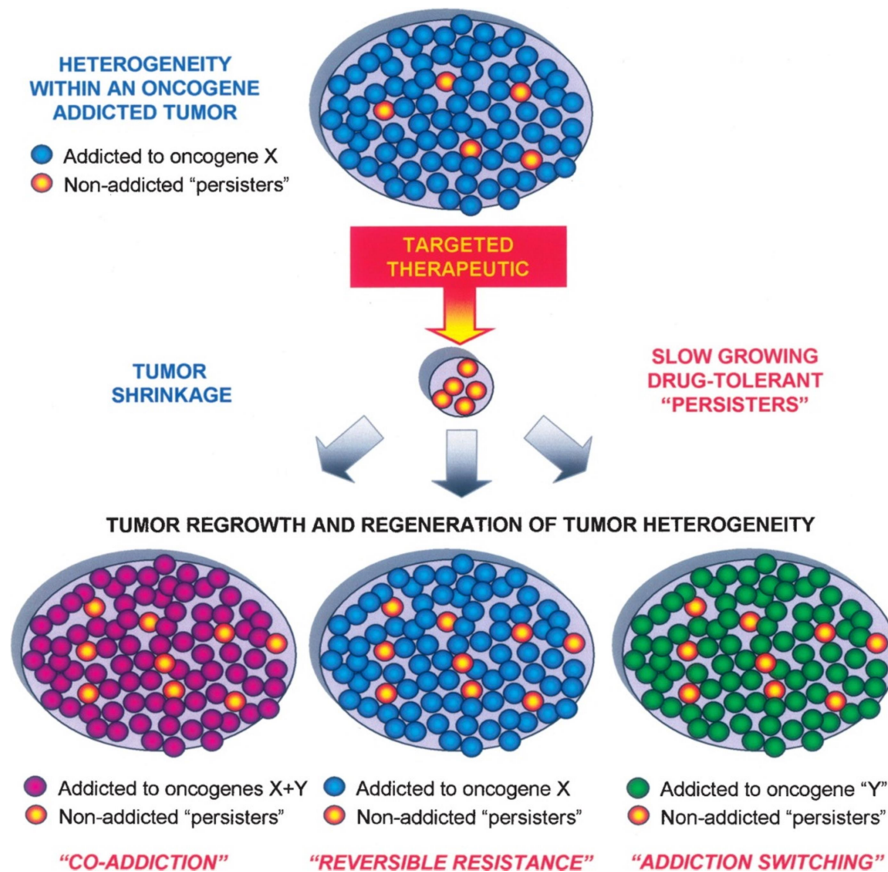
#### 1.3.1. „*Oncogene Addiction*“

Tumoren entwickeln sich über jahrelange Multiphasenprozesse, in welchen eine Tumorspezies verschiedene genetische Veränderungen erfährt. Diese betreffen ein weites Feld an wachstums- und überlebensregulierenden Signal- bzw. Regulationswegen auf genetischer und epigenetischer Ebene. Eine Entkopplung von der natürlichen Einbindung in Kontrollmechanismen ist die Folge<sup>36</sup>. Nichtsdestotrotz kann sowohl präklinisch als auch klinisch durch Zurückführen von einem entscheidenden Signalweg eine Inhibition des Tumorwachstums und teilweise verbesserte Überlebensraten von Patienten erreicht werden<sup>37</sup>. WEINSTEIN und JOE umschreiben die Notwendigkeit für die Aufrechterhaltung eines malignen Phänotyps durch einzelne Signalwege als „*Oncogene Addiction*“. Dabei wird der Tumor weniger als Summe seiner Mutationen betrachtet, sondern als verändertes Signalnetzwerk von Zellwachstums- und Überlebensregulation. Dadurch erhalten Regulatorproteine andere Aufgaben in der Tumorbilogie als in einer normalen Zelle. Durch die Umstrukturierung wird die Tumorzelle wesentlich abhängiger von der Funktionalität bestimmter

Signalwege, da vergleichbare Ausgleichskaskaden fehlen bzw. zugehörige negative Rückkopplungsmechanismen ohne Onkogenaktivität überschießen<sup>38,39</sup>. Beispielhaft seien an dieser Stelle Studien zum Vorteil in *response rate* (RR), *progression-free survival* (PFS) und *overall survival* (OS) durch HER2-Inhibition bei Brusttumoren genannt<sup>40,41</sup>. Dabei zeigt Trastuzumab plus Standardtherapie relevante Überlebensvorteile gegenüber der Standardtherapie sowohl in adjuvanter Behandlung als auch bei metastasierendem Tumor. Ähnliche Ergebnisse wurden auch durch niedermolekulare Arzneistoffe erreicht. Imatinib als Inhibitor des BCR-ABL-Fusionsproteins bei CML erzielte ebenfalls Vorteile in Lebensqualität und Überleben gegenüber der Kombinationstherapie Cytarabin mit Interferon<sup>42</sup>. Die Inhibitoren des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors Erlotinib und Gefitinib konnten u.a. für Formen von NSCLC Überlebensvorteile bewirken, sowohl als *First-Line*-Therapeutikum gegen Standardtherapie<sup>43,44</sup> als auch im vorbehandelten Lungentumor als *Second*- bzw. *Third-Line*-Therapie<sup>45</sup>. Hervorzuheben ist, dass sich die Therapievorteile immer auf Subpopulationen mit positivem EGFR-Mutationsstatus oder Genamplifikation zurückführen lassen. Hingegen zeigen Metadaten auch deutlich keinen Vorteil bei ungeklärtem Mutationsstatus in NSCLC<sup>46</sup>. Diese Beobachtung lässt sich auf zuvor genannte Beispiele übertragen. Die Ausprägung des *Oncogene-Addiction*-Status findet in unterschiedlicher Prägnanz statt, so dass bei NSCLC z.B. Einzelmutation im EGF-Rezeptor zu hochabhängigen Tumorzellen führen, verglichen mit „simpler“ Rezeptorüberexpression. Der Sachverhalt lässt sich damit untermauern, dass die Therapie mit EGFR-Inhibitoren wie Gefitinib und Erlotinib relativ schnell zu resistenten Mutanten (u.a. T790M) des Rezeptors führt<sup>47</sup>. Die hohe Abhängigkeit erzeugt einen starken Selektionsdruck unter Therapie.

Mit Bevacizumab und Sunitinib stehen sowohl ein hochmolekularer Antikörper als auch ein *small molecule* zur Inhibition der Wirkung des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF) zur Verfügung. Für Bevacizumab konnte für verschiedene Krebsarten (u.a. Brust-, Darm-) ein Überlebensvorteil als *Add-On* zur Standardtherapie festgestellt werden<sup>48,49</sup>. Darüber hinaus konnte es auch als Monotherapie gegenüber Placebo bei mRCC therapeutischen Wert beweisen<sup>50</sup>. Sunitinib wurde ebenfalls durch Überlebensvorteile bei mRCC zugelassen<sup>51</sup>, konnte aber als *Add-On* zur Standardtherapie bei Brustkrebs weder *First-Line*<sup>52</sup> noch im vorbehandelten Status überzeugen<sup>53</sup>. Anzuführen ist, dass die Studien keinesfalls vergleichbar sind und zusätzlich auch keine *head-to-head*-Studien existieren. Da Sunitinib zusätzlich andere Kinasen als VEGFR potent hemmt, kann dessen Wirkung auch nicht eindeutig auf diese Inhibition zurückgeführt werden.

Die genannten Arzneistoffe erzielen innerhalb der jeweiligen Indikationen beachtliche Erfolge, welche sich aber oftmals auf spezielle Populationen beziehen. Diese werden durch speziellen Mutationsstatus oder überproportionale Beteiligung eines Onkogens am Tumorgeschehen gekennzeichnet, so dass für Therapieerfolg eine Targetidentifikation vorausgesetzt ist. Problematisch dabei ist, dass nicht nur der Mutationsstatus eines Onkogens relevant ist, sondern auch die Interaktion im abnormen Wachstums- und Regulationsnetzwerk des Tumors. Die vollständige Erfassung dessen ist momentan weder ausgereift noch kostengünstig genug, um als Standard in therapeutische Maßnahmen etabliert zu werden und empirische Ansätze sind die Regel. Weiterhin weist die Theorie auch sichtbare Probleme auf, welche gegen ausschließliche Verfolgung eines Onkogens sprechen<sup>54</sup> (vgl. Abb. 2)<sup>55</sup>.



**Abb. 2:** Darstellung von potenziellen Problemen einer onkogeneselektiven Therapie<sup>55</sup>

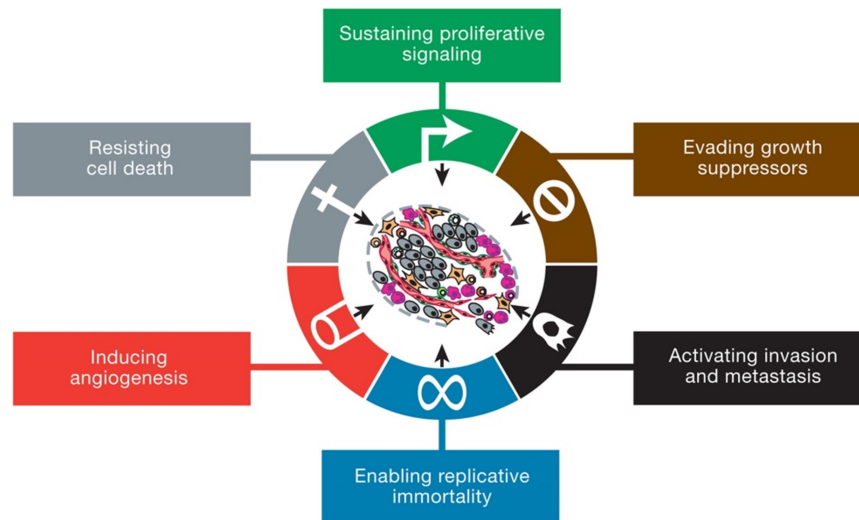
Vor allem die Diversität des Tumors in sich und genomische Instabilität führen dazu, dass nach Erfolg der therapeutischen Intervention potenziell onkogenunabhängige Tumorzellen zurückbleiben. Ein Rezidiv mit erneuter Abhängigkeit von Onkogen X unter evtl. epigenetischer Abwandlung lässt sich prinzipiell durch erneute Hemmung des Onkogens X zurückführen. Der Abhängigkeitswechsel zu Onkogen Y oder aber zu Onkogen X + Y verlangt veränderte bzw. erweiterte Inhibition. Die Beteiligung von Tumorstammzellen und des tumorumgebenden Stromas verkompliziert die Betrachtungsweise zusätzlich<sup>56</sup>, wie in nachfolgenden Abschnitt dargestellt.

### 1.3.2. „Hallmarks of Cancer“

Für die Tumorthherapie ist ein Verständnis der Komplexität einer neoplastischen Erkrankung essentiell. Die Veränderungen einer gesunden Zelle zu einer Malignen verlaufen vielschrittig, da innerhalb und außerhalb der Zelle zahlreiche Kontroll- und Suppressionsmechanismen überwunden werden müssen, welche die normale Zellhomöostase garantieren. HANAHAN und WEINBERG *et al.* beschreiben verschiedene Fähigkeiten die Zellen erlangen können, um den natürlichen Regulationsmechanismen zu entkommen und in bösartiges, invasives und unreguliertes Wachstum überzugehen (vgl. Abb. 3)<sup>57</sup>.

Vorhandensein und Ausprägung der Kennzeichen sind tumorspezifisch und können sogar innerhalb des Tumors variieren. Trotz zuvor erwähnter Erfolge von selektiven Therapien, welche eine Abhängigkeit von Tumoren von spezifischen Onkogenen nahelegen, zeigen v.a. Therapieversagen und Resistenzbildung, dass die Tumorbiologie weitaus komplexer ist. RTKs sind an vielen Wachstums-

und Regulationsprozessen, aber auch Resistenzbildung beteiligt. Bei Adressierung einer Auswahl an Kinasen ist mehr Erfolg sowohl in Breite der Anwendbarkeit als auch in Dauer vor Resistenzbildung diskutabel<sup>58, 59</sup>. Nachgehend sollen einige für die Arbeit relevante RTKs mit den entsprechenden veränderten Kennzeichen von Tumorzellen assoziiert werden. Die Darstellung verzichtet, aufgrund der Komplexität, auf Vollständigkeit und dient der Evaluierung der Targetstrukturen.



**Abb. 3:** 6 Kennzeichen von Krebs nach HANAHAN und WEINBERG *et al.* (*Hallmarks of Cancer* 2000)

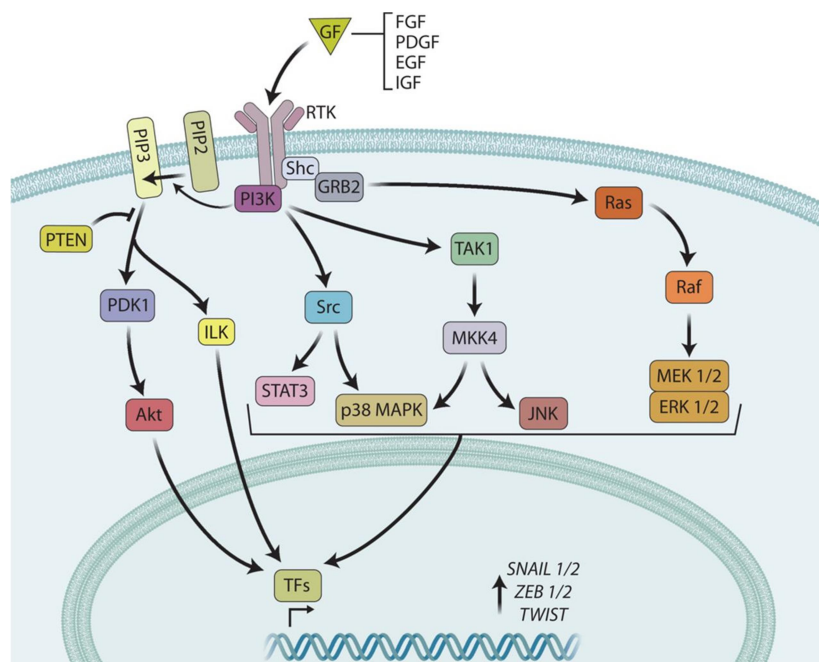
Die konstante Aktivität proliferativer Signale ist ein Kennzeichen in der Tumorigenese. Fehlende Regulation von Wachstumssignalen, Zellteilungszyklus und Homöostase der Zellzahl entstehen durch chronische aktive Proliferationssignale. Entsprechende Signalkaskaden werden in allen Tumorphasen u.a. über Wachstumsfaktoren bzw. deren Rezeptoren vermittelt<sup>60</sup> (vgl. 1.4). Die permanente Aktivität von Signalwegen wie z.B. EGF/EGFR und IGF/IGFR ist fördernd für klonale Vermehrung von mutationstragenden Zellen und somit für die Entwicklung von prämaligen Läsionen zu einem Tumor. Etablierung von autokrinen Schleifen durch die Tumorzelle<sup>61</sup> und erhöhte Expression von Rezeptoren und damit Hypersensibilität für Wachstumssignale (z.B. HER2 bei Brustkrebsformen<sup>8</sup>, EGFR in NSCLC<sup>62</sup> und Kopf-Hals-Tumoren<sup>63</sup>) sind nur zwei der vielen möglichen Ursachen. Weiterhin sind strukturelle Veränderungen innerhalb der Rezeptoren ursächlich für ligandenunabhängige oder aber erhöhte Signalaktivität innerhalb des Rezeptornetzwerks. Auch im Bereich des *Downstream*-Signalnetzwerks kann es zu aktivierenden Veränderungen wie erhöhter bzw. konstitutiver Aktivität kommen, z.B. durch Verlust von negativen Rückkopplungsmechanismen. Beispielhaft wären der Verlust der GTPase-Aktivität des Ras-Proteins oder der Verlust der PTEN-Phosphatase-Aktivität zu nennen. Abschließend ist anzufügen, dass auch das tumorumgebende Stroma für erhöhte Produktion von Wachstumssignalen, u.a. EGF und IGF, verantwortlich sein kann bzw. wechselseitig durch die Tumorzelle dazu beeinflusst wird<sup>64</sup>.

Jede gesunde Zelle ist im Sinne einer Zellhomöostase dazu befähigt, im programmierten Zelltod (Apoptose) unterzugehen (vgl. Abb. 4). Dieses kann durch intrinsische oder extrinsische Regulatoren (z.B. Fas und FasR (bzw. CD95L und CD95/FADD)) eingeleitet werden. Dem endgültigen Ablauf geht eine Integration von proapoptotischen (u.a. Bax und Bak) und antiapoptotischen (z.B. Bcl-2 und Bcl-x<sub>L</sub>) Signalen voraus. Tumorzellen kennzeichnen sich häufig durch Verschiebung zu



verzweigt, mit inhomogenem Blutfluss<sup>70</sup> und undichtem bzw. verändertem Endothel<sup>71</sup>, welches essentieller Bestandteil der späteren Ausbreitung des Tumors ist. Ähnlich der Apoptose kann bei der Angiogenese von einem Gleichgewicht von fördernden (z.B. VEGF, FGF) und inhibierenden Faktoren (u.a. TSP-1) ausgegangen werden<sup>72</sup>. Das erhöhte Vorkommen von z.B. VEGF und FGF bzw. ihren RTKs kann durch Onkogene wie Ras<sup>73</sup> oder Myc, Hypoxie<sup>74</sup> innerhalb des Tumorgewebes sowie durch peritumorale Entzündungsprozesse hervorgerufen werden. U.a. Makrophagen und Thrombozyten werden durch proinflammatorische Zytokine, welche der Tumor ausschüttet, angezogen<sup>75,76</sup> und setzen dort Wachstumsfaktoren wie VEGF und TGF $\beta$  frei<sup>77</sup>. Augmentierend für die Angiogenese wirkt die Aktivität der RTKs IGFR<sup>78</sup> und EGFR<sup>79</sup>. Die Aktivität von PDGF bzw. PDGFR fördert zwar ebenfalls die Angiogenese, aber bewirkt Etablierung von stabileren Gefäßen mit dichterem Epithel.

Ein weiteres Kennzeichen eines malignen Tumors besteht in invasivem Wachstum und Metastasierung. Hierbei wird von einer Mehrschrittentwicklung ausgegangen, beginnend mit lokaler Gewebsinvasion, Eindringen in nahegelegene Blut- und Lymphgefäße, Wanderung in Gefäßen, Extravasation aus Gefäßen in entfernten Organen, Ausbildung von Mikrometastasen und abschließender Entstehung von makroskopischen Tumoren<sup>57</sup>. Obwohl ein Großteil der regulatorischen Abläufe noch unzureichend aufgeklärt ist, sind doch mit Snail, Slug, Twist und Zeb Transkriptionsfaktoren bekannt, welche währenddessen von entscheidender Bedeutung sind (vgl. Abb. 5).



**Abb. 5:** Wachstumsfaktoren und deren nachgeschaltete Signalkaskaden als Einflussfaktoren auf den epithelial-mesenchymalen Transfer (EMT)<sup>80</sup>

Diese bewirken neben dem Verlust von Zell-zu-Zell-Adhäsionsmolekülen (z.B. E-Cadherin) eine morphologische Veränderung von epithelialen Tumorzellen, welche als EMT (*epithelial-mesenchymal transition*) bekannt ist<sup>81</sup>. Sowohl die Signalkaskaden um PDGF/PDGFR<sup>82,83</sup> als auch um EGF/EGFR<sup>84</sup> und IGF/IGFR<sup>85</sup> sind an Ausbildung und Unterhalt der morphologischen Veränderung beteiligt. Die Wachstumsfaktorsignalkaskaden vermitteln, sowohl über den Ras/Raf/MEK/ERK-Weg als auch über den Phosphatidylinositol-3-Kinase/Akt-Weg, die Realisierung der mit EMT assoziierten

Transkriptionsfaktoren und tragen damit maßgeblich zu Invasivität und Metastasierung bei. Für die Tumorzelle resultiert eine spindelförmige Morphologie, Exprimierung matrixabbauender Enzyme<sup>86</sup>, erhöhte Beweglichkeit<sup>87</sup> und verstärkte Resistenz gegen Apoptose. Der Prozess kann sowohl durch Signale anderer Tumorzellen als auch durch das umgebende Stroma realisiert werden. Weiterhin scheint die Aktivität von matrixauflösenden Enzymen (u.a. MMP-2, uPar) von Bedeutung, deren Expression ebenfalls durch Signalaktivität von IGF/IGFR unterstützt wird<sup>78</sup>. Auch während der Etablierung der Metastasen in entfernten Organen (Kolonisierung) scheint die Aktivierung von Überlebenssignalen der IGF/IGFR-Signalkaskade von Bedeutung<sup>88, 89, 90</sup>. Es sei erwähnt, dass bei Etablierung von fernen Metastasen eine Rückkehr zum epithelialen Morphologietyp stattfindet, da für fortwährendes Wachstum zuvor erhaltene Fähigkeiten eher nachteilhaft wären.

Der Vollständigkeit halber sollen die nicht erläuterten, von HANAHAN und WEINBERG *et al.* propagierten, Kennzeichen einer Tumorzelle erwähnt werden. Dazu zählen: Umgehung von Wachstumsinhibitoren, Erlangung replikativer Unsterblichkeit, Umstellung des Energiemetabolismus und Limitierung der Immunantwort. Zusätzlich werden neben den Kennzeichen vereinfachende Faktoren genannt. Dazu zählen genomische Instabilität, die veränderte Zellen mit Progressionsvorteilen ausstattet, und tumorunterstützende Entzündungsprozesse. Die Entzündung, welche prinzipiell eine Immunantwort auf neoplastische Läsionen darstellt, kann für verbesserte Versorgung der Tumormikroumgebung mit Wachstums-, Überlebens- und Angiogenesefaktoren (EGF, VEGF, IGF und FGF) sorgen und erleichtert damit die Tumorigenese, während der Tumor der Immunantwort ausweicht.

Wie in vorangegangenem Abschnitt erläutert, sind deregulierte RTKs divers an der Bildung von Tumoren und deren Malignität beteiligt. Für ausgewählte RTKs werden Evidenzen für tumorabhängige Nutzbarkeit im Anhang beschrieben. Der momentane klinische Kenntnisstand wird in nachfolgenden Abschnitten dargestellt. Die Validität der Targets ist unbestritten, trotzdem existieren Probleme wie Resistenz und fehlendes Ansprechen weiterhin. „*Oncogene Addiction*“ beschreibt, wie Inhibition spezifischer therapeutischer Targets in der Lage ist, trotz zahlreicher genetischer Veränderungen eines Tumors Regression und Apoptose zu bewirken. Eine entsprechende Abhängigkeit ist momentan aber nicht für jeden Tumor identifizierbar und falls vorhanden, erzeugt sie bei therapeutischer Intervention Resistenzen durch Targetmodifikation, Aktivierung alternativer Ausgleichsmöglichkeiten oder ist nicht alleiniger Mediator der Abhängigkeit. Findet die Inhibition verschiedener RTKs statt, so ist Interaktion mit verschiedenen tumorrelevanten Prozessen, sowohl in der Tumorzelle als auch im umgebenden Stroma, denkbar<sup>91</sup>. Resistenzphänomene wie Targetmodifikation, Onkogen-*Switch* und Resistenz durch Koabhängigkeit von verschiedenen Signalkaskaden werden dadurch weniger limitierend<sup>92, 93</sup>. Eine breitere Anwendbarkeit bei gleichzeitig verlängerter Tumorkontrolle könnte als möglicher therapeutischer Ansatz resultieren. Da nach heutigem Erkenntnisstand die meisten zugelassenen gezielten Therapien auf *small molecules*-Ebene mehrere Kinasen inhibieren und der Vergleich zum Nebenwirkungsspektrum der konventionellen Zytostatika besteht, ist die Sorge bezüglich nicht tolerierbarer UAWs vermutlich unbegründet.



## 1.4. Rezeptortyrosinkinase (RTKs)

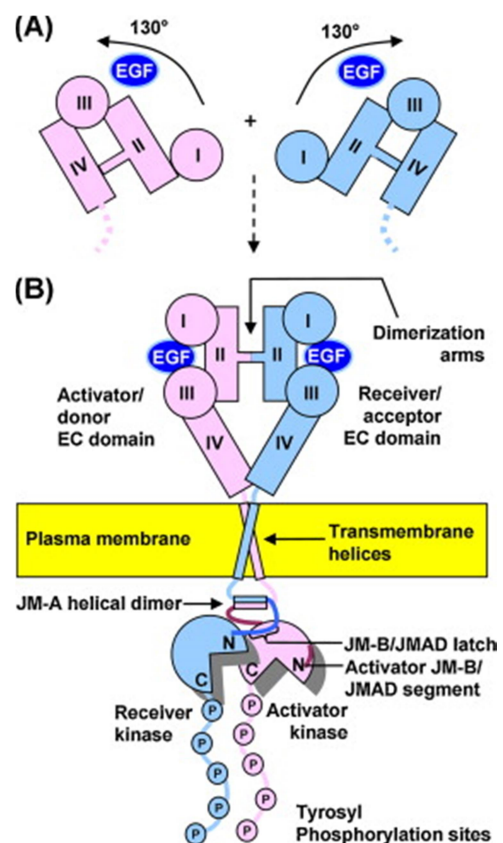
RTKs sind hochaffine Transmembranproteine, welche zur Bindung von diversen Peptidmediatoren (u.a. Wachstumsfaktoren, Zytokine und Hormone) befähigt sind. Die Bindung spezifischer Mediatoren an die extrazelluläre *N*-terminale Region der RTK führt i.d.R. zur Aktivierung dieser. Infolgedessen kommt es zu Konformationsänderung der RTKs mit nachfolgender Dimerisierung bzw. Stabilisierung von Dimeren. Dabei ist sowohl Bildung von Homo- als auch Heterodimeren möglich (vgl. Abb. 6<sup>94</sup>). So führt EGF als bifunktionaler Bindungspartner dazu, dass die extrazellulären Kinasedomänen I und III von EGFR durch Konformationsänderung sich einander nähern und Kinasedomäne II, inklusive des zuvor verborgenen Dimerisierungsarms, freigelegt wird. Unter Bindung und Spaltung von ATP in der zugehörigen Bindungstasche kommt es zu Transphosphorylierung von Tyrosinresten des jeweiligen Dimerisierungspartners. Dazu interagiert der *N*-terminale Teil der Receiverkinase mit dem *C*-terminalen der Aktivatorkinase. Durch Bildung helikaler Dimere und allosterische Aktivierung der Aktivatorkinase durch die juxtamembranäre Aktivierungsschleife der Receiverkinase erhöht sich die Kinaseaktivität 10-fach respektive 70-fach<sup>94</sup>. Durch Autophosphorylierung des aktivierten Rezeptordimers werden Bindungsstellen für Signaltransduktionsproteine freigelegt, welche ihrerseits durch Bindung und Phosphorylierung zur Weiterleitung von Signalkaskaden befähigt werden. Je nach Dauer und Intensität der Phosphorylierung und durch komplexes Zusammenspiel von sowohl verschiedenen RTKs als auch verschiedenen *Downstream*-Signalkaskaden parallel bzw. miteinander, ergibt sich eine Vielzahl von effektiven Signalen. Nach Weiterleitung des Rezeptorsignals erfolgt i.d.R. Inaktivierung des Rezeptors durch Endozytose.

**Abb. 6:** Schematische Darstellung liganden-induzierter Konformationsänderung RTK mit Transphosphorylierung am Beispiel von EGF/EGFR<sup>94</sup>

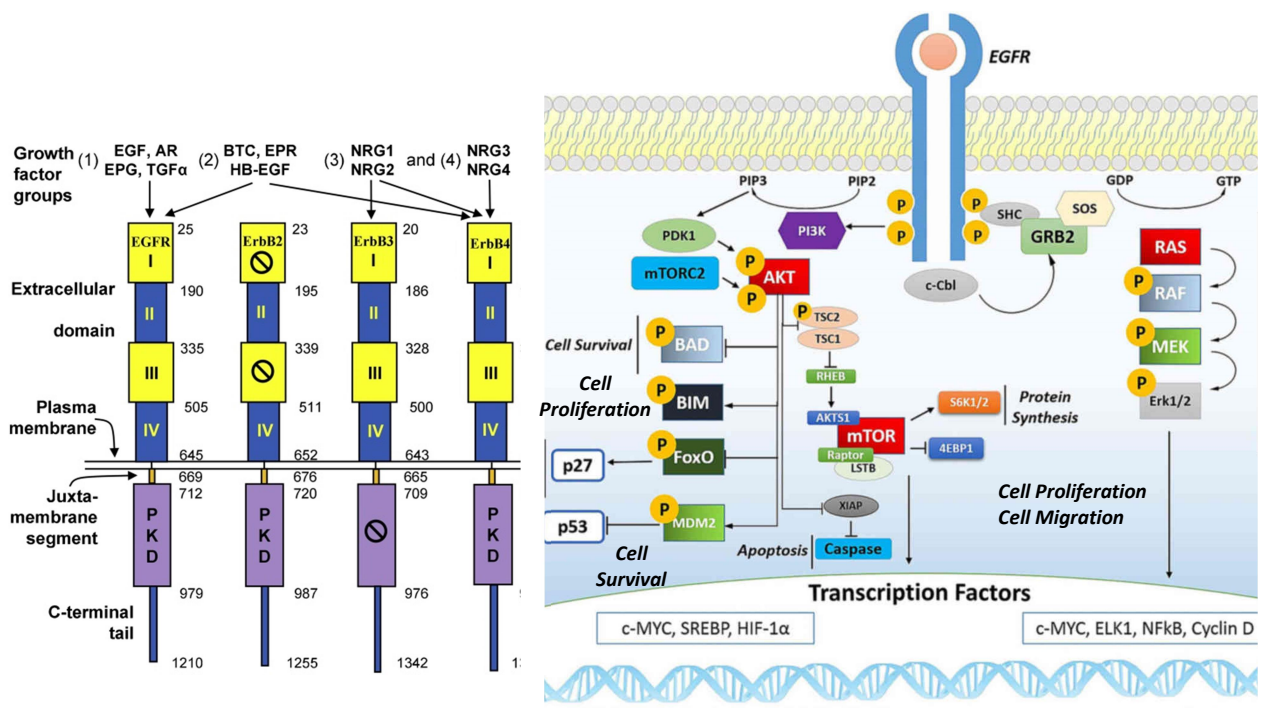
### 1.4.1. Der EGF-Rezeptor/ErbB-Familie

#### 1.4.1.1. Allgemein

Die Familie der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren (ErbB-Familie) besteht aus vier verschiedenen Rezeptorproteinen (vgl. Abb. 7 links). Im Weiteren bestehen die vier Proteine aus glykosilierten extrazellulären Domänen, einem hydrophoben transmembranären Segment und einem intrazellulärem Rest, welcher in juxtamembranäre, Proteinkinase- und *C*-terminale-Domäne unterteilbar ist. Für die ErbB-Familie sind elf Liganden bekannt, wobei sieben davon an ErbB4, keiner an ErbB2, zwei an ErbB3 und sieben an EGFR binden, darunter die am besten untersuchten Liganden EGF und TGF $\alpha$ . Weiterhin anzumerken ist, dass



ErbB2/HER2 trotz fehlender Ligandenbindung häufigster Partner für Rezeptorheterodimerisierung ist. Die zuvor beschriebene Signaltransduktion erfolgt nach Homo- bzw. Heterodimerisierung durch Steigerung der Kinaseaktivität. Dabei führt (vgl. Abb. 6) die Bindung des bifunktionalen Wachstumsfaktors (z.B. EGF) zur Verbrückung der extrazellulären Proteindomänen I und III. Infolgedessen wird der, zuvor in Domäne IV versenkte, Dimerisierungsarm freigelegt und kann mit einem ebenfalls ligandengebundenen Rezeptor dimerisieren. ErbB2 existiert bereits trotz fehlender Ligandenbindung in geöffneter, zu Dimerisierung fähiger, Position. ErbB3 besitzt eine beeinträchtigte Proteinkinasedomäne, welche ca. ein Tausendstel der Aktivität von EGFR besitzt, aber nach Heterodimerisierung trotzdem zu robuster Signaltransduktion fähig ist. *Downstream*-Signaltransduktionskaskaden von EGFR sind u.a. der Phosphatidylinositol-3-Kinase/Akt-Weg und der Ras/Raf/MEK/ERK1/2-Weg (vgl. Abb. 7 rechts).



**Abb. 7:** Darstellung Wachstumsfaktoren und zugehörige RTKs der ErbB-Familie (links)<sup>94</sup>, Darstellung des *Downstream*-Signalnetzwerks von EGFR mit vermittelten Zellwirkungen adaptiert nach ARDITO *et al.* (rechts)<sup>95</sup>

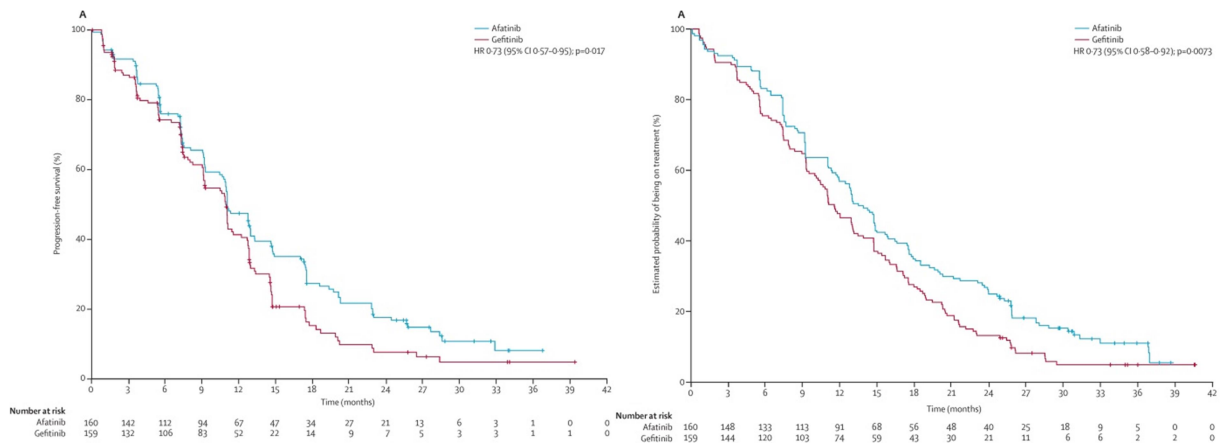
Die Adaptorproteine SHC und GRB2 binden an zahlreiche Phosphotyrosinreste von EGFR und führen unter Mithilfe von SOS als Nucleotidaustauschfaktor dazu, dass Ras mit gebundenen GTP zur Signalweiterleitung an Raf befähigt ist. Nach Signalfortleitung über MEK/ERK1/2 kommt es zur Realisierung diverser Transkriptionsfaktoren (u.a. c-Myc, ELK1, NFκB), welche Zellproliferation und -migration bedingen. Ebenso wird PI3K durch Autophosphorylierung von EGFR gebunden und katalysiert die Umsetzung zu Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat, welches wiederum über Aktivierung von PDK1 und mTORC2 zu Phosphorylierung des Proteins Akt führt. Akt wiederum wirkt über Hemmung von Bad und Aktivierung von Bim antiapoptotisch, durch Hemmung von FoxO bzw. p27 zellproliferativ, über Aktivierung von MDM2 bzw. Inhibition von p53 antiapoptotisch und inhibiert über XIAP die Caspasen als Effektoren der Apoptose. Zusätzlich wirkt Akt über diverse Regulatormoleküle aktivierend auf mTOR, welches wiederum die Proteinsynthese fördert und über Transkriptionsfaktoren (u.a. c-Myc, SREBP, HIF1α) Zellproliferation und -migration weiter vorantreibt.

Weitere Ausführungen beschreibt ARDITO et al.<sup>95</sup>. Abseits dieser allgemeinen Betrachtungen lässt sich die therapeutische Anwendbarkeit einer EGFR-inhibitorischen Therapie für verschiedene Tumorarten belegen. Eine Auswahl entsprechender Nachweise findet sich aus Kapazitätsgründen im Anhang C - E dieser Arbeit.

### 1.4.1.2. Stand der Forschung

EGFR-Inhibition durch RTKIs wie Erlotinib, Gefitinib und Afatinib ist inzwischen therapeutischer Standard nach Leitlinientherapie bei NSCLC. Klinische Studien belegen, dass der therapeutische *Benefit* der RTKIs im Zusammenhang zu aktivierenden Mutationen des EGF-Rezeptors steht. So kann Erlotinib, bezogen auf eine Population mit EGFR-positivem Mutationsstatus, den PFS von 5,2 auf 9,7 Monate verbessern im Vergleich zu Standardtherapie mit Cisplatin/Carboplatin in Kombination mit Docetaxel oder Gemcitabin<sup>96</sup>. Gefitinib zeigt im Vergleich zu Cisplatin in Kombination mit Docetaxel oder Gemcitabin ebenfalls Verbesserung des PFS von 6,3 auf 9,2 Monate<sup>97</sup>. Interessanterweise konnten initiale Zulassungsstudien ohne Evaluierung des EGFR-Mutationsstatus keine Überlebensvorteile beider Wirkstoffe gegenüber *best-supportive-care* nachweisen. Spätere Subgruppenanalysen führten zur Entdeckung der therapeutisch profitierenden Population<sup>98,99</sup>. Infolgedessen können für „aktivierende“ Mutationen deutlich erhöhte RR für EGFR-spezifische RTKIs nachgewiesen werden. 90 % aller *Responder* besitzen entsprechende Mutationen des EGFR-Gens<sup>100</sup>. Hingegen geben EGFR-Überexpression und Genamplifikation kein schlüssiges Bild zur Therapieantwort auf RTKIs. Trotz erweiterter Verständnisses zu EGFR-selektiven Therapien bei NSCLC wird die therapeutische Effizienz durch verschiedene Faktoren limitiert. Ca. 50 % aller erworbenen Resistenzen resultieren nach 9 - 12 Monaten Therapie aus sekundären Punktmutationen (u.a. T790M) der ATP-Bindungstasche der RTK. Durch die „*Gatekeeper*-Mutation“ verändert sich das Affinitätsverhältnis vom Inhibitor zur RTK und das natürliche Substrat ATP wird bevorzugt. Die genannte Mutation kann in geringer Prävalenz, 0,4 - 3,6 % je nach Detektionsmethode, auch primär nachgewiesen werden<sup>101</sup>. RTKIs der zweiten/dritten Generation beziehen sich auf diesen Resistenzmechanismus und überwinden durch kovalente Bindung in der ATP-Bindungstasche die *Gatekeeper*-Mutation. Da sowohl primär als auch sekundär EGFR-T790M-Mutanten nachweisbar sind, muss die *First-Line*-Verwendung der irreversiblen EGFR-Inhibitoren gegenüber den kompetitiven Inhibitoren (Gefitinib, Erlotinib) erwogen werden. Gegenüber Cisplatin/Gemcitabin verlängert Afatinib den PFS von 5,6 auf 11,0 Monate<sup>102</sup> (LUX-LUNG 6) und liefert somit vergleichbare Werte zu den kovalenten Inhibitoren. In nachfolgender *head-to-head*-Studie (LUX-LUNG 7) zum Vergleich von Gefitinib mit Afatinib zeigt der kovalente Inhibitor eine Verbesserung des PFS (10,9 vs. 11,0 Monate) und der *time-to-treatment-failure* (tttf) (11,5 vs. 13,7 Monate) bei leichtem Anstieg der UAWs. Abseits der eindimensionalen Überlebenswerte zeigt sich die therapeutische Überlegenheit von Afatinib graphisch deutlicher (vgl. Abb. 8 ). So kann die Differenz in PFS und ttff v.a. im späteren Therapiezeitraum beobachtet werden, welches mit einer stabileren Therapieantwort und verringerter Resistenzbildung (T790M, breitere Inhibition von ErbB2/ErbB3 durch Afatinib) korreliert<sup>273</sup>. Größtes Problem des irreversiblen Inhibitors Afatinib ist die gleichzeitige Inhibition von wt EGFR, da v.a. daraus therapielimitierende dermale UAWs resultieren. Wirkstoffe der dritten Generation wie Osimertinib (Tagrisso®) inhibieren sowohl EGF-Rezeptoren mit aktivierenden

Mutationen (Del19, L858R) als auch therapierefraktäre Doppelmutanten (L858R/T790M, Del19/T790M), haben aber kaum Aktivität an wt EGFR.



**Abb. 8:** Vergleich PFS (links) und ttf (rechts) des kompetitiven EGFR-Inhibitors Gefitinib und des kovalenten EGFR-Inhibitors Afatinib<sup>273</sup>

Osimertinib konnte nach Progression unter kompetitiven EGFR-RTKIs (T790M+) eine *objective response rate* (ORR) von 66 % und eine *disease control rate* (DCR) von 92 % erzielen, gefolgt von mittleren PFS von 9,9 Monaten und mittlerem OS von 26,8 Monaten. Der Vergleich von Chemotherapie (Platin/Pemetrexed) und Osimertinib nach Progression unter kompetitiven EGFR-RTKIs (T790+) ergab einen PFS von 4,4 Monaten zu 10,1 Monaten. Bei Überprüfung als *First-Line*-Therapie, verglichen mit Gefitinib/Erlotinib, ergab sich ein Unterschied im PFS von 18,9 zu 10,2 Monaten zugunsten Tagrisso®. Aus der ORR von 80 % zu 76 % ergibt sich, dass primäre T790M-Mutationslast selten initiale Resistenz vermittelt, aber daraus ohne Adressierung verkürzte Tumorkontrolle resultiert<sup>103</sup>.

Weitere erwähnenswerte Resistenzmechanismen sind Met-Amplifikationen, welche durch Etablierung einer alternativen onkogenen RTK für einen Kinase-Switch bei gleichzeitigem Erhalt der *Downstream*-Signalkaskaden sorgen. Über Heterodimerisierung von Met und ErbB3 kann v.a die PI3K-Kaskade weiter effizient versorgt werden. Obwohl eine primäre Met-Amplifikation in ca. 20 % aller NSCLC nachweisbar ist, wird die für Resistenz nötige Rezeptormenge nur als erworbene Antwort erreicht<sup>104</sup>. Weitere resistenzvermittelnde Mutationen sind: K-Ras ( $\approx 16$  % intrinsisch); HER2-Mutation ( $\approx 2$  % intrinsisch); PI3KCA-Mutation ( $\approx 1,5$  % intrinsisch) und BRAF-Mutation. Alle genannten Resistenzmechanismen lassen sich kategorisch in die in Kapitel 1.6.1 genannten Obergruppen unterteilen. Bei entsprechender Identifizierung und Adressierung der genannten Resistenzmechanismen könnte ein Paradigmenwechsel der Therapie von NSCLC im Sinne einer chronischen Erkrankung möglich werden.

Die Verwendung von HER2-inhibitorischen Therapieansätzen mit MAKs (Trastuzumab, Pertuzumab) aber auch niedermolekularen RTKIs (Lapatinib) ist klinische Routine bei HER2-überexprimierenden Brusttumoren. Hingegen bieten die triple-negativen Brustkarzinome (tnBC) v.a. für EGFR-inhibitorische Therapieansätze noch Entwicklungspotenzial. So konnte CAREY *et al.* mit Cetuximab-Monotherapie eine RR von 6 % bzw. mit Kombination aus Carboplatin und Cetuximab eine RR von 16 % bei metastasierenden Brustkrebspatienten erzielen<sup>105</sup>. In einer Studie von BASELGA

*et al.* konnte durch Zusatz von Cetuximab zu Cisplatintherapie die RR von 10 % auf 20 %, der PFS von 1,5 auf 3,7 Monate und der OS von 9,4 auf 12,9 Monate gesteigert werden, auch wenn dabei statistische Signifikanz verfehlt wurde<sup>106</sup>. In einer einarmigen neoadjuvanten Studie mit dem MAK Panitumumab als *Add-On* zum Therapieschema EFC-T konnte die RR mit der Expressionsrate von EGFR korreliert werden<sup>107</sup>. Alle genannten Studien belegen den Wert einer EGFR-inhibitorischen Therapie bei tnBC, entsprechen aber auch nicht der präklinischen Erwartungshaltung. Die Datenlage zu niedermolekularen RTKIs bei tnBC ist weniger ausgereift. So erzeugte Afatinib in stark vorbehandelten tnBC kein Ansprechen, wobei die Anwendung als Monotherapie ohne prädiktive Biomarker fraglich erscheint<sup>108</sup>. Jedoch konnte auch FINN *et al.* keinen therapeutischen *Benefit* von Lapatinib als *Add-On* zu Paclitaxel bei tnBC identifizieren. Die Subgruppenanalyse zeigt weiterhin, dass diese Beobachtung unabhängig vom EGFR-Expressionsstatus ist<sup>109</sup>. Dass aktuelle Studiendaten hinter den Erwartungen zurückbleiben, lässt sich u.a. im Studiendesign bzw. mit selten für die Populationsauswahl genutzten Biomarkern begründen. Weiterhin ist die EGFR-Überexpression nicht zwangsläufig mit onkogener Abhängigkeit gleichzusetzen, da alternative Signalkaskaden, Rezeptorcrosstalk und Heterodimerisierung die Beobachtung zusätzlich erschweren. Primäre Resistenz durch deregulierte *Downstream*-Signalmoleküle ist ebenfalls ein Einflussfaktor.

Hormonrezeptor-positive Brusttumoren sind nach präklinischen Daten ebenfalls potenzielle Therapieziele einer ErbB-Inhibition. So zeigte eine klinische Studie der Phase 2 zur Kombination aus Anastrozol und Gefitinib bei postmenopausalem metastasierendem BC eine Steigerung des PFS von 8,4 auf 14,7 Monate<sup>110</sup>. Bei gleicher Indikation zeigt der Vergleich von Letrozol mit der Kombination aus Letrozol und Lapatinib eine Veränderung des PFS von 3,0 auf 8,2 Monate<sup>111</sup>, bezogen auf eine nachweislich HER2+-Population. In einer weiteren Subgruppenanalyse wurde herausgestellt, dass für die hormonrezeptorsensitive Population ohne HER2-Expression kein signifikanter Therapievorteil durch die Kombination entsteht. Jedoch ist im HER2-negativen hormonrezeptorresistenten Therapiearm eine Verbesserung des PFS durch *Add-On* von Lapatinib zu beobachten. Eine Umkehr der durch Rezeptorcrosstalk (von u.a. EGFR) vermittelten Hormontherapieresistenz ist wahrscheinlich. Im Weiteren beschreibt die Studie, dass der durch Lapatinib vermittelte Therapievorteil wahrscheinlich in Abhängigkeit zur Vortherapie steht. So scheinen kompetitive Inhibitoren des Estrogenrezeptors (ER) wie Tamoxifen stärker mit einer Resistenz durch Rezeptorcrosstalk assoziiert als hormonsuppressive Therapien durch Aromatasehemmung. Inwiefern kombinatorische Hemmung von EGFR und HER2 vorteilhaft ist, da zusätzliche Resistenzmechanismen adressiert werden, lässt sich aus vorhandenen Studiendaten nicht ablesen. Insgesamt resultiert ein zusätzliches Therapiepotenzial bei hormonrezeptorabhängigem Brustkrebs durch RTKIs, aber die Beteiligung der RTKs an der Tumorigenese und Resistenzphänomene gegenüber dem selektiven Therapieansatz sind sorgsam zu prüfen.

Klinische Studien zum Effekt einer EGFR-Inhibition bei Magentumoren ergaben eher unbefriedigende Ergebnisse. So erzielte Cetuximab als *Add-On* zur Standardtherapie Capecitabin/Cisplatin bei unbehandeltem fortgeschrittenem Magenkarzinom keinen therapeutischen Mehrwert bei leichter Verschlechterung des PFS<sup>112</sup>. Die REAL3-Studie zu Panitumumab als *Add-On* zum Therapieschema EOC bei ähnlichem Patientenkollektiv konnte ebenfalls keinen Zugewinn bzw. leichte Verschlechterung erkennen lassen. Als Kritikpunkt ist beiden Studien gemein, dass keine

Bewertung einer EGFR-Überexpression stattfand<sup>113</sup>. Der niedermolekulare EGFR-Inhibitor Gefitinib konnte in klinisch anderem Setting, nämlich nach Progression bei vorbehandelten Magentumoren, leichten therapeutischen *Benefit* in OS und PFS gegenüber Placebo erzielen<sup>114</sup>. Der duale EGFR/HER2-Inhibitor Lapatinib erreichte in der Tytan-Studie als *Add-On* zur *Second-Line*-Therapie mit Paclitaxel bei fortgeschrittenem Magenkarzinom relevante Therapievorteile. Bezogen auf das gesamte Patientenkollektiv wurde der OS von 8,9 auf 11,0 Monate, der PFS von 4,4 auf 5,4 Monate und die ORR von 9 % auf 27 % verbessert. Bezogen auf eine HER2-amplifizierte Subpopulation verbessert sich das Studienergebnis signifikant auf einen Unterschied in OS von 7,6 zu 14,0 Monaten. Eine Beteiligung des EGF-Rezeptors wurde leider nicht geprüft<sup>115</sup>. Eine Untersuchung zu Lapatinib als *Add-On* zu CAPOX bei HER2+-Magenkarzinom verbesserte den OS von 10,5 auf 12,2 Monate, verfehlte aber statistische Signifikanz<sup>116</sup>. Da der MAK Trastuzumab für metastasierendes Magenkarzinom in Kombination mit Capecitabin oder 5-FU und Cisplatin zugelassen ist, scheint die Validität des Targets vorhanden (OS: 13,8 vs. 11,1 Monate)<sup>117</sup>. Jedoch belegt die strikte Vorgabe der Anwendung ausschließlich nach geprüfter HER2-Amplifikation, dass sowohl Studiendesign als auch therapeutische Anwendung mit entsprechenden Biomarkern zu evaluieren ist. Inwiefern MAKs wie Trastuzumab durch immunsystembasierte Reaktionen und verringertes UAW-Profil oder multiple RTK-Inhibition (z.B. Lapatinib) durch breiteres Patientenkollektiv und verringerte Resistenzbildung (vgl. 1.6.1) einzusetzen sind, muss zukünftig bewertet werden.

In entsprechenden Leitlinien sind ErbB1-selektive MAKs, wie Cetuximab und Panitumumab, fester Teil bestehender Therapieregime bei CRC<sup>118</sup>. VAN CUTSEM *et al.* fand im Vergleich der Standardtherapie FOLFIRI mit der Standardtherapie plus Cetuximab bei mCRC, dass sich der mittlere OS von 21,0 auf 24,9 Monate und der PFS von 8,7 auf 9,9 Monate verbessert<sup>119</sup>. Panitumumab als humaner MAK gegen die extrazelluläre Domäne von EGFR zeigt ebenfalls signifikante Verbesserung von PFS und OS als *Add-On* zu FOLFOX bei mCRC. Der PFS steigt von 7,9 auf 10,1 und der OS von 20,2 auf 26,0 Monate<sup>120</sup>. Beide genannten Studiendaten beziehen sich auf Populationen mit wt Ras-Proteinen. Patienten mit K-Ras-Mutation hingegen verlieren jeden Therapievorteil. Niedermolekulare RTKIs wie Gefitinib und Erlotinib sind bisher nur Teil früher klinischer Studien. So konnte Gefitinib als *Add-On* zu FOLFIRI bei mCRC keine Verbesserung in PFS und OS bewirken<sup>121</sup>. Als *Add-On* zu FOLFOX bei mCRC konnte zwar Verbesserung der RR beobachtet werden<sup>122</sup>, jedoch muss für beide Studien signifikante Erhöhung der UAWs beschrieben werden. Resultierende Dosislimitierungen und -verschiebungen und keinerlei Bewertung des K-Ras-Status machen die Studiendaten nur eingeschränkt verwertbar. Erlotinib als *Add-On* zu FOLFOX und Avastin® führte aufgrund nicht tolerabler UAWs zum frühen Ende einer klinischen Studie, welches die Schwierigkeit der Implementierung von niedermolekularen RTKIs in komplexe Therapieschemen belegt<sup>123</sup>. Der Zusatz von Erlotinib zu CAPOX hingegen konnte mit Verbesserung von PFS und RR bei vertretbarem UAW-Profil bewertet werden<sup>124</sup>. Durch Zusatz von Erlotinib zu Bevacizumab konnte in klinischen Studien der Phase 3 signifikante Verbesserung des PFS (5,4 vs. 4,9 Monate) und des OS (24,9 vs. 22,1 Monate) erbracht werden und stellt somit eine Option für die Erhaltungstherapie bei inoperablem mCRC dar<sup>125</sup>. Interessanterweise stellte eine Subgruppenanalyse keine Therapienachteile bei positivem K-Ras-Status fest. Bei CRC ist EGFR-Inhibition über MAKs feststehender Bestandteil von Therapieregimen, jedoch könnten niedermolekulare RTKIs bei nebenwirkungsarmer Implementierung in vorhandene Therapien zusätzliches therapeutisches Potenzial erbringen<sup>126</sup>.

Vor allem inoperable und metastasierende Tumoren der Kopf-/Halsregion können von EGFR-selektiven Therapieansätzen profitieren. So konnte COHEN *et al.* einen verbesserten OS von 10,1 zu 7,4 Monaten, einen verbesserten PFS von 5,5 zu 3,3 Monaten und eine erhöhte RR 35,6 % zu 19,5 % für Cetuximab zusätzlich zu Cis- oder Carboplatin mit 5-FU nachweisen<sup>127</sup>. Die Kombination aus Cetuximab und Radiotherapie bei HNSCC führte ebenfalls zu signifikanter Verbesserung der Überlebenswerte, welches die vielfältigen Kombinationsmöglichkeiten verdeutlicht<sup>128</sup>. Beide Einsatzmöglichkeiten sind inzwischen zugelassene Therapien. Für reversible RTKIs, wie Erlotinib und Gefitinib, wird zwar klinische Aktivität belegt, jedoch verfehlte Gefitinib den Überlegenheitsnachweis gegenüber einer Methotrexat-Therapie<sup>129</sup> und auch Erlotinib erbrachte keinen signifikanten Zusatznutzen als *Add-On* zu Cisplatin/Radiotherapie<sup>130</sup>. Hingegen konnte Afatinib den PFS signifikant gegenüber Methotrexat-Therapie bei HNSCC von 1,7 auf 2,6 Monate erhöhen. Die Studie belegt zusätzlich Abhängigkeit des Therapieerfolgs von Resistenzmediatoren wie PTEN und ErbB3<sup>131</sup>. Neben weiteren laufenden Studien bestätigen die Ergebnisse von Afatinib, dass ein Therapievorteil erreichbar ist unter Vorbehalt der Patientenselektion.

Für lange Zeit galt Gemcitabin-Monotherapie als beste verfügbare Standardtherapie bei Pankreaskarzinom neben dem, aufgrund von hohem UAW-Potenzial limitierten, Therapieschema FOLFIRINOX, welches gleichwohl bessere Überlebensergebnisse erzielt<sup>132</sup>. In einer Vergleichsstudie von Gemcitabin mit der Kombinationstherapie aus Gemcitabin/Erlotinib demonstrierte MOORE *et al.* eine Verlängerung des OS von 5,91 Monaten auf 6,24 Monate<sup>133</sup>. Obwohl die statistisch signifikante Verbesserung nur etwa 10 Tage beträgt, führte dieses zur Zulassung durch die FDA. Nach BARDEESY *et al.* lassen sich sowohl autokrine EGFR-Schleifen als auch K-Ras Mutationen (> 90 %) bereits in frühen Vorstufen von Pankreaskarzinomen nachweisen. Durch Funktionsverlust der GTPase-Aktivität von K-Ras kommt es zu konstitutiver Aktivität und Entkopplung von *Upstream*-Aktivatoren wie z.B. EGFR. Die marginale Verbesserung der Therapiewerte unter Zusatz von Erlotinib trotz nachgewiesener Beteiligung von EGFR an der Tumorigenese, lässt sich u.a. auf hohe Mutationsraten von K-Ras zurückführen<sup>134, 135</sup>. Die zusätzliche Implementierung von MEK-Inhibitoren wie Selumetinib könnte Sensitivierung für EGFR-Inhibition und bessere Nutzung des Therapiepotenzials bewirken<sup>136</sup>.

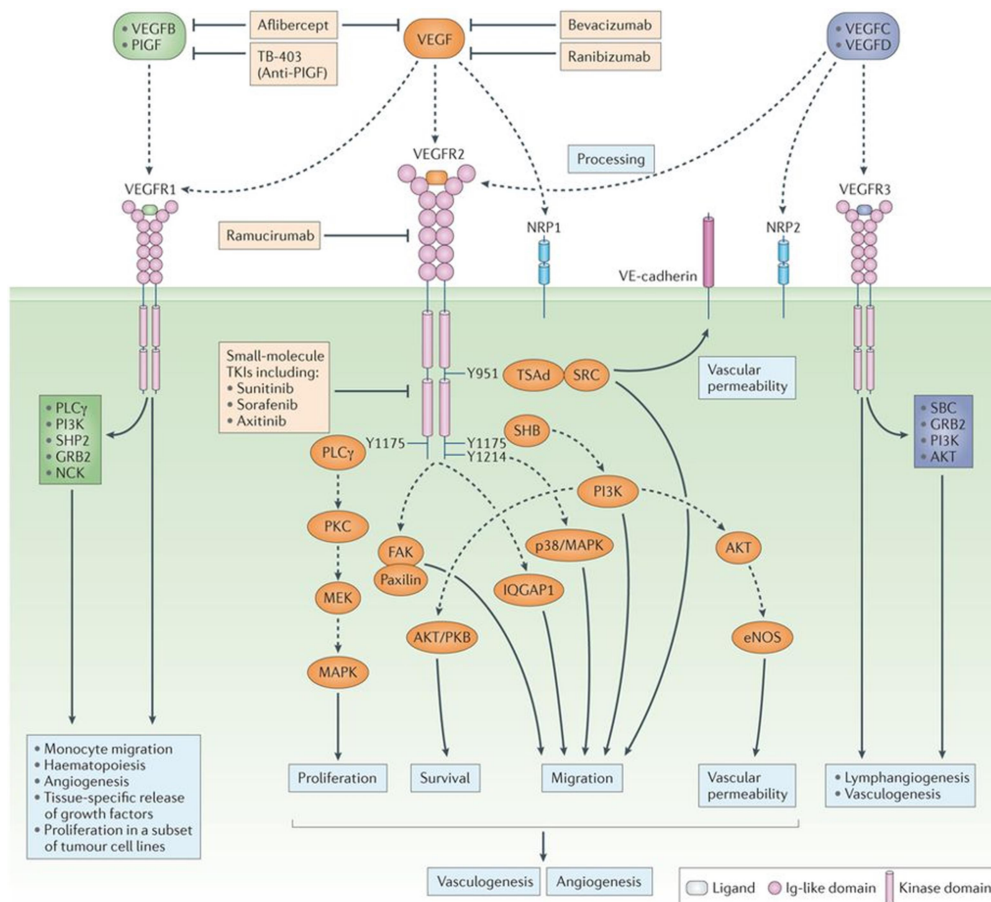
VAN DEN BENT *et al.* zeigte für Glioblastome, dass trotz erhöhter Expression und Amplifikation von EGFR kein Therapievorteil mit Erlotinib gegenüber Standardtherapien mit Carmustin oder Temozolomid erreicht werden kann. Hingegen bewirkte Erlotinib als *Add-On* zur Standardtherapie aus Temozolomid und Radiotherapie eine Verbesserung des mittleren OS von 14,1 auf 19,3 Monate<sup>137</sup>, welches konsistent mit der präklinisch beobachteten EGFR-vermittelten Resistenz auf Radio- und Chemotherapie ist. Aufgrund von UAWs konnte während der Dosisescalationsphase nicht die angestrebte Erlotinib-Höchstdosis erreicht werden. Im Weiteren beschreibt die Studie die Abhängigkeit des Therapieerfolgs von vorhandenen PTEN und dokumentiert somit einen Biomarker, welcher zukünftig berücksichtigt werden sollte. Da frühe Studien mit geringer Probandenzahl stattfinden, ist die Erfassung und Bearbeitung mit repräsentablen Biomarkern schwierig. So führt Afatinib in Kombination mit Temozolomid oberflächlich betrachtet zu Verringerung der Anzahl von Patienten, welche 6 Monate progressionsfrei bleiben (23 % zu 10 %)<sup>138</sup>. Eine nachweislich EGFRVIII-exprimierende Subgruppe erzielt nur minimal bessere Werte, jedoch präsentieren sowohl Afatinib- als auch Afatinib/Temozolomidarm mit 50 % bzw. 65 % Verlust von PTEN einen überproportional

hohen Anteil des negativ prognostischen Biomarkers. Nach MELLINGHOFF *et al.* ist die Effektivität von EGFR-Inhibition bei Glioblastom neben EGFRvIII an den intakten Tumorsuppressor PTEN geknüpft<sup>139</sup>.

## 1.4.2. Der VEGF-Rezeptor

### 1.4.2.1. Allgemein

Die VEGF-Familie besteht aus 5 Glykoproteinmediatoren, VEGFA, VEGFB, VEGFC, VEGFD (FIGF) und *placenta growth factor* (PlGF), welche verschiedene biologische Funktionalität, Expressionsmuster und Rezeptorspezifität aufweisen (vgl. Abb. 9)<sup>140</sup>.



**Abb. 9:** Übersicht VEGF/R-Signalkaskade inklusive nachgeschalteter *Downstream*-Signalwege und derer biologischen Wirkungen, Angriffspunkte bekannter pharmazeutischer Wirkstoffe<sup>140</sup>

Der am besten untersuchte Wachstumsfaktor VEGFA existiert in verschiedenen Splice-Varianten, was wiederum zu unterschiedlicher Rezeptorspezifität und Funktion führt<sup>141</sup>. Der prädominante Mediator VEGFA<sub>165</sub> ist überexprimiert in einer Reihe von soliden Tumoren. Die Mediatoren können an drei verschiedenen Rezeptoren binden (VEGFR1, VEGFR2 und VEGFR3). Vor allem VEGFR2 ist Schlüsselrezeptor für die Neoangiogenese während der Tumorigenese und vermittelt seine Wirkung u.a. über die MAPK-Kaskade, PI3K/Akt und SRC. VEGFR3 und die zugehörigen Mediatoren VEGFC und VEGFD werden v.a. mit der Lymphangiogenese assoziiert. VEGFB und PlGF vermitteln ihren Effekt vorwiegend über VEGFR1 und wirken damit u.a. auf Monozytenwanderung, Blutbildung und Angiogenese. Neben den genannten Rezeptoren existieren zwei Corezeptoren, die Neuropiline (NRP1



und NRP2). VEGF induziert Angiogenese und Blutfluss für Tumoren über diverse Mechanismen, dazu zählen u.a. verstärkte Einwanderung und Proliferation von Endothelzellen, verstärkte Chemotaxis von Precursorzellen aus dem Knochenmark und erhöhte Permeabilität der Gefäße<sup>142, 143</sup>. Dabei wird ähnlich der Apoptose von einem Gleichgewicht aus fördernden Faktoren (u.a. VEGF, FGF, EGF, PDGF) und hemmenden Faktoren (u.a. TSP-1, Endostatin, Angiostatin) ausgegangen. Im Sinne verbesserter Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen kommt es während der Tumorigenese zum Ungleichgewicht zugunsten der proangiogenen Faktoren, welches die Aktivierung des „*angiogenic switches*“ bewirkt. Zusätzlich übt VEGF autokrine Effekte wie Invasion, Migration und Überleben auf die Tumorzelle aus<sup>144</sup>.

Somit lässt sich VEGFR-Inhibition in direkte Wirkung auf die Tumorzelle und indirekte Wirkung auf das umgebende Stroma unterteilen. Je nach Tumorspezies unterscheidet sich die Relevanz bestimmter Wirkqualitäten bzw. das Ausmaß, da die Abhängigkeit von Angiogenese tumorspezifisch stark variiert. Pharmakologische Interaktion mit dem VEGF/R-System ist durch MAks gegen Liganden (z.B. Bevacizumab, Ranibizumab, Aflibercept), MAks gegen Rezeptoren (z.B. Ramucirumab) und RTKIs (u.a. Sunitinib, Sorafenib, Axitinib) möglich. Bei der Beurteilung von antiangiogenen Therapien zeigte sich, dass Zahl bzw. Dichte der Tumolvaskulatur unzureichende Marker sind. Morphologie und Funktion der Gefäße scheinen eher von Relevanz<sup>145</sup>. Darüber hinaus ist eine Verminderung an Tumorgefäßen schwer nachzuweisen, da ein erhöhtes Maß an Biopsiemessungen nötig wird, welches ethisch, monetär und auch logistisch eine Herausforderung darstellt. Die Evaluierung von Biomarkern und zugehörigen Teilprozessen der Angiogenese sollte eine Komponente der Therapiebewertung werden.

Wie zuvor angemerkt, ist VEGF Mediator in diversen Überlebenskaskaden von Endothelzellen, welche u.a. an der Aktivierung von Bcl-2, Akt und Survivin beteiligt sind<sup>146</sup>. BENJAMIN und KASHET *et al.* konnten nachweisen, dass VEGF für ein Überleben von Endothelzellen in neu gebildeten Tumorgefäßen notwendig ist. Im Umkehrschluss führt die Inhibition von VEGF zum Untergang von Gefäßen, welches im Weiteren zu Hämorrhagie und Tumornekrose führt<sup>147</sup>. Die Aktivierung der Überlebenskaskaden beruht auf Etablierung autokriner Schleifen<sup>148</sup> und ist bis zur Bedeckung mit Perizyten unverzichtbar. Bei Tumoren, welche auf ausschließliche VEGF-Inhibition ansprechen, scheint die Hemmung der Endothelzellen erheblicher Bestandteil der Wirkqualität zu sein. Zusätzliche Hemmung der Zellproliferation durch klassische Zytostatika augmentiert diesen Effekt<sup>149, 150</sup>. Darüber hinaus führt VEGF-Inhibition zu verminderter Migration von hämatopoetischen (HPCs) und endothelialen (EPCs) Vorläuferzellen aus dem Knochenmark. Suppression von VEGFR1 unterbindet die Chemotaxis von HPCs und somit deren Einwanderung in prämetastatische Nischen<sup>144</sup>. VEGFR2-Inhibition führt dazu, dass EPCs vermindert in Fernmetastasen einwandern, welches die Etablierung von Gefäßen innerhalb neu gebildeter Metastasen hemmt<sup>151</sup>.

Neben dem Einfluss auf das Wachstum scheint VEGF auch die Funktion der Vaskulatur maßgeblich zu beeinflussen. Erhöhte Expression von VEGF im Tumorgewebe übt, über Freisetzung von NO und Prostacyclinen, eine vasodilatatorische Wirkung aus<sup>152</sup>. Daraus resultieren erhöhte Tumorperfusion und verbesserte Blutversorgung, aber auch ein inhomogenerer Blutfluss. Radiologische Studien belegen, dass kurz nach VEGF-Inhibition drastische Reduktion von Blutfluss und

Perfusion stattfindet, welches aufgrund des zeitlichen Abstandes vermutlich auf Vasokonstriktion beruht<sup>153</sup>. In hochvaskularisierten Tumoren wie RCC kann dieses zu Ischämie und Nekrose führen. Somit ist eine Unterscheidung in frühe Effekte, wie Vasokonstriktion, und verzögerte Wirkungen, wie den Einfluss auf Epithelzellen, möglich. Tumorgefäße sind gekennzeichnet durch erhöhte Permeabilität, abnormale Abstände zwischen den Gefäßen sowie ineffektive Blutströmung durch Vasodilatation und veränderte Wandstruktur. Nach JAIN *et al.* kann dieses unter VEGF-inhibitorischer Therapie vorübergehend und tumorspezifisch normalisiert werden<sup>154</sup>. Die transiente Effektivitätssteigerung des Blutflusses führt zu verbesserter Versorgung des Tumors mit Chemotherapeutika<sup>155</sup>.

Neben den vaskulären Effekten scheint die VEGF/R-Signalkaskade auch direkt an Tumorstromung, -migration und -invasion beteiligt zu sein. So konnte *in vitro* nachgewiesen werden, dass VEGF ein Überlebenssignal für Brustkrebszellen darstellt und dass die Blockade dessen in Apoptose resultiert<sup>156</sup>. In Erweiterung dessen führen diverse Arten von Stress auf Tumorgewebe (wie u.a. Hypoxie, Nährstoffmangel, Strahlung und Chemotherapie) dazu, dass es zu verstärkter Induktion von VEGFs und VEGFRs kommt. Somit besteht eine Rationale zwischen Unterbrechung der therapieinduzierten Überlebenssignale durch VEGF-inhibitorische Therapie und dessen Synergismus zu klassischer Chemotherapie. Zusätzlich wirkt VEGF vermutlich als ein Mediator im epithelial-mesenchymalen-Umwandlungsprozess (EMT), welcher als wesentlicher Schritt für Migrations- und Metastasierungsprozesse gilt<sup>157</sup>.

Ebenfalls scheint die VEGF/R-Signalkaskade Einfluss auf immunologische Prozesse zu nehmen. So wirkt Überexpression von VEGF durch Tumorzellen chemotaktisch auf unreife dendritische Zellen aus Knochenmark und peripherem Gewebe<sup>158</sup>, blockiert aber gleichzeitig den Reifeprozess der dendritischen Zellen nach Tumorantigenaufnahme. Unzureichende Präsentation von Tumorantigenen für CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und CD4<sup>+</sup>-T-Zellen resultiert in Immuntoleranz des Tumorgewebes<sup>159</sup>. Unter VEGF-inhibitorischer Therapie konnte eine erhöhte Menge an reifen dendritischen Zellen nachgewiesen werden jedoch keine nachweisbar erhöhte antigenbasierte Immunantwort<sup>160</sup>, welches sich aber durch weitere immuno-evasive Prozesse der Tumorigenese erklären lässt. Wie zuvor bei EGFR kann auch für VEGF/R therapeutische Nutzbarkeit bei diversen Tumorindikationen belegt werden. Entsprechende Erläuterungen finden sich infolge des chemischen Fokus der vorliegenden Arbeit im Anhang F - I.

### 1.4.2.2. Stand der Forschung

Überexpression und erhöhte Konzentrationen von VEGF/R sind in vielen soliden Tumoren nachweisbar und können z.T. mit erhöhtem Risiko für Rezidive, Metastasierung und Sterblichkeit assoziiert werden, so auch bei NSCLC<sup>161,162</sup>. Entsprechend resultieren aus pharmakologischer Intervention therapeutische Vorteile. So konnte, für zuvor unbehandelte Patienten mit fortgeschrittenem bis metastasierendem NSCLC, durch Bevacizumab als *Add-On* zur Standardtherapie (Paclitaxel/Carboplatin) eine signifikante Verbesserung des PFS (6,2 vs. 4,5 Monate), des OS (12,3 vs. 10,3 Monate) und der RR (35 vs. 15 %) erreicht werden<sup>163</sup>. Mit vergleichbaren Therapiewerten ließ sich Bevacizumab auch in die Wirkstoffkombination Carboplatin/Pemetrexed bei NSCLC integrieren<sup>164</sup>. Gleichwohl durch Implementierung von Avastin® ein Zuwachs an UAWs erreicht

wurde, ergab sich für beide Therapieschemen ein tolerables Sicherheitsprofil. Die Kombination aus Docetaxel und Ramucirumab (MAK gegen VEGFR2) konnte ebenfalls bei NSCLC zugelassen werden. Eine Verbesserung des PFS (4,5 vs. 3,0 Monate) und des OS (10,5 vs. 9,1 Monate) bei therapie-refraktärem NSCLC in Stadium 4 gegenüber Docetaxel-Monotherapie führte zur Etablierung als *Second-Line*-Therapie<sup>165</sup>. Aufgrund vermeintlich breiterer Inhibition von RTKs ist die Implementierung von *small molecules* in bereits komplexe Therapieschemata eine zusätzliche Herausforderung. Infolgedessen wurde der VEGFR-Inhibitor Axitinib als Monotherapeutikum bei fortgeschrittenem NSCLC evaluiert und erreichte einen PFS von 4,9 Monaten und einen OS von 14,8 Monaten<sup>166</sup>. Der RTKI Apatinib erreichte in vorbehandeltem NSCLC einen PFS von 4,7 Monaten bei einer Krankheitskontrollrate von 68,9 %. Beide Studien belegen, dass antiangiogene Therapie mit therapeutischen *Benefit* auch durch *small molecules* möglich ist. Aufgrund fehlender Verfügbarkeit von Biomarkern entzieht sich die Beobachtung antiangiogener Therapien einer besseren Patientenselektion. Die kombinierte Anwendung aus EGFR-inhibitorischer und antiangiogener Therapie bietet somit zumindest einen Anhaltspunkt für eine potenziell profitierende Patientenpopulation. So konnte der Zusatz von Bevacizumab zu Erlotinib den PFS von 9,7 auf 16,0 Monate steigern und führte zur Zulassung als *First-Line*-Therapie bei NSCLC mit aktivierenden Mutationen<sup>167</sup>. Im Vergleich sollte der niedermolekulare Wirkstoff Vandetanib (Inhibitor von EGFR und VEGFR2) ähnliche Studienergebnisse erzielen. In einer Vergleichsstudie gegen Erlotinib an vorbehandelten, aber nicht nach EGFR-Mutationsstatus selektierten, NSCLC-Patienten konnte Vandetanib keinen Therapievorteil nachweisen. Fehlende Prüfung des EGFR-Mutationsstatus innerhalb der Vergleichsstudie führt dazu, dass der Zusatznutzen einer VEGFR2-Hemmung kaum geprüft werden kann<sup>168</sup>. Bei der Prüfung von Vandetanib gegen Placebo nach vorheriger EGFR-selektiver Therapie kann ebenfalls nur ein marginaler Therapievorteil im OS (7,8 vs. 8,5 Monaten) verzeichnet werden. Neben der ebenfalls fehlenden Patientenselektion nach EGFR-Status kommt hier zusätzlich eine mangelnde Berücksichtigung von Resistenzbildung gegen EGFR-Inhibitoren der ersten Generation hinzu. Nichtsdestotrotz verzeichnet Vandetanib vergleichsweise bessere PFS-Werte bei weiblichen, asiatischen Nichtraucherpatienten, welches mit der Verteilung von aktivierenden EGFR-Mutationen korreliert<sup>169</sup>. Studien zu Vandetanib als *Add-On* zu Docetaxel oder Pemetrexed bei fortgeschrittenem NSCLC konnten jeweils leichte Therapievorteile für die Kombinationen belegen. Jedoch wurde auch hier das größere Patientenkollektiv der Targetevaluierung vorgezogen<sup>170,171</sup>. Der bei NSCLC zugelassene multiple (VEGFR1-3, PDGFR $\alpha/\beta$ , FGFR1-3) Angiokinase-Inhibitor Nintedanib ist unter 1.4.3.2 beschrieben.

Avastin® besitzt die Zulassung in Kombination mit fluoropyrimidinhaltigen Therapien bei Formen von CRC. So resultierte der Zusatz von Bevacizumab zu FOLFIRI bei mCRC in einer Verbesserung des PFS (10,6 vs. 6,2 Monate) und des OS (20,3 vs. 16,6 Monate). Unter vertretbarer Zunahme von Grad 3 UAWs (z.B. Bluthochdruck) konnte die RR von 34,8 % auf 44,8 % gesteigert werden<sup>172</sup>. Aufgrund weiterer Studien kam es ebenfalls zur Zulassung als *Add-On* zu den Therapieschemata FOLFOX und XELOX<sup>173</sup>. Der MAK Ramucirumab wurde in seiner Zulassungsstudie bei mCRC als Folgetherapie nach Progress unter Bevacizumab plus FOLFOX untersucht. Der Ramucirumab-FOLFIRI-Arm zeigte dabei statistisch signifikante Verbesserung des OS (13,3 vs. 11,7 Monate), verglichen mit dem Placebo-FOLFIRI-Arm<sup>174</sup>. Mögliche Ursachen für die nachgewiesene Wirksamkeit nach Progress unter Bevacizumab sind die Inhibition von ligandenunabhängigen Rezeptorwirkungen (VEGFR2) oder onkogenen Signalen, welche nicht über VEGFA vermittelt werden.

In Erweiterung der Theorie dass nach Progress unter antiangiogener Therapie alternative oder breitere Rezeptorinhibition therapeutischen *Benefit* erzielt, kann die Zulassungsstudie von Regorafenib betrachtet werden. Der niedermolekulare multiple RTKI (VEGFR1-3, PDGFR $\alpha/\beta$ , c-Kit und Raf1) konnte nach allen verfügbaren Standardtherapiealternativen eine Verbesserung des OS von 5,0 auf 6,4 Monate erzielen<sup>224</sup>. Dadurch ergeben sich die Fragen, wie sequenziell eingesetzte antiangiogene Therapie bei mCRC strukturiert wird, welche Biomarker für den Einsatz der Alternativen prädiktiv sind und ob Chronifizierung der Krankheit darüber erreichbar ist<sup>175</sup>. Eine weitere Therapiealternative in diesem Kontext stellt das Fusionsprotein Aflibercept (VEGFA, PIGF) dar.

Obwohl Magenkarzinome (siehe Anhang G) in engem Zusammenhang mit angiogener Beteiligung an der Tumorigenese stehen, konnte Bevacizumab als *Add-On* zu Capecitabin/Cisplatin sowohl bei fortgeschrittenem<sup>176</sup> als auch bei metastasierendem Magenkrebs<sup>177</sup> keine hinreichenden Therapievorteile für eine Zulassung erreichen. Während im fortgeschrittenen Stadium noch signifikante Differenz in PFS und OS resultierte, konnte im metastasierenden Stadium kein Therapievorteil mehr verzeichnet werden. Eine Biomarker-Evaluation der AVAGAST-Studie erbrachte, dass die Menge an zirkulierendem VEGFA und an exprimiertem Corezeptor NRP1 mögliche prädiktive Indikatoren für avastinhaltige Kombinationstherapien bei Magenkarzinomen sind<sup>178</sup>. Entsprechend der Hypothese, dass die Angiogenese bei Magenkarzinomen multifaktoriell über VEGFA hinaus vermittelt wird, konnte Cyramza® ausreichenden Therapievorteil für eine Zulassung erbringen. So resultierte im Einsatz als *Second-Line*-Therapie eine Verbesserung des OS (9,6 vs. 7,4 Monate) als *Add-On* zu Paclitaxel. Ebenso wurden PFS und RR verbessert<sup>179</sup>. Die positiven Studienaussagen waren auf Ramucirumab-Monotherapie bei fortgeschrittenem Magenkarzinom übertragbar. Die Verbesserung des OS (5,2 vs. 3,8 Monate) gegen Placebo spricht dafür, dass VEGFR2-Inhibition bei genannter Indikationslage ein erwiesenes Therapiekonzept ist und bei verminderter UAW-Rate einen ähnlichen Erfolg wie sekundäre Chemotherapieschemen liefert<sup>180</sup>. Analog den Kolorektalkarzinomen kommt auch bei Magenkarzinomen der Einsatz von multiplen Angiokinase-Inhibitoren als mögliche Erweiterung des Konzepts in Frage. In der INTEGRATE-Studie von Regorafenib gegen Placebo bei fortgeschrittenem Magenkarzinom konnte eine signifikante Verbesserung des PFS (2,6 vs. 0,9 Monate) und des OS auf 5,8 Monate erreicht werden, welches zur Fortsetzung der klinischen Studie in Phase 3 führte<sup>181</sup>. Der niedermolekulare RTKI Apatinib, welcher mit VEGFR2 und c-Kit ein wesentlich schmaleres Kinaseinhibitionsprofil besitzt, ist bereits für diese Indikation zugelassen<sup>182</sup>.

Die Beteiligung von Angiogenese am malignen Prozess zeigt sich u.a. im fortgeschrittenen bis metastasierenden Stadium. Entsprechend stellt eine VEGF/R-selektive Therapie einen interessanten Ansatz bei metastasierendem Brustkrebs dar, besonders wenn andere selektive Ansätze wie HER2-Inhibition nicht verwendbar sind. Bevacizumab ist sowohl in Kombination mit Paclitaxel als auch Capecitabin (OS: 30,2 vs. 26,1 Monate) bei mBC zugelassen<sup>183</sup>. Als *Add-On* zu Paclitaxel konnte Avastin® eine Verbesserung des PFS von 8,8 auf 11,0 Monate erzielen<sup>184</sup>. Gleichmaßen stellt die Veröffentlichung von MILES *et al.* zur Kombination von Paclitaxel und Bevacizumab bei mBC heraus, dass die Konzentration an zirkulierendem VEGFA nicht als prädiktiver Biomarker korreliert. Die ROSE-Studie zur Effektivität von Ramucirumab als *Add-On* zu Docetaxel bei mBC konnte trotz zahlenmäßiger Verlängerung des PFS (9,5 vs. 8,2 Monate) keine Signifikanz erbringen. Als mögliche Ursache beschreibt MACKAY *et al.* eine reflektorische Erhöhung anderer Angiogenesefaktoren aufgrund der

therapieinduzierten VEGFR2-Blockade<sup>185</sup>. In einer ähnlichen Studie bei fortgeschrittenem BC konnte der Zusatz von Sunitinib zu Docetaxel eine leichte Verbesserung der ORR von 42 % auf 55 % erzeugen, jedoch blieben PFS und OS im Wesentlichen unverändert<sup>52</sup>. Die vergleichsweise schlechte Umsetzbarkeit des therapeutischen Potenzials antiangiogener Therapie bei Brustkrebs wirft abermals die Frage auf, ob und welche prädiktiven Biomarker eine Verbesserung ermöglichen bzw. ob die diverse molekularbiologische Ausstattung von Brusttumoren stärker berücksichtigt werden muss.

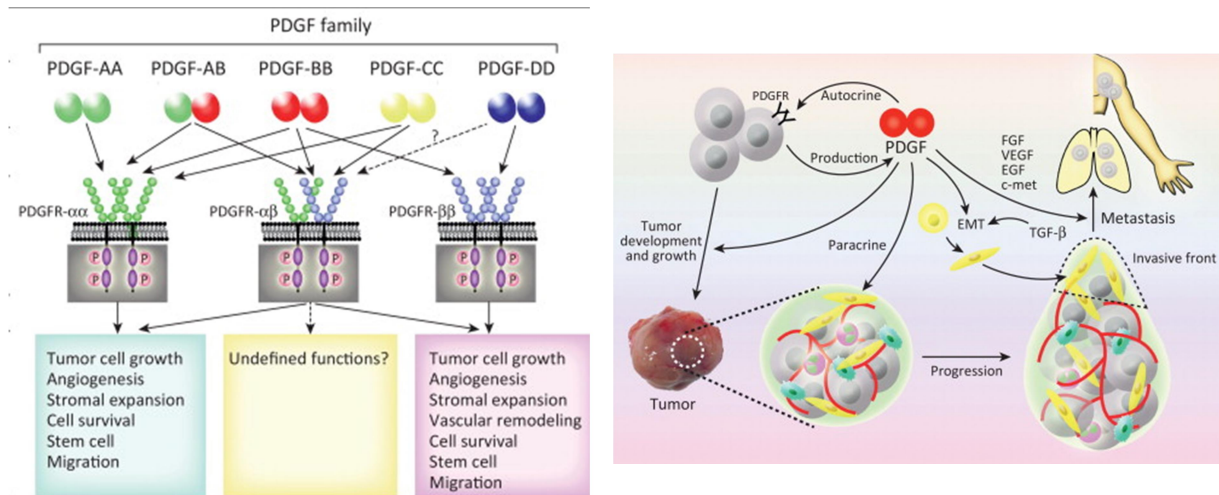
Das metastasierende Nierenzellkarzinom ist einer der am stärksten mit Neoangiogenese assoziierten Tumoren und zeigt daher überproportional gutes Ansprechen auf entsprechende Therapieansätze. So konnte Bevacizumab als *Add-On* zu Interferon  $\alpha$  den PFS (10,2 vs. 5,4 Monate) und den OS (23,3 vs. 21,3 Monate) verbessern<sup>186</sup>. Das hohe onkogene Abhängigkeitspotenzial der Tumoridentität von Angiogenese lässt sich u.a. mit dem häufigen Verlust des von-Hippel-Lindau-Faktors erklären, welcher wiederum zu verstärkter Expression von Hypoxie-abhängigen Proteinen wie VEGF/R führt<sup>187</sup>. Ramucirumab wurde bzgl. mRCC als Folgetherapie bei Progress bzw. bei Unverträglichkeit der Therapie mit RTKIs (Sorafenib/Sunitinib) untersucht. Da beide RTKIs aufgrund breiter Kinasehemmung mit komplexen UAW-Profilen verbunden sind, ist der genannte Therapieansatz statthaft und konnte einen PFS von 7,1 Monaten und einen OS von 24,8 Monaten erbringen. Prinzipiell ist die Folgetherapie mit MAKs nach Einsatz/Progress unter Multikinaseinhibitoren kritisch zu betrachten, da Resistenzausbildung gegen den Gesamtansatz wahrscheinlich ist. So konnte in der Studie das erklärte Ziel einer ORR  $\geq$  15 % auch nicht erreicht werden<sup>188</sup>. Der Multikinaseinhibitor Sunitinib ist momentan *First-Line*-Therapie und konnte im Vergleich mit Interferon  $\alpha$  bei mRCC eine Verbesserung des OS (26,4 vs. 21,8 Monate) und des PFS (11,0 vs. 5,0 Monate) erzielen<sup>189</sup> bei gleichzeitiger Verbesserung der RR um 31 %<sup>51</sup>. Aufgrund schlechterer Studiendaten ist Sorafenib in der Zweitlinientherapie einzusetzen, kann aber auch therapeutischen *Benefit* bei mRCC erreichen<sup>190</sup>. Interessanterweise konnte eine Studie zur Folgebehandlung der Multikinaseinhibitoren miteinander belegen, dass keine komplette Crossresistenz ausgebildet wird. Sunitinib als Folgetherapie zu Sorafenib liefert dabei bessere Überlebensdaten als umgekehrt<sup>191</sup>. Mögliche Ursache ist die breitere Kinaseaktivität von Sunitinib. In Erweiterung der verfügbaren Therapiealternativen konnte Cabozantinib (VEGFR1-3, c-Met, AXL) in einer Vergleichsstudie bei mRCC-Patienten mit erhöhtem Risikoprofil den PFS von Sunitinib übertreffen (8,2 vs. 5,6 Monate). Somit sind c-Met und AXL, beide induzierbar durch Verlust des von-Hippel-Lindau-Faktors, weitere potenzielle negativ prognostische Marker<sup>192</sup>. Die Meta-Studie von IACOVELLI *et al.* konnte, neben den unstrittigen Verbesserungen des PFS, auch die Verbesserungen des OS von VEGF/R-inhibitorischen Therapien bei RCC belegen<sup>193</sup>.

### 1.4.3. Der PDGF-Rezeptor

#### 1.4.3.1. Allgemein

Vorkommen und Aktivität von PDGF/R-vermittelten Signalkaskaden sind assoziiert mit verschiedenen malignen Erkrankungen und korrelieren mit Tumorwachstum, -invasivität, -resistenz und -prognose. Dabei wirken die Mediatoren sowohl auf den Tumor als auch auf das umgebende Stroma. PDGF existiert in 5 verschiedenen Isoformen (vgl. Abb. 10 links<sup>194</sup>): den Disulfid-verbrückten Homodimeren PDGF-AA, -BB, -CC und -DD und dem Heterodimer PDGF-AB. PDGF-CC und -DD

werden als inaktive Vorstufen sekretiert und über Peptidasen regulatorisch aktiviert. Die verschiedenen Mediatorisofomen binden mit unterschiedlicher Spezifität an die Rezeptoren PDGFR $\alpha$  und PDGFR $\beta$ , welche nach Dimerisierung und Autophosphorylierung intrazelluläre Signalkaskaden auslösen. Bei der Rezeptordimerisierung bewirken PDGF-AA, -AB, -BB und -CC die Entstehung von  $\alpha$ -Homodimeren, PDGF-BB und PDGF-DD  $\beta$ -Dimere und zusätzlich können PDGF-AB, -BB, -CC und -DD auch die Bildung des Heterodimers  $\alpha\beta$  bewirken<sup>195</sup>.



**Abb. 10:** Darstellung PDGF-Isoformen, -rezeptordimere und Wirkung der Signaltransduktion; Darstellung Beteiligung PDGF-Signalkaskade an Invasivität und Metastasierung (v.l.n.r.)<sup>194</sup>

Die nachgeschalteten Signalwege (u.a. PI3K- und MAPK-Kaskade) sind hauptsächlich mit Wachstums-, Differenzierungs- und Überlebensprozessen assoziiert. Dadurch steht eine unphysiologische PDGF-Signalvermittlung im Kontext mit verschiedenen malignen Erkrankungen<sup>196</sup>. Weitere Wirk-qualitäten sind Steigerung der Angiogenese, verstärkte Bildung stromalen Gewebes und Zellmobilisierung im Sinne eines invasiven Wachstums. Aktivierende Mutationen<sup>197, 198</sup>, erhöhte Expression und Genamplifikation<sup>199</sup> sind für diverse Tumoren beschrieben bzw. können sich im progredienten Verlauf entwickeln. So kommt es während der Tumorigenese (vgl. Abb. 10 rechts<sup>194</sup>) häufig zum EMT der Zellmorphologie, welcher mit erhöhter Expression von PDGFR- und PDGF-Isoformen einhergehen kann. Die Etablierung von autokrinen Schleifen ist naheliegend<sup>200</sup> und erzeugt über den EMT erhöhte Metastasierungs- und Invasionstendenz<sup>201</sup>. PDGF bewirkt, neben seiner Funktion in der Angiogenese, durch Wirkung auf Fibroblasten und Myofibroblasten auch die Erhöhung des interstitiellen Drucks, welcher wiederum der Aufnahme von Chemotherapeutika entgegenwirkt<sup>202</sup>. Tumorspezifische Belege therapeutischer Anwendbarkeit PDGFR-inhibitorischer Behandlung sind entsprechend im Anhang I - K zusammengefasst.

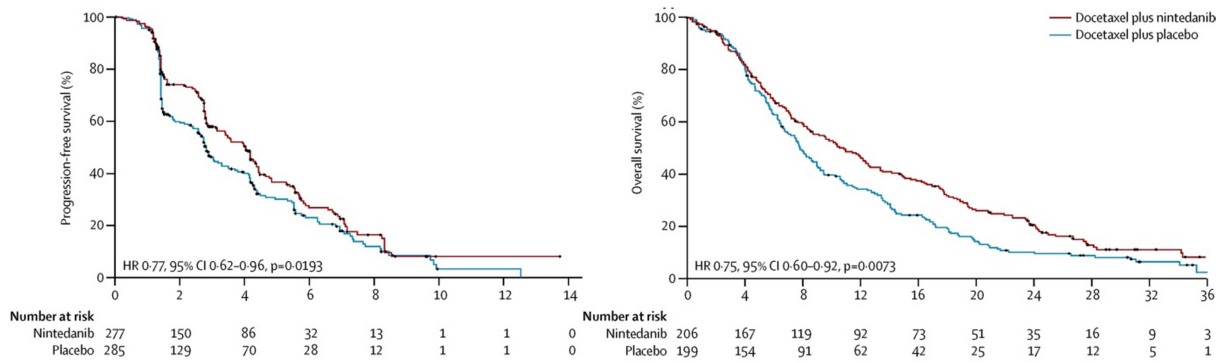
### 1.4.3.2. Stand der Forschung

Mit Imatinib, Sunitinib und Regorafenib existieren drei zugelassene PDGFR-Inhibitoren bei GISTs, welche auch inhibitorische Wirkung auf c-Kit haben. Aufgrund der klinischen Erfahrung ist Imatinib im adjuvanten, neoadjuvanten und auch palliativem *Setting First-Line*-Therapie. Sunitinib bzw. Regorafenib sind als *Second-Line*- bzw. *Third-Line*-Therapeutika bei Rezidiv indiziert. 10 % aller GISTs besitzen primäre Resistenz gegen Imatinib. Ursächlich sind u.a. PDGFR/c-Kit-

wt-Mutationsstatus, c-Kit Exon 9-Mutation und PDGFR-D842V-Mutation. Alternative Resistenzmechanismen (vgl. 1.6.1) wie BRAF-Mutation oder IGF1R-Überexpression sind ebenfalls bekannt. Die RR für Imatinib-Therapie bei PDGFR/c-Kit-wt liegt bei ca. 30 %, bei c-Kit Exon 11-Abberation bei 70 - 90 % und bei c-Kit Exon 9-Mutation bei 20 %, kann dort aber nach Dosissteigerung auf 50 - 65 % erhöht werden. Bei dualem Rezeptor-wt-Mutationsstatus resultiert die niedrige RR vermutlich aus geringer onkogener Abhängigkeit des Tumors, wohingegen c-Kit Exon 11-Mutationen erhöhte Abhängigkeit<sup>37</sup> des Tumors verursachen. c-Kit Exon 9-Tumoren scheinen im Grunde auch weniger abhängig von der entsprechenden Signalkaskade bzw. besitzen vermutlich einen alternativen Mechanismus, nachgeschaltete Signalmoleküle zu aktivieren. Evtl. ist PDGFR als alternativer Signaltransduktor unter geringer Dosierung von Imatinib befähigt, ein Wachstumssignal trotz c-Kit Exon 9-Inhibition zu erhalten, während die erhöhte Dosierung dieses durchbricht<sup>203</sup>.

Bei erworbener Resistenzbildung handelt es sich meist um sekundäre Mutationen, welche entweder die ATP-Bindungsdomäne (Exon 13/14) oder aber die Kinasedomäne (Exon 17/18) betreffen. Die Häufigkeit sekundärer Mutationen steigt, infolge des Selektionsdrucks, mit der onkogenen Abhängigkeit. Daher zeigen primäre c-Kit Exon 11-Mutationen am häufigsten sekundäre Resistenzbildung unter Therapie, welche nicht durch Dosismodifikation unterbunden werden kann. Auch die RR für *Second-Line*-Therapie mit Sunitinib liegt bei primären c-Kit Exon 11-Mutationen am niedrigsten, da aufgrund der Abhängigkeit der größte Antrieb zur Resistenzbildung vorhanden ist<sup>204</sup>. Bei Rezidivtherapie mit Sunitinib zeigen sich sekundäre Mutationen von Exon 17/18 meist resistent, wobei Entkopplung der Signalkaskade vom regulären Aktivierungsmechanismus als mögliche Ursache gilt. Demgegenüber sind sekundäre Mutationen der ATP-Bindungsdomäne von Exon 13/14 tlw. sensitiv für nachfolgende Sunitinib-Applikation, da *Gatekeeper*-Mutationen nicht zwangsläufig kreuzresistent sind<sup>205</sup>. Interessanterweise konnte Olaratumab (MAK gegen PDGFR $\alpha$ ) in vorbehandelten Tumoren mit PDGFR-D842V-Mutation, welche komplett resistent gegen RTKIs sind, eine verlängerte Krankheitskontrolle ohne Progression erzielen<sup>206</sup>. Insgesamt scheint der therapeutische *Benefit* für gezielte Tumortherapeutika umso höher, je abhängiger das Karzinom von der Signalkaskade ist. Bei erworbener Resistenz sind ähnliche Inhibitoren erfolgreicher<sup>207</sup>, wenn die onkogene Abhängigkeit von der inhibierten Signalstruktur nicht maximal ist, da dieses das Risiko für sekundäre Mutationen mit komplett autonomer Signalstruktur erhöht.

Der Multikinaseinhibitor Sunitinib konnte in zwei Studien therapeutischen Wert als Monotherapie bei vorbehandeltem NSCLC erreichen, welcher weiter zu evaluieren ist<sup>208,209</sup>. Sunitinib als *Add-On* zu einer Erlotinib-Therapie nach vorheriger Behandlung mit Standardtherapien konnte ebenfalls positiv bewertet werden. Eine Verbesserung des PFS von 2,0 auf 3,6 Monate und Verbesserung der ORR ohne signifikante Verbesserung des Gesamtüberlebens kann zumindest als Teilerfolg bewertet werden<sup>210</sup>. Alle beschriebenen Studien erfolgten ohne Prüfung der PDGF/R-Beteiligung. Nintedanib, RTKI von u.a. PDGFR, konnte als *Second-Line*-Therapeutikum in Kombination mit Docetaxel bei NSCLC zugelassen werden. Im Vergleich zu Docetaxel-Monotherapie verbesserte sich der PFS von 2,7 Monate auf 3,4 Monate und der OS von 7,9 auf 10,9 Monate unter marginaler Zunahme der UAW von Klasse 3 und höher (vgl. Abb. 11)<sup>211</sup>.



**Abb. 11:** Kaplan-Meier-Kurven für PFS (links) und OS (rechts) für Docetaxel plus Nintedanib bzw. Docetaxel plus Placebo bei NSCLC mit Adenokarzinom-Histologie<sup>211</sup>

Die Verbesserung des PFS konnte in Kombination mit Pemetrexed bestätigt werden, nicht jedoch die Verbesserung des OS<sup>212</sup>. Die Zulassung des RTKI indiziert den therapeutischen Wert einer PDGFR-Inhibition bei NSCLC. Es ist anzufügen, dass Nintedanib zusätzlich VEGFR inhibiert und somit eine eindeutige Erfolgszuordnung nicht möglich ist. Zumindest Synergieeffekte durch PDGFR-Hemmung sind jedoch wahrscheinlich, weshalb die Zulassung auch die Fortführung als Monotherapie nach Absetzen von Docetaxel umfasst. Für weitere Aussagen werden entsprechend geprüfte Patientenpopulationen notwendig. Eine ähnliche Studie von Olaratumab als *Add-On* zur Standardtherapie Paclitaxel/Carboplatin bei zuvor unbehandelten NSCLC ergab keinen Zusatznutzen<sup>213</sup>. Die Studie beschreibt weiterhin, dass PDGFR $\alpha$ -Überexpression in ca. 1 % der Tumorzellen zu finden ist, hingegen aber zu ca. 80 % im Tumorstroma. Die selektive Inhibition von PDGFR $\alpha$  im Stroma war jedoch unzureichend, um Zusatznutzen zu erzielen, obwohl präklinische Daten diesen Schluss erlauben<sup>214</sup>. Ob der therapeutische Effekt von Nintedanib auf dualer Hemmung von PDGFR $\alpha$  und  $\beta$ , der zusätzlichen Inhibition von VEGFR oder aber auf dem *Set-Up* eines vorbehandelten NSCLC beruht, lässt sich nicht eindeutig klären.

Innerhalb des Indikationsgebiets Brustkrebs konnten bisher keine Zulassungen für PDGFR-inhibitorische Therapien erfolgen. So verbesserte Sorafenib als *Add-On* zu Capecitabin bei lokal fortgeschrittenem bis metastasierendem Brustkrebs zwar den PFS von 4,1 auf 6,4 Monate, den OS von 20,9 auf 22,2 Monate und die ORR von 31 % auf 38 %, aber der Anstieg an UAWs war so gravierend, dass in der Folgestudie eine Dosisreduktion angedacht ist<sup>215</sup>. In kleineren Studien zu Sorafenib als Monotherapie bei vorbehandeltem metastasierendem Brustkrebs konnte kein *Benefit* erzielt werden<sup>216</sup>. Auch Sunitinib konnte im Vergleich mit Capecitabin bei fortgeschrittenem Brustkrebs nicht überzeugen und erzielte schlechtere Werte in PFS, OS und ORR<sup>217</sup>. Zusammengefasst erlangten PDGFR-Inhibitoren bisher keinen Stellenwert als Monotherapeutika bei Brustkrebs. Lediglich in Kombination mit klassischen Zytostatika ist Potenzial erkennbar. Das gesteigerte Risiko ist durch gezielte Patientenauswahl anhand prädiktiver Marker zu bewerten<sup>52</sup>.

Eine ähnliche Situation ergibt sich bei Kolorektalkrebs. Der RTKI Sorafenib konnte als *Add-On* zur Standardtherapie FOLFOX bei mCRC nur eine minimale Verbesserung des PFS von 8,7 auf 9,1 Monate erzielen. OS und ORR blieben unverändert<sup>218</sup>. Sunitinib als *Add-On* zu FOLFIRI bei mCRC erbrachte keinen Therapievorteil und erzeugte eine höhere Rate an UAWs<sup>219</sup>. Deutlich vielversprechender sind die frühen Studienergebnisse von Nintedanib. In einer Vergleichsstudie



zwischen FOLFOX plus Bevacizumab und FOLFOX plus Nintedanib, wobei Ersteres momentan *First-Line*-Therapie bei mCRC ist, konnte der Nintedanib-Arm vergleichbare Ergebnisse erzielen. Mit einer Verbesserung der ORR von 56,1 % auf 63,5% und einem geringfügig schlechterem 9-Monats-PFS von 70,2 % zu 62,1 % zeigte sich Nintedanib als mögliche Therapiealternative. Hinzuzufügen ist, dass der Avastin-Arm deutlich bessere Studienergebnisse erbrachte als in der zugehörigen Zulassungsstudie für diese Indikation. Mit einer deutlichen Reduktion der ersten UAWs von 53,7 % auf 37,6 % konnte Nintedanib plus FOLFOX zusätzlich überzeugen. Ein weiterer interessanter Gesichtspunkt ist, dass Nintedanib ein breiteres Spektrum der Kinaseinhibition von Angiogeneseprozessen besitzt als Avastin® und damit rational von geringerer Resistenzbildung durch redundante Signalkaskaden auszugehen ist. Zusätzlich profitiert potenziell eine breitere Population<sup>220</sup>. Die Ergebnisse weiterer Studien stehen noch aus<sup>221, 222, 223</sup>. Für Regorafenib, ebenfalls ein Multikinaseinhibitor für u.a. PDGFR und VEGFR, besteht seit 2013 eine Zulassung bei mCRC<sup>224, 225</sup>.

Neben den in kurativer Absicht initiierten operativen Methoden (u.a. Lebertransplantation und -ablation) ist Sorafenib als Multikinaseinhibitor (gegen u.a. PDGFR) palliatives Standardtherapeutikum bei fortgeschrittenem HCC<sup>226</sup>. So konnte Sorafenib im Vergleich zu Placebo einen Vorteil bezüglich des PFS von 5,5 Monaten zu 2,8 Monaten und des OS von 10,7 Monaten zu 7,9 Monaten erzielen<sup>227</sup>. Ätiologische Einflüsse, wie Beteiligung von Hepatitis-Infektionen, auf die Aggressivität des Tumors werden von CHENG *et al.* diskutiert. Zwar sind die Studiendaten von Sorafenib in dessen Untersuchung bei fortgeschrittenem HCC einer südostasiatischen Population wesentlich schlechter, jedoch verbleibt der therapeutische Vorteil für PFS und OS gegenüber Placebo<sup>228</sup>. Es sei hervorgehoben, dass der Erfolg von Sorafenib sich vermeintlich auf die Inhibition mehrerer Angiogenesefaktoren stützt. Der duale RTKI Brivanib (VEGFR2 und FGFR) konnte in einer Vergleichsstudie mit Sorafenib ähnliche Werte erreichen<sup>229</sup>. Aufgrund von Redundanz der Signalwege und Resistenz durch *Crosstalk* (vgl. 1.6.1) ist eine breitere Kinasehemmung durchaus rational. So konnte Ramucirumab (MAK VEGFR2) als *Second-Line*-Therapeutikum nach Progress unter Sorafenib keinen *Benefit* gegen Placebo erreichen<sup>230</sup>. Regorafenib hingegen, als Abwandlung von Sorafenib, wurde aufgrund breiterer Kinaseinhibition<sup>231</sup> als Rezidivtherapie zugelassen. Die Verbesserung des OS von 7,8 Monaten auf 10,6 Monate gegenüber Placebo ist ein therapeutischer Fortschritt, welchen andere Substanzen bisher verfehlten<sup>232</sup>.

PDGFR-Inhibition durch Imatinib als *Add-On* zu Hydroxycarbamid bei Glioblastom ergab keinen Mehrwert gegenüber der Einzelbehandlung<sup>233</sup>. Sunitinib konnte in einer klinischen Studie der Phase 2 ebenfalls keine signifikante Antitumoraktivität erbringen<sup>234</sup>. Zusätzlich belegt eine Vergleichsstudie von Olaratumab (MAK PDGFR $\alpha$ ) und Ramucirumab (MAK VEGFR2) schlechtere Resultate für erstere Substanz. Trotz starker präklinischer Hinweise (vgl. Evidenzen PDGFR-inhibitorischer Behandlung Anhang I - K) auf Beteiligung der PDGF/R-Signalkaskade an der Tumorigenese von Gliomen blieben bisherige Studien erfolglos. Gleiches gilt aber auch für andere selektive Therapeutika<sup>235</sup>. Mögliche Ursachen für ausbleibenden klinischen Erfolg sind u.a. fehlende Bioverfügbarkeit aufgrund der Blut-Hirn-Schranke, mangelnde Patientenselektion auf onkogene Abhängigkeit und unzureichendes Verständnis für den zeitlichen Kontext einer PDGFR-Inhibition an Tumor und Tumorstroma. Weitere PDGFR-selektive Therapieoptionen bei Gliomen sind in klinischer Testung.

Die Sachlage bei Prostatakarzinomen ähnelt der zuvor beschriebenen. So beeinflusste Imatinib in Kombination mit Docetaxel bei mPC weder PFS noch OS vorteilhaft<sup>236</sup>. Auch Dasatinib als *Add-On* zu Docetaxel erzielte keinen Mehrwert bei Behandlung von mPC<sup>237</sup>. Ein tieferes Verständnis der Signalwege inklusive der Beteiligung des Tumorstromas ist wünschenswert, um das therapeutische Potenzial des Ansatzes besser auszuschöpfen.

### 1.4.4. Der IGF-Rezeptor

#### 1.4.4.1. Allgemein

Das Signalsystem der *Insulin-like growth factors* (IGFs), bestehend aus zwei Liganden (IGF-1, IGF-2), drei Rezeptoren (IGF-1R, IGF-2R und IR) und sechs Bindungsproteinen (IGFBP-1 bis IGFBP-6), stellt ein komplexes Netzwerk mit Beteiligung an Tumorwachstum, -entwicklung und -verteilung im Körper dar. Sowohl über die PI3K/Akt-Signalkaskade als auch über den Ras/MAPK-Signalweg sind IGFs regulatorisch an Zellprozessen wie Proliferation, Wachstum und Apoptose beteiligt (vgl. Abb. 12<sup>238</sup>). So führt verstärkte IGF-1R-Signalaktivität über PI3K/Akt zur Freisetzung von antiapoptotischen Bcl-2, gesteigerter Proteinbiosynthese über mTOR und gesteigertem Glukose-Metabolismus durch Inhibition von GSK-3 $\beta$ . Über Aktivität der Ras/MAPK-Kaskade werden Transkriptionsfaktoren wie ELK1 freigesetzt, welche Genexpression für Wachstum und Differenzierung steuern. Neben der Kontrolle von Verfügbarkeit und Abbau der IGFs im extrazellulären Raum wirken die Bindungsproteine IGFBPs ebenfalls auf zelluläre Prozesse wie Wachstum und Differenzierung.

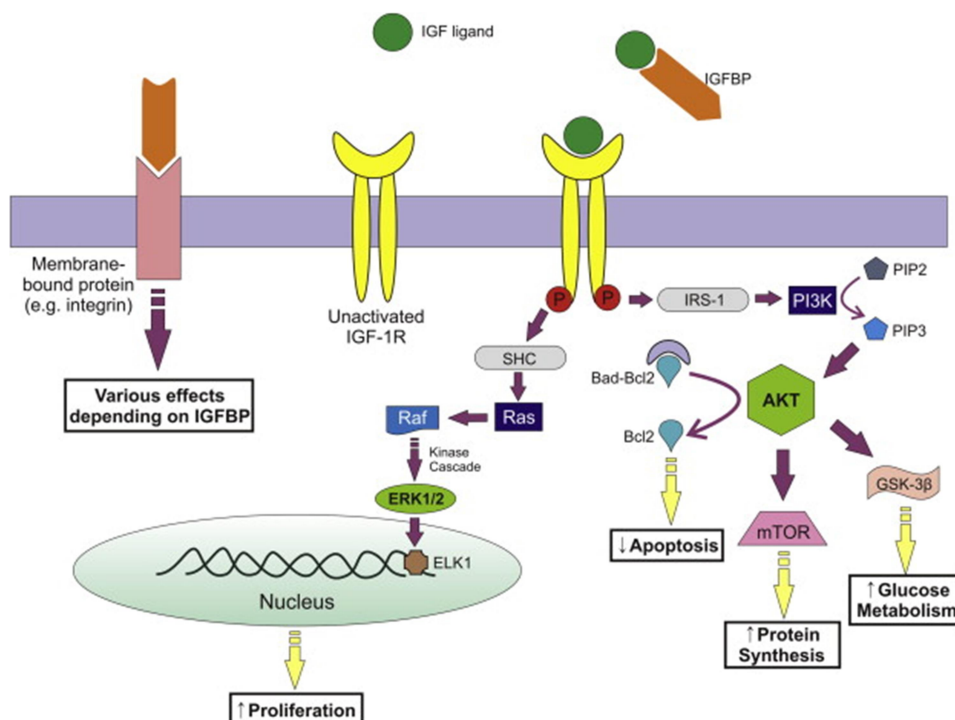


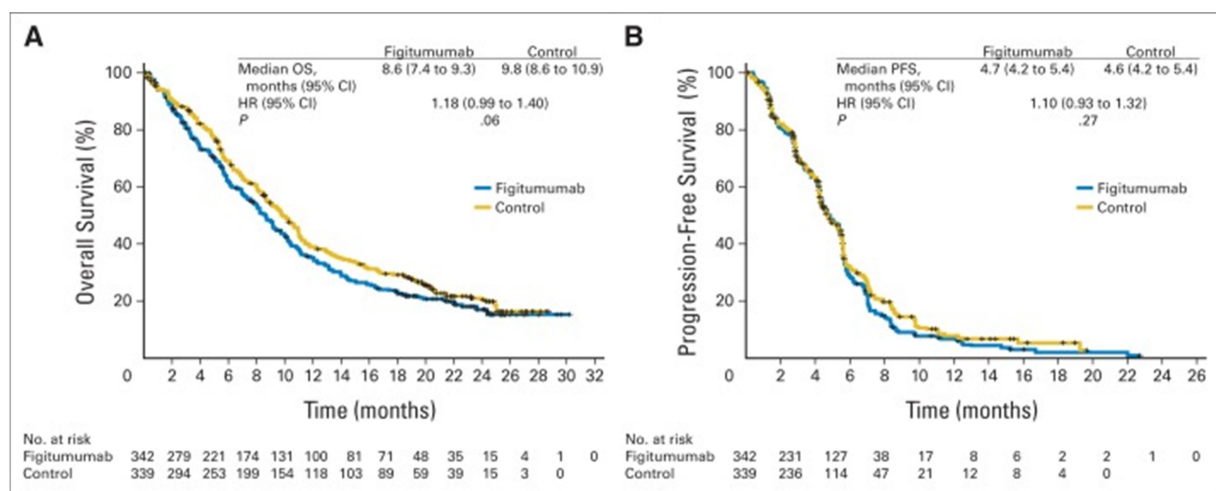
Abb. 12: Darstellung IGF/IGF-R Signalkaskade inklusive intrazellulärer Effektoren und Auswirkungen<sup>238</sup>

Für diverse Tumoridentitäten, u.a. Kolorektal-, Pankreas- und Leberkarzinome, konnte ein Zusammenhang zwischen Überexpression von IGF-1, IGF-2 und IGF-1R und erhöhter Progression nachgewiesen werden<sup>239, 240, 241</sup>. Weiterhin wurde ein erhöhtes Entstehungsrisiko für Brust-, Lungen-,

Prostata- und Kolorektalkarzinome mit erhöhter Konzentration an IGFs im Serum assoziiert<sup>242, 243, 244</sup>. Eine erhöhte IGF-Aktivität wurde außerdem mit Proliferation, Migration und Invasion von Tumoren korreliert. Somit scheint der Metastasierungsprozess, welcher eine maßgebliche Prognoseverschlechterung darstellt, u.a. von IGF-Signalkaskaden unterhalten. So konnte IGF-2 als prädiktiver Marker für Lebermetastasen bei Kolorektalkarzinomen nachgewiesen werden<sup>245</sup> und HAKAM *et al.* zeigte zusätzlich schrittweise Erhöhung von IGF-1R während der Progression zum metastasierenden Kolorektaltumor<sup>246</sup>. Eine Beteiligung an Resistenzphänomenen gegen Chemotherapeutika und Radiotherapie ist ebenfalls belegbar<sup>247</sup>. Wenngleich die Datenlage zur therapeutischen Nutzbarkeit IGF-inhibitorischer Behandlung merklich dünner erscheint, sind doch ausgewählte Nachweise entsprechend im Anhang K - L zusammengefasst.

### 1.4.4.2. Stand der Forschung

Obwohl eine Beteiligung der IGF/IGF-1R-Signalkaskade an verschiedenen Tumoridentitäten wahrscheinlich ist, sind bisherige klinische Ergebnisse unzureichend. So liefert Ganitumab (MAK gegen IGF-1R) als *Add-On* zu hormonsuppressiver Therapie bei fortgeschrittenem bis metastasierendem Brustkrebs keine Überlebensvorteile bei vergleichbarem Nebenwirkungsprofil<sup>248</sup>. Zu einer ähnlichen Beobachtung führte die kombinierte Therapie von Gemcitabin und Ganitumab bei metastasierendem Pankreaskarzinom. Vergleichbare Werte für OS und PFS sowie ähnliches Nebenwirkungsprofil führen dazu, dass der Studienansatz nicht über Phase 3 hinaus verfolgt wird<sup>249</sup>. Für die Indikationsgebiete des metastasierenden Kolorektalkarzinoms und SCLC können ebenfalls keine positiven Aussagen für Ganitumab als Therapiealternative getroffen werden<sup>250, 251</sup>. Konsistent zu bisherigen Aussagen kann auch Figitumumab (MAK gegen IGF-1R) weder als *Add-On* zu Paclitaxel/Carboplatin<sup>252</sup> (vgl. Abb. 13) noch in Kombination mit Erlotinib<sup>253</sup> bei NSCLC verbesserte Werte für OS und PFS liefern.

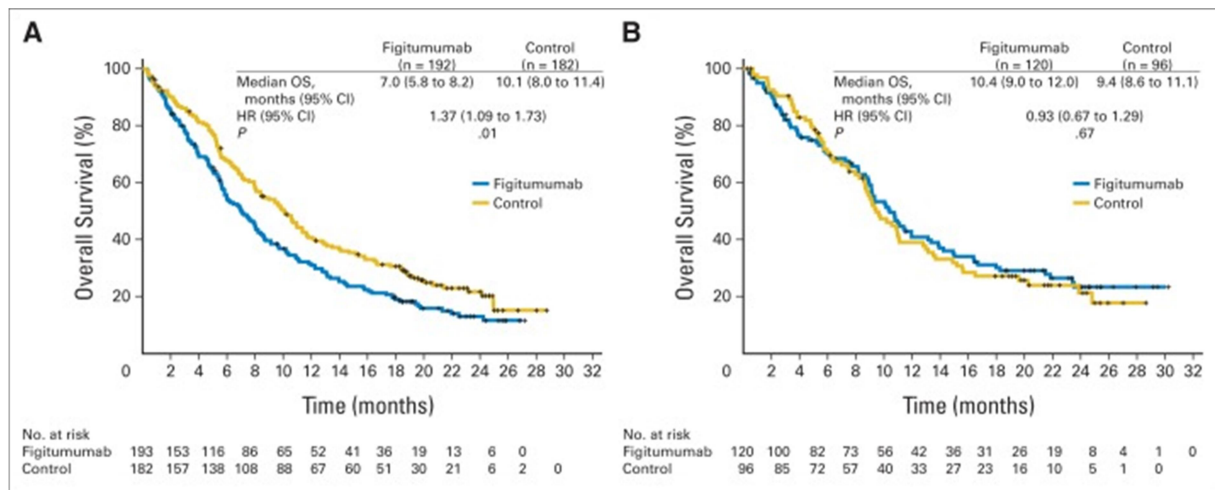


**Abb. 13:** Kaplan-Meier-Kurven für OS (links) und PFS (rechts) für Carboplatin/Paclitaxel plus Figitumumab bzw. Carboplatin/Paclitaxel plus Placebo bei NSCLC<sup>252</sup>

Auch niedermolekulare RTKIs konnten in bisherigen klinischen Studien keinen Mehrwert erzielen. In Kontrast zu MAKs inhibieren sogar spezifischere niedermolekulare RTKIs, aufgrund der hohen Sequenzhomologie, neben IGF-1R auch IR in therapeutischen Konzentrationsbereichen

(Linsitinib:  $IC_{50}$ (IGF-1R) = 18 nM,  $IC_{50}$ (IR) = 54 nM). Nach präklinischen Daten kann die duale Inhibition mit erhöhten Antitumoreffekten aber auch erhöhten UAWs assoziiert werden<sup>254</sup>. So führt Linsitinib in Kombination mit Erlotinib sogar zu Verschlechterung von ORR und PFS bei NSCLC<sup>255</sup>.

Die Ursachen für momentan fehlende Umsetzbarkeit von präklinischen Beobachtungen in klinische Resultate sind vielfältig. Neben der Komplexität des IGF/IGF-R-Systems inklusive des IR, welches einfache Inhibition von IGF-1R klinisch unzureichend wirken lässt, verschleiert die Beteiligung weiterer Rezeptoren wie EGFR, HER2 und VEGFR die Ergebnisbeobachtung in Studien. Die Identifikation von profitierenden Patientenpopulationen, welche nachweislich ein vorteilhaftes Nutzen-Risiko-Verhältnis besitzen, stellt ein weiteres Problem der Umsetzung dar<sup>254, 256</sup>. So existiert in der erwähnten Studie zu Figitumumab mit Paclitaxel/Carboplatin bei NSCLC eine Subgruppe mit hoher IGF-1-Konzentration, die durchaus Überlebensvorteile aus zusätzlicher IGF-1R-Inhibition zieht<sup>257</sup>. Beziehungsweise zeigen die Darlegungen von LANGER *et al.*, dass bei niedriger IGF1-Konzentration ein therapeutischer Nachteil existiert.



**Abb. 14:** Kaplan-Meier-Kurven für OS für Carboplatin/Paclitaxel plus Figitumumab bei IGF1-Konzentration <120 ng/ml (links) bzw. IGF1-Konzentration ≥120 ng/ml (rechts) bei NSCLC<sup>252</sup>

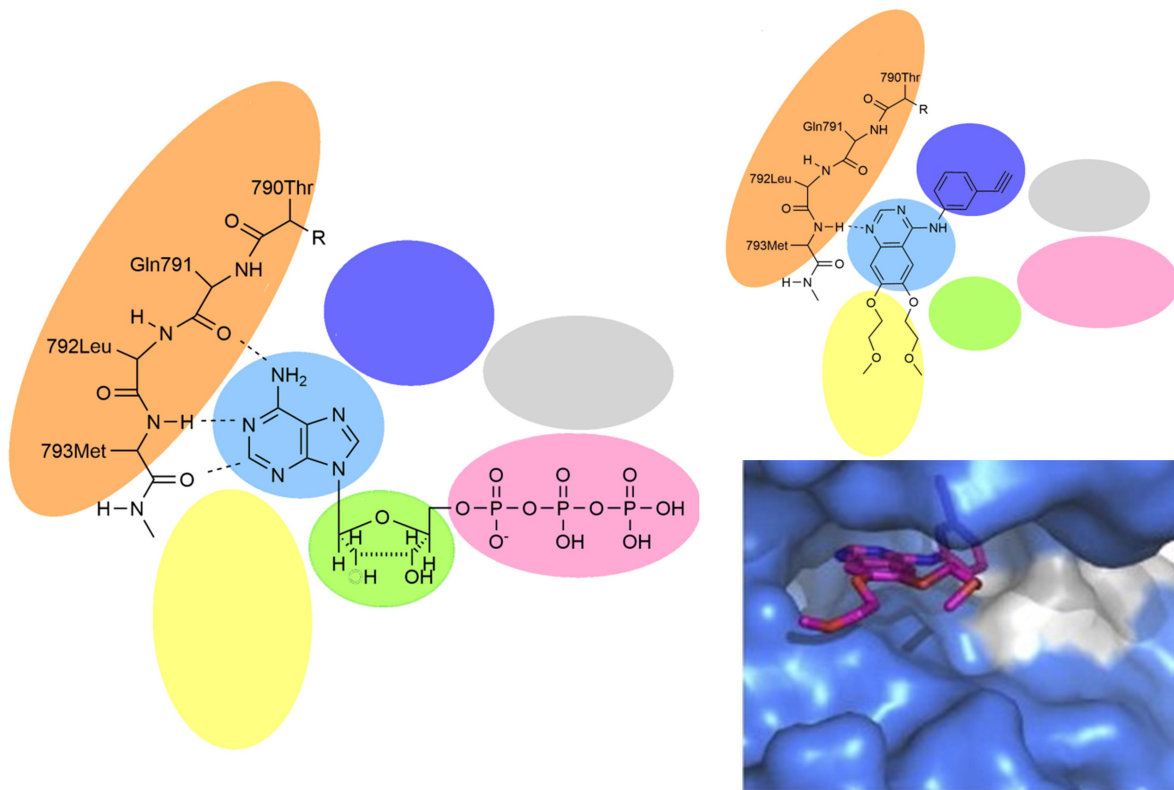
Die fehlende Anwendung bzw. Identifikation von prädiktiven Biomarkern beim Studiendesign demonstriert damit die fehlerhafte Assoziation von ubiquitärer Expression von IGF/IGF-1R-Proteinen mit ubiquitärem Einfluss in Tumoren<sup>258, 259</sup>. Als potenzielle Biomarker gelten erhöhte IGF-1-Konzentration<sup>260</sup>, autokrine Schleifen<sup>261</sup> und Überexpression bzw. -aktivierung von IGF-1R, da eine Tumorabhängigkeit von der Signalkaskade dadurch wahrscheinlicher wird. Auch IGFBPs, als u.a. Regulatoren der Konzentration und Verfügbarkeit von IGF-1/2, sind potenzielle Biomarker. Neben der Identifikation eines Biomarkers kommt der robusten Bestimmung derer ebenfalls entscheidende Bedeutung zu. So zeigen z.B. Untersuchungen von SCHWARTZ *et al.*, dass die immunohistochemische Bestimmung von IGF-1R negativ, bei gleichzeitig positiver Detektion durch Western-Blotting, sein kann<sup>262</sup>. Mögliche Biomarker sind jedoch weitaus heterogener und betreffen nicht ausschließlich die IGF/IGF-1R-Signalkaskade. Nach KING *et al.* sind auch kompensatorische Signalkaskaden alternativer RTKs als Biomarker zu bewerten, während aktivierende Mutationen wie beim EGF-Rezeptor als unwahrscheinliche Behandlungsindikatoren gelten<sup>258</sup>. So existieren Belege für *Crosstalk* zwischen IGF-1R und weiteren Zelloberflächenrezeptoren wie EGFR, PDGFR $\alpha$  und ER, welche im Weiteren

resistenzvermittelnd für IGF-1R-Inhibition wirken<sup>458, 263</sup>. Speziell der EGF-Rezeptor ist mit IGF-1R alternierend in der Lage, die PI3K-Akt-Signalkaskade zu unterhalten und daraus resultierend Progression und Überleben zu fördern<sup>264</sup>. In Konsequenz legen KING und andere Autoren rationale Kombinationstherapien gegen verschiedene RTKs nahe, um sowohl intrinsische als auch erworbene Resistenzen durch *Crosstalk* und Heterodimerisierungssphänomene zu unterdrücken und eine breitere Basis für Therapieansprechen zu schaffen. Neben der Art der kombinatorischen Therapien ist auch der zeitliche Ablauf und die Implementierung in bestehende Chemotherapien Teil der Zukunftsbetrachtung von IGF/IGF-1R-inhibitorischen Behandlungen. So scheint IGF-1R u.a. resistenzvermittelnd durch Reparaturmechanismen nach DNA-Schäden, so dass eine Kombination aus entsprechenden Chemotherapeutika und IGF-1R-Inhibitoren rationaler erscheint als die Kombination mit Zytostatika ohne DNA-Schädigung (vgl. Tabelle 1). Bisherige klinische Ergebnisse von IGF-1R-Inhibitoren sind ernüchternd, jedoch generieren sie Überlegungen bzgl. Biomarkern und rationalen Therapiekombinationen, welches der besseren Ausschöpfung des therapeutischen Potenzials dienen kann.

## 1.5. Die ATP-Bindungstasche

Allen zuvor betrachteten RTKs gemeinsam ist, dass die ATP-Bindungstasche als Teil der Kinasedomäne aufgrund desselben Substrats sowohl hohe Sequenzhomologie als auch ähnliche Tertiärstruktur aufweist. Daraus resultiert prinzipiell, dass die Inhibition mehrerer Kinasen mittels eines Inhibitors möglich ist. Im Weiteren stellt sich damit aber auch die Herausforderung an eine gewisse Selektivität bzgl. des aus über 500 Kinasen bestehenden humanen Kinoms. Gebildet wird die ATP-Bindungstasche aus einem *N*-terminalen Lappen (größtenteils  $\beta$ -Faltblattstrukturen), einem *C*-terminalen Lappen (größtenteils  $\alpha$ -Helixstrukturen) und der verbindenden *hinge*-Region (engl. Scharnier). VULPETTI *et al.* teilt die ATP-Bindungstasche entsprechend ihres natürlichen Bindungspartners in fünf verschiedene Regionen (Adenin-Bindungsregion - hellblau, Zucker-Bindungsregion - grün, Phosphat-Bindungsregion - rosa, hydrophobe Tasche - dunkelblau und Lösungsmittel-exponierte Region - gelb), wie in Abb. 15 schematisch gezeigt<sup>265</sup>. Zusätzlich dargestellt sind die *hinge*-Region - orange und das DFG-Motiv - grau.

Die Adenin-Bindungstasche interagiert über hydrophobe Wechselwirkungen der lipophilen Seitenketten von fünf Aminosäuren mit dem Adeninring des natürlichen Substrats ATP. Die direkt benachbarte *hinge*-Region (s.u.) wechselwirkt über drei Wasserstoffbrückenbindungen ihres Proteinrückgrats ebenfalls mit dem planaren heterocyclischen Adeninring. Vergleichende Betrachtungen von zugelassenen ATP-kompetitiven Inhibitoren (z.B. Erlotinib) zeigen, dass diese dem ATP mimetisch an genannte Strukturen der Adenin-Bindungstasche und der *hinge*-Region binden<sup>266</sup>. Die Zucker-Bindungsregion bindet die Ribosegruppe des natürlichen Substrats. Es kommt zur Ausbildung einer Wasserstoffbrückenbindung mit einer der zugehörigen Hydroxylgruppen. Infolgedessen ist die Zucker-Bindungsregion konserviert überwiegend polar, zeigt jedoch relativ große Strukturvariation. Daher ist sie von Interesse für Inhibitorselektivitätsüberlegungen und wurde z.B. am EGF-Rezeptor für das Design von irreversiblen kovalenten Inhibitoren (z.B. Afatinib) genutzt, wobei ein vorhandener Cysteinrest adressiert wird<sup>267</sup>.



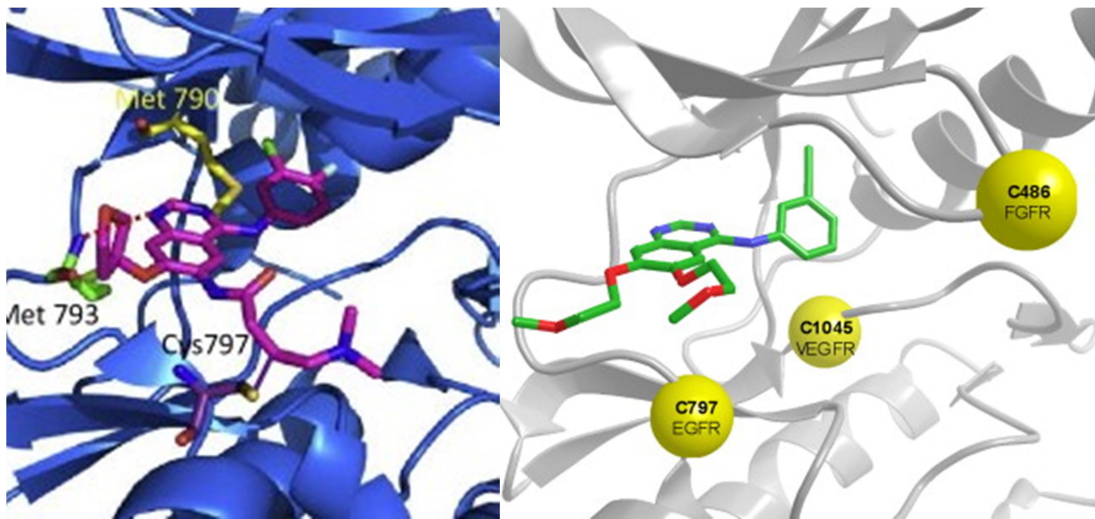
**Abb. 15:** ATP-Bindungstasche mit ATP als Substrat unterteilt in verschiedenfarbig markierte Regionen nach VULPETTI *et al.*<sup>265</sup> (links); Übertragung der Darstellung nach VULPETTI auf die kompetitive Inhibition des EGFR-Inhibitors Erlotinib (rechts oben); räumliche Darstellung der ATP-Bindungstasche von EGFR mit gebundenem kompetitiven Inhibitor Erlotinib<sup>266</sup> (rechts unten)

Die Phosphat-Bindungsregion ist entsprechend der hoch polaren Phosphatreste des natürlichen Substrats ATP ebenfalls mit polaren Aminosäureresten besetzt. Sie ist unterteilbar in eine  $\alpha$ -Helix-Struktur und den „phosphate-binding-loop“ (*P-Loop*), wobei Letzterer eine glycinreiche Struktur darstellt, welche mit hoher räumlicher Flexibilität ausgestattet ist. Bei Kinaseaktivität interagiert der *P-Loop* mit dem unten beschriebenen DFG-Motiv. Die hydrophobe Bindungstasche liegt räumlich hinter der eigentlichen ATP-Bindungsregion und wird vom natürlichen Substrat nicht besetzt. Die Region wird begrenzt von mehreren lipophilen Aminosäureseitenketten und weist außerdem vergleichsweise hohe Sequenzvariabilität auf. Im Übergang zwischen Adenin-Bindungstasche und hydrophober Tasche ragt häufig ein größerer lipophiler Rest einer Aminosäureseitenkette hervor und begrenzt somit den Zugang zur hydrophoben Tasche. In der Literatur wird entsprechend von einer „Gatekeeper“-Aminosäure gesprochen. Die unterschiedliche Größe und Ausstattung mit Wechselwirkungspartnern und nicht zuletzt die Zugänglichkeit durch die „Gatekeeper“-Aminosäure werden in der Wirkstoffentwicklung häufig zur Selektivitätsvariation genutzt. Weiterhin sind therapieinduzierte Mutationen der „Gatekeeper“-Aminosäuren ein bekanntes Resistenzphänomen unter Behandlung mit RTK-Inhibitoren<sup>268</sup>. Die Lösungsmittel-exponierte Region bildet den Zugangsbereich für Substrat und auch kompetitive Inhibitoren aus dem Zytosol in die ATP-Bindungstasche. Entsprechend den Bedingungen im Zytosol ist diese Region eher hydrophil, v.a. im äußeren Bereich. Die hohe Sequenzvariabilität und hydrophile Umgebung können für Selektivitätsoptimierung und Verbesserung der pharmakokinetischen Eigenschaften von Inhibitoren genutzt werden.

Als weitere relevante Proteinregionen bzgl. des Designs eines kompetitiven Inhibitors werden sowohl die *hinge*-Region als auch das DFG-Motiv betrachtet. Die *hinge*-Region ist eine schmale Verbindungsregion zwischen dem *N*-terminalen und dem *C*-terminalen Proteinlappen, welche die ATP-Bindungstasche bilden. Bezogen auf das Substrat ATP bildet das Proteinrückgrat der *hinge*-Region drei Wasserstoffbrücken zum Adeninring aus, welche i.d.R. durch ATP-kompetitive Inhibitoren ebenfalls adressiert werden. Das DFG-Motiv (als Teil der Phosphat-bindenden Region) wird, entsprechend des Einbuchstabencodes für Aminosäuren, durch Asparaginsäure, Phenylalanin und Glycin gebildet und ist hoch konservierter Bestandteil nahezu aller Tyrosinkinase. Außerdem besitzt die Proteinregion hohe Konformationsflexibilität zwischen aktivem und inaktivem Enzym. Im aktiven („DFG-in“) Status des Enzyms ragt das DFG-Motiv in die ATP-Bindungstasche. Der enthaltene Asparaginsäurerest ist unter Mitwirkung eines  $Mg^{2+}$ -Ions in der Lage, die  $\gamma$ -Phosphatgruppe des ATP's günstig für katalytische Übertragung zu positionieren. Die Phenylalaninseitenkette bildet dabei einen Teil der hydrophoben Tasche. Im inaktiven („DFG-out“) Status ist die Wechselwirkung zwischen  $\gamma$ -Phosphatgruppe,  $Mg^{2+}$ -Ion und Asparaginsäure nicht möglich. Die Lage der Phenylalaninseitenkette ist dahingehend verändert, dass der Zugang zur ATP-Bindungstasche blockiert wird. Infolge dieser Gegebenheiten ist über Röntgenkristallstrukturen von kokristallisierten Inhibitor-Kinase-Komplexen eine Identifikation des Aktivitätsstatus bei Inhibitorbindung möglich. HUSE und KURIYAN *et al.* berichten, dass innerhalb der inaktiven Konformation von Kinasen deutlich mehr Variation der Tertiärstruktur zu beobachten ist. Vermeintlich ist bei therapeutischer Adressierung der inaktiven Konformation höhere Selektivität des Inhibitors realisierbar<sup>269</sup>.

Bei vergleichender Betrachtung der zugelassenen RTKIs wird ersichtlich, dass abseits der Adenin-bindenden Region die Adressierung der beschriebenen Kinaseregionen äußerst divers ist und das Auswirkungen sowohl auf Bindungsmodus als auch Selektivität hat. Deshalb soll betrachtet werden, welche Kinaseregionen im Rahmen der Synthesearbeiten dieser Promotion potenziell adressiert werden können. U.a. als Prototyp für EGFR-selektive RTKIs kann Erlotinib betrachtet werden. Röntgendiffraktometrische Untersuchungen von Kokristallen aus Inhibitor und RTK zeigen, dass Erlotinib innerhalb der ATP-Bindungstasche eine Wasserstoffbrücke zum Proteinrückgrat der *hinge*-Region besitzt (schematisch Abb. 15 rechts). Der 3-Ethynylanilinrest dirigiert in die hydrophobe Tasche und wird dort von L718 begrenzt. Die hydrophilen 2-Methoxyethoxyseitenketten adressieren die hydrophile Solventregion. Anhand des Vergleichs zum natürlichen Substrat lässt sich stärkere Wechselwirkungsmöglichkeit durch zusätzliche Wasserstoffbrückenbindungen zur *hinge*-Region als mögliches Ziel ableiten. Des Weiteren führen Punktmutationen (T790M) innerhalb der hydrophoben Tasche häufig zu Resistenzbildung bei der Behandlung von NSCLC mit Erlotinib<sup>268</sup>. Da die hydrophobe Tasche besonders im aktiven Status der Kinase zum sterischen Engpunkt wird bzw. *Gatekeeper*-Mutationen therapielimitierend werden, wäre eine Adressierung der inaktiven Kinase vorzuziehen. Das später entstandene Marktpräparat Lapatinib ist dualer Inhibitor für EGFR/ErbB2 und bindet im Gegensatz zu Erlotinib an die inaktive Konformation von EGFR. In der inaktiven Konformation wird durch veränderte Orientierung des DFG-Motivs zusätzlich Bindungsmöglichkeit in der sogenannten allosterischen Tasche geschaffen<sup>270</sup>. Durch Wechselwirkung innerhalb dieses Bereichs kann potenziell zusätzliche Selektivität erreicht werden, wobei dieses kontrovers diskutiert wird<sup>271, 272</sup>.

Ein weiteres interessantes Therapiekonzept bzgl. der Resistenzbildung durch Punktmutation des EGF-Rezeptors (oder allgemein von RTKs) stellen irreversible Inhibitoren wie Afatinib dar, welche aus einem kompetitiv agierenden und einem kovalent bindenden Molekülteil bestehen. Unkonservierte Cysteinseitenketten innerhalb der ATP-Bindungstasche als Reaktionspartner für elektronenziehend substituierte Mehrfachbindungen des Inhibitors bilden dabei das mehrheitlich genutzte Konzept<sup>267</sup>. So konnte Cys797 am EGF-Rezeptor durch Afatinib adressiert werden. Ebenfalls unkonservierte und damit therapeutisch nutzbare Cysteinseitenketten stellen u.a. Cys1045 am VEGF-Rezeptor und Cys486 am FGFR-Rezeptor dar (vgl. Abb. 16). Als mögliche Vorteile für die kovalente Inhibition sind eine höhere Selektivität und verminderte Ausbildung bzw. Überwindung von erworbenen Resistenzen zu nennen, was für Afatinib und Osimertinib zumindest partiell belegbar ist<sup>273</sup>.



**Abb. 16:** Bindung von Afatinib über kovalente Bindung zu Cys797 am EGF-Rezeptor mit T790M-Punktmutation (links)<sup>266</sup>; Cysteinseitenketten als potenzielle kovalente Bindungspartner in verschiedenen RTKs (rechts)<sup>267</sup>

Sofern über verschiedene Wechselwirkungspartner in einem Molekül die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zum Proteinrückgrat des *hinge*-Motivs realisiert werden kann, sollte auch die Positionierung bzw. Eindringtiefe des Moleküls in die ATP-Bindungstasche beeinflusst werden. Infolgedessen wäre die Implikation einer in Volumen und Länge variablen Gruppe an entscheidender Stelle im Molekül wünschenswert. Bezogen auf kommerziell verfügbare EGFR-Inhibitoren mit Chinazolingrundkörper ist ein solcher Ansatz nicht erkennbar, wäre aber in Position 2 des Heteroaromaten denkbar, da diese in Richtung des Übergangs zwischen *hinge*-Motiv und hydrophober Tasche orientiert ist.

Im Sinne der zuvor beschriebenen Inhibition verschiedener Kinasen scheint ein Strukturvergleich unterschiedlicher Inhibitoren naheliegend. Neben den beschriebenen Inhibitoren für EGFR, Gefitinib und Erlotinib, und der zusätzlich HER2-inhibierenden Verbindung Lapatinib, existiert mit Vandetanib ein weiterer Inhibitor mit Chinazolingrundgerüst. Interessanterweise inhibiert Vandetanib trotz hoher Strukturanalogie (vgl. Abb. 17) zusätzlich den VEGF-Rezeptor und adressiert somit eine weitere tumorrelevante Kinase. Neben dem Chinazolingrundgerüst sind ein apolarer Aromat in Position 4, welcher in die hydrophobe Tasche dirigiert, und eine polare Seitenkette in Position 7, die das Bindeglied zur Lösungsmittel-exponierten Region darstellt, weitere



Strukuranalogien. Bei Lenvatinib ist das heteroaromatische Grundgerüst auf ein Chinolin reduziert, jedoch lassen sich auch hier beschriebene Strukturmerkmale wiedererkennen. Der heteroaromatische Stickstoff dient der Bindung an das *hinge*-Motiv. Am apolaren Aromaten in Position 4 des Grundgerüsts besitzt Lenvatinib analog Lapatinib eine verlängerte Seitenkette, welche die allosterische Tasche belegt und somit die Inhibition der inaktiven Kinaseform sicherstellt. Abweichend von anderen RTKIs besitzt Lenvatinib keine längere polare Seitenkette in Position 6 oder 7, welches u.U. die breite Kinaseinhibition von VEGFR1-3, FGFR1-4, PDGFR $\alpha$  und c-Kit mitbestimmt.

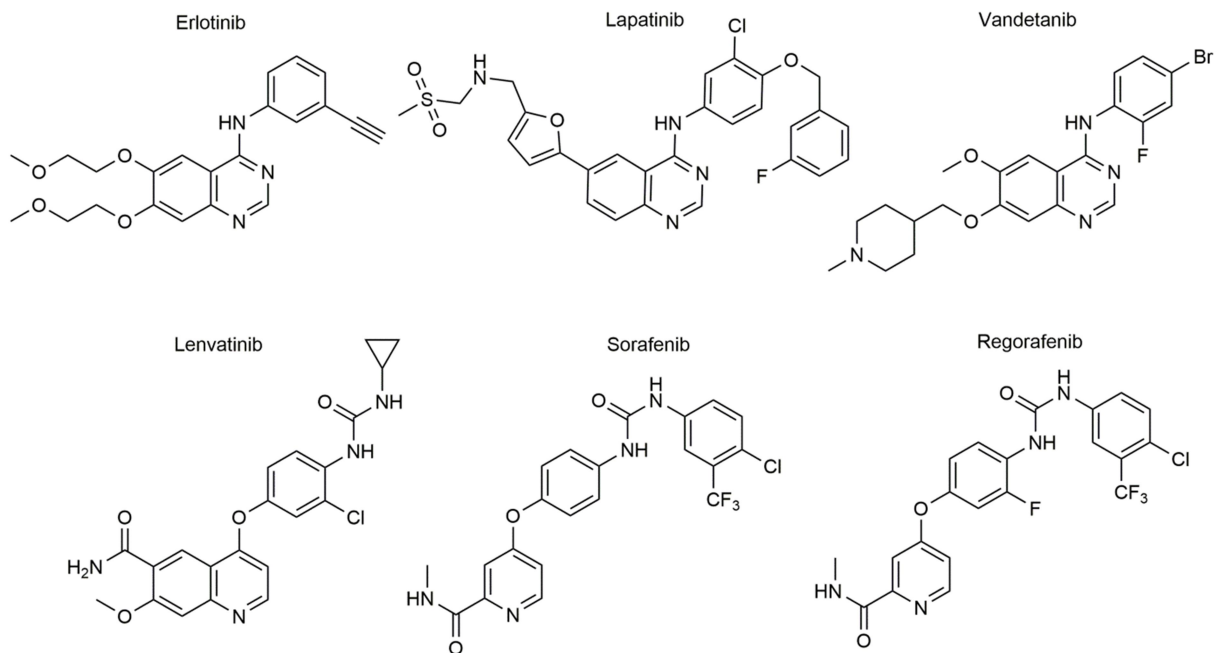


Abb. 17: Auswahl von zugelassenen RTKIs - Vergleich Strukturähnlichkeit

Ebenfalls um Multikinaseinhibitoren handelt es sich bei den Analogsubstanzen Sorafenib und Regorafenib, bei welchen das bicyclische heteroaromatische Grundgerüst durch ein *N*-Methylpicolinamid ersetzt ist. Die räumlich benachbarten Stickstoffatome der Inhibitoren können zwei Wasserstoffbrückenbindungen zum Proteinrückgrat des *hinge*-Motivs ausbilden. Bezogen auf den hydrophoben Aromaten in Position 4 mit verlängerter Seitenkette, welcher der Belegung der allosterischen Tasche dient, besitzen beide Verbindungen augenscheinliche Analogie zu Lenvatinib. Auch hier wird auf Adressierung der Lösungsmittel-exponierten Region vollständig verzichtet. Zusammenfassend betrachtet ist die Inhibition mehrerer Kinasen nachweislich synthetisch realisierbar und die dafür relevanten Strukturanforderungen sind an zugelassenen Marktpräparaten ersichtlich. Die Balance zwischen Selektivität und Inhibition verschiedener tumorrelevanter Kinasen wiederum ist schwieriger und muss u.a. mit Versuchsreihen erarbeitet werden. Des Weiteren sollten auch Resistenzmechanismen in Syntheseüberlegungen einbezogen werden, um den potenziellen therapeutischen Erfolg wahren zu können.

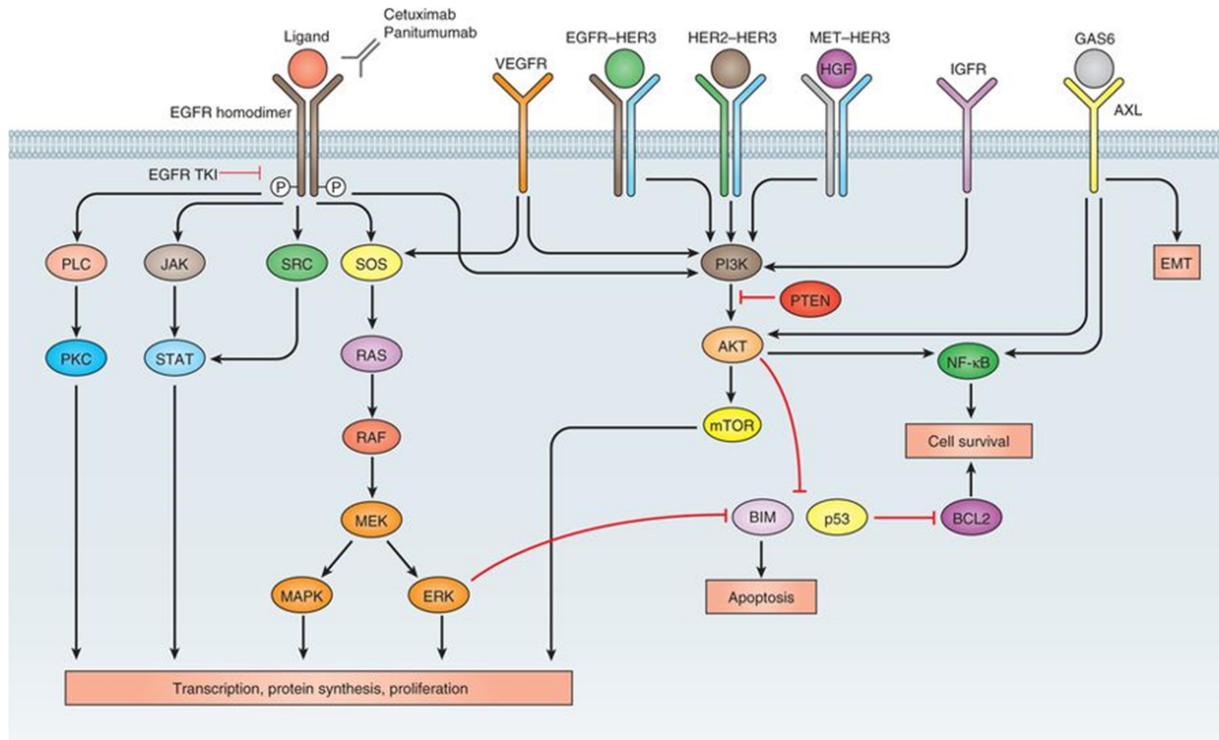
## 1.6. Resistenz und Selektivität

### 1.6.1. Ausgewählte Resistenzmechanismen

Abseits von eigenständigen Resistenzphänomenen wie erhöhtem Efflux von therapeutischen Substanzen durch Überexpression von P-Glycoprotein (bzw. ABC-Transportproteinen) werden diverse Ursachen für Resistenz bei Therapie mit RTKIs beobachtet. Einige für die Arbeit relevante sollen hier beispielhaft am EGF-Rezeptor erläutert werden. Vorab lässt sich sagen, dass bei der Untersuchung von Resistenzphänomen gerade im klinischen Bereich Tumorerogenität, unzureichende Ursachenklassifizierung und unselektierte Patientenpopulationen Beobachtungen verfälschen<sup>274</sup>. Möchte man EGFR-betreffende Resistenzen in größere Kategorien unterteilen, so kann man a) von Reaktivierung der Rezeptorfunktionalität durch Mitglieder bzw. Funktionsweise der ErbB-Familie, b) von Aktivierung alternativer Wachstumsfaktorrezeptoren und c) von Aktivierung alternativer Wachstums- oder Überlebensfaktoren sprechen<sup>275</sup>.

Nach Anwendung der ersten Generation von RTKIs im Bereich von NSCLC, also Gefitinib und Erlotinib, erfolgte nach anfänglich überwältigenden Ergebnissen Ernüchterung. Durch verschiedene Punktmutationen (u.a. T790M, L718Q, C797S und L844V) kommt es zum Affinitätsverlust des Inhibitors und somit zum Wirkverlust. Für die am besten untersuchte Mutation T790M lässt sich zusätzlich sagen, dass diese in geringem Maß auch vor therapeutischer Behandlung nachweisbar ist, also sowohl primäre als auch sekundäre Resistenz darstellt<sup>276</sup>. Im Sinne des durch WEINSTEIN *et al.* beschriebenen Konzepts der „*Oncogene-Addiction*“ führt die selektive Inhibition zu hohem Überlebensdruck für EGFR-abhängige Tumorzellen, so dass die resistenzbildende Mutation unmittelbar auftreten muss. Die Inhibitoren der zweiten/dritten Generation sind in der Lage, über kovalente Bindungsmechanismen die „*Gatekeeper*“-Resistenzen zu überwinden. Im Unterschied zur Dritten adressiert die zweite Generation sowohl wt EGFR als auch die T790M-Mutante, was unter Berücksichtigung von Tumorerogenität ein wertvoller Aspekt sein kann. Jedoch beeinflusst dieses auch das Nebenwirkungspotenzial negativ und agiert somit dosislimitierend<sup>277</sup>.

Ebenfalls der Obergruppe a) Resistenz durch ErbB-Familienmoleküle zugeordnet werden die Mutation oder Amplifikation/Überexpression von HER2 bzw. im weiteren Sinne Homo- und Heterodimerisierung innerhalb der ErbB-Familie (vgl. Abb. 18). So kann HER2 v.a. in überexprimierter Form, wie zuvor beschrieben, als Superakzeptor innerhalb des Dimerisierungsprozess agieren und somit die Inhibition von EGFR aufheben. HER2-Amplifikation kann in 10 - 20 % und Überexpression in 6 - 35% der getesteten Patienten nachgewiesen werden. Mutationen der HER2-Kinasedomäne sind nur in 2 - 4 % der Fälle von NSCLC nachweisbar, welches den Stellenwert der Dimerisierungsphänomene unterstreicht<sup>278, 279</sup>. Da Heterodimerisierung innerhalb der ErbB-Familie ubiquitär vorkommt, können auch ErbB3 und ErbB4 an der Weiterleitung von proliferativen und Überlebenssignalen (durch z.B. PI3K/Akt) trotz EGFR-Inhibition beteiligt sein. Aufgrund von beeinträchtigter Kinasefunktion von ErbB3 und geringerem Vorkommen von ErbB4 spielen sie eine untergeordnete Rolle<sup>280</sup>. Als Konsequenz könnten v.a. dual aktive Inhibitoren von EGFR und HER2 wie Lapatinib bei entsprechender Resistenz von Nutzen sein, aber auch Kombinationen mit MAKs, welche die Heterodimerisierungspartner adressieren, sind zu bewerten.

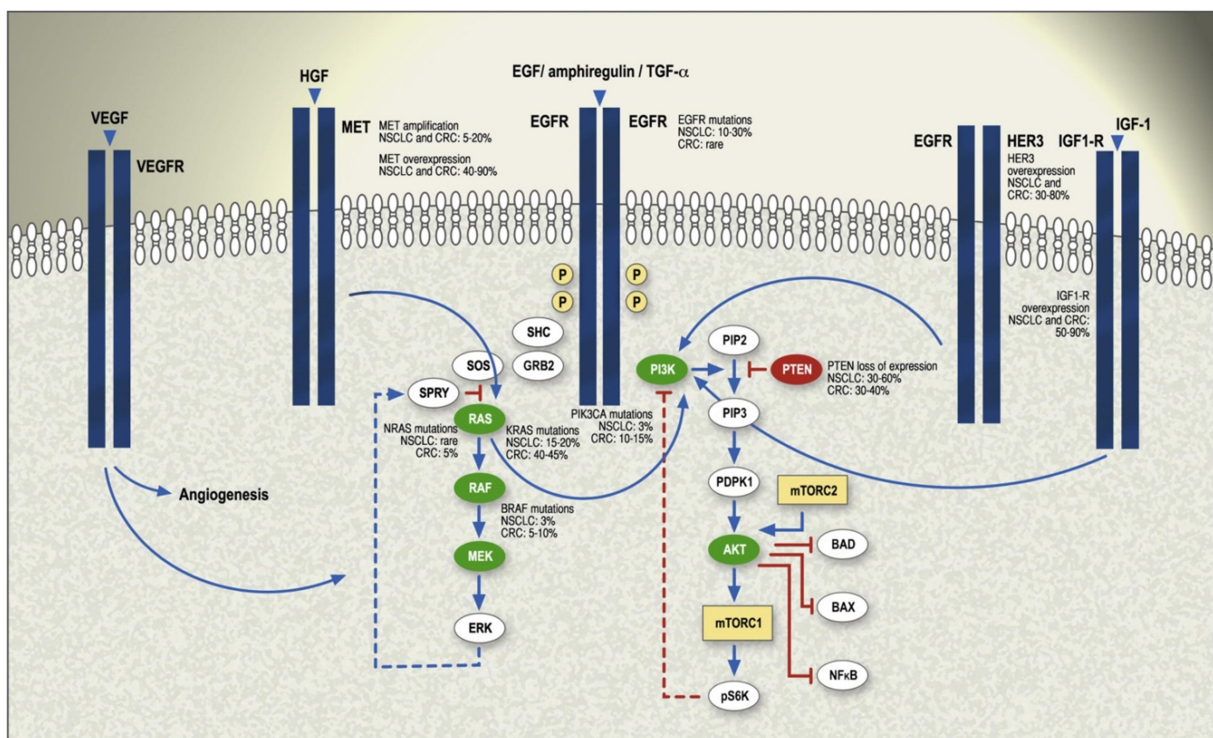


**Abb. 18:** Darstellung ausgewählter Resistenzmechanismen durch Heterodimerisierungsphänomene und Rezeptorcrosstalk<sup>281</sup>

Zugehörig zur Obergruppe b) stehen neben der ErbB-Familie weitere Wachstumsfaktoren bzw. deren Rezeptoren in enger Verbindung zum *Downstream*-Signalnetzwerk, welches Wachstum und Überleben von Tumorzellen reguliert (vgl. Abb. 18). Im Zuge dessen sind sowohl Rezeptorheterodimerisierungen über die ErbB-Familie hinaus als auch Rezeptorcrosstalk bzgl. der nachgeschalteten Signalkaskaden zu betrachten. So führt Überexpression von IGF-1R ebenfalls zur Aktivierung von PI3K und dessen nachgeschalteten Regulatormolekülen und kann somit die Inhibition von EGFR übergehen<sup>282</sup>. Zusätzlich ist IGF-1R ebenfalls zur Heterodimerisierung mit EGFR befähigt und führt außerdem bei Aktivierung zu Ausschüttung des EGFR-Liganden TGF $\alpha$ <sup>283</sup>. Eine Überexpression von IGF-1R kann in 50 - 90 % der Patientenpopulation bei NSCLC und CRC nachgewiesen werden. Wenn einer der Mechanismen als ursächlich für die Resistenzbildung identifiziert wird, ergibt sich eine Rationale für multiple Inhibition. Vergleichbare Erkenntnisse ergeben sich für VEGF-Rezeptoren bzw. deren Aktivierung. Neben der Aktivierung angiogener Prozesse führt Signaltransduktion von VEGFR auch zur Aktivierung der Ras/Raf/MEK/ERK-Kaskade und der PI3K, kann damit ebenfalls als potenzieller *bypass*-Mechanismus einer EGFR-Inhibition genannt werden. Sowohl auf Zell- als auch auf Patientenebene sind positive Ergebnisse kombinierter Inhibition von EGFR und VEGFR, verglichen mit ausschließlicher EGFR-Inhibition, beschrieben<sup>284, 285</sup>. Das summiert als Rezeptorcrosstalk bezeichnete Phänomen führt dazu, dass nach Inhibition des Onkogens die *Downstream*-Signale von alternativen Wachstumssignalen unterhalten werden („*Oncogene-Shift*“), obwohl eine Treibermutation bzw. *Oncogene-Addiction* vorhanden ist. Besonders unter Selektionsdruck eines spezifischen Inhibitors kann der *bypass*-Mechanismus zu sekundär erworbener Resistenz führen. Jedoch sind auch primäre Resistenzen onkogener Wachstumsfaktorrezeptoren bekannt, welche eine EGFR-selektive Therapie von vornherein limitieren. So werden für den Met-Rezeptor durch Amplifizierung sowohl primäre als auch

erworbene Resistenzen gegenüber einer EGFR-selektiven Therapie bei CRC nachgewiesen<sup>286</sup>. Mechanistisch sind Heterodimerisierungs- und *Crosstalk*-Phänomene für Met beschrieben. Bei Identifikation ist eine duale Inhibition zu Therapiebeginn oder eine Resensibilisierung nach aufgetretener Resistenz denkbar. Neben den zuvor genannten Phänomenen ist in Abb. 18 auch die morphologische Veränderung zu einem stammzellartigen Zelltyp als Resistenzursache gegen EGFR-selektive Therapien ersichtlich, welche u.a. über den AXL-Rezeptor vermittelt wird.

Bezogen auf EGFR-selektive Ausrichtung können auch die nachgeschalteten Signalnetzwerke, entsprechend Resistenzgruppe c), eine effektive Therapie verhindern. Vornehmlich geschieht dieses, indem sie unabhängig von Rezeptoraktivierung agieren bzw. sich von dieser entkoppeln. Da sich die EGFR-Aktivierung auf diverse nachgeschaltete Signalkaskaden auswirkt, existieren auch für jede Kaskade einzelne Resistenzphänomene (vgl. Abb. 19).



**Abb. 19:** Darstellung ausgewählter Resistenzmechanismen bezogen auf EGFR-selektive Inhibition und deren Häufigkeit innerhalb der Hauptindikationsgebiete NSCLC und CRC<sup>287</sup>

So führen PI3KCA-Mutation, PTEN-Verlust und mTOR-Aktivierung<sup>288</sup> zur Entkopplung des zugehörigen Signalwegs von einer Rezeptoraktivierung und bewirken somit konstitutive Aktivität des Signalwegs. Mit einem Vorkommen von 30 - 60 % in NSCLC und 30 - 40 % in CRC ist PTEN-Verlust inzwischen anerkannter prädiktiver Biomarker für Therapie mit RTKIs. Ausbleibende Dephosphorylierung und resultierend ausbleibende Rückkopplung der PI3K-Kaskade führt zu konstitutiver Aktivität, welche mit Resistenz auf verschiedene RTKIs assoziiert wird<sup>289, 290</sup>. Innerhalb des PI3K/Akt-Signalwegs existieren verschiedene z.T. zugelassene Inhibitoren, welche rationale Kombinationstherapien mit RTKIs erlauben und sich aktuell in klinischer Testung befinden<sup>291</sup>. Analog können Mutationen des Ras-Proteins (K-Ras, N-Ras) und des Raf-Proteins (BRAF) zu Resistenzbildung durch Entkopplung der Ras/Raf/MEK/ERK-Signalkaskade von RTKs führen. Bezüglich der bisherigen Hauptindikationsgebiete von EGFR-selektiven Therapien, NSCLC und CRC, ist v.a. K-Ras mit einer

Häufigkeit von 15 - 20 % respektive 40 - 45 % von therapeutischer Relevanz. Für beide Indikationen gilt eine entsprechende Mutation als prädiktiver Biomarker für die Anwendbarkeit einer EGFR-selektiven Therapie, welches sich sowohl für MAKs als auch RTKs in Literaturdaten und Leitlinien niederschlägt<sup>292, 293</sup>. Sowohl erworbene als auch primäre Resistenz ist über genannte Mechanismen möglich. Interessanterweise stehen resistenzvermittelnde Mutationen teilweise in wechselseitigem Gleichgewicht. So ist das BRAF(V600E)-Onkoprotein in der Lage, Resistenz gegenüber einer EGFR-selektiven Therapie zu vermitteln. Wiederum kann die Inhibition von BRAF(V600E)-positiven Kolontumoren zur *Feedback*-Aktivierung mit Resistenzausbildung von EGFR führen<sup>294</sup>. Die Überwindung der durch *Downstream*-Effektoren vermittelten Resistenz auf EGFR-selektive Therapien ist tendenziell möglich, erfordert aber i.d.R. Kombination mit anderen Inhibitorklassen. Trotzdem ist die Kombination entsprechender Substanzen, wie z.B. BRAF-, MEK- und EGFR-Inhibitoren, ein vielversprechender therapeutischer Ansatz und Thema klinischer Studien. Entsprechend der in Abb. 19 dargestellten Häufigkeit von Mutations-, Expressions- und Amplifikationsphänomenen stellt sich die Frage nach der jeweiligen Relevanz bzw. der therapeutischen Nutzbarkeit. In frühen klinischen Studien zu rationalen Kombinationstherapien ließen sich bisher kaum Erfolge erzielen. Betrachtet man die Vielzahl der beteiligten Phänomene und die vergleichsweise geringe Präqualifizierung von Patientenkollektiven in klinischen Studien, ist die geringe Erfolgsrate nachvollziehbar. Neben der weiteren Etablierung von innovativen Kombinationstherapien muss zukünftig Wert auf Identifizierung der relevanten Onkogene und Resistenzvermittler gelegt werden. Die Auswahl der Testpopulationen sollte dahingehend optimiert werden.

## 1.6.2. Selektivitätsüberlegungen

Aus den zuvor angestellten Überlegungen ergibt sich, dass die gleichzeitige Inhibition ausgewählter Kinasen sowohl aufgrund mannigfaltiger Beteiligung am Tumorprogress als auch aus Resistenzgründen rational ist. Definierte RTKs zu inhibieren und gleichzeitig wenig *off-target*-Wirkungen zu erzeugen, ist nicht trivial. Zunächst sollte eine hinreichende inhibitorische Potenz für das gewünschte Target erzielt werden, um anschließend das Ausmaß an Selektivität zu bestimmen und zu optimieren. Wenn ausgewählte RTKs das erklärte Target sind, so stellt zumindest das gesamte Kinom ein Potenzial für *off-target*-Wirkung dar. Abb. 20 zeigt eine Gesamtdarstellung des humanen Kinoms als baumartiges Dendrogramm. Die von uns potenziell adressierten RTKs (u.a. EGFR, VEGFR, PDGFR und IGFR) werden der Gruppe der Tyrosinkinase (TK) zugeordnet. Bezüglich der Sequenzhomologie der Kinasedomäne am nächsten den TKs verwandt, ist die Familie der *tyrosine-kinase-like*-Kinasen (TKL). Darunter sind u.a. die Serin-/Threoninkinasen Raf und TGF $\beta$ R. Die STE-Familie besteht u.a. aus zahlreichen Mitgliedern der MAPK-Kaskade. Die CMGC-Familie enthält u.a. die Cyclin-abhängigen Kinasen als Regulatoren des Zellzyklus und der Transkription. Vervollständigt wird die Kinasesuperfamilie durch die CAMK-, AGC-, CK1- und GYC-Familien, welche im Kontext der vorliegenden Arbeit nicht weiter betrachtet werden.

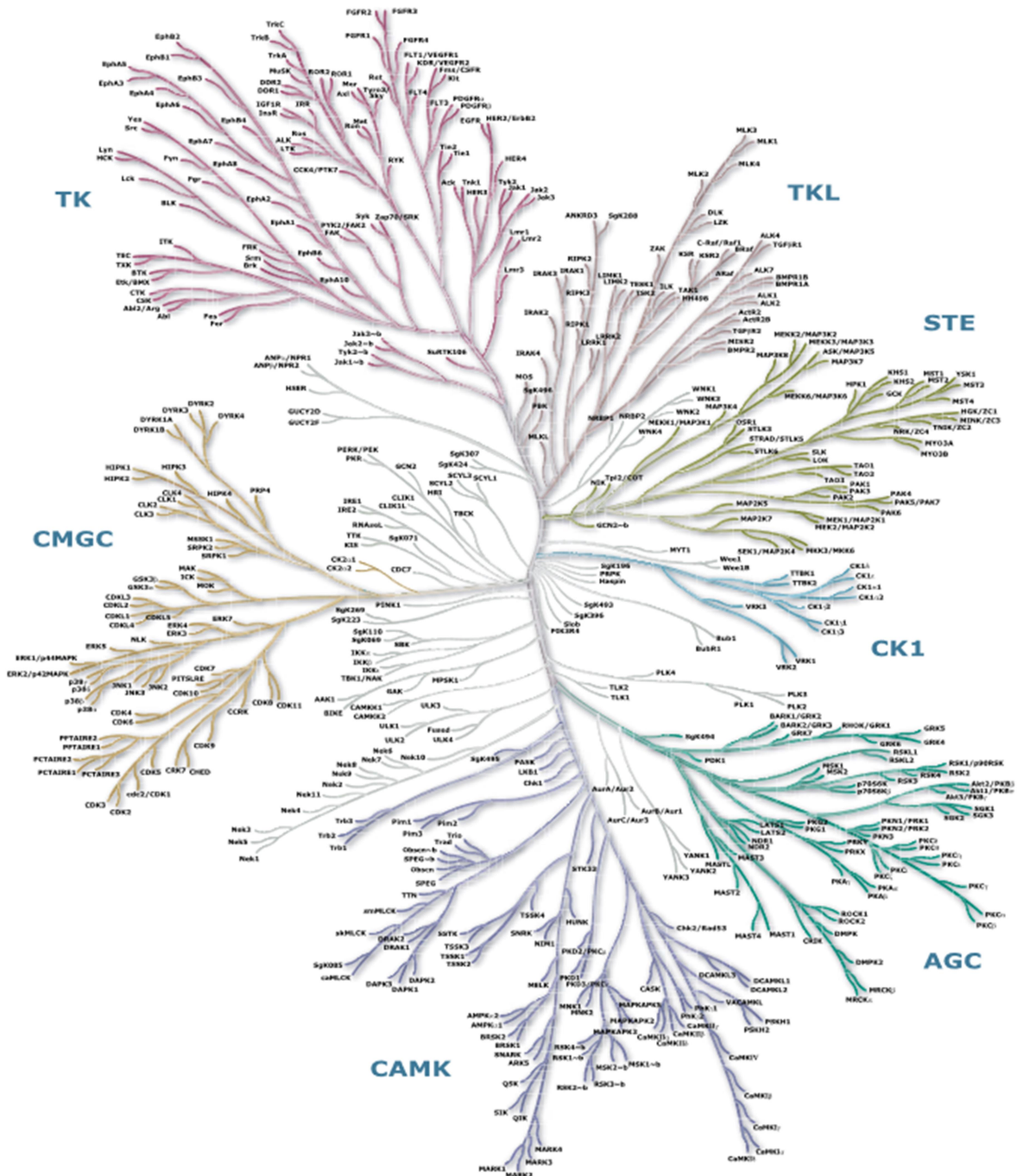
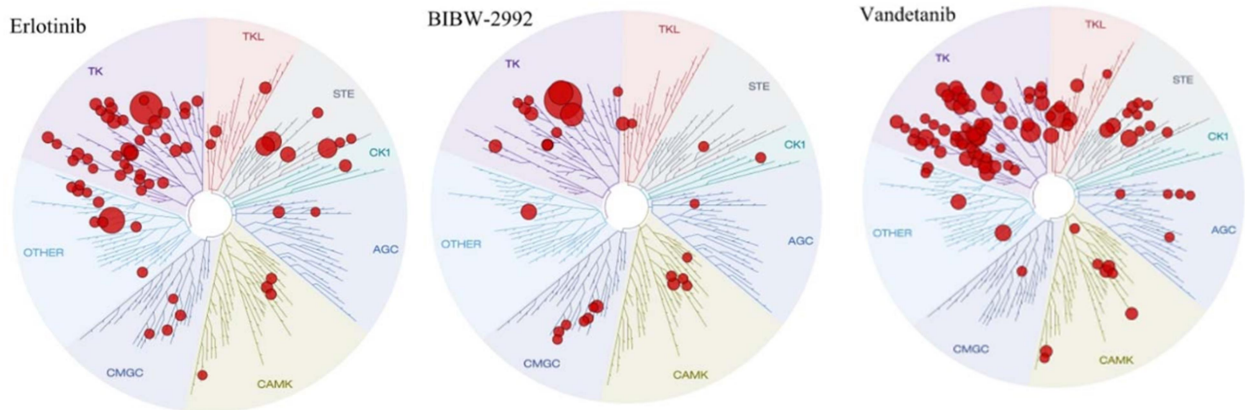


Abb. 20: Darstellung humanes Kinom als baumartiges Dendrogramm nach CELL SIGNALING TECHNOLOGY®<sup>295</sup>

Für die Darstellung bzw. Auswertung von Selektivitätsuntersuchungen bestehen zahlreiche Möglichkeiten. Einen rationalen Anhaltspunkt geben die Arbeiten von DAVIS *et al.*, welche die inhibitorische Potenz von verschiedenen zugelassenen Marktpräparaten, aber auch in Entwicklung befindlichen Präparaten, bezogen auf 442 Kinasen testen<sup>29, 296</sup>. Als Basis nutzen die Untersuchungen ein *Competition Binding Assay*, welcher durch FABIAN *et al.* beschrieben und charakterisiert wurde. Es ergeben sich logarithmische  $K_d$ -Abstufungen für die Testverbindungen zu allen untersuchten Kinasen. Übertragen auf Kinasedendrogramme resultieren übersichtsartige Darstellungen von Substanzen und den gehemmten Kinasen (vgl. Abb. 21).



**Abb. 21:** Dendrogramm-Darstellung der drei RTKIs Erlotinib, Afatinib (BIBW-2992) und Vandetanib und deren Kinaseaffinitäten (v.l.n.r.), Punktgröße und  $K_D$  verhalten sich umgekehrt proportional

Unter anderem zeigen die Untersuchungen von DAVIS *et al.*, dass tatsächlich Typ II-Inhibitoren (Bindung an inaktiver Kinaseform) insgesamt selektiver sind, aber dass sowohl mit Typ I-Inhibitoren ebenfalls hohe Selektivität erreicht werden kann, als auch mit Typ II-Inhibitoren stark unselektive Marktpräparate vorhanden sind. Des Weiteren ergeben sich recht unterschiedliche Selektivitätsmuster. So sind Substanzen zu finden, welche vorrangig bestimmte Familien adressieren, aber auch Substanzen mit Interaktion in diversen Kinasefamilien sind belegt. Infolgedessen ist eine RTK-adressierte Verbindung auch auf *off-target*-Wirkungen in anderen Kinasefamilien zu untersuchen, um ein vollständiges Bild der Selektivität zu erhalten. Neben der bildlichen Darstellung legt die Veröffentlichung zur Bewertung der Kinaseselektivität einen *Selectivity-Score* nahe, bei welchem die Anzahl der Kinasen mit  $K_D < 3 \mu\text{M}$  durch die Gesamtzahl der getesteten Kinasen dividiert wird. Es resultiert ein numerischer Wert für die Gesamtselektivität zum Kinom. 64 % der Substanzen liefern dabei einen Wert von  $< 0,2$ . Dazu zählen u.a. der MEK-Inhibitor Sulemetinib, ErbB/ErbB2-Inhibitor Lapatinib (0,02) und die EGFR-Inhibitoren Erlotinib (0,18) und Afatinib (0,08). Ausgewiesene Multikinaseinhibitoren wie u.a. Axitinib (0,20), Vandetanib (0,24), Nintedanib (0,52) und Sunitinib (0,60) liefern dementsprechend höhere Werte. Zugelassene Inhibitoren bedienen also einen weiten Bereich von Selektivität, wobei die Grundintention der pharmazeutischen Entwicklung vermutlich ebenfalls divergiert. Nichtsdestotrotz haben alle Verbindungen eine entsprechende Zulassung, welche Sicherheit und Unbedenklichkeit belegt. Aufgrund der im *Selectivity-Score* gewählten Grenze von  $K_D < 3 \mu\text{M}$  ergibt sich eine eingeschränkt verwertbare Größe, denn im Weiteren muss für eine Bewertung der Selektivität in Betracht gezogen werden, in welcher Konzentration die betrachtete Substanz am gewünschten Target inhibiert. Daher sollte nach DAVIS *et al.* auch das Verhältnis von zusätzlich inhibierten Kinasen im Bereich von  $K_{D(\text{Kinasen})} \leq 10 \times K_{D(\text{Primärtarget})}$  herangezogen werden. Entsprechend ergibt sich höhere Selektivität, je weniger *off-target*-Inhibition in diesem Bereich erfasst wird.

Im weiteren Kontext stellt sich die Frage, inwiefern eine Familie der Kinasen (z.B. RTKs) adressiert werden kann bzw. andere Kinasefamilien dabei unbeeinflusst bleiben. Bezieht man den *Selectivity-Score* auf einzelne Kinasefamilien statt auf die Gesamtzahl der getesteten Kinasen, so müssen für familienselektive Inhibitoren deutlich höhere Werte resultieren als für andere Familien und den Gesamt-Score.

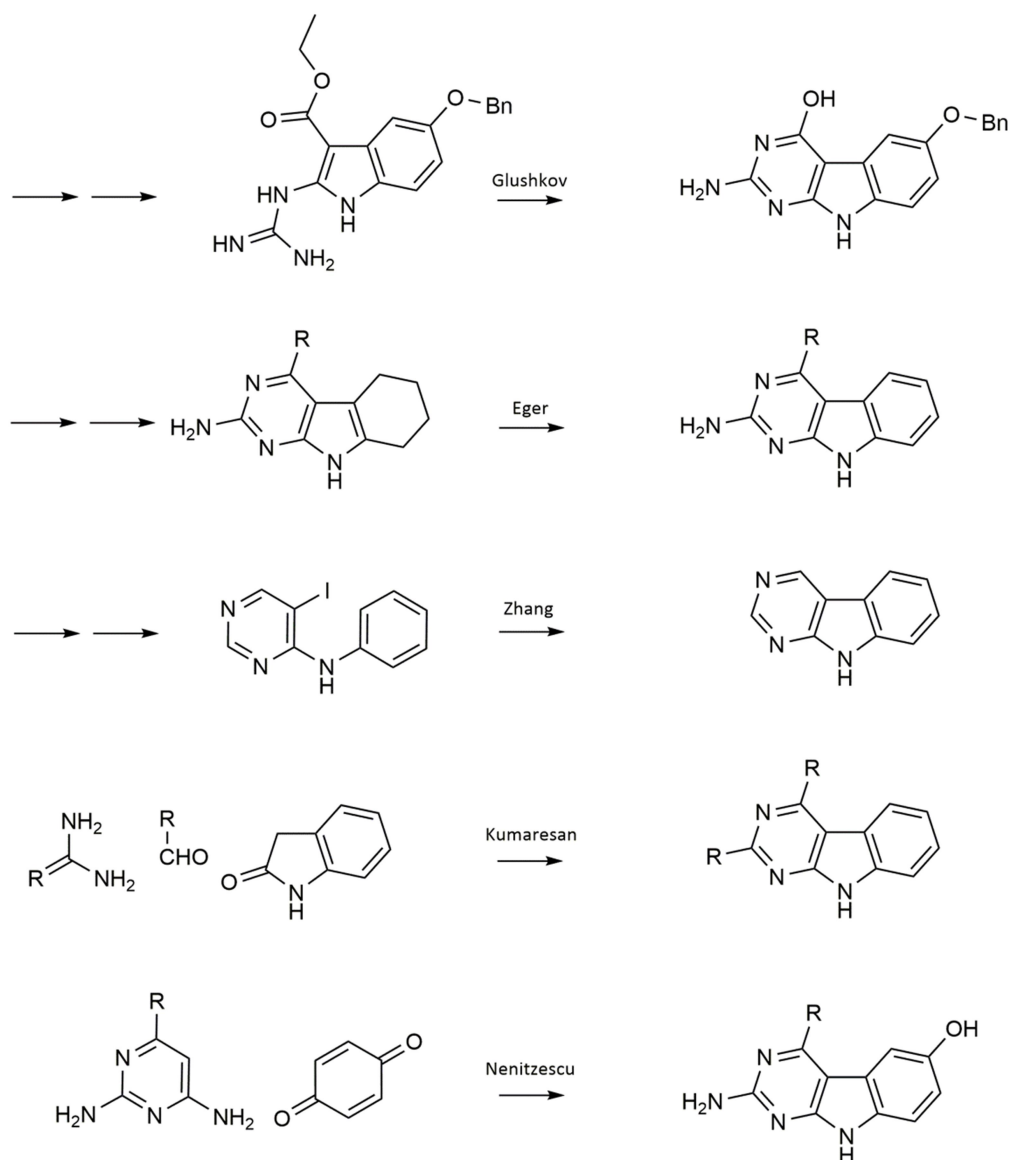
## 2. Zielstellung und Darlegung der Synthesestrategie

### 2.1. Darlegung Synthesestrategie

Aufgrund der beschriebenen vielfältigen Bedeutung von Wachstumsfaktoren und deren RTKs für die Tumorigenese sind entsprechende Inhibitoren sowohl als präklinische *Tools* als auch als klinische Arzneistoffe von Interesse. Anhand der Konzepte von onkogener Abhängigkeit<sup>37</sup> und Kennzeichen eines Tumors<sup>57</sup> wurde die Wertigkeit von Inhibitoren mit Hemmwirkung auf multiple Kinasen dargestellt. Weiterführende Betrachtungen zu Resistenzmechanismen in onkologischer Behandlung zeigen ein zusätzliches Potenzial auf, wohingegen die Selektivitätsüberlegungen Bewertung und Möglichkeiten multipler Kinaseinhibition aufzeigen. Im Zuge vorhergehender Arbeiten von HILGEROTH *et al.* wurden u.a. 1-Aza-9-oxafluorene und  $\alpha$ -Carboline<sup>297, 298</sup> zur Inhibition tumorrelevanter Kinasen synthetisiert und evaluiert. In Erweiterung dessen soll in dieser Arbeit die Synthese des strukturverwandten tricyclischen 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indols auf Zugänglichkeit und Derivatisierungsmöglichkeit bearbeitet werden. Entstehende Derivate sollen in Zusammenarbeit mit der ProQinase GmbH (Freiburg im Breisgau) auf deren Kinaseinhibitionseigenschaften geprüft werden. Die potenziellen Targetaffinitäten wiederum werden in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Prof. Dr. W. Sippl (Institut für Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) durch Docking-Studien auf Inhibitor-Target-Interaktionen bearbeitet. Aus entsprechenden Untersuchungen sollen Hypothesen für weitere Synthesereihen generiert werden.

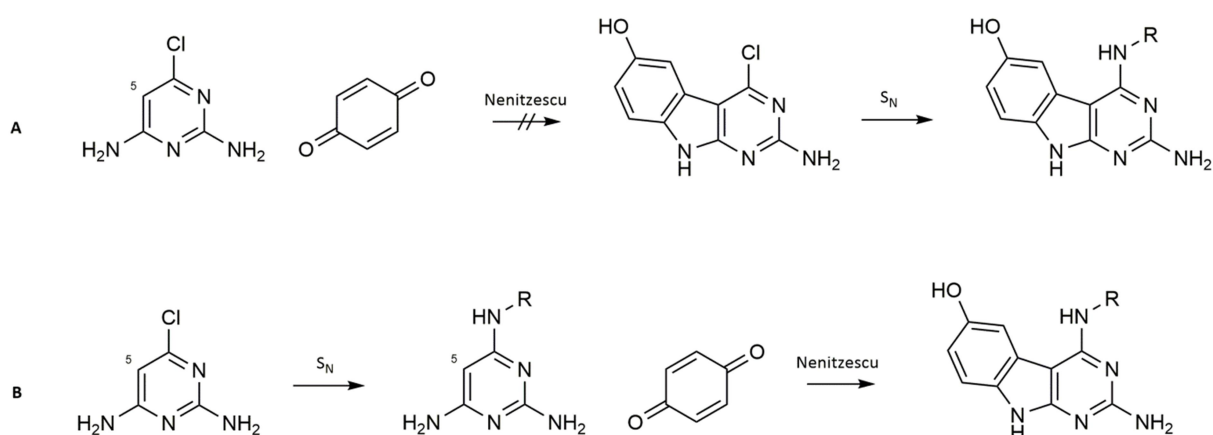
Zur Darstellung von Pyrimido[4,5-*b*]indolen gibt es nach Literaturdaten verschiedene Synthesansätze (vgl. Abb. 22). Die bekannteste und auch gegenwärtig genutzte Methode<sup>299</sup> nach GLUSHKOV *et al.* nutzt 2,3-bifunktionalisierte Indole (z.B. 2-Amino-3-ethoxycarbonyl-1*H*-indol oder 3-Ethoxycarbonyl-2-guanidyl-1*H*-indol) und setzt diese in Cyclisierungsschritten um, welche den anellierten Pyrimidinring bzw. 2-Aminopyrimidinring generieren<sup>300</sup>. Problematisch innerhalb dieses Verfahrens sind vielschrittige vorherige Syntheserouten mit z.T. vielen Nebenprodukten und hieraus resultierend schlechte Gesamtausbeute<sup>301</sup>. Ebenfalls dokumentiert sind Syntheseprozesse ausgehend von 5,6,7,8-Tetrahydropyrimido[4,5-*b*]indol. EGER *et al.* stellt entsprechende Oxidationsreaktionen unter Palladium-Kohlenstoff- oder alternativ DDQ-Katalyse dar<sup>302</sup>, welche wie ebenso beschriebene intramolekulare Arylierungsreaktionen<sup>303</sup> selten Anwendung finden. Mögliche Ursache hierfür ist, dass ebenfalls vielschrittige Syntheserouten zur Präformierung der Edukte nötig sind, aber zusätzlich die Literaturdaten erheblich eingeschränkt sind. Die von KUMARESAN *et al.* vor kurzem veröffentlichte Ein-Topf-Synthese unter Katalyse von Heteropoly-11-molybdo-1-vanadophosphorsäure auf Montmorillonit K ist eine weitere Darstellungsmöglichkeit. Vorteile sind gute Ausbeuten, einfache Aufarbeitung und kurze Reaktionszeiten<sup>304</sup>. Da die Veröffentlichung bei Durchführung unserer Synthesearbeiten noch nicht verfügbar war, konnte der Synthesansatz für unsere Zielstrukturen nicht genutzt bzw. geprüft werden. Bei Fortführung weiterer Synthesereihen sollte die Synthese von KUMARESAN zumindest evaluiert werden.





**Abb. 22:** Darstellung verschiedener Literaturmethoden zur Synthese von 9H-Pyrimido[4,5-b]indolen

Die von DOTZAUER *et al.* beschriebene Darstellung von Pyrimido[4,5-*b*]indolen nutzt eine NENITZESCU-Reaktion und ist ebenfalls eine Ein-Schritt-Synthese<sup>305, 306</sup>. Die NENITZESCU-Reaktion setzt primäre Enamine mit 1,4-Benzochinonen zu Indolen um. Durch Verwendung von z.B. Pyrimidin-6-aminen als Enaminkomponente ergeben sich analog Pyrimido[4,5-*b*]indole<sup>305</sup>. Moderate Ausbeuten und eine einfache Reaktionsführung waren grundlegend für die Auswahl des Verfahrens. Die Darstellung erster Zielstrukturen sollte in einem 2-Stufen-Synthesekonzept erfolgen (vgl. Abb. 23 A), wobei zunächst die Formulierung des tricyclischen Grundkörpers aus 2,4-Diamino-6-chloropyrimidin und 1,4-Benzochinonen stattfindet. Anschließend war über nucleophile Substitution ( $S_N$ ) in Position 4 des entstandenen 2-Amino-4-chloro-9H-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-oles die Derivatisierung geplant. Durch Substitution mit funktionalisierten Benzylaminen und Anilinen sollten Derivate für die Evaluierung des Interaktionspotenzials mit der ATP-Bindungstasche generiert werden. Aus Effektivitätsgründen (u.a. Mengenbedarf an Derivatisierungsreagenzien) ist die Abfolge der Reaktionsschritte präferiert. Da die Umsetzung sowohl in verschiedenen Reaktionsmedien als auch unter diversen Reaktionsbedingungen nicht zum gewünschten Zwischenprodukt führte, musste ein alternativer Ansatz erfolgen.

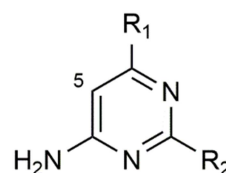


**Abb. 23:** Darstellung ursprüngliche 2-Stufen-Synthesestrategie **A** und alternativer Ansatz **B**

Eine mögliche Erklärung für die ausbleibende Umsetzung bietet die Untersuchung des Reaktionsmechanismus durch DOTZAUER. Darin wird verdeutlicht, dass die Reaktivität des C-5 der 6-Aminopyrimidine als Enaminkomponente der NENITZESCU-Reaktion von zentraler Bedeutung ist<sup>305</sup>. Als Nucleophil für die Formierung eines MICHAEL-Adduktes ist die Elektronendichte am Kohlenstoff von Relevanz. DOTZAUER beschreibt weiter, dass eine Bewertung der Reaktionsfähigkeit des Enamins in der NENITZESCU-Reaktion über <sup>13</sup>C-NMR-Messungen möglich ist. Die chemische Verschiebung  $\delta$  korreliert dabei mit der Elektronendichte am Kohlenstoffatom und damit auch mit der Reaktivität als Nucleophil. In der zugehörigen Veröffentlichung wird ein Grenzwert von  $\delta \leq 77,0$  ppm für eine erfolgreiche Umsetzung formuliert<sup>305</sup>. Da neben der Reaktivität der Enaminkomponente weitere Faktoren wie Reaktionspartner und -bedingungen ebenfalls von Bedeutung sind, ist der Grenzwert nur als Richtwert zu betrachten. Unsere Messungen des ursprünglich geplanten Edukts 6-Chloropyrimidin-2,4-diamin ergaben eine chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  von 92,9 ppm (vgl. Tabelle 4).

**Tabelle 4:** Chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  (<sup>13</sup>C-NMR-Spektrum) zur Charakterisierung der Reaktivität als Enaminkomponente

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	$\delta_{C-5}$ [ppm]
-Cl	-NH <sub>2</sub>	92,9
-NHCH <sub>2</sub> Ph	-NH <sub>2</sub>	73,9
-NHCH <sub>2</sub> (4-OCH <sub>3</sub> Ph)	-NH <sub>2</sub>	73,8
-NHCH <sub>2</sub> (3-OCH <sub>3</sub> Ph)	-NH <sub>2</sub>	73,3
-NHCH <sub>2</sub> (3-ClPh)	-NH <sub>2</sub>	74,6
-NH(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-NHBu	77,4
-NH(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-H	77,1
-NH((4-OCH <sub>2</sub> (3-FPh))Ph)	-H	75,5
-NH(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-SBu	81,4

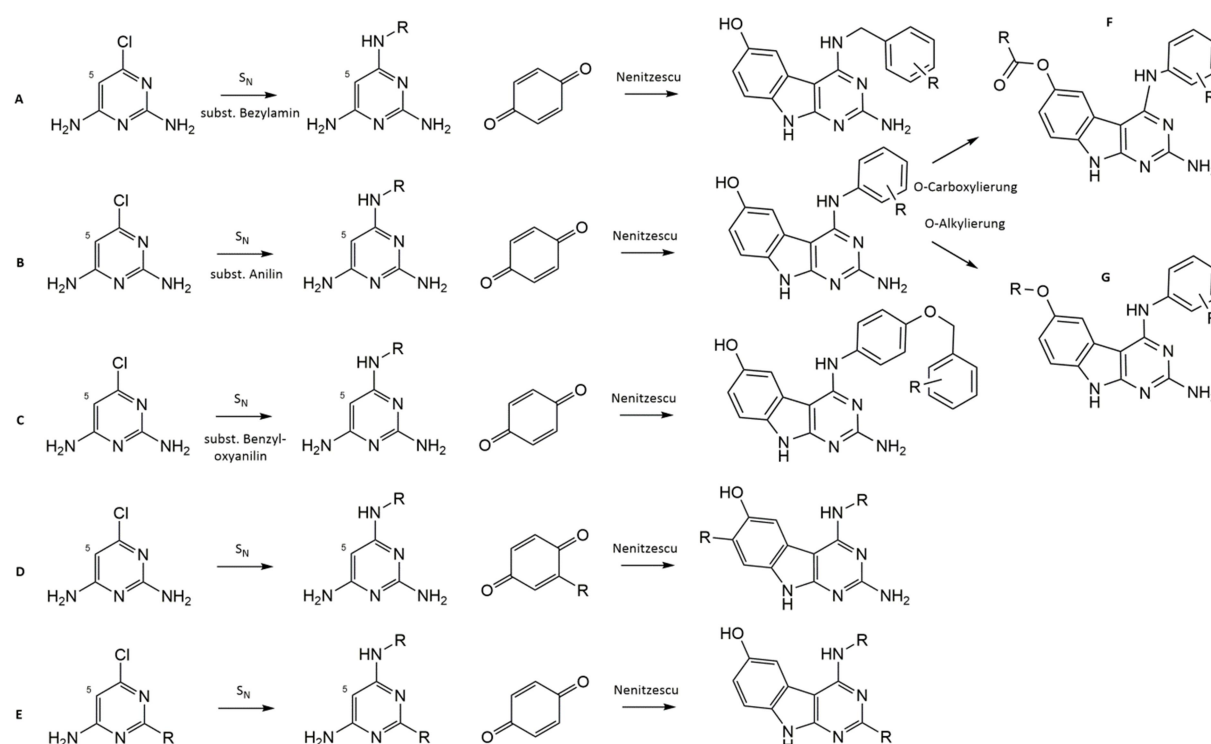


Trotz minimaler Anzeichen einer Umsetzung bestätigten unsere Beobachtungen somit zunächst den prädiktiven Faktor der chemischen Verschiebung  $\delta_{C-5}$ . Da v.a. der Elektronenabzug des Chlorsubstituenten an C-6 negativen Einfluss auf die Elektronendichte von C-5 ausübt, erwies sich eine vorgezogene Substitutionsreaktion an C-6, unter Einbringung elektronisch vorteilhafterer Substituenten, als rationale Maßnahme zur Erhöhung der Reaktivität an C-5 (vgl. Abb. 23 **B**). Nach

Substitution mit derivatisierten Benzylaminen bzw. Anilinen ergaben sich u.a. in Tabelle 4 dargestellte chemische Verschiebungen  $\delta_{C-5}$ , welche nur z.T. über dem beschriebenen Grenzwert liegen. Durch geringere Elektronegativität und positiv mesomere Effekte der genutzten Substituenten wurde die Elektronendichte an C-5 der  $N^4$ -substituierten Pyrimidin-2,4,6-triamine und somit auch deren Reaktivität insgesamt positiv für die NENITZESCU-Reaktion beeinflusst. Durch Umstellung der Reaktionsabfolge konnte das in Abb. 24 gezeigte 2-Stufen-Synthesekonzept als Grundlage für weitere Modifikationen etabliert werden. Beide Syntheseschritte werden in den zugehörigen Abschnitten ausführlich dargestellt. Gleichmaßen konnten für beide Umsetzungen Standardbedingungen festgesetzt werden, welche sowohl Vergleichbarkeit als auch hinreichendes Umsetzungspotenzial bieten.

## 2.2. Zielstellung

Neben der beschriebenen Derivatisierung des  $9H$ -Pyrimido[4,5-*b*]indols mit substituierten Benzylaminen **A** und Anilinen **B** zeigt Abb. 24 auch weitere durchgeführte Modifikationen. So wurde in 4-Position des Grundkörpers mit größeren substituierten Benzylloxyanilinen derivatisiert **C**, der Grundkörper mit alternativ substituierten Benzochinonen cyclisiert **D**, und 2-derivatisierte Pyrimidine als Enaminkomponente der NENITZESCU-Reaktion eingesetzt **E**.



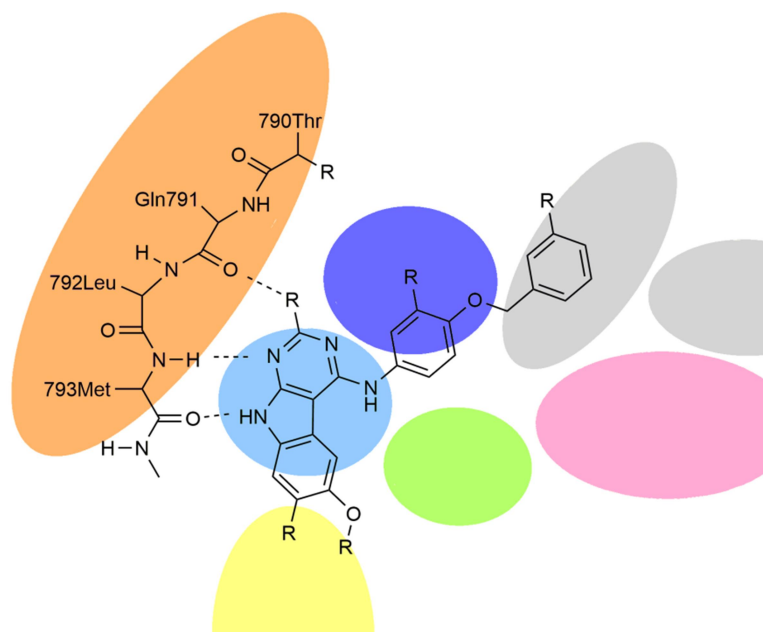
**Abb. 24:** Übersicht des 2-Stufen-Synthesekonzepts mit entsprechend geplanten Derivatisierungsmöglichkeiten: **A** Umsetzung mit subst. Benzylaminen, **B** Umsetzung mit subst. Anilinen, **C** Umsetzung mit subst. Benzylloxyanilinen, **D** Verwendung alternativ substituiertes 1,4-Benzochinone, **E** Verwendung alternativ 2-substituierter Pyrimidinkomponenten, **F** *O*-Carboxylierung der 6-Hydroxygruppe, **G** *O*-Alkylierung der 6-Hydroxygruppe

Im Erstkonzept der Arbeit war die Modifikation der 2-Position der  $9H$ -Pyrimido[4,5-*b*]indole über Diazotierung der 2-Aminogruppe angedacht<sup>307</sup>. Die Diazotierungsreaktion ließ sich nicht auf unsere Versuchssubstanzen anwenden, so dass eine frühzeitige Derivatisierung der 2-Position in das

bestehende Synthesekonzept integriert wurde. TROSCHÜTZ *et al.* beschreibt, dass die Reaktivität von C-5 des Pyrimidins innerhalb der NENITZESCU-Reaktion v.a. durch 4- und 6-Substitution beeinflusst wird<sup>308</sup>. Die entsprechenden Synthesereihen wurden so gewählt, dass sowohl Elektrophile als auch Nucleophile<sup>309</sup> als Substituenten integrierbar sind, welches in den zugehörigen Abschnitten dargelegt ist. Beispielhafte Messungen der chemischen Verschiebungen  $\delta_{C-5}$  mit 2-derivatisierten Pyrimidinen ergaben tlw. deutliche Überschreitungen des anvisierten Grenzwerts von  $\delta \leq 77,0$  ppm. Somit ist der Einfluss des 2-Substituenten deutlich größer als erwartet und führte zur eingeschränkten Umsetzbarkeit der Derivate zu 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indolen. In Abschnitt 3.3 wird eine mögliche Erweiterung, des von DOTZAUER *et. al.* aufgestellten Konzepts, beschrieben.

Durch die Umsetzung mit verschiedenen Chinonkomponenten wird evaluiert, ob darüber eine gezielte Derivatisierung der 7-Position der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole möglich ist, da eine selektive nachträgliche Modifizierung ausgehend vom 4-substituierten 2-Amino-9H-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol komplex erscheint. Neben zusätzlicher Derivatisierungsmöglichkeit sollen die Umsetzungen mit 2-Methyl-, 2-Chlor-, 2-Brom- und 2-Methoxy-*p*-benzochinon Erkenntnisse zum Reaktionsmechanismus und zu sterischen Verhältnissen der NENITZESCU-Reaktion generieren. Bei Umsetzung mit 2-subst. Benzochinonderivaten sind, neben dem gewünschten 7-modifizierten 2-Amino-9H-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen, auch 5- und 8-derivatisierte Varianten denkbar. Sowohl elektronische Einflüsse auf die Chinonkomponente als MICHAEL-Akzeptor als auch sterische Einflüsse legen eine gleichberechtigte Entstehung aller Varianten nicht nahe. Entsprechende Beobachtungen und eine mögliche Interpretation sind in Abschnitt 3.3.1 beschrieben.

Ebenfalls Teil der geplanten Derivatisierungen waren Modifikationen der 6-Position des 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ols (vgl. Abb. 24). Die 6-Hydroxyfunktion bietet u.a. Potenzial für Veretherungs- (G) und Veresterungsreaktionen (F). Da nach Erkenntnissen vorangegangener Arbeiten<sup>297, 298</sup> entsprechende Substituenten wahrscheinlich zur Lösungsmittel-exponierten Region der ATP-Bindungstasche dirigieren, wird mit der Variation v.a. eine Anpassung der ADME-Eigenschaften und Selektivitätsbeeinflussung adressiert. Zusätzlich wurde durch *O*-Carboxylierung mit Zimtsäurederivaten die Integration eines kovalenten Inhibitorkonzepts, wie unter Abschnitt 1.5 beschrieben, geprüft. Im weiteren Kontext dienen Derivatisierungen in Position 4 des 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indols der Adressierung der hydrophoben Region der ATP-Bindungstasche bzw. wird versucht, über die Verwendung der 4-Benzoyloxysubstituenten die allosterische Tasche der inaktiven RTK zu adressieren, um zusätzliche Selektivität zu schaffen. Potenziell dirigieren 7-Substituenten durch Verwendung derivatisierter Benzochinone innerhalb der NENITZESCU-Reaktion ebenfalls in die Lösungsmittel-exponierte Region, wogegen veränderte 2-Substitution der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole vermutlich Einfluss auf die Wechselwirkung mit dem *hinge*-Motiv ausübt (vgl. Abb. 25).



**Abb. 25:** Übertragung der geplanten Derivatisierungen der 9H-Pyrimido[4,5-b]indole auf die schematische Darstellung der ATP-Bindungstasche nach VULPETTI *et al.*<sup>265</sup> (zusätzlich erweitert um allosterische Tasche bei inaktiver RTK)

Zusätzlich wurden in dieser Arbeit alternative Bicyclen erarbeitet bzw. synthetisiert (vgl. 3.5), welche als Analogsubstanzen zur Aufklärung der Wertigkeit des Phenylrings der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole dienen. Weiterhin wird über die Bicyclen die favorisierte Ausrichtung des Pyrrolringstickstoffs und dessen Effekt auf die Inhibitor-Target-Interaktion geprüft.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1. Synthese kommerziell nicht verfügbarer Aniline

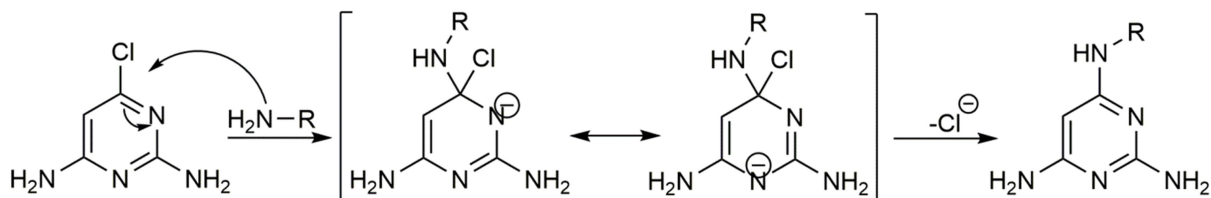
Während der nucleophilen Substitution am 6-Chloropyrimidin-2,4-diamin wurden tlw. derivatisierte Aniline und Benzyloxyaniline aus Eigensynthese verwendet. Weiterhin wurden die lagerungsinstabilen 2-Methoxy- und 2-Bromo-*p*-benzoquinone für eine unmittelbar folgende Verwendung synthetisiert. Die synthetische Darstellung und Strukturabsicherung wird aus Kapazitätsgründen im Anhang M - T dargestellt.

#### 3.2. Synthese substituierter Pyrimidine

##### 3.2.1. Synthese 4-aminosubstituierter Pyrimidin-2,6-triamine

Durch die fehlende Umsetzbarkeit von 4-Chloropyrimidin-2,6-diamin in der NENITZESCU-Reaktion mit Benzoquinon war, wie zuvor beschrieben, eine vorhergehende Modifikation erforderlich. Durch nucleophile Substitution in Position 4 des Pyrimidins konnten vorzeitig die Substituenten eingeführt werden, welche für die Evaluierung der Struktur-Wirkungsbeziehungen in Erwägung gezogen wurden. Im Zuge dessen wurde gleichermaßen die elektronische Struktur des Pyrimidins so verändert, dass die nachfolgende Umsetzung zum 9H-Pyrimido[4,5-b]indol über NENITZESCU-Reaktion möglich wurde. Die Substitutionsreaktion am Pyrimidin wird durch diverse Faktoren beeinflusst (vgl.

Abb. 26). -I und -M-Substituenten setzen die Elektronendichte von aromatischen Systemen herab und begünstigen Angriffe von Nucleophilen. Hingegen haben die 2- und 6-Aminosubstituenten eher negativen Einfluss für die gewünschte Reaktion, sind jedoch aufgrund der nachfolgenden NENITZESCU-Reaktion zur Bildung von 2-Amino-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol notwendig.



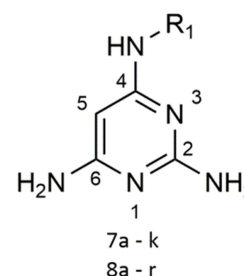
**Abb. 26:** Synthese 4-aminosubstituierter Pyrimidin-2,6-triamine. Reagenzien und Bedingungen: 3,0 - 5,0 eq. subst. Benzylamin bzw. Anilin; (NMP); 135 °C; 3 - 4 h

Die Substitutionsreaktion verläuft als bimolekularer Prozess. Bei Betrachtung des formulierten Zwischenprodukts wird klar, dass eine Delokalisierung des entstehenden Anions sich stabilisierend und damit positiv auf die Reaktion auswirkt. Der stabilisierende Effekt wird v.a. durch die Ringstickstoffe getragen. Der Chlorsubstituent wirkt sich sowohl durch den nucleophilen Angriff erleichternden Elektronenzug als auch durch vorteilhafte Abgangseseigenschaften aus. Es resultierte gute Umsetzbarkeit bei moderaten Reaktionstemperaturen und -zeiten (ca. 135 °C; 3 - 4 h). Als Nucleophile wurden substituierte Benzylamine und Aniline verwendet. Die Nucleophilie der verwendeten Benzylamine war konstanter als die der vergleichbaren eingesetzten Aniline, da durch die Methylengruppe etwaige Substituenteneinflüsse weniger auf die reaktive Gruppe übertragen werden. Bei den Anilinen hingegen wirkten sich Substituenten stark über mesomere und induktive Effekte auf die aromatische Aminfunktion aus, welche ohnehin schwächere Nucleophileigenschaften aufweist. Trotz genannter Einschränkungen ließen sich bei den gewählten Bedingungen alle Reagenzien in ähnlicher Qualität umsetzen. Dieses legt nahe, dass z.T. auch mildere Reaktionsbedingungen möglich wären. Jedoch kann, solange die Stabilität der Edukte dieses gewährleistet, nach den gewählten Standardbedingungen verfahren werden. Da einige der genutzten Aniline und Benzylamine bei Raumtemperatur flüssige Reagenzien sind, können sie, ausreichend hohe Siedepunkte vorausgesetzt, auch gleichermaßen als Reaktionsmedium genutzt werden. Aufgrund dessen wurde üblicherweise ein 3 - 5facher Überschuss verwendet, was sich zusätzlich günstig auf die Umsetzung auswirkt. Bei fehlender Eignung der Edukte als Reaktionsmedium wurde NMP als hochsiedendes Lösungsmittel verwendet. Als polares Lösungsmittel stabilisiert es während der Reaktion auftretende Ionen. In der Regel konnten die Reaktionsprodukte durch Kristallisation aus Methanol-Ether-Mischungen in hohen Ausbeuten erhalten werden. Alternativ wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch aufgereinigt. Wegen vergleichsweise hoher Polarität der 4-aminosubstituierten Pyrimidin-2,4,6-triamine wurden polare Ethylacetat-Methanol-Mischungen als Eluenten bei Normalphasenchromatographie eingesetzt. Es entstanden die in Tabelle 5 dargestellten Verbindungen mit entsprechenden Ausbeuten unter Verwendung der AAV 1.

Tabelle 5: Darstellung der synthetisierten 4-aminosubstituierten Pyrimidin-2,6-triamine (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verbindung	Edukt	R <sub>1</sub>	Ausbeute
7a	*	-CH <sub>2</sub> Ph	72,5 %
7b	*	-CH <sub>2</sub> (4-CH <sub>3</sub> Ph)	80,3 %
7c	*	-CH <sub>2</sub> (4-ClPh)	62,0 %
7d	*	-CH <sub>2</sub> (3-ClPh)	58,0 %
7e	*	-CH <sub>2</sub> (4-OCH <sub>3</sub> Ph)	73,4 %
7f	*	-CH <sub>2</sub> (3-OCH <sub>3</sub> Ph)	77,1 %
7g	*	-CH <sub>2</sub> (2-OCH <sub>3</sub> Ph)	67,7 %
7h	*	-CH <sub>2</sub> (3,4-di-OCH <sub>3</sub> Ph)	73,0 %
7i	*	(S)-CH(CH <sub>3</sub> )Ph	48,4 %
7j	*	(R)-CH(CH <sub>3</sub> )Ph	73,0 %
7k	*	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	79,4 %
<hr/>			
8a	*	-(3-Cl,4-FPh)	43,8 %
8b	*	-(3,5-di-ClPh)	40,4 %
8c	*	-(4-OCH <sub>3</sub> Ph)	64,9 %
8d	*	-(3-OCH <sub>3</sub> Ph)	48,0 %
8e	*	-(3-NO <sub>2</sub> Ph)	52,4 %
8f	*	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	38,6 %
8g	*	-(3-FPh)	56,6 %
8h	*	-(4-ClPh)	60,7 %
8i	*	-(3-ClPh)	53,5 %
8j	*	-(4-BrPh)	80,7 %
8k	*	-(3-BrPh)	66,8 %
8l	1c	-(4-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> Ph)	66,0 %
8m	1a	-(3-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> Ph)	77,1 %
8n	1d	-(4-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ph)	72,5 %
8o	1b	-(3-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ph)	77,5 %
8p	5b	-(4-CH≡CPh)	52,4 %
8q	5a	-(3-CH≡CPh)	55,9 %
8r	*	-(3-SCH <sub>3</sub> Ph)	93,8 %

\*kommerziell erworbene Edukte (siehe Einzelcharakterisierung)



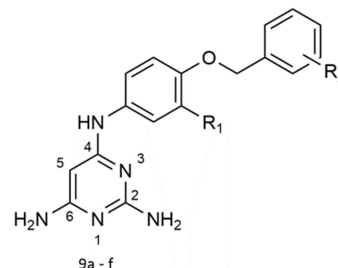
Für die benzylaminsubstituierten Verbindungen **7a - k** ist die Streuung der Ausbeute deutlich geringer als für die anilinsubstituierten Verbindungen **8a - r**. Wie bereits angedeutet, sind Benzylamine in ihrer Reaktivität als *N*-Nucleophile weniger durch individuelle Substitution beeinflusst. Hingegen sind Substituenteneinflüsse auf die Ausbeute der Anilinderivate klar erkennbar. So führen stark negativ induktive oder mesomere Substituenten, wie die Nitro- (**8e**) und die Trifluoromethylgruppe (**8f**), zu schlechterer Reaktivität und verminderten Ausbeuten. Demgegenüber stehen Verbindungen mit positiv mesomeren Effekten und neutralem Elektronenzug (z.B. **8j** und **8r**), welche wiederum in erhöhten Ausbeuten zugänglich waren.

Die Verbindungen **9a - f** wurden durch Substitution mit benzyloxysubstituierten Anilinen erhalten. Die Ausbeute ist konstant hoch im Bereich von 74,2 - 87,8 % und scheint nicht durch die zusätzliche 3'-Chlorderivatisierung (**9d - f**) beeinträchtigt. Der positiv mesomere Effekt der

Benzyloxygruppe bewirkt eine ausreichend gute Reaktivität. Entsprechend den Erwartungen erweist sich das gewählte Substitutionsmuster unter den gewählten Reaktionsbedingungen stabil.

**Tabelle 6:** Darstellung der synthetisierten 4-benzyloxyanilinosubstituierten Pyrimidin-2,6-triamine (inkl. Ausbeuten und Edukten)

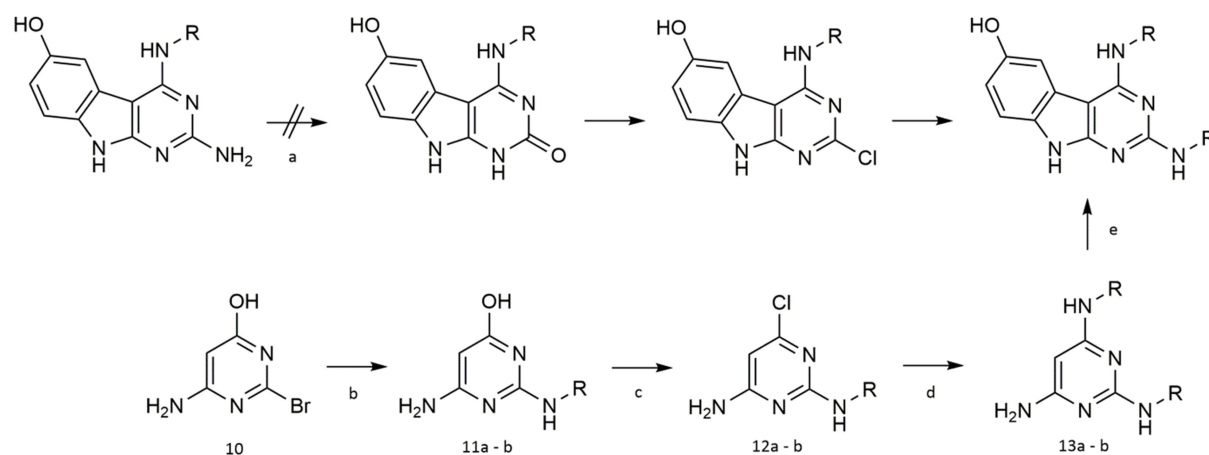
Verb.	Edukt	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Ausbeute
9a	2b	-H	3-F	79,3 %
9b	2a	-H	3-OCH <sub>3</sub>	87,7 %
9c	2f	-H	4-OCH <sub>3</sub>	78,8 %
9d	3b	-Cl	3-Cl	78,7 %
9e	3a	-Cl	3-F	87,8 %
9f	3c	-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	74,2 %



### 3.2.2. Synthese Pyrimidin-4,6-diamine mit alternativer 2-Substitution

#### 3.2.2.1. Synthese 2-alkylaminosubstituierter Pyrimidin-4,6-triamine

Wie bereits in der Darlegung der Synthesestrategie beschrieben, war es erklärtes Ziel, die Derivatisierung der 2-Position der 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indole zu ermöglichen. Die Diazotierung der 2-Aminfunktion von 2-Amino-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol mit nachfolgender Entstehung der 2-oxosubstituierten Verbindung, wie in Vorschriften von BOROVİK *et al.*<sup>307</sup>, ließ sich nicht realisieren. Demnach waren auch fortführende Reaktionsschritte nicht möglich, so dass die vorgezogene 2-Modifikation der Pyrimidinanaloge zu 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin realisiert wurde. Diese wurden nachfolgend ins 2-Stufen-Synthesekonzept überführt (vgl. Abb. 27).

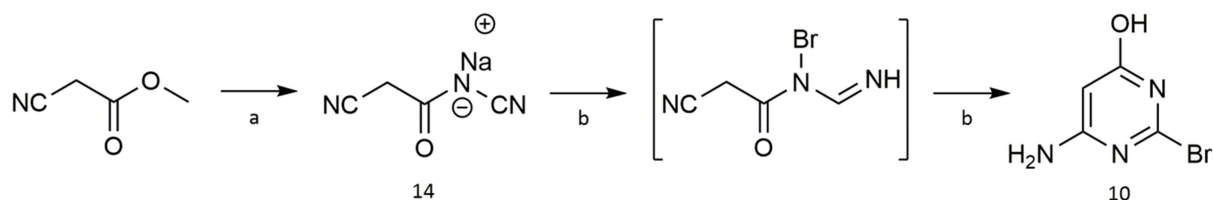


**Abb. 27:** Synthese 2-substituierter 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indole. Reagenzien und Bedingungen: (a) 6,1 eq. NaNO<sub>2</sub>; AcOH; 80 °C; 3 h (b) 3,0 - 5,0 eq. Nucleophil; NMP; 135 °C; 3 - 5 h (c) 3,7 eq. POCl<sub>3</sub>; reflux; 0,5 - 1,0 h (d) 3,0 - 5,0 eq. subst. Anilin/Benzylamin; (NMP); 135 °C; 3 - 5 h (e) 1,2 eq. Benzochinon; AcOH; EtOH; reflux; 3,5 h

Maßgeblich für die Präformierung der 2-substituierten Pyrimidine war, dass einerseits ein breites Spektrum an Modifikationen zugänglich wurde und andererseits, dass die Substituenten während der nachfolgenden Synthesen unverändert blieben. Zusätzlich sollte die Möglichkeit zur Verknüpfung für nucleophile und elektrophile Substituenten geschaffen werden. Aus der Überlegung heraus, dass die nucleophile Substitution in Position 4 des Pyrimidins gute Ausbeuten erzielte, wurde abgeleitet, dass die Substitution eines Halogens in Position 2 ähnlich gut realisierbar wäre. Jedoch



müsste, da der gleiche Reaktionsmechanismus genutzt wird, Position 4 geschützt sein oder dessen Reaktivität erst danach aktiviert werden. Daher wurde 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol (**10**) als Zugangspunkt für Nucleophile in Position 2 gewählt, um dieses, wie in Abb. 27 beschrieben, zum 2-substituierten 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol umzusetzen. **10** wurde nach Vorschriften von HIRAYAMA *et al.*<sup>309</sup> in sehr guten Ausbeuten dargestellt, welche zusätzlich durch einfache Reaktionsführung geeignet für den relativ hohen Produktbedarf waren (vgl. Abb. 28).



**Abb. 28:** Synthese von 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol. Reagenzien und Bedingungen: (a) 1,0 eq.  $\text{NH}_2\text{-CN}$ ; 1 M  $\text{NaOCH}_3$ ; MeOH; r.t.; 5 h (b) 5,0 eq. HBr (33 % (m/m) in AcOH); AcOH; r.t.; 6 h

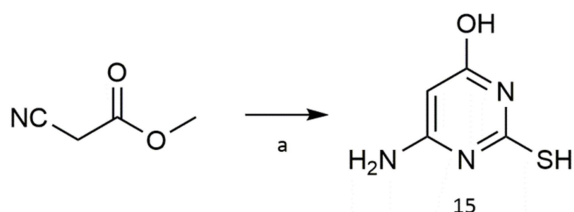
Durch Aminolyse nach der Methode von DEWAR *et al.* wurde unter basisch wasserfreien Bedingungen Cyanessigsäuremethylester mit Cyanamid zu Cyanoacetylcyanamid bzw. dessen Natriumsalz (**14**) umgesetzt<sup>310</sup>. Das Produkt wurde als weicher weißer Feststoff mit einer Ausbeute von 93 % gewonnen. Unter Verwendung eines deutlichen Überschusses an Bromwasserstoff (4,0 - 6,0 eq.), entsprechend langer Reaktionszeit von 6 h und Eisessig als Reaktionsmedium kam es über Bildung eines Imidylbromids als Zwischenstufe zur Cyclisierung zum 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol **10**. Sowohl die Verwendung von weniger Bromwasserstoff als auch kürzere Reaktionszeiten führten zu vermehrter Bildung des Imidylbromids. 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol konnte als weißer Feststoff mit 84 % Ausbeute gewonnen werden.

Wie in Abb. 27 ersichtlich, folgt der Synthese von 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol die nucleophile Substitution in Position 2, welche ebenfalls nach AAV 1 durchgeführt wurde. Die Reaktion wurde sowohl mit *n*-Propyl- als auch *n*-Butylamin als Nucleophil getestet. Beide wurden in 3,0 - 5,0fachem Überschuss verwendet. Aufgrund der niedrigen Siedetemperaturen der kurzkettigen aliphatischen Amine wurde den Reaktionsansätzen NMP als hochsiedendes Lösungsmittel zugesetzt, um höhere Refluxtemperaturen zu ermöglichen. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach chromatographischer Aufreinigung wurden die Verbindungen **11a - b** in guter bis sehr guter Ausbeute als helle Öle gewonnen. Die nachfolgende Chlorierung in Position 4 der 2-alkylaminosubstituierten Pyrimidine hingegen zeigte nur moderate Ausbeuten. Durch diverse Versuche einer alternativen Reaktionsführung konnte dieses nur unwesentlich beeinflusst werden. So führte der Einsatz von Chlorsulfonsäure als katalysierendes Agens neben Phosphoroxchlorid, wie z.B. in Vorschriften von PAN *et al.*<sup>311</sup>, zu zusätzlicher 5-Chlorierung des Pyrimidins. Der katalytische Einsatz von DMF, wie durch BARLAAM *et al.* beschrieben<sup>312</sup>, führte ebenfalls zu verstärkten Nebenreaktionen unter nucleophiler Beteiligung der 5-Position des Pyrimidins. Auch der Einsatz von *N,N*-Dimethylanilin<sup>313</sup> beeinflusste den Reaktionsverlauf eher negativ. Bei den angesprochenen Varianten entstanden schlecht zu reinigende Mischprodukte, welche die Ausbeute negativ beeinflussten. Deshalb entschieden wir uns, die moderate Ausbeute für die Verbindungen **12a - b** zu akzeptieren. Nachfolgende Substitution des 4-Chlorsubstituenten durch diverse Aniline erfolgte dann unproblematisch in hohen Ausbeuten nach

AAV 1. Die so gewonnenen Zwischenprodukte **13a - b** konnten der abschließenden NENITZESCU-Reaktion zugeführt werden, welche im Abschnitt 3.3 betrachtet wird.

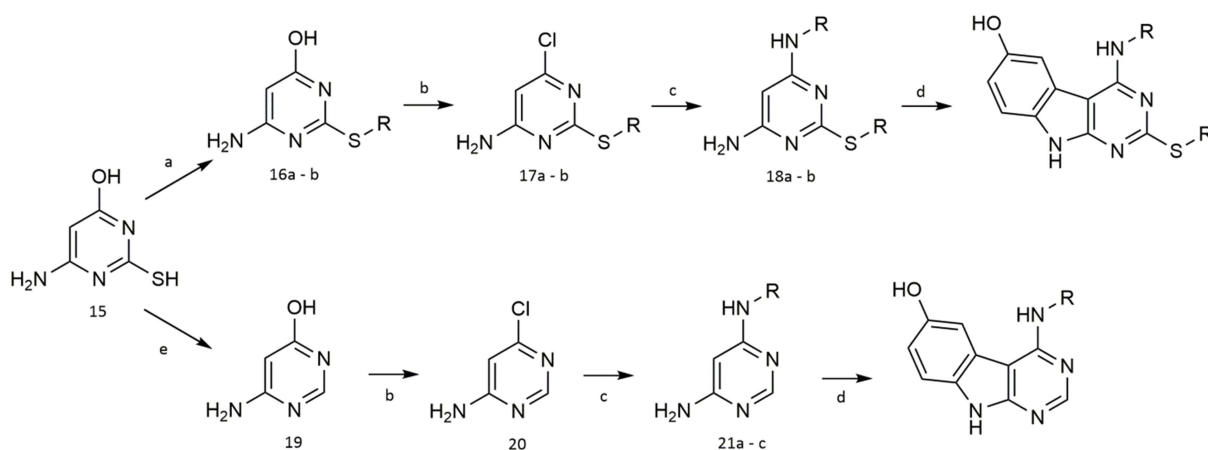
### 3.2.2.2. Synthese 2-thioether-/2-unsubstituierter Pyrimidin-4,6-diamine

Als Verknüpfungspunkt für Elektrophile zur 2-Position der 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indole wurde eine Thiofunktion gewählt, da diese relativ einfach über modifizierte Pyrimidinsynthese unter Verwendung von Thioharnstoff realisierbar war<sup>314</sup>. Es entstand 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol (**15**) als primärer Zugangspunkt (vgl. Abb. 29).



**Abb. 29:** Synthese von 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol. Reagenzien und Bedingungen: 1,2 eq. Thioharnstoff; 2,2 M NaOCH<sub>3</sub>; MeOH; reflux; 2 h

Die wasserfreie basenkatalysierte Kondensationsreaktion lieferte das gewünschte Zwischenprodukt als weißen Feststoff in hoher Ausbeute von über 70 %. Folgend konnte die freie Thiolgruppe, aufgrund relativ hoher Acidität, durch wässrige Natronlauge deprotoniert werden. Es resultiert eine Reaktivitätssteigerung gegenüber Elektrophilen. Anschließend wurde das Thiolat mit Dimethylsulfat bzw. Brombutan umgesetzt (vgl. Abb. 30).



**Abb. 30:** Synthese von 2-thioethersubstituierten bzw. 2-unsubstituierten 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indolen. Reagenzien und Bedingungen: (a) 1,0 eq. Elektrophil; 1 M NaOH; H<sub>2</sub>O; 6 h (b) 3,7 - 7,1 eq. POCl<sub>3</sub>; kat. DMF; reflux; 0,5 - 1,0 h (c) 3,0 - 5,0 eq. Anilin; NMP; 135 °C; 3,5 h (d) 1,2 eq. Benzochinon; AcOH; EtOH; reflux; 3,5 h (e) Raney-Nickel; 5%ige wässrige NH<sub>3</sub>-Lösung; reflux; 1,5 h

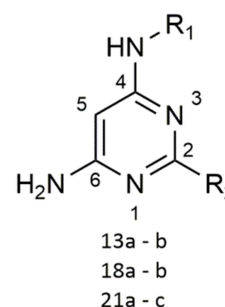
Bei Verwendung von äquivalenten Mengen an Reaktanden reagierte die Thiofunktion nahezu selektiv in guten bis sehr guten Ausbeuten (76 - 97 %) zu den Verbindungen **16a - b**. Einschränkungen ergaben sich zunächst durch die schlechte Löslichkeit der zugegebenen Elektrophile in wässriger Natronlauge (v.a. Brombutan). Das konnte jedoch durch erhöhte Temperaturen, den Einsatz von grenzflächenaktiven Substanzen oder alternative Lösungsmittel (z.B. Methanol, Ethanol) optimiert werden<sup>315, 316</sup>. Die nachfolgende Chlorierung der 4-Hydroxyfunktion durch

Phosphoroxchlorid erbrachte auch bei dieser Substanzklasse nur moderate Ausbeuten. Zwar schien der Einsatz von katalytischen Mengen DMF aktivierend für die Reaktion<sup>312</sup>, jedoch kam es auch hier zu zusätzlichen Formylierungsreaktionen in Position 5 des Pyrimidins. In Konsequenz wurden die Ausbeuten von 27 - 31 % für die Verbindungen **17a - b** akzeptiert. Die anschließende nucleophile Substitutionsreaktion wurde unter gewählten Standardbedingungen von AAV 1 durchgeführt und erzielte nahezu quantitative Ausbeuten. Auffällig war, dass die 2-thioethersubstituierten Pyrimidinvorstufen, im Vergleich zu 2-amino- bzw. 2-alkylaminosubstituierten Verbindungen, wesentlich unpolarer waren, welches wohl auf Verlust der guanidinogenen Teilstruktur zurückzuführen ist. Beide Zwischenprodukte **18a - b** wurden der nachfolgenden NENITZESCU-Reaktion zugeführt. Es wurde mit 2 Derivaten belegt, dass die Einbindung von Elektrophilen in Position 2 des 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indols über Thioether realisierbar ist.

Zusätzlich zur Umsetzung mit Elektrophilen bietet die Thiofunktion die Möglichkeit zur Darstellung 2-unsubstituierter Pyrimidine. Dazu wurde 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol (**15**) in wässriger ammoniakalischer Lösung mit Raney-Nickel versetzt. Der Entschwefelungsprozess läuft als Hydrierungsreaktion katalysiert durch Raney-Nickel. Das Produkt **19** wurde als weißer Feststoff in einer Ausbeute von 86 % gewonnen und nachfolgend den gleichen Reaktionen bis zum 2-unsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol unterworfen. Die Chlorierung in 4-Position mit POCl<sub>3</sub> zu Verbindung **20** unter Katalyse von DMF verlief mit moderaten Ausbeuten, verglichen mit äquivalenten Reaktionen 2-substituierter Derivate. Die folgende Substitutionsreaktion in Position 4 konnte problemlos nach AAV 1 mit Ausbeuten von 86 - 98 % durchgeführt werden. Es wurden die Produkte **21a - c** erhalten. Das Verhalten in der abschließenden NENITZESCU-Reaktion wird in entsprechendem Abschnitt 3.3 beleuchtet. Es entstanden die in Tabelle 7 dargestellten Pyrimidinzwischenstufen mit veränderter 2-Substitution.

**Tabelle 7:** Darstellung der alternativ 2-substituierten Pyrimidin-4,6-di- bzw. -triamine (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Ausbeute
<b>13a</b>	<b>12a</b>	-(3-BrPh)	-NH( <i>n</i> -Pro)	95,2 %
<b>13b</b>	<b>12b</b>	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-NH( <i>n</i> -Bu)	99,2 %
<b>18a</b>	<b>17a</b>	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-SCH <sub>3</sub>	98,3 %
<b>18b</b>	<b>17b</b>	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-S( <i>n</i> -Bu)	99,0 %
<b>21a</b>	<b>20</b>	-CH <sub>2</sub> Ph	-H	98,2 %
<b>21b</b>	<b>20</b>	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-H	87,8 %
<b>21c</b>	<b>20</b>	-((4-OCH <sub>2</sub> (3-FPh))Ph)	-H	97,5 %



Da trotz diverser Substituenten in 2-Position die nucleophile Substitution an 4-Position der Pyrimidine durchgehend unter Standardbedingungen in guten bis sehr guten Ausbeuten verlief, ist der Einfluss der 2-Position gegenüber der Substitutionsreaktion als gering einzustufen. Der Einfluss der verwendeten 2-Substituenten auf die Elektronendichte an C-5 bzw. auf die NENITZESCU-Reaktion wird in nachfolgenden Abschnitten beschrieben. Die Präformierung der 2-Position eröffnet ein weites Feld an 2-Substituenten für den 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indolgrundkörper, welches mit weiteren Derivaten evaluiert werden sollte.

### 3.2.3. Strukturbeleg substituierter Pyrimidine

#### 3.2.3.1. $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchungen substituierter Pyrimidine

Die nachfolgende Darstellung der  $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopischen Daten beleuchtet ausschließlich die Signalstrukturen des substituierten Pyrimidins, jedoch nicht die Resonanzsignale der Benzylamine, Aniline und Benzyloxyaniline in 4-Position. Für Tabelle 8 wurde nur eine Auswahl der synthetisierten Verbindungen verwendet. Da es sich bei Resonanzsignalen der Positionen 2, 4 und 6 i.d.R. um Aminstrukturen handelt, welche in Messbarkeit bzw. Beobachtung stark vom genutzten deuterierten Lösungsmittel abhängig sind, ist die Auswahl dessen von Relevanz. Sowohl DMSO- $d_6$  als auch  $\text{CD}_3\text{OD}$  besitzen gute Lösungseigenschaften für die polaren substituierten Pyrimidinverbindungen. Der Einsatz von  $\text{CD}_3\text{OD}$  jedoch führt zum kompletten Verlust der Aminsignale durch Proton-Deuteron-Austausch. Der Austausch wird sowohl durch Eigenschaften der Aminprotonen als auch durch Donoreigenschaften von  $\text{CD}_3\text{OD}$  ermöglicht. Für die Verbindungen **7b**, **7e**, **8c**, **8d** und **8e** ist ersichtlich, dass keine Resonanzsignale für die Aminogruppen beobachtbar sind. Neben Lage und Aussehen gibt dieses zusätzliche Informationen zur Identifizierung der Signale bzw. im Umkehrschluss zur Identifizierung der kohlenstoffgebundenen Protonen. Alle verbleibenden Spektren wurden in DMSO- $d_6$  aufgenommen. Die Verbindungen **7b** - **k** stehen exemplarisch für benzylaminosubstituierte Pyrimidine und Abb. 31 zeigt beispielhaft den relevanten Spektrenbereich der Verbindungen **7d** und **7k**.

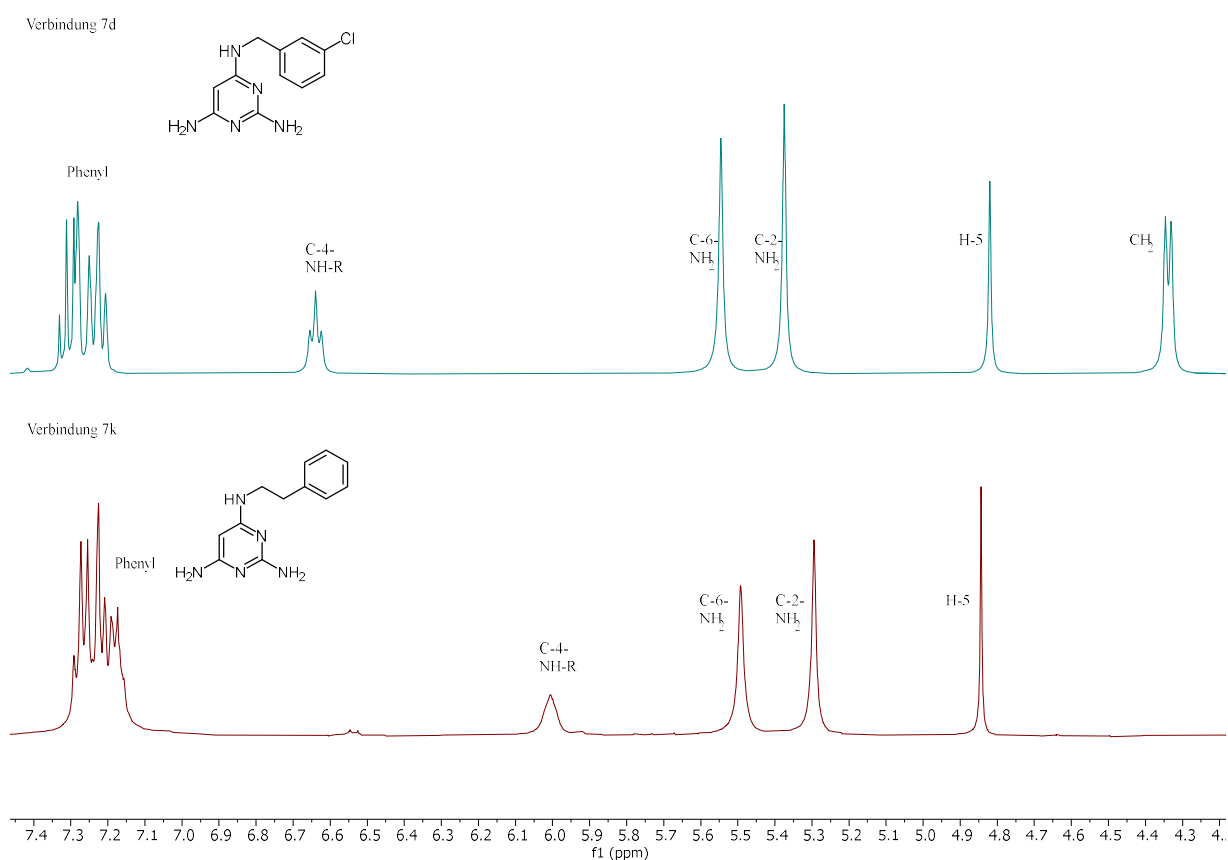


Abb. 31: Auszüge  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (stacked) Verbindungen **7d** und **7k** in DMSO- $d_6$  (500 MHz)

Tabelle 8: Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 4-aminosubstituierter Pyrimidinzwischenprodukte

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm				
	Pos. 2	Pos. 4	Pos. 5	Pos. 6	-CH(R)Ph
<b>7b</b> <sup>*</sup>	-	-	4,83 (s)	-	4,31 (s)
<b>7d</b> <sup>#</sup>	5,37 (br)	6,64 (t br) <sup>3</sup> J <sub>NH/CH2</sub> = 6,5 Hz	4,82 (s)	5,55 (br)	4,34 (d) <sup>3</sup> J <sub>CH2/NH</sub> = 6,5 Hz
<b>7e</b> <sup>*</sup>	-	-	4,83 (s)	-	4,29 (s)
<b>7i</b> <sup>#</sup>	5,24 (br)	6,42 (d br) <sup>3</sup> J <sub>NH/CH</sub> = 5,6 Hz	4,76 (s)	5,47 (br)	3,95 (qua) <sup>3</sup> J <sub>CH/CH3</sub> = 6,8 Hz
<b>7j</b> <sup>#</sup>	5,24 (br)	6,43 (d br) <sup>3</sup> J <sub>NH/CH</sub> = 5,6 Hz	4,76 (s)	5,47 (br)	3,95 (qua) <sup>3</sup> J <sub>CH/CH3</sub> = 6,7 Hz
<b>7k</b> <sup>#</sup>	5,29 (br)	6,01 (br)	4,84 (s)	5,49 (br)	3,27 (t) <sup>3</sup> J <sub>CH2/CH2</sub> = 7,6 Hz
<b>8a</b> <sup>#</sup>	5,67 (br)	8,65 (br)	5,12 (s)	5,83 (br)	/
<b>8c</b> <sup>*</sup>	-	-	5,22 (s)	-	/
<b>8d</b> <sup>*</sup>	-	-	5,41 (s)	-	/
<b>8e</b> <sup>*</sup>	-	-	5,47 (s)	-	/
<b>8f</b> <sup>#</sup>	5,70 (br)	8,72 (br)	5,22 (s)	5,85 (br)	/
<b>8g</b> <sup>#</sup>	5,69 (br)	8,71 (br)	5,18 (s)	5,84 (br)	/
<b>8j</b> <sup>#</sup>	5,95 (br)	8,82 (br)	5,20 (s)	6,07 (br)	/
<b>8k</b> <sup>#</sup>	5,65 (br)	8,64 (br)	5,17 (s)	5,84 (br)	/
<b>8p</b> <sup>#</sup>	5,74 (br)	9,00 (br)	5,27 (s)	5,92 (br)	/
<b>8q</b> <sup>#</sup>	5,88 (br)	8,72 (br)	5,21 (s)	6,03 (br)	/
<b>9c</b> <sup>#</sup>	5,88 (br)	8,43 (br)	5,10 (s)	6,01 (br)	/
<b>9f</b> <sup>#</sup>	6,66 (br)	9,09 (br)	5,19 (s)	6,66 (br)	/
<b>13a</b> <sup>#</sup>	6,17 (t br) <sup>3</sup> J <sub>NH/CH2</sub> = 5,8 Hz	8,72 (br)	5,13 (s)	5,82 (br)	/
<b>13b</b> <sup>#</sup>	6,16 (t br) <sup>3</sup> J <sub>NH/CH2</sub> = 5,8 Hz	8,93 (br)	5,16 (s)	5,87 (br)	/
<b>18a</b> <sup>#</sup>	/	10,10 (br)	5,71 (s)	6,70 (br)	/
<b>18b</b> <sup>#</sup>	/	9,27 (br)	5,51 (s)	6,46 (br)	/
<b>21a</b> <sup>#</sup>	7,85 (s)	7,08 (t br) <sup>3</sup> J <sub>NH/CH2</sub> = 6,2 Hz	5,37 (s)	6,02 (br)	4,37 (d) <sup>3</sup> J <sub>CH2/NH</sub> = 5,8 Hz
<b>21b</b> <sup>#</sup>	8,10 (s)	9,24 (br)	5,79 (s)	6,44 (br)	/
<b>21c</b> <sup>#</sup>	7,96 (s)	8,61 (br)	5,65 (s)	6,21 (br)	/

<sup>#</sup> aufgenommen in DMSO-d<sub>6</sub>; <sup>\*</sup> aufgenommen in CD<sub>3</sub>OD; - kein Signal im Spektrum; / betrachtete Struktur nicht vorhanden; Atomnummerierung entsprechend Tabellen 5-7

Für die primären 2-Aminfunktionen resultieren konstant breite Signale zwischen 5,24 - 5,37 ppm, sowie für die 6-Aminogruppe Signale zwischen 5,47 - 5,55 ppm. Die geringfügig stärkere Schirmung der 2-Aminfunktion gegenüber der 6-Aminogruppe resultiert aus den zwei benachbarten Stickstoffatomen, welche eine zusätzliche Elektronendichte bewirken, verglichen zum einzelnen benachbarten Stickstoffatom der 6-Aminofunktion. Die 4-Amingruppe liefert breite Signale zwischen 6,01 - 6,64 ppm. Aufgrund größerer Nähe zu den diversen Substituenten der beobachteten

Verbindungen streuen die Resonanzsignale weiter. Zusätzlich scheint die 4-Aminofunktion zu Kopplungen mit benachbarter Methylengruppe (gilt nur für benzylaminsubstituierte Verbindungen) befähigt, so dass Substanz **7d** ein breites Triplett bei 6,64 ppm ( $^3J_{\text{NH/CH}_2} = 6,5 \text{ Hz}$ ) zeigt. Für die Verbindungen **7i** und **7j** resultieren analog breite Dubletts ( $^3J_{\text{NH/CH}} = 5,6 \text{ Hz}$ ) durch Kopplung mit dem benachbarten Methinproton. Die genannten Kopplungswechselwirkungen der Aminprotonen sind Einzelscheinungen und nur tlw. für die benzylsubstituierten Pyrimidine zu beobachten. Aus diesem Grund sind für die Resonanzsignale der Methylen- bzw. Methinfunktionen in Nachbarschaft zur 4-Aminogruppe auch verschiedene Beobachtungen möglich. So führt  $\text{CD}_3\text{OD}$  als Lösungsmittel dazu, dass die 4-Aminofunktion vom Proton-Deuteron-Austausch betroffen ist und somit die C-H-Resonanzsignale keine Möglichkeit zur Kopplung haben. Daraus resultierende Singulettensignale sind z.B. in Verbindung **7b** und **7e** zu beobachten. Substanz **7d** zeigt durch Kopplung mit der sekundären 4-Aminofunktion ein Dublett für die Methylenbrücke bei 4,34 ppm. Das Methinsignal der Verbindungen **7i** und **7j** wird durch die benachbarte Methylgruppe als Quartettresonanzsignal bei 3,95 ppm beobachtbar und ist trotz Kopplung zur benachbarten sekundären Aminogruppe nicht als Signal höherer Ordnung sichtbar. Weiterhin erscheinen die einfachen Methylenbrückensignale bei rund 4,3 ppm, wogegen verzweigt-kettige Verbindungen (**7i** und **7j**) und Kettenverlängerungen (**7k**) Hochfeldverschiebungen für entsprechende Signale bewirken. Das aromatische Proton H-5 ohne benachbarte Kopplungsmöglichkeit zeigt sich konstant als Singulett bei 4,76 - 4,84 ppm.

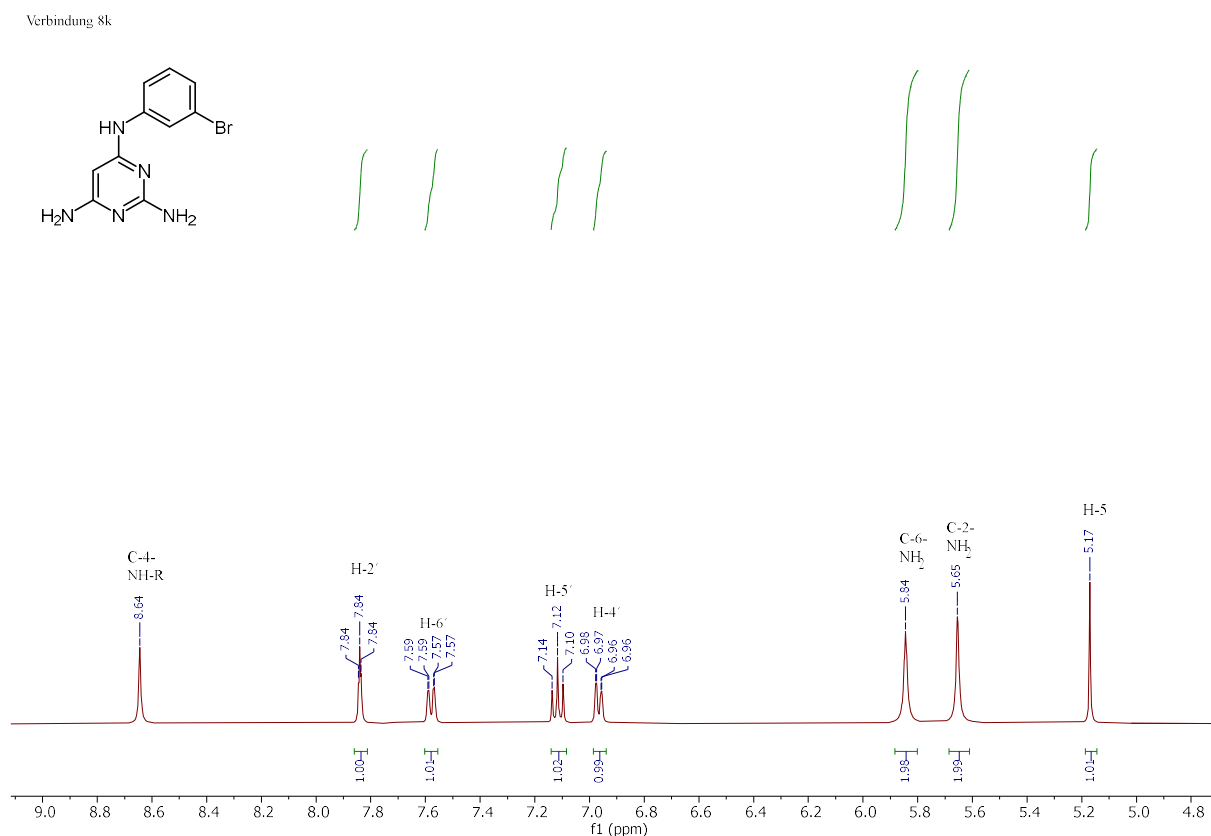


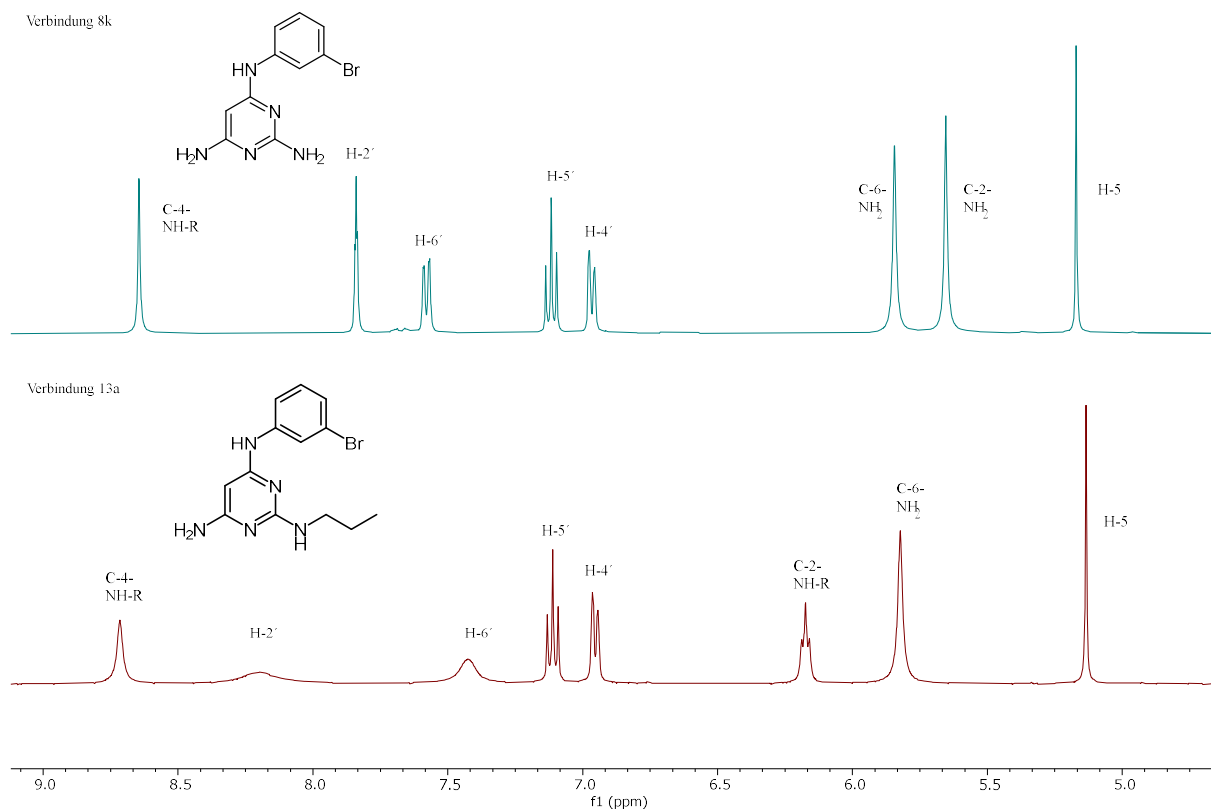
Abb. 32: Auszug  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum Verbindung **8k** in  $\text{DMSO-d}_6$  (500 MHz)

Die Verbindungen **8c** - **8k** stehen exemplarisch für 4-anilinsubstituierte Pyrimidinzwischenprodukte. Analog den vorher beschriebenen Verbindungen wurden die Substanzen **8c**, **8d** und **8e** in

CD<sub>3</sub>OD vermessen. Auch hier resultierte aus schnellem Proton-Deuteron-Austausch der Verlust der Resonanzsignale aller Aminofunktionen. Allgemein scheint die direktere Verbindung von Anilin zu Pyrimidin dafür zu sorgen, dass alle Resonanzsignale des Pyrimidinrings aufgrund des negativ induktiven Effekts der Aniline ins Tieffeld verschoben werden. Durch zusätzlich stark elektronenziehende Anilinsubstituenten verstärkt sich der Entschirmungseffekt weiter. So sind die Resonanzsignale von H-5 der Verbindungen **8d**, **8e**, und **8f** durch Elektronenzug der 3-Nitro-, 3-Methoxy- bzw. 3-Trifluoromethylgruppe tieffeldverschoben bei 5,41 - 5,47 ppm. Befindet sich der Methoxysubstituent in *para*-Stellung des substituierten Anilins (**8c**) oder ist mit elektronisch neutraleren Substituenten wie Brom derivatisiert (**8j** und **8k**), kommt es nicht zur zusätzlichen Tieffeldverschiebung. Die H-5-Resonanzsignale befinden sich dann bei 5,12 - 5,27 ppm (vgl. Abb. 32). In Konsequenz bedeutet dieses, dass elektronische Besonderheiten des substituierten Anilins sich auf das Verhalten des Pyrimidinrings auswirken. Der Einfluss jedoch ist begrenzt durch die Distanz. Zusätzlich scheinen sich induktive Effekte eher auszuwirken als mesomere. Die Protonenresonanzsignale der 6-Aminofunktion der anilinosubstituierten Pyrimidine sind konstant zwischen 5,84 - 6,07 ppm, als breite Signale mit einem Integral von 2 zu beobachten. Die breiten Resonanzsignale der 2-Aminogruppe, mit Integral von 2, sind ebenfalls recht konstant und liegen zwischen 5,65 - 5,88 ppm. Analog zu den benzylaminosubstituierten Verbindungen ist die guanidino-gene 2-Aminogruppe stärker geschirmt als die amidino-gene 6-Aminofunktion. Das breite Resonanzsignal der sekundären 4-Aminofunktion des Pyrimidins liegt zwischen 8,65 - 9,00 ppm und lässt sich, durch den Integral von 1 und stärkere Tieffeldverschiebung, eindeutig zuordnen. Die Resonanzsignale der Verbindung **9c**, welche zu den benzyloxylanilinosubstituierten Pyrimidinen zählt, verhalten sich im Wesentlichen ähnlich den anilinosubstituierten Verbindungen. Sowohl die Signale der 2- und 6-Aminogruppen als auch die Resonanz für H-5 befinden sich bei ähnlicher chemischer Verschiebung. Lediglich das Resonanzsignal der sekundären 4-Aminofunktion wird leicht hochfeldverschoben zu 8,43 ppm, welches sich vermutlich auf den positiv mesomeren Effekt der Benzyloxygruppierung zurückführen lässt. Die zusätzlich chlorierte Analogsubstanz **9f** zeigt für alle betrachteten Resonanzsignale eine Entschirmung bzw. Tieffeldverschiebung. Dabei überlagert der negativ induktive Effekt des Chlorsubstituenten den positiv mesomeren Effekt der Benzyloxygruppierung.

Die Verbindungen **13a** bzw. **b** besitzen hohe Ähnlichkeit zu den Verbindungen **8f** bzw. **k**, daher verhalten sich die Resonanzsignale nahezu identisch (vgl. Abb. 33). Die Signale der 2-Aminofunktion befinden sich im Bereich 6,16 - 6,17 ppm und sind damit, durch die zusätzliche Alkylierung, gegenüber der primären 2-Aminogruppe leicht tieffeldverschoben. Ähnlich wie für die sekundäre 4-Aminofunktion der benzylaminosubstituierten Pyrimidine beschrieben, kommt es auch in Verbindung **13a** bzw. **b** zur Kopplung des stickstoffgebundenen Protons mit der benachbarten Methylengruppe. Es resultieren breite Triplets ( $^3J_{\text{NH/CH}_2} = 5,8 \text{ Hz}$ ). Die Singulettensignale für H-5 der Verbindungen **13a** bzw. **b** liegen mit 5,13 bzw. 5,16 ppm kaum verändert im gleichen Bereich, wie bei den primär 2-aminosubstituierten Analogsubstanzen **8f** bzw. **k**. Die breiten Signale der 6-Aminofunktion sind ebenfalls kaum verändert. Die Resonanzen der 4-Aminofunktion erscheinen bei 8,72 bzw. 8,93 ppm. Wie in Abb. 33 ersichtlich, erfahren die Protonensignale H-2' und H-6' des Anilinsubstituenten (**13a**) eine deutliche Verbreiterung. Eine stärkere Einbindung in mesomere Strukturen und damit die Beteiligung am Proton-Deuteron-Austausch erklären den Sachverhalt,

obwohl es sich um kohlenstoffgebundene Protonen handelt. Da das Phänomen sowohl für Substanz **13a** als auch **13b** beobachtbar ist, scheint die zusätzliche 2-Aminoalkylierung ursächlich.



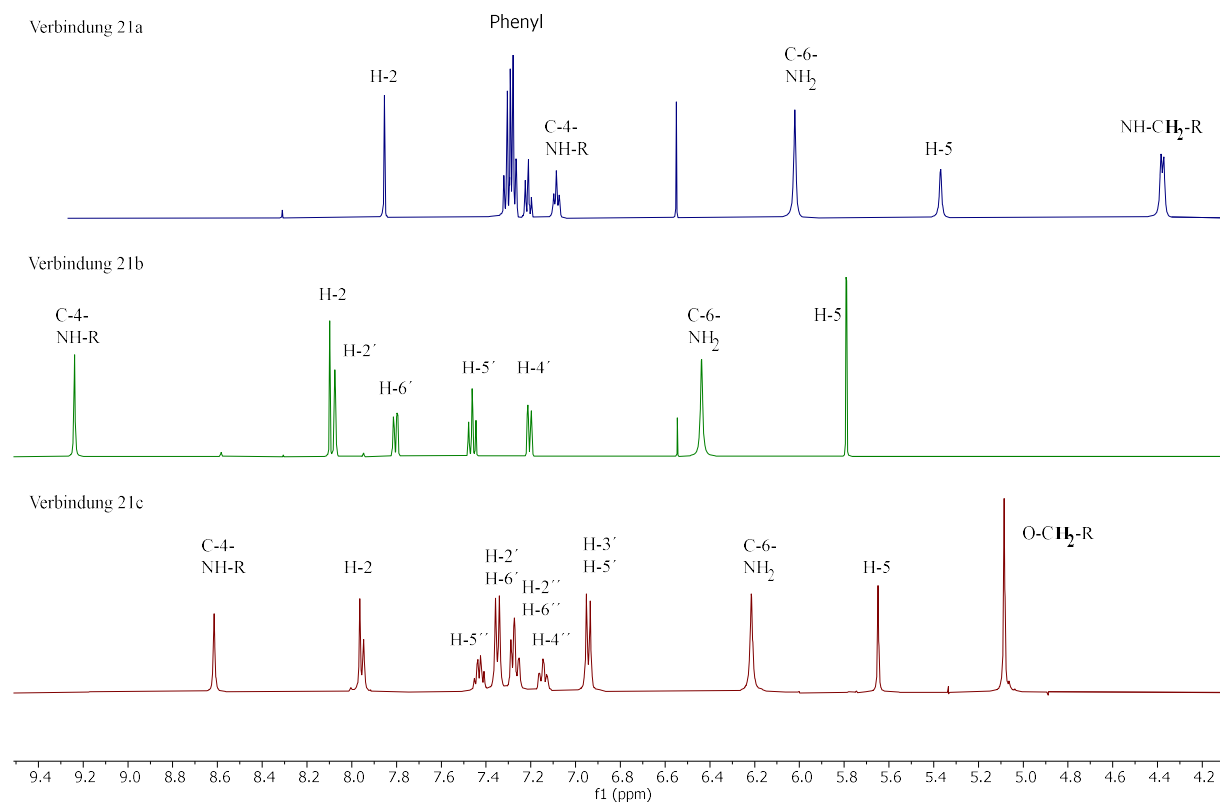
**Abb. 33:** Auszüge  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (stacked) Verbindung **8k** und **13a** in  $\text{DMSO-d}_6$  (500 MHz)

Die thioethersubstituierten Verbindungen **18a** bzw. **b** zeigen im Vergleich zur Analogsubstanz **8f** eine Tieffeldverschiebung für alle betrachteten Signale. Diese fällt für den 2-Methylthioether deutlich stärker aus als für den 2-Butylthioether. Der Thioethersubstituent setzt die Elektronendichte im Pyrimidinring herab und sorgt für stärkere Entschirmung. Der Effekt wird durch den längeren Alkylsubstituenten in Verbindung **18b** tlw. kompensiert. In der Konsequenz sind die H-5-Resonanzsignale der Substanzen **18a** bzw. **b** zu 5,71 bzw. 5,51 ppm tieffeldverschoben, verglichen mit der Analogsubstanz **8f**. Vergleichbare Entschirmungen lassen sich für die 4- und 6-Aminosubstituenten feststellen. Da die Thioethergruppen keine vergleichbaren Signale zur 2-Aminogruppe zeigen können, sind diese in Tabelle 8 durch einen Schrägstrich gekennzeichnet.

Die Verbindungen **21a - c** zeigen eine auffällig weite Verteilung der Resonanzsignale, welches u.a. in der größten Substituentendiversität in 4-Position begründet liegt (vgl. Abb. 34). Je stärker der Elektronenabzug des 4-Substituenten ist, desto stärker verschieben sich alle Pyrimidinsignale ins Tieffeld. Beispielfhaft sei an dieser Stelle das H-2-Signal genannt, welches beim benzylsubstituierten **21a** bei 6,55 ppm liegt, in Verbindung **21c** bei 7,96 ppm und beim trifluoromethylanilinsubstituierten **21b**, was den größten Elektronenabzug darstellt, bei 8,10 ppm. Es sei erwähnt, dass das H-2-Signal als Resonanzsignal eines kohlenstoffgebundenen Protons nicht mit den 2-Aminosignalen vorheriger Verbindungen zu vergleichen ist. Der Effekt des Elektronenabzugs lässt sich gleichwohl auf H-5-



4-Amino- und 6-Aminoresonanzsignale übertragen. Vergleicht man wiederum die Derivate **21a** - **c** anhand ihrer 4-Substitution mit zugehörigen 2-aminosubstituierten Verbindungen, z.B. **21b** mit Verbindung **8f**, so führt fehlende 2-Substitution mit Amino- oder Alkylaminogruppen zur Entschirmung der Protonensignale, was wohl auf fehlenden positiv mesomeren Effekt zurückzuführen ist.



**Abb. 34:** Auszüge  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren (stacked) Verbindungen **21a** - **c** in  $\text{DMSO-d}_6$  (500 MHz)

### 3.2.3.2. $^{13}\text{C}$ -NMR-Untersuchungen substituierter Pyrimidine

Für die Umsetzung der charakterisierten Pyrimidinzwischenprodukte zu 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-olen mittels NENITZESCU-Reaktion ist deren Reaktivität als Enamin von Bedeutung. Um diese in einer messbaren Größe zu belegen, beschreibt DOTZAUER *et al.*<sup>305</sup> die Nutzung der chemischen Verschiebung  $\delta_{\text{C-5}}$  aus  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren als hilfreiche Größe. Die Verschiebung sei dabei proportional zur Elektronendichte an C-5 und zeige somit die Fähigkeit im Sinne einer MICHAEL-Addition an die elektronenziehend substituierte Doppelbindung der Chinonkomponente anzugreifen. Bei Kernspinresonanzmessungen wird prinzipiell gemessen, wieviel Energie nötig ist, den magnetisch aktiven Atomkern in einem äußeren elektromagnetischen Feld von der energieärmeren in die energiereichere Form auszurichten. Diese Energiemenge ist im Wesentlichen abhängig von der chemischen Umgebung, namentlich von den umgebenden Elektronen und deren Fähigkeit, den Kern vom äußeren Magnetfeld abzuschirmen. Dabei wird starke Abschirmung bzw. hohe Elektronendichte durch geringe chemische Verschiebung dargestellt, welches indirekt als positiver Indikator für Umsetzung in der NENITZESCU-Reaktion gewertet wird. In der Summe ist die, durch DOTZAUER *et al.*

beschriebene, Messbarkeit der Reaktivität schlüssig. Jedoch dürfen andere Einflüsse auf die Reaktion nicht vernachlässigt werden. So sind elektronische und sterische Einflüsse der eingesetzten Chinonkomponente zweifelsfrei ebenfalls von Bedeutung. Trotzdem kann bei konstanten Reaktionsbedingungen und vergleichbaren Reaktionspartnern die chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  als Kriterium für die Umsetzbarkeit herangezogen werden. Tabelle 9 zeigt gemessene chemische Verschiebungen  $\delta_{C-5}$  einiger exemplarischer Verbindungen mit dem Vermerk, ob und in welcher Ausbeute Umsetzung in der NENITZESCU-Reaktion erzielt werden konnte. Als weitere Referenzpunkte dienen dabei  $\delta_{C-5}$  von 6-Chloropyrimidin-2,4-diamin, welches nicht umsetzbar war, und die von DOTZAUER *et al.* beschriebene Grenze von  $\delta_{C-5} \leq 77,0$  ppm, welche in den zugehörigen Experimenten als Obergrenze für Umsetzbarkeit in der NENITZESCU-Reaktion definiert wurde.

**Tabelle 9:** Darstellung chem. Verschiebung  $\delta_{C-5}$  im  $^{13}C$ -NMR-Spektrum - Umsetzung und Ausbeute in NENITZESCU-Reaktion

Verb.	Chem. Verschiebung $\delta_{C-5}$ in ppm	Ausbeute	Umsetzung
<b>6-Chloropyrimidin-2,4-diamin</b>	92,9	-	nein
<b>7a</b>	73,9	22,1 %	ja
<b>7b</b>	73,9	10,5 %	ja
<b>7d</b>	74,6	13,5 %	Ja
<b>7e</b>	73,8	17,5 %	Ja
<b>7f</b>	73,3	10,9 %	Ja
<b>8f</b>	77,1	2,4 %	Ja/(Ja)
<b>8k</b>	76,4	6,0 %	Ja
<b>9b</b>	75,5	2,2 %	Ja
<b>9e</b>	76,6	5,3 %	Ja
<b>13b</b>	77,4	9,8 %	Ja
<b>18b</b>	81,4	13,7 %	(Ja)
<b>21a</b>	81,2	8,1 %	Ja
<b>21b</b>	85,9	2,0 %	Ja
<b>21c</b>	83,7	2,0 %	Ja

Wie in Tabelle 9 ersichtlich ist, konnten wir auch Verbindungen  $\delta_{C-5} > 77,0$  ppm in der NENITZESCU-Reaktion umsetzen. Jedoch kam es dabei zu verringerten Ausbeuten und zur Bildung von Nebenprodukten, welche vermeintlich zwar NENITZESCU-Produkte sind, aber wahrscheinlich über eine alternative Reaktionsabfolge gebildet wurden. Eine detaillierte Betrachtung dazu erfolgt in Abschnitt 3.3. Die Umsetzung von 6-Chloropyrimidin-2,4-diamin mit der höchsten chemischen Verschiebung von  $\delta_{C-5} = 92,92$  ppm war nicht möglich. Durch den zum reaktiven Kohlenstoff C-5 benachbarten 6-Chlorsubstituenten und den damit verbundenen Elektronenzug ist die Elektronendichte zu gering für einen nucleophilen Angriff am Benzochinon. Hingegen führen 4-Benzylaminsubstituenten durch positiv mesomere Effekte zu gesteigerter Elektronendichte an C-5, welches in chemischer Verschiebung  $\delta_{C-5}$  zwischen 73 - 75 ppm resultiert. Erwartungsgemäß erfolgt für entsprechende Derivate gute Umsetzbarkeit mit Ausbeuten im niedrigen zweistelligen Bereich. Der Substituent am Benzylamin scheint im Wesentlichen von geringem Einfluss für den Pyrimidinring. Wiederum geben 4-anilino-substituierte Verbindungen (**8f** und **8k**) bzw. 4-benzyloxyanilinosubstituierte Verbindungen (**9b** und

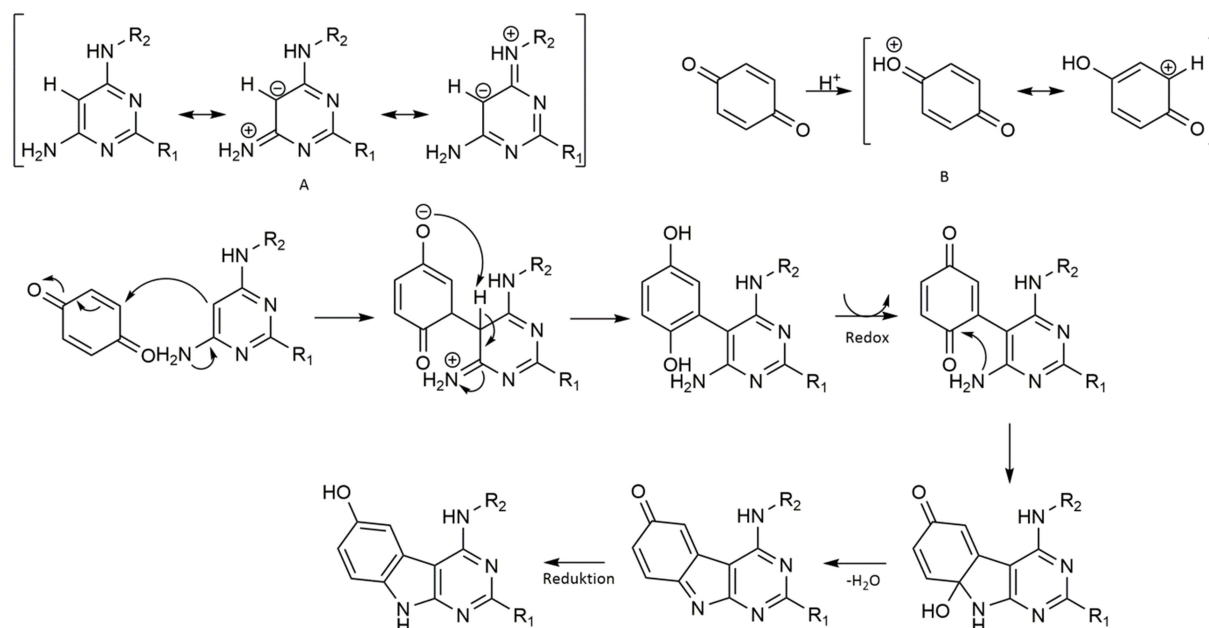
**9e**) leicht höhere chemische Verschiebungen  $\delta_{C-5}$ . Zwar wirkt auch hier der positiv mesomere Effekt der sekundären 4-Aminofunktion, jedoch führen die direkt konnektierten Anilinringe durch eigenen negativ mesomeren Effekt zu Abschwächung dessen. Zusätzlich sind Substituenteneffekte der 4-Aniline stärker übertragbar, so dass diese die Elektronendichte an C-5 ebenfalls beeinflussen. Dennoch waren alle Verbindungen in der entsprechenden Reaktion umsetzbar, wenn auch mit geringeren Ausbeuten. Anzuführen ist, dass Verbindung **8f** sowohl zum gewünschten Produkt reagierte, als auch ein zusätzlich chloriertes Nebenprodukt entstand, welches ebenfalls eine Art NENITZESCU-Produkt darstellt.

Die 2-thioethersubstituierte Verbindung **18b** (Analogsubstanz zu **8f**) zeigt eine chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  deutlich  $> 77,0$  ppm und reagierte ausschließlich zum zusätzlich chlorierten NENITZESCU-Nebenprodukt mit Ausbeute im zweistelligen Bereich. Die 2-aminoalkylierte Verbindung **13b** (Analogsubstanz zu **8f**) zeigt chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  von 77,42 ppm und liegt damit im Bereich des beschriebenen Grenzwerts, reagierte aber trotzdem in moderater Ausbeute ausschließlich zum gewünschten Produkt. Die Verbindungen **21a - c** ohne positiv mesomere 2-Substituenten zeigen chemische Verschiebungen  $\delta_{C-5}$  von 81 - 86 ppm, liegen damit deutlich über dem Grenzwert und besitzen also vermeintlich zu geringe Elektronendichte an C-5 für eine NENITZESCU-Umsetzung. Trotzdem ließen sich die Substanzen in der NENITZESCU-Reaktion umsetzen. Vergleichbar mit vorherigen Betrachtungen ist Verbindung **21a** durch den positiv mesomeren Effekt des 4-Benzylaminosubstituenten am wenigsten tieffeldverschoben. 4-Anilino- bzw. 4-Benzyloxyanilinosubstitution bewirkt mehr Entschirmung an C-5. Die Ergebnisse der chemischen Verschiebung bzw. der Elektronendichte lassen sich auf die Ausbeute übertragen. Zu klären bleibt, wann die Entstehung alternativer NENITZESCU-Nebenprodukte möglich bzw. favorisiert wird. Im Endeffekt lässt sich sagen, dass die chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  durchaus als prospektiver Marker für die NENITZESCU-Umsetzung geeignet ist. Die Definition einer Umsetzungsgrenze ist jedoch nur eingeschränkt und für klar umrissene Substanzgruppen möglich. Allgemein kann von einem umgekehrt proportionalen Verhältnis zwischen Umsetzung und Höhe der chemischen Verschiebung ausgegangen werden, jedoch können sterische Einflüsse und elektronische Verhältnisse der Chinonkomponente nicht außer Acht gelassen werden. Zu zusätzlicher Unschärfe der Betrachtung führen Nebenreaktionen, wie bei der Umsetzung der Verbindungen **18a** bzw. **18b**, welche zwar vermutlich als NENITZESCU-Produkte entstehen, aber die Umsetzung zusätzliche Modifikation bedingt oder evtl. auch umgekehrt (vgl. 3.3.3).

### 3.3. Synthese 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Die NENITZESCU-Synthese der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole wurde im Wesentlichen nach einer etablierten Synthesemethode nach DOTZAUER *et al.* durchgeführt<sup>306</sup>. Dazu wurden die substituierten Pyrimidine in einer Mischung aus 15,0 ml wasserfreiem Ethanol und 5,0 ml Eisessig pro mmol Pyrimidin mit leichtem Überschuss (1,2 - 1,8 eq.) an Chinon umgesetzt. Der Reaktionsansatz wurde 3 - 5 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verbrauch der substituierten Pyrimidine überwacht. Es ergaben sich braune Öle, welche anschließend für die säulenchromatographische Aufreinigung mit Kieselgel als *dry-load* präpariert wurden. Die

chromatographische Aufreinigung erfolgte in Mehrheit über einen Stufengradienten von Chloroform/Methanol 95:5 zu 90:10 (V/V). Abb. 35 zeigt eine mögliche Darstellung des Reaktionsmechanismus.

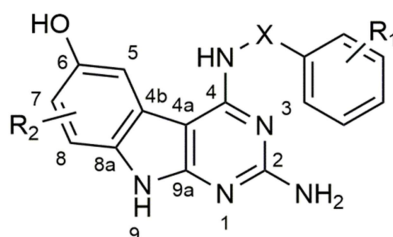


**Abb. 35:** Allgemeine Darstellung NENITZESCU-Reaktion als Zugang zu 2,4-disubstituierten 9H-Pyrido[4,5-b]indol-6-olen

Die katalytisch eingesetzte Essigsäure dient v.a. der Aktivierung der Chinonkomponente (B). Durch Protonierung des Carbonylsauerstoffs steigert sich die Reaktivität der Chinondoppelbindung gegenüber einem MICHAEL-artigen Angriff durch das substituierte Enamin des Pyrimidins. Neben dem relativen Elektronenmangel am eingesetzten Chinon ist auch der Elektronenüberschuss an C-5 des substituierten Pyrimidins maßgeblich für die Umsetzung. Sowohl die sekundäre 4-Aminofunktion als auch die primäre 6-Aminogruppe tragen über positiv mesomere Effekte zur Reaktivität des Enamins bei (vgl. Abb. 35 A). Im Weiteren erschließt sich dabei, dass benzylaminartige Substituenten an 4-Position tolerabler für die Reaktion sind als vergleichsweise 4-Anilinreste. Durch den Angriff des Enamins am Chinon kommt es zur Knüpfung einer neuen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung und infolgedessen zur Reduktion der Carbonylgruppe des Chinons. Zusätzlich lagert sich aus Stabilitätsgründen die verbliebene Ketogruppe unter Ausbildung eines aromatischen Systems in das entsprechende Enol um. Nachfolgend wird das Intermediat durch den leichten Überschuss an Chinon rückoxidiert. Dabei wird das überschüssige 1,4-Chinon zum entsprechenden 1,4-Hydrochinon reduziert. Die 6-Aminofunktion des Pyrimidins ist nun fähig, den Carbonylkohlenstoff des cyclischen  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 1,4-Diketons anzugreifen. Es bildet sich ein Chinoniminhalbaminal, welches nachfolgend unter Wasserabspaltung und Reduktion zum 9H-Pyrido[4,5-b]indol-6-ol reagiert. Der dargestellte Reaktionsmechanismus gilt momentan als am besten belegt für die NENITZESCU-Reaktion<sup>317, 318</sup>, welches v.a. anhand von isolierten Nebenprodukten dargelegt wird. Alternative Beschreibungen gehen davon aus, dass die primäre 6-Aminofunktion zuerst am Carbonylkohlenstoff reagiert und erst anschließend der Angriff des Enamins an der Chinondoppelbindung vonstattengeht. Für eine Beteiligung dieses Mechanismus spricht u.a. der starke sterische Einfluss der Chinonkomponente bei Einsatz von 2-substituierten Benzochinonen. So konnte ALLEN *et al.* eine klare

Präferenz für die Ausbildung von 6-substituierten Indolen im Gegensatz zu 7-substituierten Indolen bei sterisch anspruchsvollen Substituenten der 2-Position eingesetzter Benzochinone nachweisen<sup>317</sup>. Als Edukte für die NENITZESCU-Reaktion wurden die verschiedenen substituierten Pyrimidine (vgl. 3.2) gewählt. Je nach Substitutionsmuster der Pyrimidinedukte lassen sich die Produkte in verschiedene Klassen unterteilen, wie in den Tabellen 10 und 12 - 14 ersichtlich. Zusätzliche Derivatisierung wurde durch Einsatz von verschiedenen Chinonkomponenten generiert.

### 3.3.1. Synthese 4-benzylaminsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole



**Tabelle 10:** Darstellung der synthetisierten benzylaminoanellierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	Chinon	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Ausbeute
22	7a	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	-	-	22,1 %
23a/b	7a	2-Methylbenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	-	7-CH <sub>3</sub> /8-CH <sub>3</sub>	19,9 %*
24	7a	2-Methoxybenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	-	7-OCH <sub>3</sub>	24,4 %
25	7a	2-Chlorobenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	-	7-Cl	14,1 %
26	7a	2-Bromobenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	-	7-Br	6,9 %
27	7b	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	4-CH <sub>3</sub>	-	10,5 %
28a/b	7b	2-Methylbenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	4-CH <sub>3</sub>	7-CH <sub>3</sub> /8-CH <sub>3</sub>	12,8 %*
29	7c	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	4-Cl	-	10,7 %
29a/b	7c	2-Methylbenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	4-Cl	7-CH <sub>3</sub> /8-CH <sub>3</sub>	14,2 %*
30	7d	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	3-Cl	-	13,5 %
31a/b	7d	2-Methylbenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	3-Cl	7-CH <sub>3</sub> /8-CH <sub>3</sub>	7,2 %*
32	7e	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	4-OCH <sub>3</sub>	-	17,5 %
33a/b	7e	2-Methylbenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	4-OCH <sub>3</sub>	7-CH <sub>3</sub> /8-CH <sub>3</sub>	20,0 %*
34	7f	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	3-OCH <sub>3</sub>	-	10,9 %
35	7g	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	2-OCH <sub>3</sub>	-	16,4 %
36a/b	7g	2-Methylbenzochinon	-CH <sub>2</sub> -	2-OCH <sub>3</sub>	7-CH <sub>3</sub> /8-CH <sub>3</sub>	21,0 %*
37	7h	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -	3,4-di-OCH <sub>3</sub>	-	19,6 %
38	7i	Benzochinon	(S)-CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> )-	-	-	4,8 %
39	7i	2-Methoxybenzochinon	(S)-CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> )-	-	7-OCH <sub>3</sub>	1,1 %
40	7j	Benzochinon	(R)-CH <sub>2</sub> (CH <sub>3</sub> )-	-	-	2,3 %
41	7k	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -	-	-	6,9 %

\* Ausbeute Summe aus 7-Methyl- und 8-Methylisomer

Die Verbindungen **22** - **41** können als 4-benzylaminoanellierte 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole zusammengefasst werden. Eine gewisse Sonderstellung nehmen dabei die Verbindungen **38** - **41** ein, da diese abweichende Linkerstrukturen zwischen Kerntricyclus und substituiertem Phenylring besitzen. So wurden die Verbindungen **38** - **40** mit (*R*)- bzw. (*S*)- $\alpha$ -Methylbenzylaminen derivatisiert. Die Einführung des Chiralitätszentrums soll die Untersuchung der räumlichen Präferenz des Targets gegenüber den potenziellen Inhibitoren ermöglichen. Verbindung **41** wiederum besitzt durch Phenylethylaminsubstitution eine verlängerte Linkerstruktur und dient der Untersuchung der Tolerabilität des Targets demgegenüber. Bei Einsatz des gleichen Reaktionspartners (1,4-Benzochinon) lassen sich alle 4-benzylaminoanellierten Pyrimidine in vergleichsweise hohen Ausbeuten zwischen 10,5 % und 22,1 % umsetzen. Wie zuvor beschrieben, wirkt sich die sekundäre 4-Aminofunktion, mit zusätzlicher Isolation des -M-Effekts des Phenylrings durch den Methylenlinker, positiv auf die Umsetzung aus. Der zugehörige Ursachenbeleg über die chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  wurde zuvor in Abschnitt 3.2.3 dargelegt. Durch Variation der eingesetzten Chinonkomponente verändert sich die Ausbeute tlw. stark. So erzeugt der Einsatz von 2-Methylbenzochinon Ausbeuten in ähnlichen Bereichen wie vergleichbare Analogreaktionen mit unsubstituierten 1,4-Benzochinon. Jedoch muss erwähnt werden, dass dabei stets ein Isomeregemisch aus 7-Methyl- bzw. 8-Methyl-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol entsteht und die Ausbeuten summiert sind. Obwohl theoretisch möglich, entsteht das 5-Isomer in keinem Fall, welches sich mit Beobachtungen von ALLEN *et al.* bei entsprechenden Indolen deckt<sup>317</sup>. Im Weiteren stellt ALLEN dar, dass die räumlichen Verhältnisse für eine 8-Derivatisierung wesentlich ungünstiger sind als für eine 7-Substitution.

**Tabelle 11:** Isomerenverhältnisse von 7-Methyl- zu 8-Methylderivat bei Umsetzung mit 2-Methylbenzochinon

Verbindungspaar	28a/b	29a/b	31a/b	33a/b	36a/b
Isomerenverhältnis					
7-Methyl-/ 8-Methylderivat	1,7 : 1	1,9 : 1	3,2 : 1	1,4 : 1	3,4 : 1

Tabelle 11 zeigt die Isomerenverhältnisse von 7- zu 8-Methylderivaten und macht deutlich, selbst für die Umsetzung des sterisch anspruchsarmen 2-Methylbenzochinons, dass die 7-Position räumlich bevorzugt ist. Eine zusätzliche Verstärkung der 7-Präferenz ist bei 4-benzylaminoanellierten 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen zu beobachten, in welchen der Benzylaminsubstituent weitere *ortho*- oder *meta*-Substituenten besitzt (vgl. Verbindung **31a/b** bzw. **36a/b**). Die Verhältnisse wurden zunächst an <sup>1</sup>H-NMR-analytischen Arbeiten des Mischprodukts erarbeitet, konnten jedoch später durch vollständige Trennung der Produkte belegt werden. Trotz hoher Ähnlichkeit der Stellungsisomere konnten diese säulenchromatographisch getrennt werden, dabei wurden Eluentengemische aus Chloroform/Pyridin verwendet und Differenzen des R<sub>F</sub>-Wertes von ca. 0,1 erzielt.

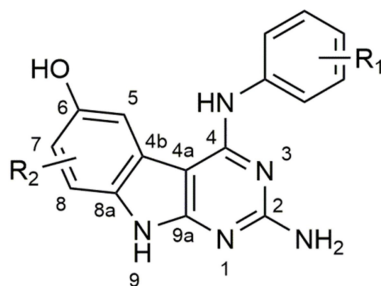
Bei der Umsetzung mit weiteren 2-derivatisierten 1,4-Benzochinonen wird der sterische und elektronische Anspruch dieser Reaktionskomponente weiter deutlich. Bei Einsatz von 2-Methoxy-1,4-benzochinon als Reaktionspartner (Verbindung **24**) kann eine leichte Ausbeutesteigerung erreicht werden. Durch Verwendung von 2-Chlor-1,4-benzochinon bzw. 2-Brom-1,4-benzochinon ergeben sich Einbußen der Ausbeute (Verbindungen **25** bzw. **26**). Außerdem entstehen mit diesen Edukten

ausschließlich 7-substituierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole. Sowohl Methoxy- als auch Chlor- und Bromsubstituent sind augenscheinlich zu raumgreifend für die Bildung anderer Isomere. Als sekundärer Faktor ist der induktive Effekt der Substituenten zu sehen, welcher besonders bei 2-Methoxy-1,4-benzochinon durch Elektronenzug verbesserte Angreifbarkeit des Carbonylkohlenstoffs durch die primäre 6-Aminofunktion des Pyrimidins erzeugt. Trotz der vergleichsweise überwiegend positiven Einflüsse auf die Reaktion sind die Ausbeuten insgesamt eher gering, wobei diverse Gründe möglich sind. So kann die, für die Reaktivität der Chinone eingesetzte, Säure dazu führen, dass das Pyrimidin protoniert wird, welches sowohl der Reaktivität als Enamin als auch der Nucleophilie der primären 6-Aminogruppe entgegensteht. Daher wird für die Reaktion eine verhältnismäßig schwache Säure wie Essigsäure eingesetzt. Als weiteres Problem beschreibt ALLEN *et al.* den komplexen Ablauf der Redoxprozesse während der Reaktion. So soll der geringe Überschuss an Chinon dazu führen, dass das Hydrochinon-Pyrimidin-Addukt oxidiert wird und weiter reagieren kann. Jedoch steht das entstehende Hydrochinon dann nicht mehr als Edukt zur Verfügung. Zusätzlich ist das genannte Addukt durch die Oxidation durch Benzochinon nicht mehr in der Lage, 6H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-on als Zwischenprodukt zum Endprodukt 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ol zu reduzieren. Da das generierte Hydrochinon ebenfalls nicht dazu in der Lage ist, kommt es zur Akkumulation des Zwischenprodukts, welches tlw. in Nebenreaktionen übergeht (vgl. 3.3.2).

### 3.3.2. Synthese 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Die Verbindungen **42** - **59** lassen sich als 4-anilinoanellierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole zusammenfassen (vgl. Tabelle 12). Die Verbindungen **60** - **65** können chemisch ebenfalls zu diesen gezählt werden, sind jedoch aufgrund der deutlich vergrößerten 4-Substitution als 4-benzyloxyanilinoanellierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole separat zu betrachten. Der Fokus der Verbindungen **42** - **59** liegt v.a. auf 3'- bzw. 4'-substituierten Anilinderivaten, um das mögliche Wechselwirkungspotenzial innerhalb der hydrophoben Kavität der ATP-Bindungstasche bestimmen zu können. Zusammenfassend betrachtet ergeben sich für die 4-anilinosubstituierten Derivate deutlich verringerte Ausbeuten, was v.a. auf die Beeinflussung der Elektronendichte im Pyrimidinring bzw. speziell an C-5 zurückzuführen ist. Durch direkte Verbindung der aromatischen Systeme übertragen sich induktive und mesomere Effekte deutlich stärker als über die Methylenbrücke der 4-benzylaminoanellierten Verbindungen. So liefern die Derivate **53** - **56** und **59** durch +M-Substituenten Ausbeuten im Bereich von 4,2 - 7,2 %. Ebenfalls vergleichsweise hohe Ausbeuten zwischen 6,0 - 14,0 % liefern die Verbindungen **48** - **52** durch +M-Effekt der Halogensubstituenten. Überraschend dabei ist die besonders hohe Ausbeute der Verbindung **48**, welche evtl. zusätzlich von günstigen sterischen Voraussetzungen des 3'-Fluorsubstituenten profitiert. Die ethinylsubstituierten Substanzen **57** und **58** zeigen reduzierte Ausbeuten. Besonders niedrige Ausbeuten resultieren für die Verbindungen **46a/b\*** bzw. **47a/b\***, da diese durch stark negativ induktive Effekte und zusätzlich im Fall von **46a/b\*** durch -M-Effekt der Nitrogruppe beeinträchtigt werden. Dieses wurde ebenfalls durch die chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  aus  $^{13}C$ -NMR-Daten belegt (vgl. Tabelle 9). So liegt die chemische Verschiebung von C-5 für Verbindung **8f** bei 77,1 ppm und damit sowohl deutlich über den 4-benzylaminoanellierten Verbindungen als auch über dem formulierten Grenzwert von  $\leq 77,0$  ppm. Verbindung **8k** zeigt eine chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  von 76,36 ppm. Beide

gemessenen 4-anilinosubstituierten Pyrimidine indizieren geringere Elektronendichte an C-5 und somit schlechtere Reaktivität als Kohlenstoffnucleophil in der NENITZESCU-Umsetzung.



**Tabelle 12:** Darstellung der synthetisierten anilinoanellierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (inkl. Ausbeuten und Edukten)

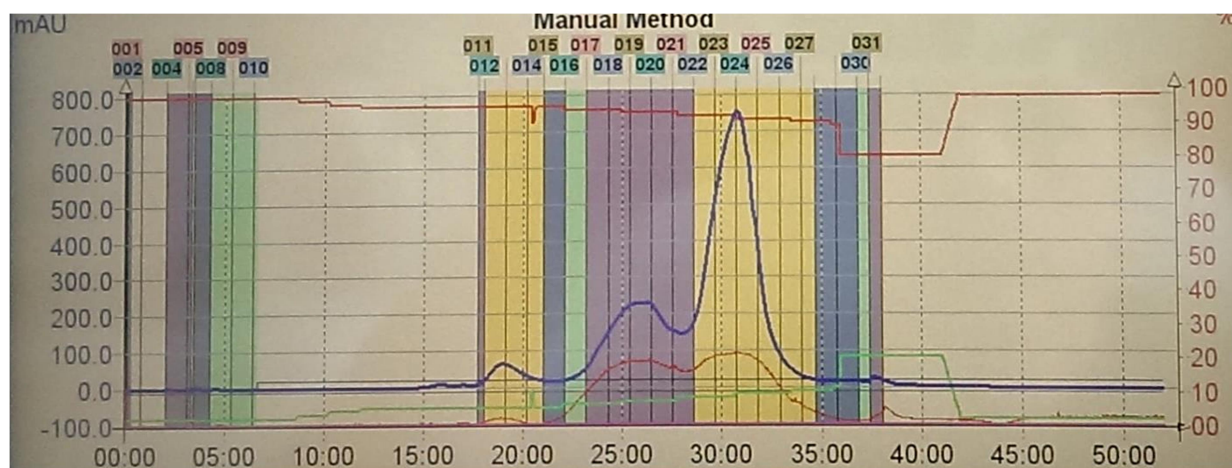
Verb.	Edukt	Chinon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Ausbeute
42	8a	Benzochinon	3-Cl,4-F	-	4,4 %
43	8b	Benzochinon	3,4-di-Cl	-	0,7 % <sup>#</sup>
44	8c	Benzochinon	4-OCH <sub>3</sub>	-	2,9 %
45	8d	Benzochinon	3-OCH <sub>3</sub>	-	5,8 %
46a/b*	8e	Benzochinon	3-NO <sub>2</sub>	7-H/7-Cl	0,8 %/0,9 %**
47a/b*	8f	Benzochinon	3-CF <sub>3</sub>	7-H/7-Cl	1,2 %/1,2 %**
48	8g	Benzochinon	3-F	-	14,0 %
49	8h	Benzochinon	4-Cl	-	9,2 %
50	8i	Benzochinon	3-Cl	-	7,6 %
51	8j	Benzochinon	4-Br	-	6,1 %
52	8k	Benzochinon	3-Br	-	6,0 %
53	8l	Benzochinon	4-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-	7,2 %
54	8m	Benzochinon	3-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-	4,8 %
55	8n	Benzochinon	4-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	7,2 %
56	8o	Benzochinon	3-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-	6,3 %
57	8p	Benzochinon	4-C≡CH	-	1,0 %
58	8q	Benzochinon	3-C≡CH	-	2,4 %
59	8r	Benzochinon	3-SCH <sub>3</sub>	-	4,2 %

**b\*** 7-chloriertes Nebenprodukt; **\*\*** Ausbeute des 7-chlorierten Nebenprodukts; **#** Ausbeuteverlust durch unvollst. Trennung

Die besonders elektronenziehend substituierten Verbindungen **46a/b\*** und **47a/b\*** zeigen zusätzlich weitere Beeinträchtigungen neben stark reduzierter Ausbeute. In den Umsetzungen entstanden neben den gewünschten Produkten auch zusätzlich 7-chlorierte Nebenprodukte, obwohl keine chlorierenden Agenzien oder 2-Chlor-1,4-benzochinon genutzt wurden. Da nach Aufarbeitung mit der erarbeiteten Standardmethodik zunächst Produkt und 7-chloriertes Nebenprodukt aufgrund hoher Ähnlichkeit nicht trennbar waren, war sowohl die Identität als auch die Entstehung des Nebenprodukts fraglich. Durch die beobachtete Isotopenverteilung in massenspektrometrischen Messungen sowie den Vergleich des <sup>1</sup>H-NMR-Spektrums zu dem der 7-chlorsubstituierten Verbindung **25** war jedoch die Chlorierung des Kerntricyclus wahrscheinlich. Verbesserte Separationsbedingungen durch Einsatz von MPLC führten zur partiellen Trennung der Derivate,



wodurch Identifikation und Bestätigung der formulierten Hypothese möglich wurden. Für die MPLC-Trennversuche wurden die Mischprodukte (**46a/b** bzw. **47a/b**) als *dry-load* mit Kieselgel präpariert und verschiedenen Trennversuchen unterworfen. Der erfolgreichste Trennversuch der Verbindungen **47a/b** ist in Abb. 36 dargestellt.

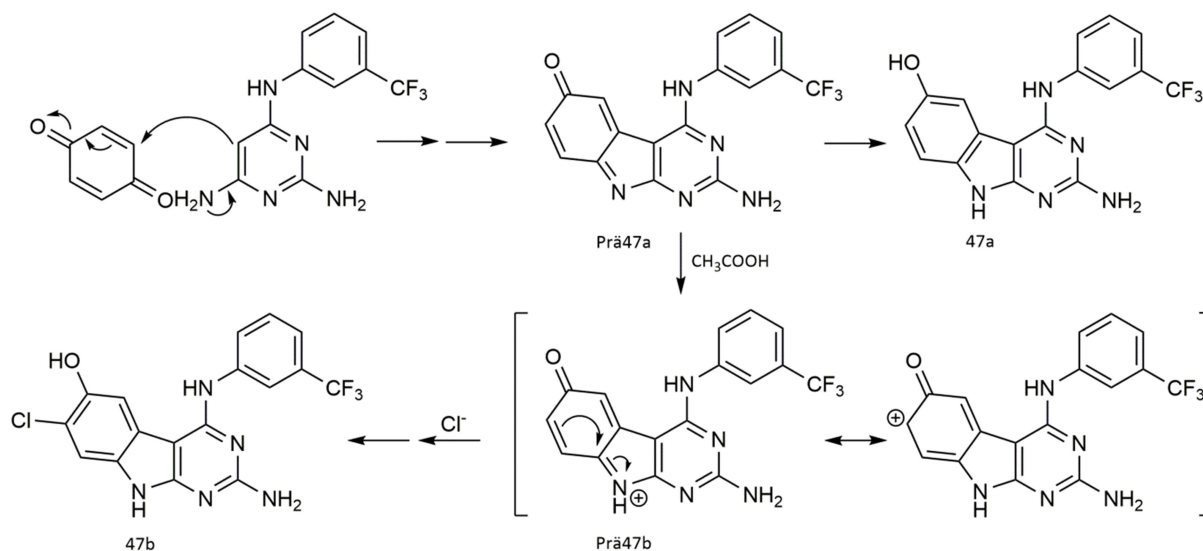


**Abb. 36:** MPLC-Trennung Verbindung **47a/b** (*dry-load*-Vorsäule, Interchim PF-50SIHP-F0025-Trennsäule, Flussrate 20ml/min, 0-8 min: CHCl<sub>3</sub>/MeOH 98:2 (V/V); 8-13 min: CHCl<sub>3</sub>/MeOH 98:2 → 95:5 (V/V); 13-20 min: CHCl<sub>3</sub>/MeOH 95:5 (V/V); 20-35 min: CHCl<sub>3</sub>/MeOH 95:5 → 90:10 (V/V); 35-41 min: CHCl<sub>3</sub>/MeOH 80:20 (V/V); 41-42min: CHCl<sub>3</sub>/MeOH 80:20 → 100:0 (V/V); 42-52min: CHCl<sub>3</sub>)

Trotz geringerer Korngröße der stationären Phase, Einsatz von erhöhtem Druck, stufenloser Gradientenelution und Einsatz von UV/Vis-Detektion konnte keine komplette Trennung erzielt werden. Im späteren Verlauf der Arbeit konnte über Verwendung des Eluentengemischs Chloroform/Pyridin eine vollständige Trennung erzielt werden. Die Wechselwirkung der schwachen Base Pyridin mit den aciden 6-Phenolfunktionen der Produkte bewirkt verbesserte Trenneffizienz und  $R_f$ -Wert-Differenzen zwischen 0,05 und 0,1. Zusätzlich erfolgt Umkehr der Elutionsreihenfolge verglichen mit dem Standardelutionsgemisch Chloroform/Methanol. Neben dem Nachweis der Identität ist auch der Umstand der Bildung der Nebenprodukte von Interesse. Da die Nebenreaktion bei stark elektronenziehend substituierten Verbindungen (3'-Nitro-, 3'-Trifluoromethylanilin) beobachtet wurde, scheint diese Eigenschaft mit der Bildung assoziiert. Unter Beachtung von Literaturdaten lassen sich u.a. die in Abb. 37 und Abb. 38 gezeigten Mechanismen als mögliche Ursachen der Nebenproduktbildung formulieren.

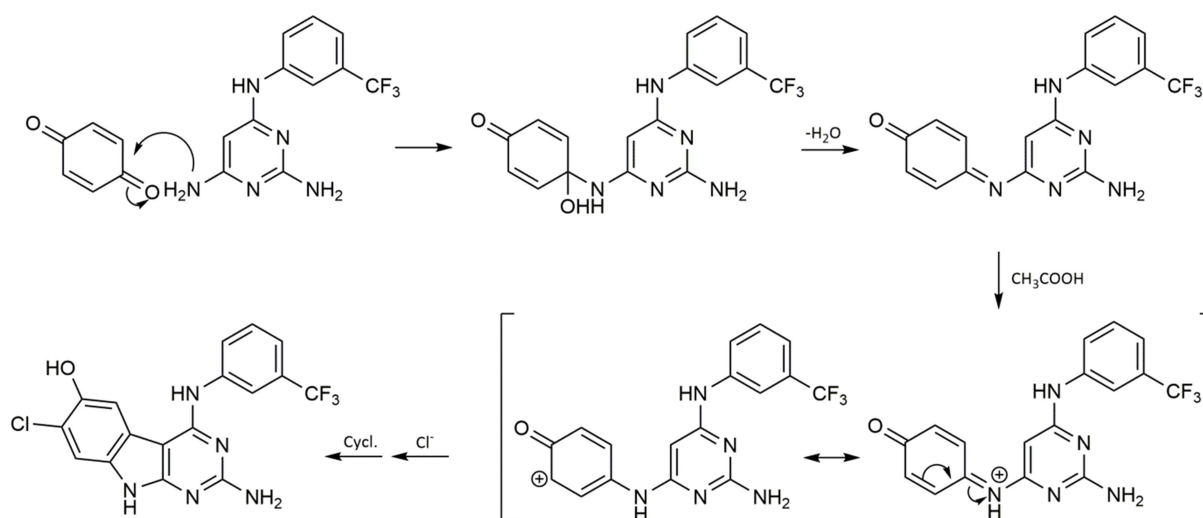
Wie zuvor zum NENITZESCU-Mechanismus dargestellt, kommt es bei der Umsetzung zum gewünschten 2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol **47a** zur Bildung eines vermeintlichen Zwischenprodukts 2-Amino-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-6H-pyrimido[4,5-b]indol-6-on (**Prä47a**). Bei unzureichender Reduktion durch das analoge Hydrochinon-Pyrimidin-Addukt erfolgt Akkumulation von **Prä47a**. Durch die sauren Reaktionsbedingungen der eingesetzten Essigsäure kommt es zur Protonierung und Ausbildung eines 6H-Pyrimido[4,5-b]indol-9-ium-ions **Prä47b**, welches im Sinne einer 1,4-Addition mit dem Eluentengemisch bzw. dem enthaltenen Chloroform reagiert und Verbindung **47b** bildet. Ähnliche Additionsphänomene wurden, innerhalb der NENITZESCU-Indolsynthesen, u.a. von KUCKLÄNDER *et al.*<sup>319</sup> und TEUBER *et al.*<sup>320</sup>

beobachtet. Für diesen Mechanismus spricht zusätzlich, dass es nicht zur Addition an die gleichberechtigte 5-Position kommt, da diese sterisch eingeschränkt ist.



**Abb. 37:** Hypothese zur Entstehung von **47b** über 1,4-Addition am Zwischenprodukt 2-Amino-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-6H-pyrimido[4,5-b]indol-6-on

Alternativ kann die starke Inaktivierung von C-5 aufgrund des Elektronenzugs von 3'-Nitro- bzw. 3'-Trifluoromethylanilin zu einer veränderten Reaktionsabfolge führen (vgl. Abb. 38).

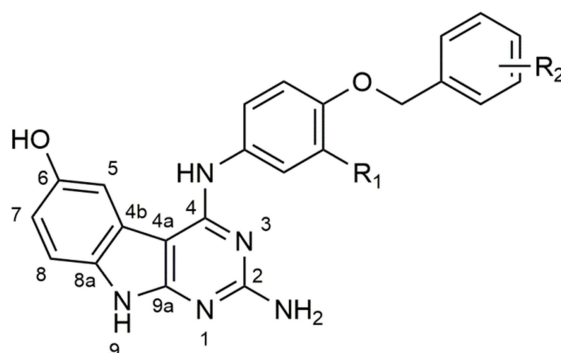


**Abb. 38:** Hypothese zur Entstehung von **47b** über nucleophilen Angriff am Carbonylkohlenstoff

Durch unzureichende Elektronendichte an C-5 ist dieses nicht fähig, im Sinne eines MICHAEL-Donators zu reagieren und es kommt zunächst zur Umsetzung der primären 6-Aminofunktion mit dem Carbonylkohlenstoff des Benzochinons. Das entstehende Chinonimin wird ebenfalls durch saure Reaktionsbedingungen protoniert und durch 1,4-Addition chloriert. Durch den Chlorsubstituenten verbessern sich die Bedingungen für MICHAEL-Addition und es kommt zur Cyclisierung. Für den zweiten Mechanismus spricht die von DOTZAUER *et al.* gelegte Grenze für die Reaktivität von C-5 als Enaminkomponente innerhalb der NENITZESCU-Reaktion. Die Überschreitung dieser führt zum Wechsel auf einen alternativen Mechanismus. Die umgekehrte Abfolge von Angriff am Carbonyl mit

nachfolgender Knüpfung der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung ist ebenfalls ein diskutierter Mechanismus der NENITZESCU-Reaktion. Das Fehlen von 5-chlorsubstituierten Nebenprodukten spricht gegen den beschriebenen Mechanismus, da keine sterische Benachteiligung der Addition an 5-Position vorliegt bzw. 5-chlorierte Nebenprodukte im Cyclisierungsschritt sogar bevorzugt wären.

Tabelle 13 zeigt die synthetisierten 4-benzyloxyanilinoanellierten Verbindungen **60** - **65**. Die voluminöseren Benzyloxyanilinsubstituenten erlauben die Untersuchung von zusätzlichen Wechselwirkungsmöglichkeiten innerhalb der ATP-Bindungstasche, wie z.B. Adressierung der allosterischen Tasche. Wie nach Literaturdaten<sup>476</sup> erwartet, erwiesen sich die 4-Benzyloxyanilinosubstituenten als stabil gegenüber den Reaktionsbedingungen der NENITZESCU-Reaktion. So konnten die Zwischenprodukte **9a** - **f** der gleichen allgemeinen Arbeitsvorschrift unterworfen werden wie zuvor **7a** - **k** und **8a** - **r**. Aufgrund der Ähnlichkeit zu den anilinoanellierten Substanzen verhalten sich die benzyloxyanilinoanellierten Verbindungen bzgl. der NENITZESCU-Umsetzung vergleichbar. Auch hier bewirkt der direkte Elektronenzug eine Reduktion der Elektronendichte an C-5 des Pyrimidins, was sich in chemischen Verschiebungen  $\delta_{C-5}$  zwischen 75 - 77 ppm widerspiegelt (vgl. Tabelle 9).



**Tabelle 13:** Darstellung der synthetisierten benzyloxyanilinoanellierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (inkl. Ausbeuten und Edukten)

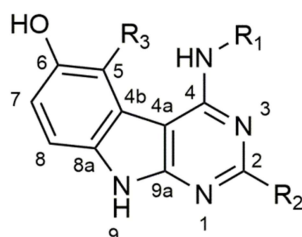
Verb.	Edukt	Chinon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Ausbeute
<b>60</b>	<b>9a</b>	Benzochinon	-H	3-F	4,2 %
<b>61</b>	<b>9b</b>	Benzochinon	-H	3-OCH <sub>3</sub>	4,1 %
<b>62</b>	<b>9c</b>	Benzochinon	-H	4-OCH <sub>3</sub>	4,9 %
<b>63</b>	<b>9d</b>	Benzochinon	-Cl	3-Cl	5,8 %
<b>64</b>	<b>9e</b>	Benzochinon	-Cl	3-F	5,3 %
<b>65</b>	<b>9f</b>	Benzochinon	-Cl	4-OCH <sub>3</sub>	4,8 %

Es resultiert eine Ausbeute im Bereich 4,1 - 5,8 % für die Verbindungen **60** - **65**, welches vergleichbar den anilinosubstituierten Verbindungen und schlechter als bei den benzylaminosubstituierten Verbindungen ist. Interessanterweise gibt es zwischen den Verbindungen **60** - **62** und den zusätzlich 3'-chlorierten Analoga **63** - **65** keine relevanten Ausbeuteunterschiede, was wiederum mit dem konstant positiven Einfluss des +M-Effekts des Benzyloxyethers begründbar ist. Die Vergrößerung des Substituenten hat keinen Einfluss auf die zuvor etablierten Aufreinigungsprozesse. Dieses bestätigt die Annahme, dass v.a. die Wechselwirkungen der

hochpolaren guanidinogenen Teilstruktur und der 6-Hydroxyfunktion für das Trennverhalten an der Normalphase der Säulenchromatographie verantwortlich sind.

### 3.3.3. Synthese 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole mit alternativer 2-Substitution

Die in Tabelle 14 dargestellten Verbindungen **66** - **72** sind das Ergebnis der Synthesen zu 2-modifizierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen. Trotz geringer Produktanzahl kann festgehalten werden, dass die Umsetzung 2-derivatisierter Pyrimidinedukte in der NENITZESCU-Reaktion mit Einschränkungen möglich ist, obwohl einige Edukte die von DOTZAUER *et al.* publizierte Grenze von  $\delta_{C-5} \leq 77,0$  ppm deutlich überschreiten<sup>305</sup> (vgl. Tabelle 9).



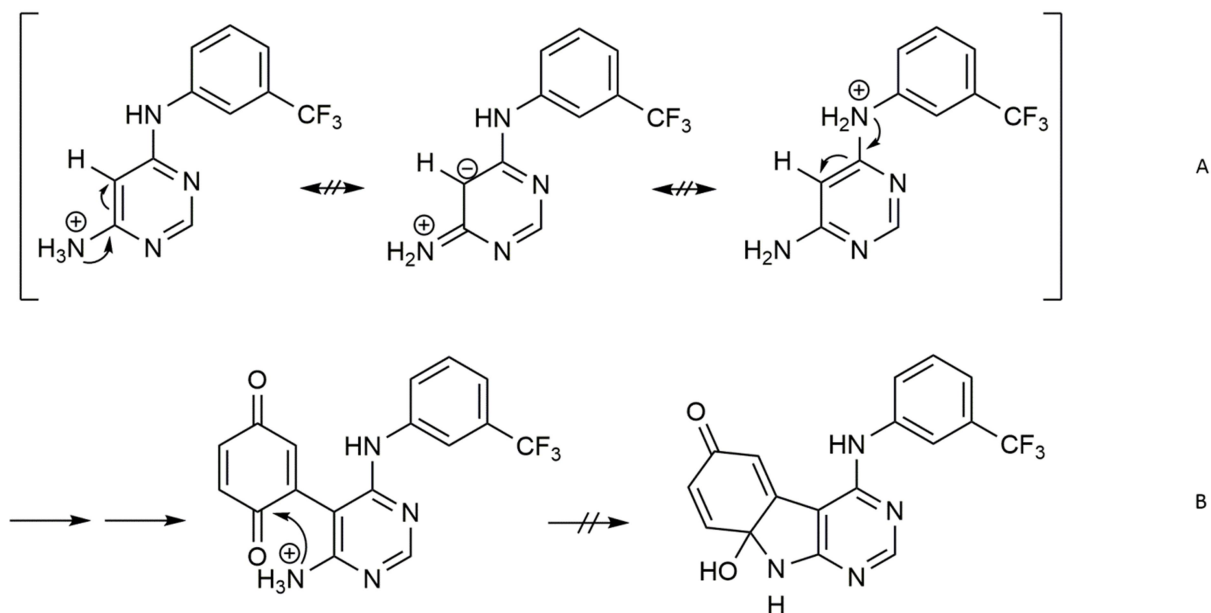
**Tabelle 14:** Darstellung der synthetisierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole mit 2-Derivatisierung (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	Chinon	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Ausbeute
<b>66</b>	<b>13a</b>	Benzochinon	-(3-BrPh)	-NH( <i>n</i> -Pro)	-	5,8 %
<b>67</b>	<b>13b</b>	Benzochinon	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-NH( <i>n</i> -Bu)	-	9,8 %
<b>68*</b>	<b>18a</b>	Benzochinon	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-SCH <sub>3</sub>	5-Cl	7,2 %
<b>69*</b>	<b>18b</b>	Benzochinon	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-S( <i>n</i> -Bu)	5-Cl	13,7 %
<b>70</b>	<b>21a</b>	Benzochinon	-CH <sub>2</sub> Ph	-H	-	8,1 %
<b>71</b>	<b>21b</b>	Benzochinon	-(3-CF <sub>3</sub> Ph)	-H	-	2,0 %
<b>72</b>	<b>21c</b>	Benzochinon	-((4-OCH <sub>2</sub> (3-FPh))Ph)	-H	-	2,0 %

\* ausschließlich Entstehung 5-chlorierter Nebenprodukte

Die 2-alkylaminoderivatisierten Produkte **66** - **67**, welche den zuvor synthetisierten Substanzen mit primärer 2-Aminofunktion am nächsten stehen, konnten in Ausbeuten von 5,8 % bzw. 9,8 % gewonnen werden. Dabei überraschte die vergleichsweise hohe Ausbeute von **67**, da einerseits das Edukt **13b** den Grenzwert  $\delta_{C-5}$  mit 77,4 ppm überschritt und andererseits das Analogon **47** schlechte Ausbeute lieferte. Eventuell führt der +I-Effekt der zusätzlichen Alkylgruppe zur Erhöhung der Elektronendichte im Pyrimidinring bzw. modifiziert dessen Umsetzung so, dass es nicht zur Akkumulation eines oxidierten Zwischenprodukts (vgl. **Prä47a** in Abb. 37) kommt. Eine geringfügige Erhöhung der Lipophilie, erzeugt durch die Alkylierung, zeigt sich im chromatographischen Verhalten. So liegen die  $R_f$ -Werte in dem Standardlaufmittel deutlich über ihren Analogsubstanzen ( $R_f(\mathbf{47}) = 0,19$ ;  $R_f(\mathbf{67}) = 0,26$  (Chloroform/Methanol 90:10 (V/V))). Entsprechend musste eine Anpassung der chromatographischen Aufarbeitung erfolgen. Über Einsatz von *N*-Alkylen in Position 2 zeigt sich, dass Modifikation des Wechselwirkungspotenzials an entsprechender Stelle bei Erhalt der sonstigen Reaktivität möglich ist.

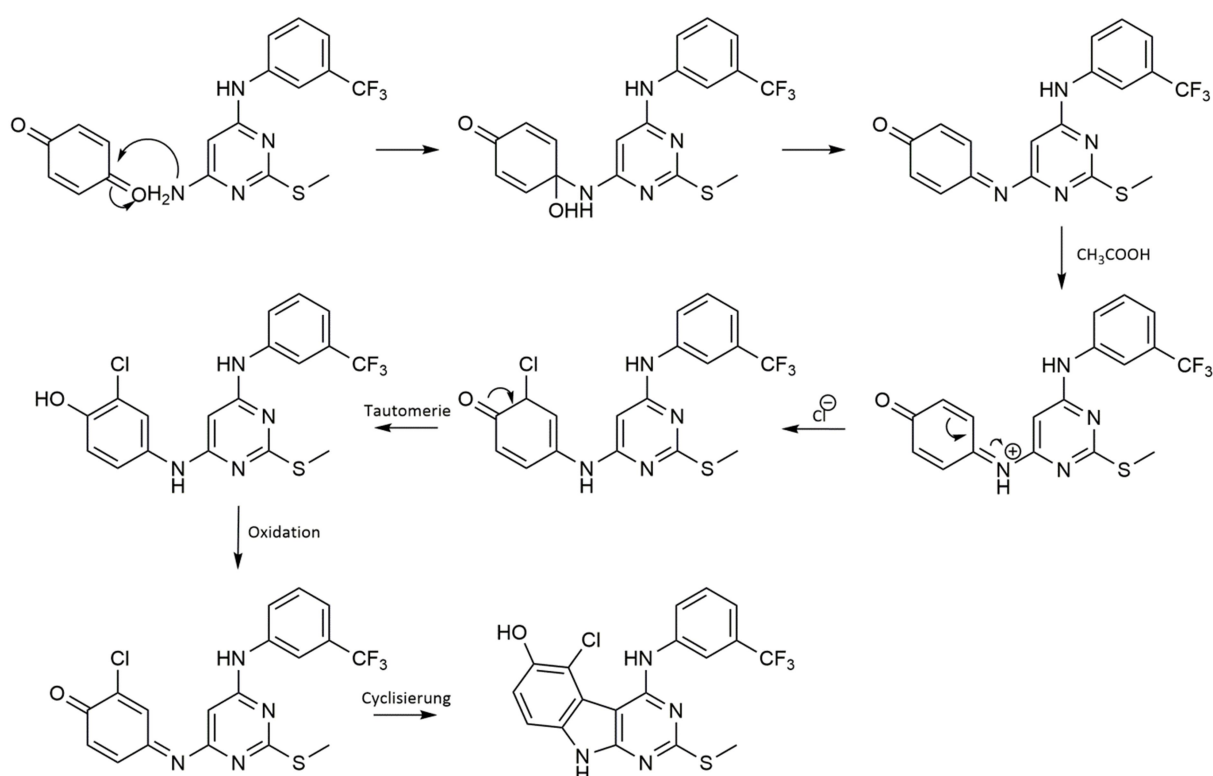
Bei der Synthese der Derivate **70** - **72** hingegen zeigen sich deutlichere Veränderungen der Reaktivität. Durch Fehlen der 2-Aminosubstitution kommt es zum Verlust der guanidinogenen Partialstruktur. Infolgedessen kommt es bei der NENITZESCU-Umsetzung zu verstärkter Bildung von protoniertem Edukt und verringerter Entstehung des Produktes, welches die chromatographische Trennung nachhaltig beeinflusst. Ursächlich könnte die vermehrte Protonierung der sekundären 4-Aminogruppe bzw. der primären 6-Aminofunktion sein, da das vorherige basische Zentrum nicht mehr vorhanden ist (vgl. Abb. 39 **A**). Eine Salzbildung der 6-Aminofunktion führt darüber hinaus zur Schwächung des Angriffs jener an die Carbonylfunktion des cyclischen  $\alpha,\beta$ -ungesättigten 1,4-Diketons (vgl. Abb. 39 **B**). Zusätzlich führt der Verlust der 2-Aminogruppe zum Fehlen des +M-Effekts auf den Pyrimidinring, welches sich in erhöhter chemischer Verschiebung  $\delta_{C-5}$ , mit Werten zwischen 82 - 86 ppm, widerspiegelt. Trotz verschlechterter Bedingungen konnten die gewünschten Produkte, als bei Anregung mit Licht der Wellenlänge  $\lambda = 254$  nm fluoreszierende Verbindungen, gewonnen werden. Die 4-benzylaminsubstituierte Substanz **70** konnte auch bei dieser Verbindungsklasse höhere Ausbeute erzielen als die 4-anilino- bzw. 4-benzoyloxylanilinoanellierten Substanzen **71** und **72**.



**Abb. 39:** Darstellung von Problemen 2-unsubstituierter Verbindungen für NENITZESCU-Umsetzung am Beispiel **21b** bzw. **71**

Bei den Synthesen der Produkte **68\*** und **69\*** wurden Edukte mit 2-Thioetherstrukturen verwendet. Die erhöhte chemische Verschiebung  $\delta_{C-5}$  von 81,4 ppm für das Edukt **18a** indiziert deutlich verringerte Elektronendichte an C-5 und liegt beträchtlich über der durch DOTZAUER *et al.* erklärten Umsetzungsgrenze. Dennoch entstanden tricyclische 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole in Ausbeuten von 7,2 % bzw. 13,7 %, welche aber ausschließlich als ungeplante zusätzlich 5-chlorierte Nebenprodukte entstanden. Die zusätzliche Chlorierung in vermeintlich sterisch ungünstiger 5-Position in Kombination mit der nachgewiesenen verminderten Reaktivität von C-5 des Eduktes, führt zu der Annahme einer alternativen Reaktionsabfolge (vgl. Abb. 40). Wenn aufgrund mangelnder Reaktivität von C-5 des Eduktes zunächst die 6-Aminofunktion an der Carbonylgruppe des Benzochinons angreift, kommt es zur Bildung eines Chinonimin-zwischenprodukts. Vor der Cyclisierung ist die zukünftige Position 5 der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole nicht sterisch

benachteiligt, so dass eine 1,4-Additionsreaktion bzw. 5-Chlorierung eine wesentliche Steigerung der Reaktivität der Chinondoppelbindung gegenüber einem nucleophilen Angriff des Enamins bewirken kann. Es resultiert ein Ausgleich der fehlenden Reaktivität von C-5. Die ausschließliche Entstehung 5-chlorierter Tricyclen macht deutlich, dass der Cyclisierungsprozess durch die 5-Chlorierung wesentlich gefördert wird, obwohl die 7-Position gegenüber der Additionsreaktion äquivalent ist. Das beobachtete Verhalten ist von Interesse, da zuvor eine Adressierung der 5-Position nicht möglich war. Die synthetisierten Derivate **68\*** und **69\*** zeigen sich zusätzlich deutlich lipophiler im chromatographischen Verhalten, was v.a. auf den Verlust der basischen guanidinogenen Partialstruktur zurückzuführen ist.



**Abb. 40:** Hypothese zur Entstehung 5-chlorierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Zusammenfassend lassen sich für die NENITZESCU-Reaktion folgende Beobachtungen treffen: Die Reaktivität bzw. Elektronendichte an C-5 ist ein wichtiger aber nicht alleinig entscheidender Faktor für die Umsetzung und lässt sich durch 4-Substituenten deutlich beeinflussen. Die Reaktivität kann über  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopische Messungen abgeschätzt werden, jedoch nur solange, bis alternative Reaktionsmechanismen beteiligt sind. Je unreaktiver C-5 ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit für Beteiligung von Konkurrenzmechanismen. So finden im Grenzbereich um  $\delta_{\text{C-5}} = 77,0$  ppm wahrscheinlich Additionsphänomene statt, die sich vermeintlich auf den zuvor gebildeten Tricyclus mit ausbleibender Reduktion zum gewünschten Produkt beschränken. Hingegen findet vermutlich, wenn die Reaktivität von C-5 noch weiter sinkt und die chemische Verschiebung  $\delta_{\text{C-5}}$  über 81 ppm liegt, eine Umkehr der Reaktionsfolge statt, so dass es eingangs zum Angriff der primären 6-Aminofunktion gegenüber dem Chinon kommt. Im Weiteren können zusätzlich auftretende 1,4-Additionsphänomene bzw. 5-Chlorierungen die abschließende Cyclisierung begünstigen. Aus rein sterischer Sicht ist bei Umsetzung die 7-Position favorisiert für Substituenten

vor der 8-Position. Substitution der 5-Position findet i.d.R. nicht statt. Bei Abkehr vom regulären Reaktionsmechanismus geht auch die genannte Präferenz verloren.

### 3.3.4. Strukturbeleg 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

#### 3.3.4.1. <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen 4-benzylaminsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

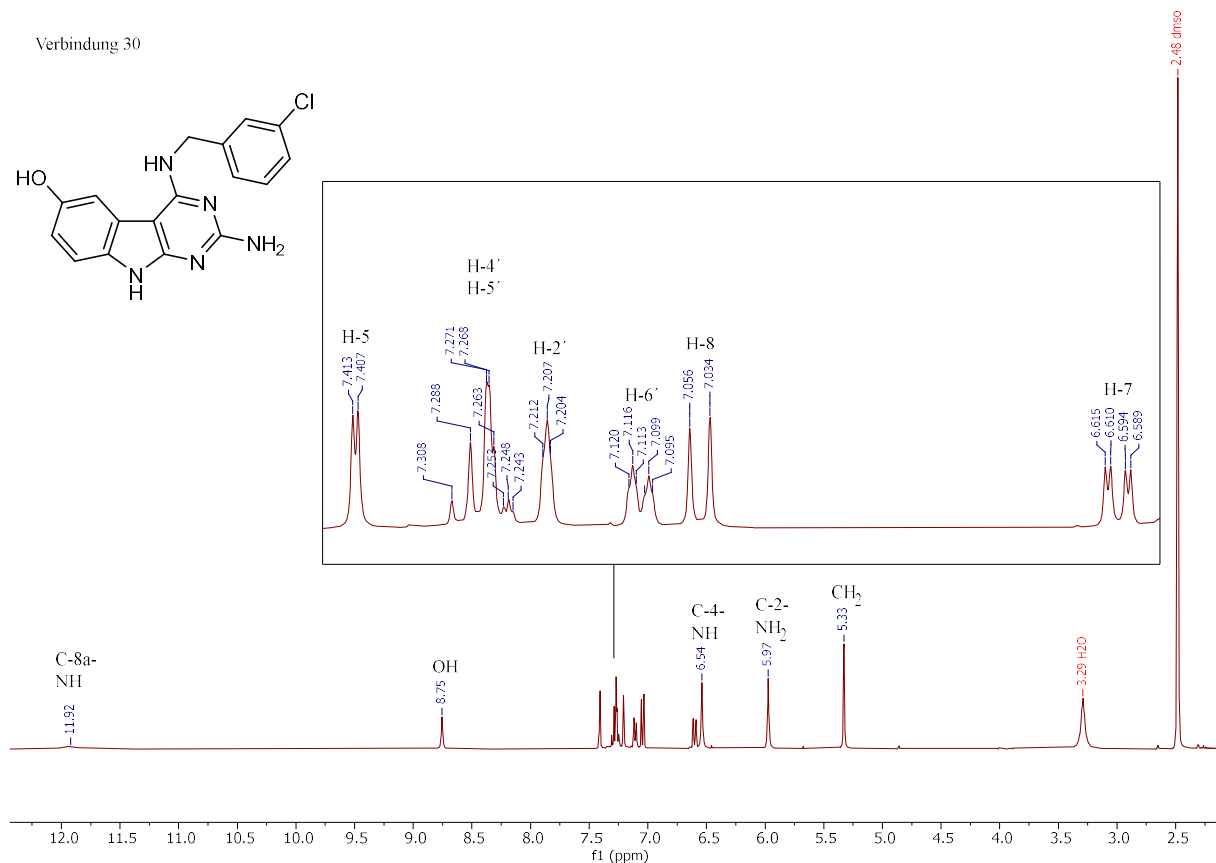
Die zusammenfassende Betrachtung der <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Verbindungen **22** - **41** dient dem Strukturnachweis bzw. der Erfassung eines generellen spektroskopischen Verhaltens der Substanzklasse. Daher wird auf die ausführliche Darstellung der Substituenten verzichtet. Diese und weitere Charakterisierungsmerkmale sind in den Einzelsubstanzdarstellungen hinterlegt. Tabelle 15 enthält entsprechende Signalstrukturen der 4-benzoanierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole. Das Signal der sekundären 9-Aminogruppe ist nicht in der Tabelle enthalten, erscheint aber konstant als breiter Peak mit einem Integral < 1 im Bereich von 11,87 - 11,97 ppm und ist stark vom Protonen-Deuteronen-Austausch betroffen. Das Signal der primären 2-Aminofunktion erscheint ebenfalls als breites Signal, ist aber im gewählten NMR-Lösungsmittel DMSO-d<sub>6</sub> kaum vom Protonen-Deuteronen-Austausch betroffen und ergibt ein Integral von ≈ 2. Das Resonanzsignal der aromatisch gebundenen 2-Aminogruppe befindet sich weiter im Hochfeld zwischen 5,81 - 6,08 ppm, welches sich auf die positiv mesomeren Eigenschaften bzw. den schirmenden Effekt der zwei benachbarten Stickstoffatome zurückführen lässt. Der Substituent in Position 4 des 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ols scheint kaum Einfluss auf die Lage des Resonanzsignals auszuüben. Ein geringfügig entschirmender Einfluss kommt 7-Halogensubstituenten aufgrund des Elektronenzuges zu, wie in den Verbindungen **25** und **26** zu beobachten ist. Die sekundären 4-Aminogruppen der gebundenen substituierten Benzylamine ergeben ebenfalls breite Resonanzsignale, welche in DMSO-d<sub>6</sub> kaum vom Protonen-Deuteronen-Austausch betroffen sind. Die Signale liegen, verglichen mit der primären 2-Aminofunktion, etwas weiter im Tieffeld zwischen 6,34 - 6,69 ppm, da ihnen nur der +M-Effekt von einem benachbarten Stickstoff zukommt. Exemplarisch für alle Verbindungen ohne zusätzliche Substitution (in Position 7 oder 8) sei Verbindung **30** genannt (vgl. Abb. 41). Alle Verbindungen dieser Art zeichnen sich dadurch aus, dass H-7 von allen kohlenstoffgebundenen Protonen am weitesten im Hochfeld erscheint. Das Resonanzsignal zeigt sich als charakteristisches Doppeldublett zwischen 6,46 - 6,63 ppm mit Kopplungskonstanten von <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,3 - 8,8 Hz, verursacht durch vicinale Kopplung zu H-8, und <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 1,7 - 2,4 Hz, resultierend aus der Fernkopplung (*long-range coupling*) mit H-5. H-7 liegt, aufgrund der schirmenden Wirkung der 6-Hydroxyfunktion und des vergleichsweise (zu H-5 und H-8) geringeren Elektronenzugs durch den anellierten Pyrrolopyrimidinring, von den betrachteten kohlenstoffgebundenen aromatischen Protonen-resonanzsignalen am weitesten im Hochfeld. Etwas weiter im Tieffeld aufgrund der größeren Distanz zur Hydroxyfunktion liegt das Resonanzsignal von H-8, welches im Gegenzug aber vom positiv mesomeren Effekt der *ortho*-ständigen sekundären Aminofunktion beeinflusst wird. Dementsprechend liefert H-8 im Bereich von 6,76 - 7,11 ppm ein Dublett mit Kopplungskonstanten im Bereich von <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,3 - 8,8 Hz, verursacht durch die Kopplung mit dem benachbarten H-7. Hier scheinen die verzweigt-kettigen 4-Benzylaminsubstituenten (Verbindung **38** und **40**) eine geringfügig verstärkte Abschirmung zu bewirken, während der längerkettige 4-Phenylethylaminsubstituent in Verbindung **41** leicht entschirmend wirkt.

Tabelle 15: Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 4-benzoanellierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole:

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm					
	Pos. 2 (NH <sub>2</sub> )	Pos. 4 (NH)	Pos. 5	Pos. 7	Pos. 8	Pos. 6 (OH)
<b>22</b>	5,94 (br)	6,51 (br)	7,40 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,58 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,3 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	7,01 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,3 Hz)	8,73 (br)
<b>23a</b>	5,90 (br)	6,37 (br)	7,33 (s)	-S-	6,98 (s)	8,45 (br)
<b>23b</b>	5,87 (br)	6,48 (br)	7,25 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 1,9 Hz)	6,33 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 1,9 Hz)	-S-	8,68 (br)
<b>24</b>	5,83 (br)	6,44 (br)	7,48 (s)	-S-	6,92 (s)	8,08 (br)
<b>25</b>	6,05 (br)	6,57 (br)	7,56 (s)	-S-	7,23 (s)	9,09 (br)
<b>26</b>	6,06 (br)	6,56 (br)	7,53 (s)	-S-	7,36 (s)	9,18 (br)
<b>28a</b>	5,92 (br)	6,38 (br)	7,32 (s)	-S-	6,94 (s)	8,43 (br)
<b>28b</b>	5,89 (br)	6,49 (br)	7,24 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,0 Hz)	6,33 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,0 Hz)	-S-	8,67 (br)
<b>29</b>	5,96 (br)	6,52 (br)	7,40 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,59 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	7,01 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	8,74 (br)
<b>29a</b>	5,98 (br)	6,48 (br)	7,34 (s)	-S-	6,97 (s)	8,48 (br)
<b>29b</b>	5,93 (br)	6,54 (br)	7,25 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz)	6,35 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	-S-	8,70 (br)
<b>30</b>	5,97 (br)	6,54 (br)	7,41 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,60 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	7,05 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	8,75 (br)
<b>31a</b>	5,94 (br)	6,42 (br)	7,35 (s)	-S-	7,00 (s)	8,49 (br)
<b>31b</b>	6,08 (br)	6,69 (br)	7,27 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 1,9 Hz)	6,37 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 1,9 Hz)	-S-	8,76 (br)
<b>32</b>	5,99 (br)	6,53 (br)	7,38 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,59 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,03 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	8,73 (br)
<b>33a</b>	5,90 (br)	6,34 (br)	7,31 (s)	-S-	6,97 (s)	8,42 (br)
<b>33b</b>	5,88 (br)	6,47 (br)	7,23 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz)	6,33 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	-S-	8,70 (br)
<b>34</b>	5,95 (br)	6,51 (br)	7,39 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,4 Hz)	6,59 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,4 Hz)	7,02 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	8,73 (br)
<b>35</b>	5,92 (br)	6,51 (br)	7,42 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz)	6,58 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	7,01 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,74 (br)
<b>36a</b>	5,88 (br)	6,37 (br)	7,35 (s)	-S-	6,88 (s)	8,45 (br)
<b>36b</b>	5,87 (br)	6,48 (br)	7,26 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz)	6,35 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	-S-	8,72 (br)
<b>37</b>	5,95 (br)	6,48 (br)	7,38 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,4 Hz)	6,60 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,4 Hz)	7,06 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,72 (br)
<b>38</b>	5,92 (br)	6,48 (br)	7,37 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,46 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	6,76 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,70 (br)
<b>39</b>	5,81 (br)	6,40 (br)	7,45 (s)	-S-	6,54 (s)	8,06 (br)
<b>40</b>	5,92 (br)	6,48 (br)	7,37 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,46 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	6,76 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	8,70 (br)
<b>41</b>	6,00 (br)	6,53 (br)	7,38 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,63 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,11 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,4 Hz)	8,73 (br)

-S- gebundener Substituent; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 10



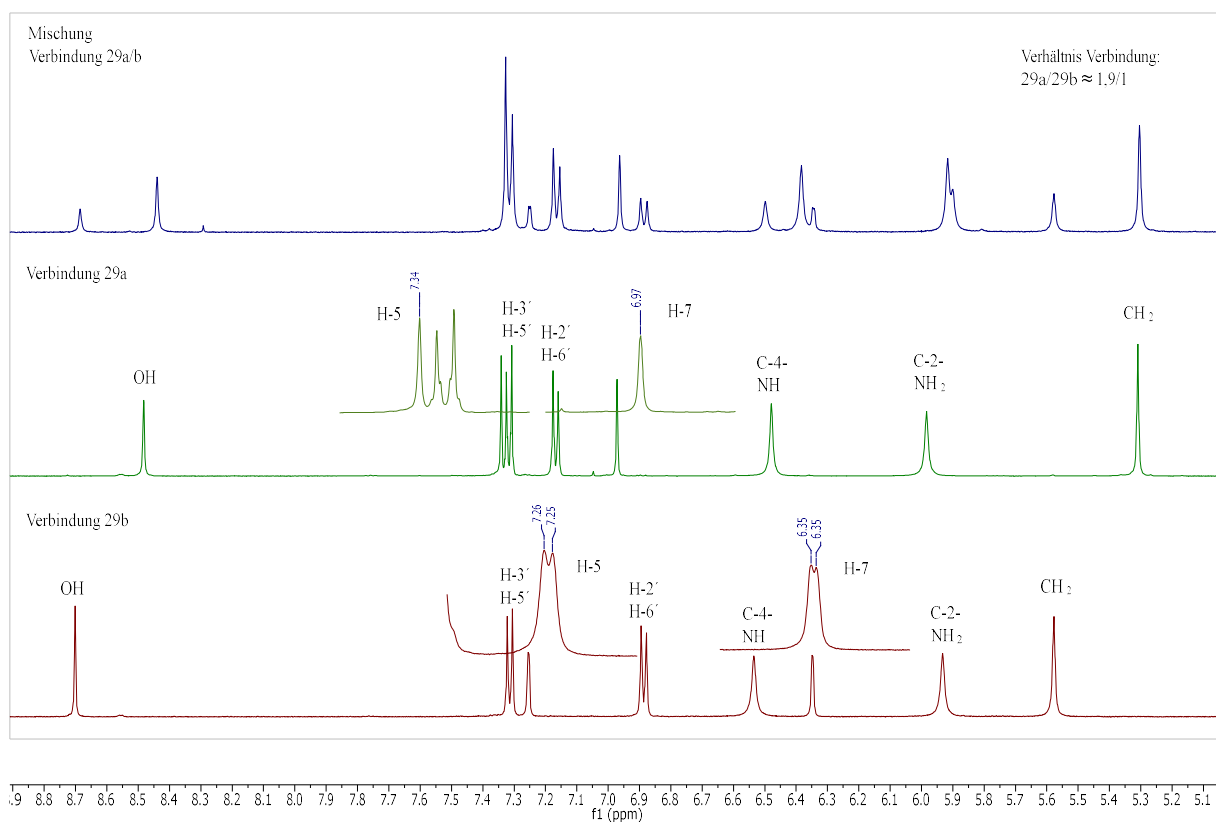


**Abb. 41:** Beispielspektrum für 4-benzoaniellierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung 30)

Durch Fernkopplung mit H-7 erscheint das Signal für H-5 als Dublett mit einer Kopplungskonstante von  $^4J_{5/7} = 1,7 - 2,4$  Hz am weitesten im Tieffeld zwischen 7,37 - 7,42 ppm. Die 6-Hydroxyfunktion liefert ohne benachbarte Substituenten konstant breite Resonanzsignale zwischen 8,70 - 8,75 ppm, welche ebenfalls vom Protonen-Deuteronen-Austausch betroffen sind. Das Integral der Signale ist häufig  $< 1$ .

Bei Auftreten von Substituenten in Position 7 oder 8 des 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ols durch Verwendung 2-substituierter 1,4-Benzochinone als Edukte verändern sich die Signalstrukturen maßgeblich. Ist ein 7-Substituent vorhanden, verlieren sowohl H-5 als auch H-8 den Kopplungspartner ihrer Resonanzsignale. Es resultieren jeweils Singulettensignale für beide Protonen im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (vgl. Abb. 42 Verbindung **29a**). In Abhängigkeit des 7-Substituenten verändert sich auch die chemische Verschiebung der Resonanzsignale der umgebenden Molekülbestandteile. Bei 7-Methylsubstitution (z.B. Verbindung **23a**) erscheinen die Signale für H-5 im Bereich von 7,31 - 7,35 ppm, wohingegen elektronenziehende Substituenten wie die 7-Methoxygruppen (Verbindung **24** und **39**) oder die 7-Chlorofunktion (Verbindung **25**) eine Entschirmung bzw. Tieffeldverschiebung zu 7,45 - 7,56 ppm bewirken. Bei der direkt benachbarten 6-Hydroxyfunktion verursachen sowohl 7-Methyl- als auch besonders 7-Methoxygruppe verstärkte Abschirmung bzw. Hochfeldverschiebung aufgrund der eigenen Elektronenhüllen. Währenddessen bewirken 7-Chloro- und 7-Bromofunktion eine Entschirmung des Hydroxysignals durch Elektronenzug, indiziert durch Signale bei 9,09 bzw. 9,19 ppm. Vermeintlich ist das Hydroxysignal des 7-Chloroderivats weniger tieffeldverschoben, da der Effekt der Chlorelektronenhülle diesem partiell entgegenwirkt. Ähnliche Tendenzen lassen sich

für die Beeinflussung des Resonanzsignals von H-8 durch 7-Substitution festhalten. 7-Methyl- und 7-Methoxygruppen wirken leicht schirmend, während 7-Chloro- und 7-Bromofunktionen eine Entschirmung bzw. Tieffeldverschiebung auslösen.



**Abb. 42:** Darstellung Spektren 7-Methyl- bzw. 8-Methyl-2-amino-4-((4-chlorobenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (**29a** und **b**) und der ungetrennten Substanzmischung (stacked)

Für die 8-substituierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole ergeben sich wiederum andere Signalstrukturen, so dass diese von ihren Stellungsisomeren zu unterscheiden sind. Die unterschiedlichen Spektren und die klare Identifikation nach Trennung der 7- und 8-methylsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole ist in Abb. 42 anhand der Verbindungsbeispiele **29a** und **b** belegt. Zusätzlich zeigt die Abbildung das Spektrum der Mischung **29a/b**. Wie zu erwarten, verbleiben bei 8-methylsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-olen noch H-5 und H-7 als kohlenstoffgebundene Protonenresonanzsignale des Grundkörpers (vgl. Abb. 42 Verbindung **29b**). Es resultieren Fernkopplungen mit Kopplungskonstanten  $^4J_{5/7} = 1,9 - 2,1$  Hz und zugehörige Dublettsignale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum. Die Dubletts für H-5 liegen bei einer chemischen Verschiebung von 7,23 - 7,27 ppm, während die Resonanzsignale von H-7 sich weiter im Hochfeld bei 6,33 - 6,37 ppm befinden.

### 3.3.4.2. $^1\text{H-NMR}$ -Untersuchungen 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubst. 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Die 4-anilinoanellierten und auch die 4-benzyloxyanilinoanellierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole verhalten sich im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum aufgrund ihrer hohen Strukturanalogie nahezu identisch zu

den zuvor ausgewerteten 4-benzylaminanellierten Verbindungen. Deshalb soll anhand einer Auswahl an Verbindungen (vgl. Tabelle 16) nur eine zusammenfassende Betrachtung dieser Substanzgruppen durchgeführt werden.

**Tabelle 16:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 4-anilinoanellierter bzw. 4-benzyloxyanilinoanellierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

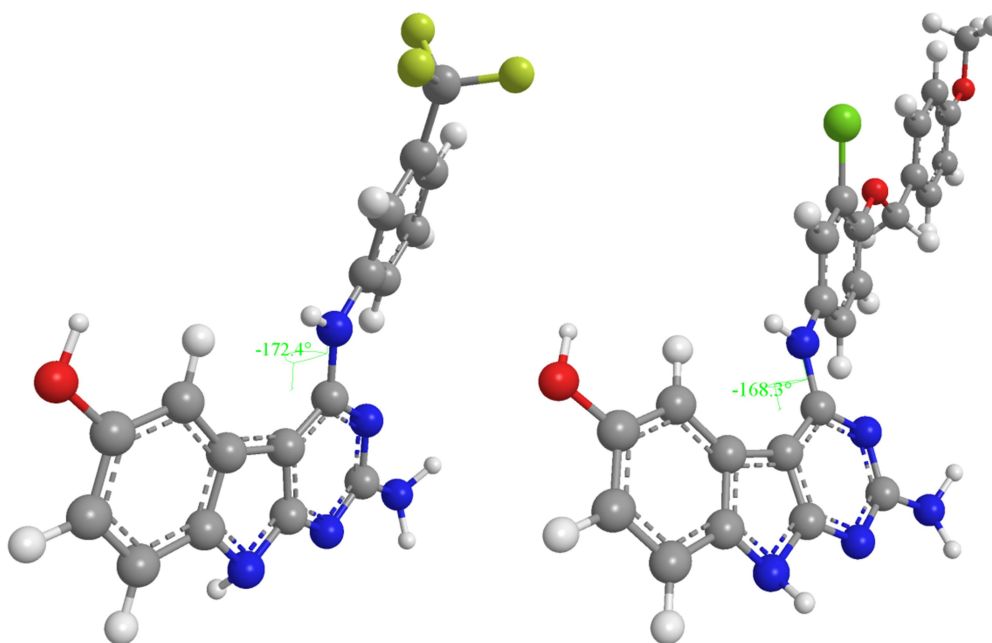
Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm						
Verb.	Pos. 2 (NH <sub>2</sub> )	Pos. 4 (NH)	Pos. 5	Pos. 7	Pos. 8	Pos. 6 (OH)
44	6,03 (br)	6,68 (br)	7,45 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,4 Hz)	6,62 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,4 Hz)	6,84 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,85 (br)
45	5,93 (br)	6,56 (br)	7,44 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,63 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	7,04 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,86 (br)
46a	6,01 (br)	6,68 (br)	7,49 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,66 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,09 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	8,96 (br)
46b	6,11 (br)	6,73 (br)	7,64 (s)	-S-	7,19 (s)	9,35 (br)
47a	5,97 (br)	6,65 (br)	7,48 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,66 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	6,96 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	8,92 (br)
47b	6,08 (br)	6,70 (br)	7,64 (s)	-S-	7,02 (s)	9,30 (br)
55	5,89 (br)	6,54 (br)	7,44 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,61 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	6,84 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	8,82 (br)
56	5,93 (br)	6,55 (br)	7,46 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,61 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	6,97 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	8,87 (br)
62	5,90 (br)	6,54 (br)	7,44 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,62 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	6,82 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,81 (br)
65	5,95 (br)	6,57 (br)	7,44 (s)	6,63 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	6,86 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz)	8,85 (br)

-S- gebundener Substituent; Atomnummerierung entsprechend Tabellen 12-13

Die jeweiligen 4-Substituenten werden in den Einzelcharakterisierungen der Verbindungen dargelegt. Bei nicht vorhandener 7-Substitution ergeben die drei kohlenstoffgebundenen Protonen des Grundkörpers die gleichen Resonanzmuster wie bei der zuvor beleuchteten Verbindungsklasse. H-5 erscheint als Dublett mit einer Kopplungskonstante von <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 - 2,4 Hz, beruhend auf der Fernkopplung zu H-7, im Bereich von 7,44 - 7,49 ppm. Aufgrund des Elektronenzugs des anellierten Pyrrolopyrimidinrings ist es, bezogen auf die drei genannten Protonenresonanzsignale, am weitesten tieffeldverschoben. Am zweitstärksten entschirmt ist das Signal von H-8, da der zuvor genannte Effekt zumindest partiell durch den +M-Effekt der *ortho*-ständigen sekundären Aminfunktion begrenzt wird. Das Resonanzsignal liegt zwischen 6,82 - 7,09 ppm. Aufgrund der vicinalen Kopplung mit H-7 erscheint es als Dublett mit einer Kopplungskonstante von <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 - 8,8 Hz. Infolge der beiden Kopplungen zu H-5 und H-8 erscheint das Resonanzsignal von H-7 als Doppeldublett im Bereich von 6,61 - 6,66 ppm mit Kopplungskonstanten von <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 - 8,8 Hz und <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 - 2,4 Hz. Das Signal ist verhältnismäßig weit ins Hochfeld verschoben, da der Elektronenzug des anellierten Pyrrolopyrimidinrings weiter entfernt liegt und zusätzlich die *ortho*-ständige 6-Hydroxyfunktion

weitere Schirmung bewirkt. Die direkte Verknüpfung der substituierten Aniline bzw. Benzyloxyaniline ohne zusätzlichen Methylenlinker beeinflusst die Lage der Protonenresonanzsignale des Grundkörpers nur unwesentlich, da v.a. der positiv mesomere Effekt der sekundären 4-Aminofunktion zum Tragen kommt und nicht induktive bzw. mesomere Effekte der Anilin- und Benzyloxyanilinsubstituenten. So verschieben sich die breiten Signale der sekundären 4-Aminofunktion noch am deutlichsten um ca. 0,05 - 0,10 ppm ins Tieffeld in einen Bereich von 6,54 - 6,68 ppm. Die distanzierteren Molekülbestandteile bzw. deren Signale im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum sind nahezu identisch mit der zuvor beleuchteten 4-benzylaminosubstituierten Verbindungsklasse. Die 2-Aminogruppe liefert Signale bei 5,89 - 6,03 ppm. Die breiten Signale der 6-Hydroxyfunktion verschieben sich leicht ins Tieffeld zu 8,81 - 8,96 ppm.

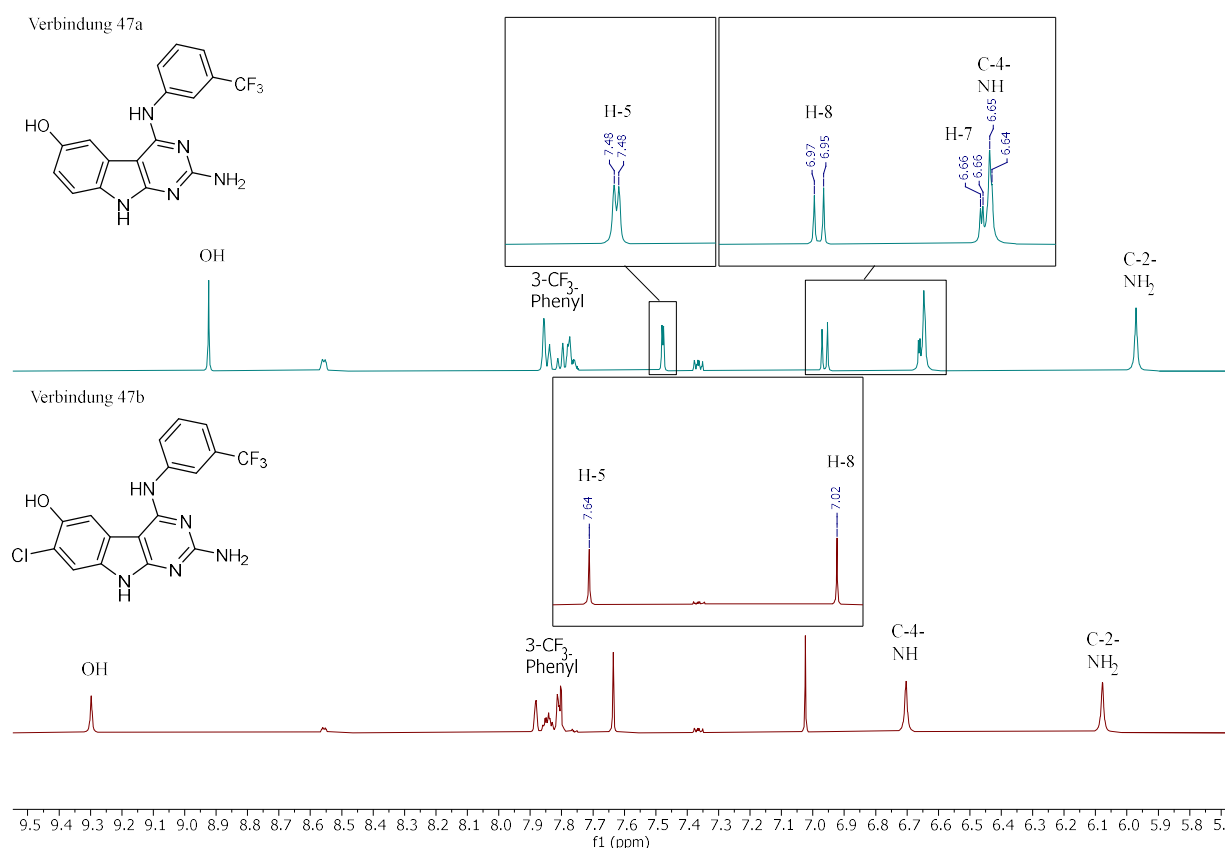
Räumliche Effekte, wie etwa die Beeinflussung der Lage der Resonanzsignale des Grundkörpers durch die Aromatensekundärfelder der 4-substituierten Aniline oder Benzyloxyaniline, finden nicht statt. Aufgrund des sterischen Anspruchs orientieren sich die 4-Substituenten möglichst fern vom tricyclischen Grundkörper. Energieminimierte Modelle nach MMFF94-Kraftfeldmethode (durchgeführt mit ChemBio3D Ultra Version 13.0) belegen einen Torsionswinkel von  $172,4^\circ$  für Verbindung **47a** und  $168,3^\circ$  für Verbindung **65**. Damit orientieren sich die 4-Substituenten in nahezu maximaler Entfernung zum tricyclischen Grundkörper (vgl. Abb. 43).



**Abb. 43:** Energieminimierte Modelle nach MMFF94-Kraftfeldmethode von **47a** und **65** - Torsionswinkel  $-172,4^\circ$  und  $-168,3^\circ$  (v.l.n.r.)

Die zunächst als Nebenprodukte eingestuft Verbindungen **46b** und **47b** besitzen jeweils zusätzliche 7-Chlorderivatisierung, verglichen mit ihren Analoga **46a** und **47a**. Durch den gebundenen Substituenten entfallen die Kopplungsmöglichkeiten für H-5 und H-8. Es ergeben sich Singulett für beide Resonanzsignale. H-5 erfährt durch den Elektronenzug des Chloratoms eine Entschirmung zu jeweils 7,64 ppm chemischer Verschiebung. Die Resonanzsignale für H-8 werden durch die *ortho*-ständige Chlorfunktion sowohl durch den Elektronenzug als auch durch die schirmende Wirkung der Elektronenhülle des Halogens beeinflusst. Es ergibt sich netto eine Tieffeldverschiebung von rund

0,1 ppm zu Resonanzsignalen bei 7,19 ppm bzw. 7,02 ppm. Eine vergleichsweise starke Verschiebung der Resonanz ergibt sich durch die zusätzliche Chlorfunktion für die benachbarte 6-Hydroxygruppe. Durch zusätzliche Möglichkeit einer intramolekularen Wasserstoffbrückenbindung verschiebt sich das breite 6-Hydroxysignal um rund 0,4 ppm ins Tieffeld. Abb. 44 zeigt die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren der Verbindung **47a** und des zugehörigen Nebenprodukts **47b** im Vergleich und belegt anhand der veränderten Kopplungsmuster die zusätzliche 7-Chlorierung.



**Abb. 44:** Darstellung Spektren 7-unsubstituiertes und 7-chlorsubstituiertes 2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (**47a** und **47b** stacked)

### 3.3.4.3. <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole mit alternativer 2-Substitution

Der Strukturbeleg der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole mit modifizierter 2-Substitution soll anhand der Daten in Tabelle 17 erfolgen. Wie zuvor wird darauf verwiesen, dass die komplette Darstellung der Resonanzsignale in den Einzelcharakterisierungen der Substanzen erfolgt. Die 2-alkylaminosubstituierten Derivate **66** und **67** sind den zuvor betrachteten tricyclischen Verbindungen am ähnlichsten, so dass die geringsten Abweichungen im spektroskopischen Verhalten zu erwarten sind. So bleiben die kohlenstoffgebundenen Protonen des Grundkörpers in ihrer Signalstruktur größtenteils erhalten. H-5 erscheint in beiden Verbindungen als tieffeldverschobenes Dublett mit einer Kopplungskonstante von  $^4J_{5/7} = 2,1 - 2,2$  Hz bei 7,45 bzw. 7,47 ppm und ist damit nahezu unverändert. H-7 erscheint als Doppeldublett bei einer chemischen Verschiebung von rund

6,66 ppm mit Kopplungskonstanten von  ${}^3J_{7/8} = 8,5 - 8,7$  Hz und  ${}^4J_{7/5} = 2,1 - 2,2$  Hz und zeigt damit ebenfalls keine Beeinflussung durch die veränderte 2-Substitution. H-8 hingegen unterliegt einer leichten Tieffeldverschiebung zu 7,05 bzw. 7,10 ppm. Des Weiteren ist in beiden Verbindungen das Resonanzsignal nur als breites Signal ohne erkennbare Kopplung zu detektieren. Die zusätzliche 2-Alkylierung führt anscheinend zu stärkerer Einbindung von H-8 ins mesomere System, so dass es sich durch Vinylogie ähnlich einem stickstoffgebundenen Proton verhält. Ein ähnliches Phänomen ist für die Signale von H-6' in Verbindung **66** und H-2' in Verbindung **67** zu beobachten. Die Signale der sekundären 4-Aminogruppe bleiben als breite Signale im Bereich von 6,61 - 6,65 ppm erhalten und erfahren, ebenso wie das breite 6-Hydroxysignal bei rund 8,92 ppm, keine Veränderung. Aufgrund der zusätzlichen N-Alkylierung zu einem sekundären Amin verändert sich das Resonanzsignal der 2-Aminogruppe deutlich. Es wird zu 6,48 - 6,60 ppm tieffeldverschoben, was mit der beschriebenen stärkeren Delokalisierung der Elektronen der Aminofunktion einhergeht. Zusätzlich ist in Verbindung **66** durch Kopplung ( ${}^3J_{\text{NH/CH}_2} = 5,7$  Hz) mit den Protonen der benachbarten Methylengruppe eine Aufspaltung des 2-Aminoresonanzsignals zu einem Triplett zu beobachten.

**Tabelle 17:** Darstellung charakteristischer Daten  ${}^1\text{H-NMR}$ -Spektren 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole mit modifizierter 2-Substitution

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm					
	Pos 2	Pos. 4 (NH)	Pos. 5	Pos. 7	Pos. 8	Pos. 6 (OH)
<b>66</b>	6,50 (t br, ${}^3J_{\text{NH/CH}_2} = 5,7$ Hz)	6,61 (br)	7,45 (d, ${}^4J_{5/7} = 2,2$ Hz)	6,65 (dd, ${}^3J_{7/8} = 8,7$ Hz ${}^4J_{7/5} = 2,2$ Hz)	7,05 (br)	8,90 (br)
<b>67</b>	6,48 (br)	6,65 (br)	7,47 (d, ${}^4J_{5/7} = 2,1$ Hz)	6,67 (dd, ${}^3J_{7/8} = 8,5$ Hz ${}^4J_{7/5} = 2,1$ Hz)	7,10 (br)	8,94 (br)
<b>68*</b>	-S-	-	-S-	7,04 (d, ${}^3J_{7/8} = 8,8$ Hz)	7,18 (d, ${}^3J_{8/7} = 8,8$ Hz)	9,98 (br)
<b>69*</b>	-S-	-	-S-	7,03 (d, ${}^3J_{7/8} = 8,7$ Hz)	7,14 (d, ${}^3J_{8/7} = 8,7$ Hz)	9,96 (br)
<b>70</b>	9,45 (s)	6,09 (br)	6,83 (d, ${}^4J_{5/7} = 2,2$ Hz)	6,69 (dd, ${}^3J_{7/8} = 8,7$ Hz ${}^4J_{7/5} = 2,2$ Hz)	7,92 (d, ${}^3J_{8/7} = 8,7$ Hz)	8,08 (br)
<b>71</b>	9,48 (s)	6,61 (br)	6,91 (d, ${}^4J_{5/7} = 2,2$ Hz)	6,72 (dd, ${}^3J_{7/8} = 8,8$ Hz ${}^4J_{7/5} = 2,2$ Hz)	7,99 (d, ${}^3J_{8/7} = 8,8$ Hz)	9,65 (br)
<b>72</b>	9,45 (s)	6,32 (br)	6,84 (d, ${}^4J_{5/7} = 2,1$ Hz)	6,65 (dd, ${}^3J_{7/8} = 8,8$ Hz ${}^4J_{7/5} = 2,1$ Hz)	7,91 (d, ${}^3J_{8/7} = 8,8$ Hz)	9,04 (br)

-S- gebundener Substituent; - kein Signal im Spektrum; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 14

Die 2-thioetherderivatisierten Verbindungen **68\*** und **69\*** tragen, aufgrund der ausschließlichen Bildung in einer ungeplanten Nebenreaktion, zusätzlich jeweils 5-Chlorsubstituenten. Das Resonanzsignal von H-7 wird durch den zusätzlichen Elektronenzug des *meta*-ständigen Chlorsubstituenten tieffeldverschoben zu rund 7,04 ppm und erscheint aufgrund der vicinalen Kopplung ( ${}^3J_{7/8} = 8,7 - 8,8$  Hz) als Dublett. Das Signal von H-8 erfährt durch die größere Distanz zum 5-Chlorsubstituenten nur eine leichte Entschirmung und resultiert als Dublett bei 7,14 - 7,18 ppm chemischer Verschiebung. Das breite 6-Hydroxysignal wird aufgrund der direkten Nachbarschaft des

5-Chloratoms und dessen Elektronenzugs stark entschirmt und zu rund 10 ppm tieffeldverschoben. Weiterhin sorgt der 5-Chlorsubstituent im Molekül dafür, dass die sekundäre 4-Aminofunktion an Acidität gewinnt und damit einem schnelleren Protonen-Deuteronen-Austausch unterliegt. Deshalb ist die 4-Aminogruppe für die Verbindungen **68\*** und **69\*** nicht detektierbar.

Die Verbindungen **70** - **72** unterliegen den scheinbar größten Änderungen des tricyclischen Systems, da aufgrund der fehlenden 2-Substitution keine +M-Effekte mehr wirken. Daher kommt es zu einer Verschiebung der Signalanordnung der drei kohlenstoffgebundenen Protonen des Grundkörpers (vgl. Abb. 45). H-7 besitzt die größte Abschirmung und liefert aufgrund der vicinalen Kopplung zu H-8 ( $^3J_{7/8} = 8,7 - 8,8$  Hz) und der Fernkopplung zu H-5 ( $^4J_{7/5} = 2,1 - 2,2$  Hz) ein Doppeldublett bei 6,65 - 6,72 ppm. H-8 erfährt wegen des fehlenden positiv mesomeren Effekts eine deutliche Tieffeldverschiebung um ca. 1,0 ppm zu 7,91 - 7,99 ppm. Das Resonanzsignal zeigt sich als Dublett als Folge der benannten Kopplung zu H-7. H-5 wiederum ist durch Veränderung der elektronischen Struktur deutlich stärker geschirmt und die chemische Verschiebung sinkt um ca. 0,5 ppm auf 6,83 - 6,91 ppm. Das Signal erscheint als Dublett mit geringer Kopplungskonstante ( $^4J_{5/7} = 2,1 - 2,2$  Hz) aufgrund der Fernkopplung zu H-7. Als zusätzliches Resonanzsignal ergibt sich ein Singulett für H-2, da diese Position für die betrachteten Derivate unsubstituiert ist. H-2 ist, bedingt durch die direkte Nachbarschaft von 2 basischen elektronenziehenden Amidgruppen, stark entschirmt und liegt bei 9,45 - 9,48 ppm.

Verbindung 70

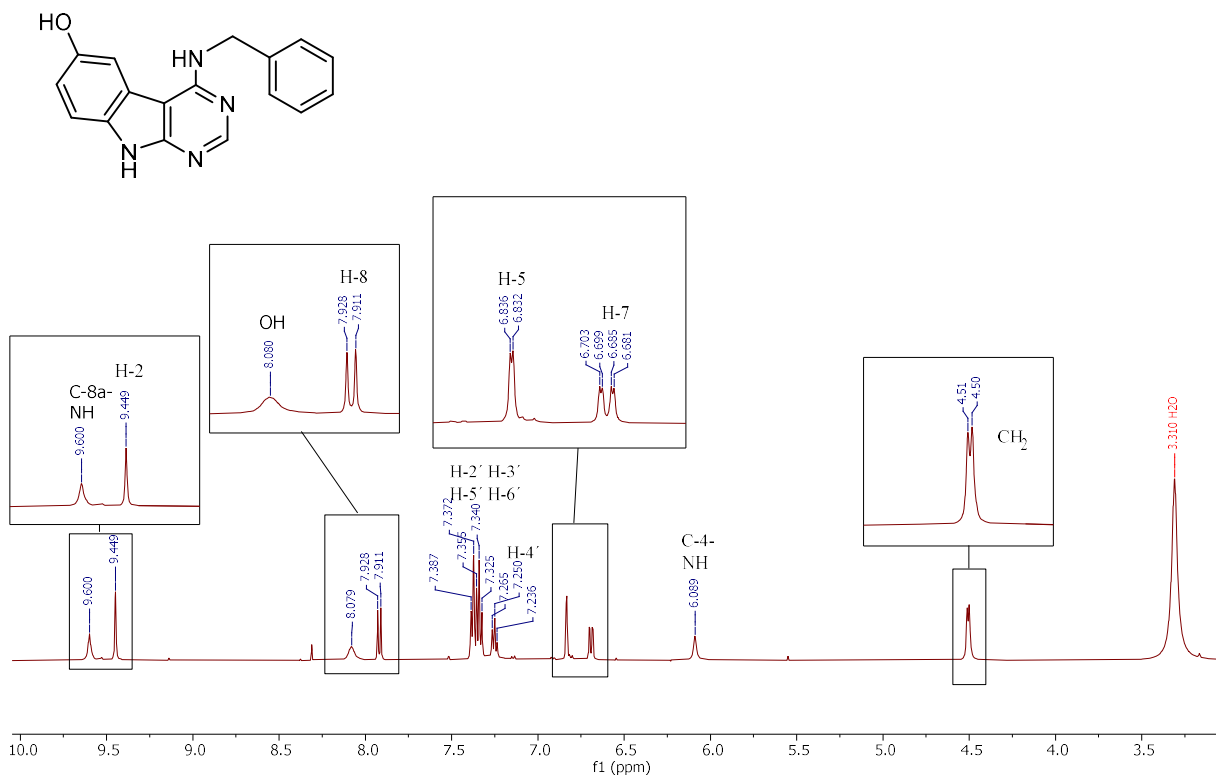


Abb. 45: Beispielspektrum für 2-unsubstituierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung 70)

### 3.3.4.4. <sup>13</sup>C-NMR-Untersuchungen 4-benzylaminsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Zusätzlich zu den <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Daten wurden auch <sup>13</sup>C-NMR-spektroskopische Messungen zum Strukturnachweis für eine Reihe von Verbindungen durchgeführt. Tabelle 18 enthält die gesammelten Resonanzsignale des tricyclischen Grundkörpers der 4-benzoanellierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole. Die Auswahl der Signale beschränkt sich auf den Grundkörper, da die Resonanzen der Substituenten äußerst divers und in den entsprechenden Einzelstoffbeschreibungen dargelegt sind. Die Signalzuordnung neben denen der 4-Substituenten wird u.a. durch die hohe Konstanz der erhaltenen Werte ermöglicht. Zusätzlich wurde für Verbindung **29a** ein HSQC-Spektrum erfasst, um über Korrelation von Protonen- zu Kohlenstoffresonanzsignalen zusätzliche Zuordnungssicherheit zu gewinnen (vgl. Abb. 46).

**Tabelle 18:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>13</sup>C-NMR-Spektren 4-benzoanellierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

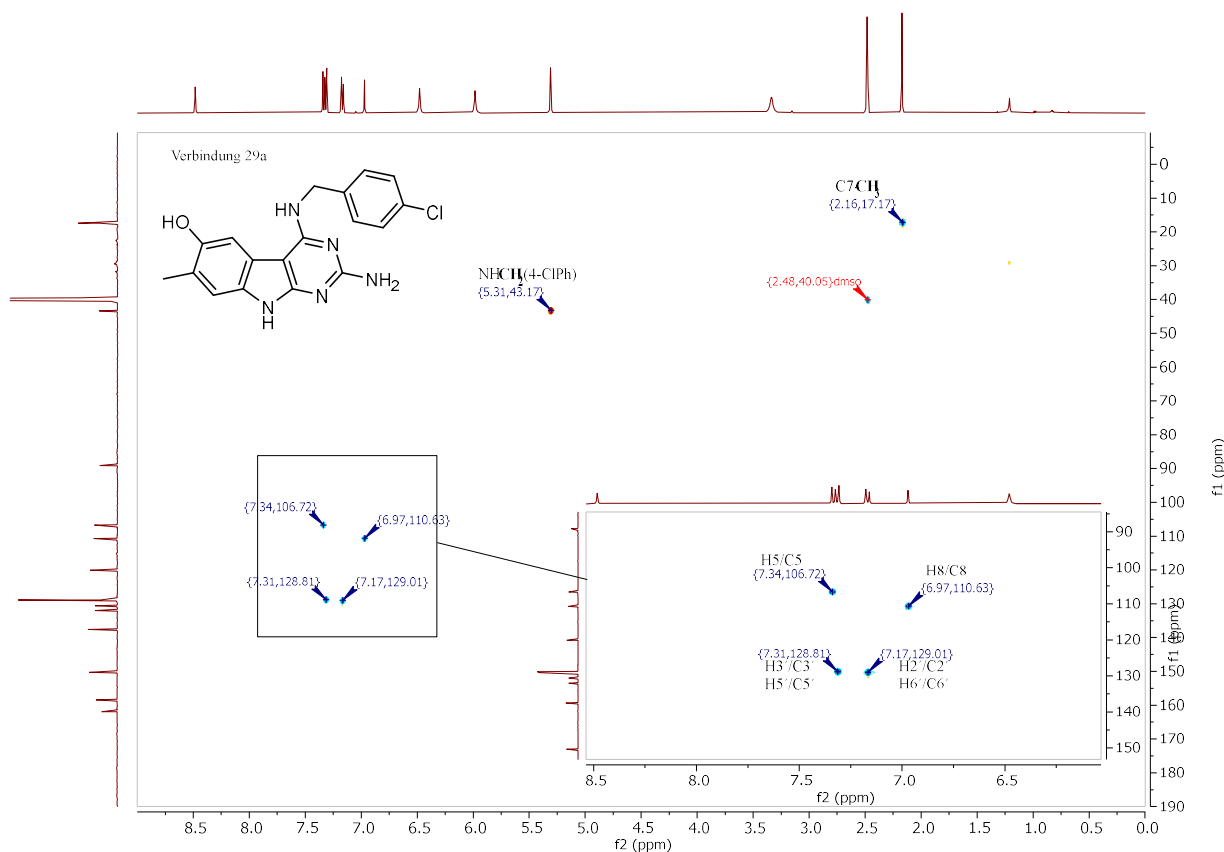
Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm								
	C-2	C-4 C-9a	C-4a	C-4b	C-5	C-6	C-7	C-8	C-8a
<b>23a</b>	162,00	158,48 158,59	89,10	119,93* 120,06*	106,72	150,17	119,93* 120,06*	110,74	130,75
<b>23b</b>	162,14	158,84 159,52	89,14	120,41	104,21	151,96	114,12	123,56	129,96
<b>24</b>	161,59	158,19 158,22	89,10	114,51	107,25	141,88	145,26	94,95	130,48
<b>25</b>	162,55	158,92 159,29	88,64	121,41	108,31	147,37	115,62	109,96	131,04
<b>26</b>	162,61	159,00 159,25	88,66	122,07	105,10	148,23	108,05	112,74	131,50
<b>28a</b>	161,94	158,44 158,54	89,08	119,90* 120,05*	106,66	150,15	119,90* 120,05*	110,81	130,75
<b>28b</b>	162,03	158,73 159,49	89,13	120,47	104,17	151,95	114,13	123,52	129,02
<b>29a</b>	161,88	158,37 158,49	89,10	120,07* 120,09*	106,72	150,30	120,07* 120,09*	110,72	130,56
<b>29b</b>	162,01	158,72 159,41	89,13	120,38	104,25	152,09	114,20	123,61	128,76
<b>31a</b>	162,10	158,42 158,69	89,12	120,05* 120,09*	106,76	150,05	120,05* 120,09*	110,63	130,83
<b>41</b>	161,59	158,21 158,31	88,95	122,32	106,38	152,08	110,74	109,30	130,59

\* aufgrund Signalnähe eindeutige Zuordnung nicht möglich, pro forma Zuordnung jeweils beiden möglichen Kohlenstoffen; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 10

Als Teil der guanidinogenen Partialstruktur besitzt C-2 direkte Verbindung zu drei Stickstoffatomen und dem damit verbundenen Elektronenzug, ist deshalb stark entschirmt und hat wenig



Elektronendichte. Daraus resultiert Tieffeldverschiebung des Resonanzsignals zu rund 162 ppm. Im Wesentlichen durch den gleichen Effekt als Teil von amidinogenen Partialstrukturen sind C-4 und C-9a von jeweils 2 Stickstoffatomen umgeben, welches ebenfalls in verhältnismäßig starker Entschirmung und Resonanzsignalen im Bereich von 158 - 160 ppm resultiert. Aufgrund relativ ähnlicher chemischer Verschiebungen ist eine eindeutige Signalzuweisung nicht möglich, jedoch können die beiden Kohlenstoffatome den jeweils zwei Signalen im Tieffeld sicher zugeordnet werden. C-4a befindet sich näher zum Zentrum des tricyclischen Systems und wird durch das Sekundärfeld des Ringstromeffekts geschirmt. Weiterhin für erhöhte Elektronendichte sorgt der +M-Effekt der *ortho*-ständigen Aminfunktion, so dass sich aufgrund der starken Schirmung ein Resonanzsignal bei rund 89 ppm ergibt. Die hochsubstituierten Nachbarkohlenstoffatome C-4 und C-9a bewirken ebenfalls Abschirmung. Das Kohlenstoffatom C-4b ist analog vergleichsweise stark durch die hochsubstituierten benachbarten Kohlenstoffatome C-4a und C-8a geschirmt, jedoch verursacht die *ortho*-ständige sekundäre Aminfunktion und die *meta*-ständige Hydroxygruppe jeweils Elektronenzug und somit gegenläufige Entschirmung. Die Resonanzsignale von C-4b liegen bei ca. 119 - 120,5 ppm. Die 7-methoxysubstituierte Verbindung **24** zeigt zusätzliche Schirmung von C-4b und einen Signalshift zu 114,51 ppm.



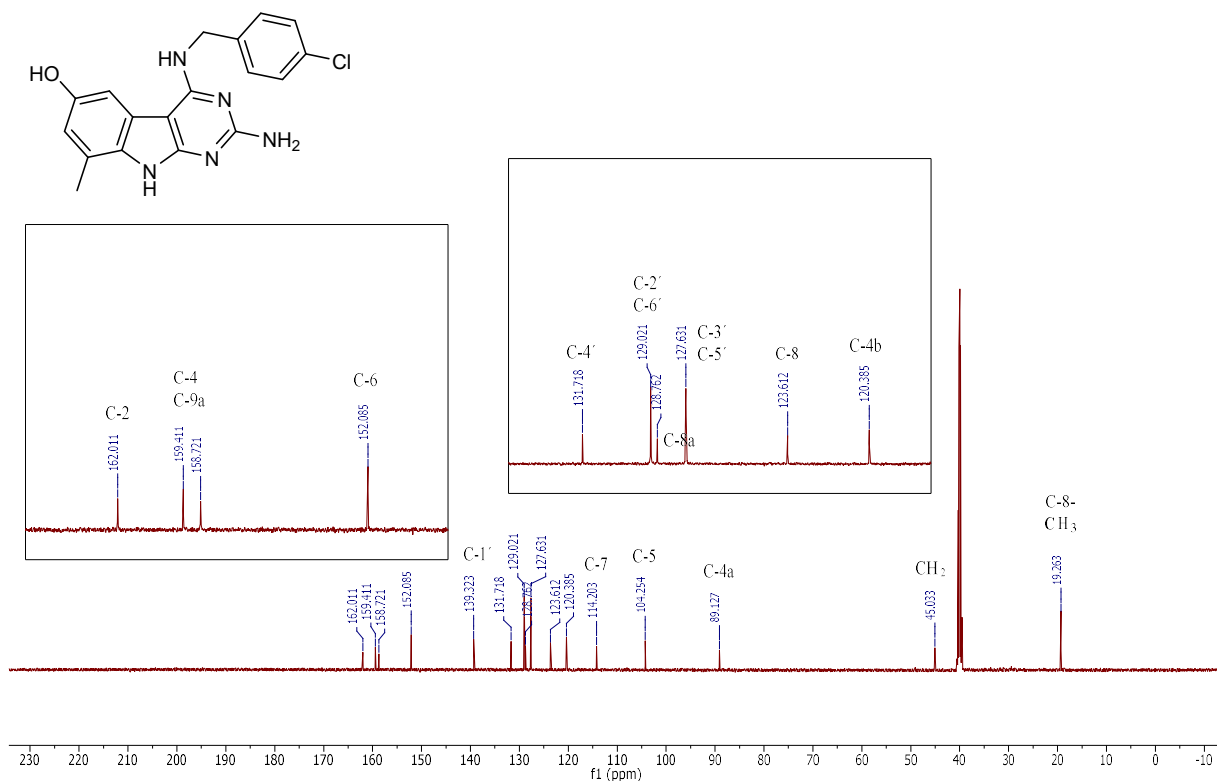
**Abb. 46:** <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C-HSQC-Korrelationspektrum 4-benzylaminsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung **29a**)

Die Signale für C-5 sind i.d.R. vergleichsweise stark geschirmt durch die *ortho*-ständige 6-Hydroxyfunktion bzw. deren +M-Effekt und die schirmende Elektronenhülle. Das Resonanzsignal liegt zwischen 104 - 108 ppm. Die 7-methylsubstituierten Verbindungen **23a**, **28a**, **29a** und **31a** zeigen jeweils leichte Entschirmung für C-5, damit kann das Resonanzsignal bei 106,72 ppm der

Verbindung **29a** dem Singulett bei 7,34 ppm im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zugeordnet werden. Bei elektronenziehender 7-Methoxy- und 7-Chlorsubstitution in den Verbindungen **24** und **25** resultiert ein stärkerer Tieffeldshift zu 107,25 bzw. 108,31 ppm. Der Kohlenstoff C-6 ist durch die substituierte Hydroxyfunktion stark tieffeldverschoben zu rund 150 - 152 ppm. Die *ortho*-ständigen 7-Methoxy-, 7-Chloro- und 7-Bromofunktionen in Verbindung **24** - **26** bewirken durch jeweiligen +M-Effekt und die eigene Elektronenhülle eine verstärkte Abschirmung und damit Hochfeldverschiebung. Eine 7-Methylsubstitution bewirkt aufgrund des +I-Effekts ebenfalls eine leichte Hochfeldverschiebung für C-6, wie in den Verbindungen **23a**, **28a** und **29a** zu beobachten ist. Das Grundresonanzsignal für C-7 in 7-unsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen liegt bei rund 114 ppm. Eine direkte Verbindung zu einem 7-Methylsubstituenten erzeugt eine Entschirmung des Signals auf ca. 120 ppm. Größere Substituenten mit großer Elektronenhülle wie 7-Brom in Verbindung **26** schaffen eine Abschirmung und das Resonanzsignal verschiebt sich ins Hochfeld zu 108,05 ppm. Beim 7-Methoxyderivat **24** ist der Elektronenzug der dominierende Faktor und es kommt zur Tieffeldverschiebung für C-7 zu 145,26 ppm. C-8 verhält sich im Grunde sehr ähnlich zu C-7. Bei fehlender Substitution liegt das Resonanzsignal bei etwa 110 ppm aufgrund der Nachbarschaft zum hochsubstituierten und schirmenden C-8a. So kann das Signal bei 110,63 ppm der Verbindung **29a** dem Singulett von H-8 bei 6,97 ppm im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum zugeordnet werden. Eine 8-Methylderivatisierung (Verbindungen **23b**, **28b** und **29b**) wirkt deutlich entschirmend und das Signal verschiebt sich ins Tieffeld zu etwa 123 - 124 ppm. Die *ortho*-ständige Substitution mit Methoxy- oder Chlorfunktion verursacht hier durch +M-Effekt und deren Elektronenhülle eine verstärkte Abschirmung und Hochfeldverschiebung.

C-8a verhält sich aufgrund seiner Lage im Tricyclus ziemlich konstant und kaum beeinflusst von Substituenteneffekten. Die Lage des Resonanzsignals ist bestimmt durch Elektronenzug der benachbarten sekundären Aminfunktion und den schirmenden Effekt des benachbarten Kohlenstoffatoms C-4b. Es befindet sich zwischen 128 - 131 ppm. Abb. 47 zeigt beispielhaft das  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum der Verbindung **29b**. Neben den zuvor beschriebenen Signalstrukturen des tricyclischen Grundkörpers sind auch die verbleibenden Resonanzsignale klar identifizierbar. So ergibt sich für die geschirmte 8-Methylgruppe eine Resonanz bei 19,26 ppm. Vergleichsweise erscheint die 7-Methylgruppe der Verbindung **29a** bei 17,17 ppm und kann mit dem Protonenresonanzsignal bei 2,16 ppm im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum korreliert werden. Die Methylengruppe (Verbindung **29b**) zeigt aufgrund des Elektronenzugs der benachbarten Aminogruppe und des Phenylrings eine stärkere Tieffeldverschiebung und ergibt ein Signal bei 45,03 ppm, welches durch Korrelation der Signale bei 43,17 ppm ( $^{13}\text{C-NMR}$ ) und 5,31 ppm ( $^1\text{H-NMR}$ ) der Analogsubstanz **29a** gestützt wird. Die Resonanzsignale des 4-Chlorophenylsubstituenten zeichnen sich dadurch aus, dass sowohl C-3' und C-5' als auch C-2' und C-6' aufgrund der Rotationssymmetrie jeweils nur ein Signal mit erhöhter Intensität ergeben. Das Resonanzsignal von C-3' bzw. C-5' liegt aufgrund des schirmenden Effekts des *ortho*-ständigen Chloratoms dabei etwas weiter im Hochfeld bei 127,63 ppm. Das Signal für C-2' und C-6' befindet sich bei 129,02 ppm. Das Resonanzsignal von C-4' wird sowohl durch den schirmenden Effekt der Elektronenhülle des benachbarten Chloratoms als auch durch dessen Elektronenzug beeinflusst. Es ergibt sich ein Resonanzsignal bei 131,72 ppm. Weiter im Tieffeld bei 139,32 ppm befindet sich das Resonanzsignal für C-1'.

Verbindung 29b

Abb. 47:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Beispielspektrum für 4-benzoaniellierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung 29b)

### 3.3.4.5. $^{13}\text{C}$ -NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubst. 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Ebenso wie für 4-benzylaminaniellierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole wurden auch für ausgewählte 4-anilino- bzw. 4-benzyloxyanilinoaniellierte Verbindungen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren erfasst. Tabelle 19 enthält die Resonanzsignale des Grundkörpers als zusammenfassenden Strukturbeleg. Zusätzlich enthält die Tabelle auch Daten für Verbindungen mit modifizierter 2-Substitution, welche ebenfalls in die Auswertung einfließen. Wie zuvor für 4-benzylaminsubstituierte Verbindungen beobachtet, liegt das Resonanzsignal für C-2 im Tieffeld zwischen 161 - 163 ppm, da es Teil der guanidinogenen Partialstruktur ist. Es resultiert dabei kein Unterschied aus dem Wechsel der 4-Substitution. Hingegen führt eine modifizierte 2-Substitution zur Veränderung der unmittelbaren chemischen Umgebung, woraus für die 2-aminoalkylierten Verbindungen **66** und **67** für C-2 eine geringfügig stärkere Abschirmung durch +I-Effekte der Alkylsubstituenten resultiert. Die 2-Thioetherstrukturen der Verbindungen **68\*** und **69\*** hingegen führen zu deutlicher Entschirmung und Tieffeldverschiebung des Resonanzsignals zu rund 168 ppm, welches sich mit der diffuseren Elektronenhülle des Schwefels erklären lässt. Bei fehlender 2-Substitution (Verbindung **72**) kommt es zu verstärkter Schirmung für C-2, da der Elektronenzug der 2-Aminogruppe entfällt. Für die aufgrund fehlender Trennbarkeit zusammengefassten Resonanzsignale C-4 und C-9a ergeben sich ebenfalls kaum Veränderungen mit Wechsel des 4-Substituenten. Für C-4 heißt das, dass die chemische

Verschiebung v.a. durch die sekundäre Aminogruppe beeinflusst wird und weniger durch entsprechende weitere Substituierung dieser.

**Tabelle 19:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>13</sup>C-NMR-Spektren 4-anilino- bzw. 4-benzyloxyanilinoanellierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole ohne/mit modifizierter 2-Substitution

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm								
	C-2	C-4 C-9a	C-4a	C-4b	C-5	C-6	C-7	C-8	C-8a
<b>47a</b>	162,39	158,99 159,06	89,44	123,12	106,50	153,07	110,99	109,46	130,51
<b>47b</b>	162,62	159,13 159,50	89,04	121,87	108,38	148,21	115,89	109,78	131,06
<b>48</b>	163,63	161,68 162,30	89,40	123,00	106,40	152,97	110,96	109,74	130,51
<b>51</b>	162,38	158,90 159,04	89,43	122,99	106,44	152,92	110,94	109,59	130,58
<b>52</b>	161,62	158,32 158,80	89,29	122,89	106,46	153,09	111,15	109,72	131,61
<b>54</b>	162,37	159,02 159,53	89,38	122,81	106,32	152,73	110,91	109,76	130,98
<b>60</b>	162,37	158,96 159,24	89,23	122,56	106,31	152,61	110,86	109,46	131,59
<b>62</b>	162,34	158,93 159,25	89,22	122,54	106,30	152,59	110,86	109,46	131,64
<b>66</b>	161,41	158,78 158,79	89,29	123,27	106,45	153,05	110,84	109,72	131,39
<b>67</b>	161,23	158,51 158,67	89,34	123,39	106,53	153,18	110,92	109,70	130,82
<b>68*</b>	168,08	156,34 157,56	92,31	131,56* 131,69*	114,58	149,45	110,97	110,01	131,56* 131,69*
<b>69*</b>	167,84	156,42 157,62	92,31	131,68* 131,90*	114,55	149,40	110,94	109,95	131,68* 131,90*
<b>72</b>	147,61	153,72 154,45	83,49	120,94	102,68	151,17	112,00	109,33	133,84

\* aufgrund Signalnähe eindeutige Zuordnung nicht möglich, pro forma Zuordnung jeweils beiden möglichen Kohlenstoffen; Atomnummerierung entsprechend Tabellen 12-14

Eine veränderte 2-Derivatisierung hingegen scheint deutlichen Einfluss auf die Lage der Resonanzsignale von C-4 und C-9a zu haben. Bei 2-Aminoalkyl-substituenten ist kaum eine Veränderung erkennbar aufgrund der hohen chemischen Ähnlichkeit. Jedoch kommt es beim Wechsel zu 2-Thioetherverbindungen (**68\*** und **69\***) zur Hochfeldverschiebung des Resonanzsignals um circa 2 ppm. Der +M-Effekt der Thioether ist stärker ausgeprägt als bei vergleichbaren 2-Aminosubstituenten. Zusätzlich verschiebt sich das basische Zentrum des Moleküls von C-2 in Richtung C-4 und C-9a, da durch die veränderte Substitution die guanidinogene Partialstruktur verloren geht. Bei fehlender 2-Substitution kommt es zu stärkerer Abschirmung der Resonanzsignale

von C-4 und C-9a. Sie verschieben sich ins Hochfeld zu rund 154 ppm, ebenfalls aufgrund der Veränderung des basischen Zentrums. Die Resonanzsignale für C-4a sind auch für die betrachteten Verbindungen im Hochfeld bei ca. 90 ppm zu finden. Die Verbindungen **68\*** und **69\*** besitzen die zusätzliche 5-Chlorsubstitution und der zugehörige Elektronenzug sorgt für eine Entschirmung von C-4a. Es resultiert eine Tieffeldverschiebung zu 92,31 ppm. Die 2-unsubstituierte Verbindung **72** hingegen zeigt verstärkte Schirmung für C-4a und ebenfalls für C-4b. Eine erhöhte Elektronendichte aufgrund des Verlusts des basischen Zentrums an C-2 ist die wahrscheinliche Ursache. Der durch Elektronenzug des 5-Chlorsubstituenten verursachte Entschirmungseffekt für C-4a ist aufgrund der größeren Nähe noch deutlicher an C-4b zu erkennen. Eine Tieffeldverschiebung zu ca. 131 - 132 ppm ist die Folge und führt weiterhin dazu, dass eine klare Trennung der Signale C-4b und C-8a für die betroffenen Verbindungen nicht möglich ist. Für die verbleibenden Verbindungen sind die Resonanzsignale für C-4b konstant im Bereich von ca. 121 - 123 ppm.

Auch C-5 bzw. dessen Resonanzsignale sind durch den Wechsel zu 4-Anilino- bzw. 4-Benzoyloxylanilinosubstitution kaum beeinflusst und liegen bei ca. 106 ppm. Die 5-chlorderivatisierten Verbindungen **68\*** und **69\*** hingegen sind dort durch zusätzlichen Elektronenzug von einem deutlichen Entschirmungseffekt und einer Tieffeldverschiebung zu rund 114,5 ppm betroffen. Für die 7-chlorsubstituierte Substanz **47b** ist am *meta*-ständigen C-5 ebenfalls geringfügige Entschirmung durch Elektronenzug zu beobachten, jedoch fällt diese aufgrund der größeren Distanz nicht so stark aus. Bei fehlender 2-Substitution (**72**) kommt es für C-5 zu verstärkter Abschirmung, wie zuvor für die benachbarten Kohlenstoffatome C-4a und C-4b beobachtet. C-6 wird vorwiegend durch die 6-Hydroxygruppe beeinflusst, so dass die Resonanzsignale auch für die Verbindungsauswahl der Tabelle 19 relativ konstant bei 151 - 153 ppm liegen. Ausgenommen davon sind die Verbindungen **47b**, **68\*** und **69\***, welche zusätzlich durch die jeweils *ortho*-ständigen Chlorsubstituenten beeinflusst werden. Es resultiert aufgrund der Elektronenhülle des Substituenten eine verstärkte Abschirmung und Signalverschiebung ins Hochfeld um jeweils ca. 3 ppm. Die Resonanzsignale von C-7 sind für die beschriebenen Verbindungen sehr konstant im Bereich von 110 - 112 ppm im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum zu finden. Lediglich die direkt 7-chlorierte Verbindung **47b** ist aufgrund des Elektronenzugs entschirmt bei 115,89 ppm. Die Resonanzsignale für C-8 und C-8a sind aufgrund der Entfernung zu allen veränderbaren Substituenten sehr konstant und analog den 4-benzylaminanellierten Substanzen bei 109 - 110 ppm bzw. 130 - 132 ppm messbar.

### 3.4. Synthese 6-substituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Da ausschließlich die NENITZESCU-Reaktion mit diversen Chinonen zur Darstellung der tricyclischen Grundkörper verwendet wurde, besitzen alle entstandenen Verbindungen zwangsläufig eine 6-Hydroxygruppe. Infolge pharmakodynamischer und pharmakokinetischer Überlegungen wurde die weitere Derivatisierung der Position 6 als vorteilhaft eingestuft. Neben der Möglichkeit einer Überführung der Alkoholfunktion in einen alternativen Substituenten (z.B. Aminogruppe<sup>321</sup>) bestand auch die Option, die vorhandene Hydroxygruppe als gut zugänglichen Reaktionspartner für Veretherungs- und Veresterungsprozesse zu nutzen. Bei beiden Reaktionstypen existieren zahlreiche etablierte Verfahren, jedoch sind u.a. Selektivität und Stabilität der Edukte unter entsprechenden Reaktionsbedingungen Faktoren, welche berücksichtigt werden müssen. Sowohl bei einer

Veretherung z.B. durch WILLIAMSON-Ethersynthese als auch bei Veresterung z.B. mit aktivierten Carbonsäurederivaten (u.a. Carbonsäurechloride) besteht die Möglichkeit, dass andere nucleophile Molekülgruppen vor bzw. neben der 6-Hydroxyfunktion umgesetzt werden. Im gegebenen Grundkörper sind v.a. zahlreiche *N*-Nucleophile enthalten, welche ungeplant reagieren können. Sowohl die völlige Bevorzugung eines alternativen Reaktionspartners als auch Mischprodukte sind natürlich zu vermeiden. Mögliche Optionen bzgl. der Selektivität der Reaktion sind die Verwendung von unreaktiveren und damit potenziell selektiveren Reaktionspartnern oder die Nutzung von Schutzgruppenstrategien. Da Umsatz und Spaltung der Schutzgruppen mindestens zwei zusätzliche Reaktionsschritte beinhaltet, war dies nicht Mittel der ersten Wahl. Auch die Verwendung vermeintlich unreaktiverer Reaktionspartner (z.B. Carbonsäureanhydride anstatt Carbonsäurechloriden) birgt das Risiko von Einbußen in der Ausbeute.

#### 3.4.1. Synthese 6-alkoxysubstituierter 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole

Die Veretherung nach WILLIAMSON (auch WILLIAMSON-Ethersynthese) ist eine häufig genutzte organische Synthesemethode zur Darstellung von aliphatischen, gemischt aliphatisch-aromatischen oder aromatischen Ethern. Prinzipiell erfolgt die Umsetzung von alkoholischen Verbindungen bzw. deren Alkoholaten mit Halogenalkanen. Als Halogenalkane eignen sich am besten Iod- und Bromalkane, da diese als Elektrophil am reaktivsten sind ( $I > Br > Cl > F$ ). Der eigentlichen Umsetzung geht zunächst die Bildung des Alkoholats bzw. Phenolats voraus, da durch Deprotonierung der Alkoholgruppe die Nucleophilie und damit die Reaktivität erhöht wird. Unter anderem mögliche Basen für die Deprotonierung sind elementares Natrium, Kalium oder deren Hydride. Weiterhin sind auch NaOH, KOH und  $K_2CO_3$  verwendbare Reagenzien. Im Rahmen dieser Arbeit wurde  $K_2CO_3$  als Base für die durchgeführten *O*-Alkylierungen genutzt. Die stärkeren Basen wurden ausgeschlossen, da z.B. eine Deprotonierung der sekundären Amine N-4 oder N-9 und damit mögliche Nebenreaktionen minimiert werden sollten. Anschließend wurde das Elektrophil hinzugesetzt, wobei das Halogenatom des Halogenalkans durch das Alkoholat nucleophil substituiert wurde. Die Umsetzungen wurden in 2 ml DMF pro mmol Edukt durchgeführt, da aufgrund der hohen Polarität des Edukts sowohl im Grundzustand als auch im deprotonierten Zustand ein polares aprotisches Lösungsmittel notwendig war, um eine vollständige Löslichkeit zu erreichen. Als Reaktionspartner für die Veretherung wurden die in Tabelle 20 ersichtlichen Alkylhalogenide in äquivalenter Menge zum jeweiligen 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol genutzt, da ein Überschuss potenziell zusätzliche Nebenreaktionen ermöglicht. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verschwinden des Edukts (8 - 24 h) überwacht. Nach Hydrolyse in Eiswasser, Extraktion mit Chloroform und säulenchromatographischer Trennung mit Chloroform-Methanol-Eluentgemischen wurden die Produkte als beige Feststoffe erhalten.

Da tlw. Mischprodukte (für Produkte **79** - **82**) aus Verbindung **47a/b** eingesetzt wurden, entstanden auch 6-*O*-alkylierte Mischprodukte ohne bzw. mit zusätzlichem 7-Chlorsubstituenten. Der Einsatz dieser Edukte erfolgte, um reaktive Trennbarkeit über WILLIAMSON-Ethersynthese zu untersuchen. Da beide Derivate des Mischprodukts äquivalent zu ihren 6-Alkyloxyprodukten umgesetzt wurden und die Standardaufreinigung die beiden Produkte nicht separierte, musste auch hier eine nachgehende chromatographische Trennung über pyridinhaltige Eluenten erfolgen. Die

Zusammensetzungen der Eluentengemische für die genannten Trennungen sind in den Einzelsubstanzcharakterisierungen hinterlegt und führten zu  $R_f$ -Differenzen von 0,05-0,10. Aufgrund der relativ früh evaluierten biologischen Wirkung der 6-Alkyloxyderivate der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-2,4-diamine, welche an gewählten RTKs inaktiv waren, wurden nur wenige Derivate synthetisiert. Tabelle 20 zeigt alle synthetisierten Verbindungen dieser Art.

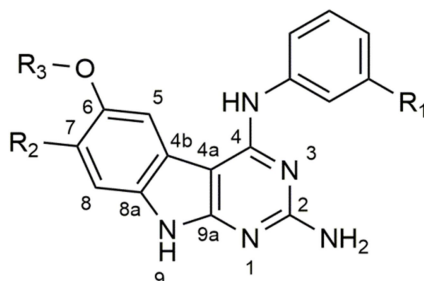


Tabelle 20: Darstellung der synthetisierten 6-alkylierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	Alkylhalogenid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Ausbeute
73	47a	CH <sub>3</sub> I	-CF <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>3</sub>	41,8 %
74	47b	CH <sub>3</sub> I	-CF <sub>3</sub>	-Cl	-CH <sub>3</sub>	24,5 %
75	47a	CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> Br	-CF <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	48,5 %
76	47b	CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> Br	-CF <sub>3</sub>	-Cl	-CH <sub>2</sub> CH=CH <sub>2</sub>	28,8 %
77	47a	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHBr	-CF <sub>3</sub>	-H	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	27,9 %
78	47b	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHBr	-CF <sub>3</sub>	-Cl	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	14,0 %
79	47a*	PhCH <sub>2</sub> Br	-CF <sub>3</sub>	-H	-CH <sub>2</sub> Ph	40,5 %
80	47b*	PhCH <sub>2</sub> Br	-CF <sub>3</sub>	-Cl	-CH <sub>2</sub> Ph	25,4 %
81	47a*	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Br	-CF <sub>3</sub>	-H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	39,9 %
82	47b*	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Br	-CF <sub>3</sub>	-Cl	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	23,3 %

\* Edukte als Mischprodukte aus **47a** und **47b** (Verhältnis ca. 1:1) eingesetzt

Die Verbindungen **79** und **80** bzw. **81** und **82** wurden jeweils aus einem Syntheseansatz aus dem unseparierten Mischprodukt **47a/b** gewonnen und nachgehend säulenchromatographisch getrennt. Die Verbindungen **73** - **78** hingegen wurden aus Reinsubstanzen umgesetzt. Generell gilt, dass die Ausbeuten der 7-chlorosubstituierten Produkte geringer sind als bei ihren analog 7-unsubstituierten Äquivalenten. Wahrscheinlich ist die zusätzliche sterische Hinderung, welche die Reaktivität als Nucleophil einschränkt, für die Ausbeuteeinbußen verantwortlich. Jedoch zeigen die Reaktionsansätze mit dem Mischprodukt **47a/b**, dass eine Trennung der Derivate über ihre Reaktivität gegenüber der WILLIAMSON-Ethersynthese unter verwendeten Reaktionsbedingungen nicht möglich ist. Nebenprodukte, welche auf einer Reaktion der Elektrophile mit anderen Molekülbestandteilen wie z.B. der primären 2-Aminogruppe oder der sekundären 9-Aminofunktion beruhen, konnten nicht beobachtet werden. Es ist davon auszugehen, dass die schonende Deprotonierung über K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> keine Deprotonierung an N-9 verursacht und dass die 2-Aminogruppe aufgrund ihrer Einbindung ins mesomere System vergleichsweise wenig nucleophile Eigenschaften besitzt.

### 3.4.2. <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen 6-alkoxy-substituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Der Strukturnachweis soll wieder anhand der zusammenfassenden Betrachtung der <sup>1</sup>H-NMR-Daten erfolgen (vgl. Tabelle 21). Die jeweils vollständige Auflistung der Resonanzsignale findet sich in den Einzelcharakterisierungen der Verbindungen. Unter Position 6 werden in der Tabelle die unmittelbar zum Sauerstoffatom benachbarten Molekülteile der eingeführten Substituenten bzw. deren Resonanzsignale beschrieben, während die verbleibenden Signale der 6-Alkyloxy-substituenten ebenfalls in den Einzelcharakterisierungen dargelegt sind. Vorab sei angemerkt, dass die Substanzen in verschiedenen deuterierten Lösungsmitteln (DMSO-d<sub>6</sub> und Aceton-d<sub>6</sub>) vermessen wurden. Dieses wirkt sich besonders auf die Lage der Resonanzsignale der primären 2-Aminofunktion und der sekundären 4-Aminogruppe aus, wohingegen der Lösungsmittelleffekt auf kohlenstoffgebundene Protonenresonanzsignale gering ist.

**Tabelle 21:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 6-alkoxy-substituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm				
	Pos. 2. (NH <sub>2</sub> )	Pos. 5	Pos. 7	Pos. 8	Pos. 6 (OR)
<b>47a<sup>#</sup></b>	5,97 (br)	7,48 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,66 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	6,96 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	8,92 (br)
<b>47b<sup>#</sup></b>	6,08 (br)	7,64 (s)	-S-	7,02 (s)	9,30 (br)
<b>73<sup>#</sup></b>	6,02 (br)	7,70 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,4 Hz)	6,76 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,4 Hz)	7,04 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	3,82 (s)
<b>74<sup>#</sup></b>	6,09 (br)	7,84 (s)	-S-	7,09 (s)	3,93 (s)
<b>75<sup>*</sup></b>	5,60 (br)	7,64 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,88 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,23 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	4,65 (td)
<b>76<sup>*</sup></b>	5,70 (br)	7,81 (s)	-S-	7,31 (s)	4,74 (td)
<b>77<sup>*</sup></b>	5,65 (br)	7,61 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,85 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	7,23 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,9 Hz)	4,69 (sept)
<b>78<sup>*</sup></b>	5,80 (br)	7,84 (s)	-S-	7,29 (s)	4,75 (sept)
<b>79<sup>#</sup></b>	6,02 (br)	(7,78 - 7,87)	6,83 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,4 Hz)	7,05 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	5,17 (s)
<b>80<sup>*</sup></b>	5,66 (br)	7,95 (s)	-S-	7,33 (s)	5,30 (s)
<b>81<sup>#</sup></b>	5,99 (br)	(7,79 - 7,85)	6,74 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,4 Hz)	7,03 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	4,03 (t)
<b>82<sup>#</sup></b>	6,08 (br)	(7,79 - 7,85)	-S-	7,08 (s)	4,14 (t)

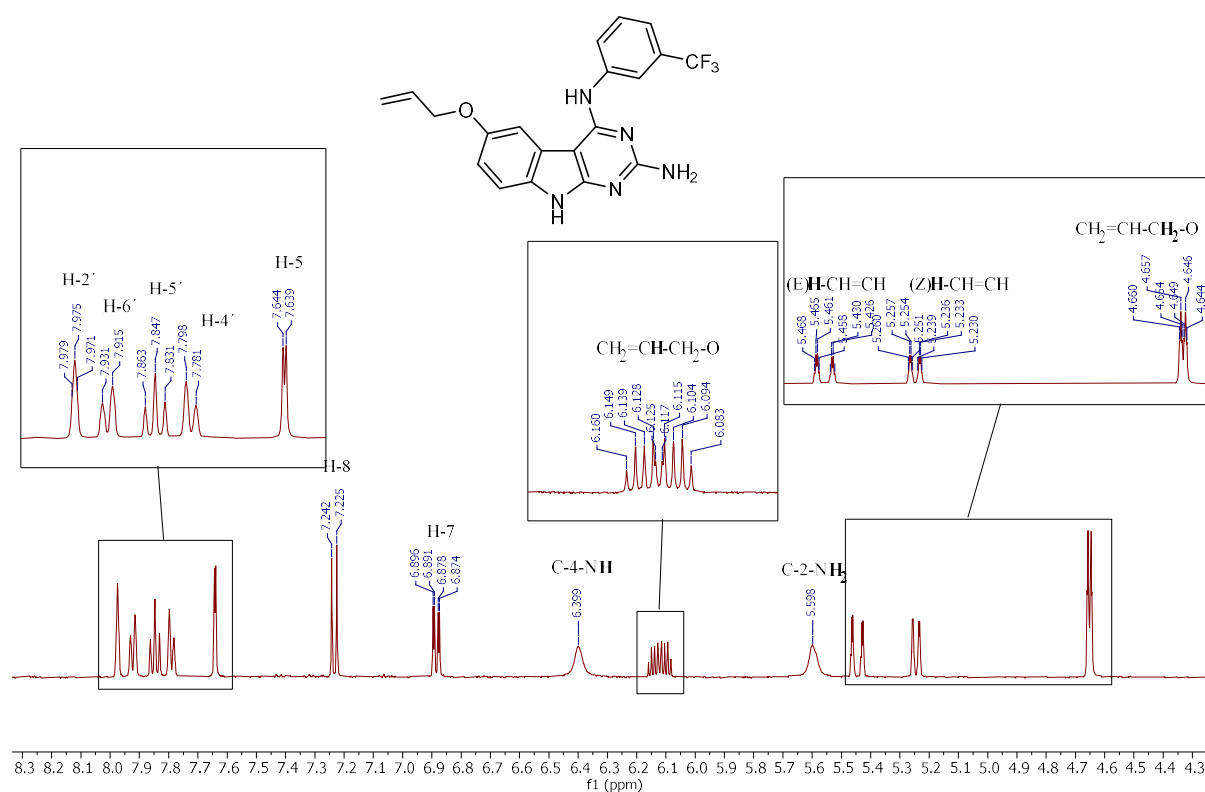
-S- gebundener Substituent; <sup>#</sup> aufgenommen in DMSO-d<sub>6</sub>; \* aufgenommen in Aceton-d<sub>6</sub>; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 20

Die Signalstruktur des 3-Trifluoromethylanilinrests, welcher allen Substanzen gemein ist, ist in allen Verbindungen analog und gleicht der der Edukte **47a/b**. Lediglich Auflösung bzw. Überlagerung durch andere Resonanzsignale führen zu Unterschieden in Auswertbarkeit und



Signalzuordnung. So liegen die Signale für H-2', H-4', H-5' und H-6' immer im Bereich von 7,75 - 8,00 ppm und können im vergleichsweise gut aufgelösten Spektrum der Verbindung **75** folgendermaßen zugeordnet werden (vgl. Abb. 48). Am weitesten im Hochfeld als Dublett bei 7,79 ppm ( $^3J_{4'/5'} = 7,9$  Hz) erscheint H-4' aufgrund seiner vicinalen Kopplung mit H-5'. Dieses wiederum zeigt sich bei 7,85 ppm als Triplet, da es sowohl mit dem benachbarten H-4' als auch mit H-6' zwei Kopplungspartner mit nahezu identischer Kopplungskonstante ( $^3J_{5'/4'}$  bzw.  $6'$  = 7,9 Hz) besitzt. Daraus resultierend ergibt sich für H-6' ebenfalls ein Dublett. H-2' erzeugt ein Triplet bei 7,97 ppm mit einer Kopplungskonstante von  $J_{2'/4'}$  bzw.  $6'$  = 1,8 Hz durch seine Fernkopplungen mit H-4' und H-6'. Aufgrund der Entfernung zwischen dem substituierten Anilin und den derivatisierten 6-Alkylresten ist der Einfluss aufeinander erwartungsgemäß gering und erzeugt hohe Konstanz für den Anilinrest.

Verbindung 75



**Abb. 48:** <sup>1</sup>H-NMR-Beispielspektrum für 6-alkoxy substituierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung **75**)

Ebenso unbeeinflusst durch Veränderung des 6-Substituenten bleiben die Signalstrukturen der 2-Aminogruppe, welche bei betrachteten Substanzen als breites Signal mit Integral 2 zwischen 5,60 - 5,80 ppm (Aceton-d<sub>6</sub> vermessene Verbindungen) bzw. zwischen 5,99 - 6,09 ppm (DMSO-d<sub>6</sub> vermessene Verbindungen) liegt. Das Vorhandensein der Signalstruktur des primären Amins bei gleichzeitigem Verlust der Hydroxysignale der Verbindungen **47a/b** weist darauf hin, dass die Alkylierung an der 6-Hydroxyfunktion stattgefunden hat. Für alle 7-unsubstituierten Verbindungen (vgl. Abb. 48) gilt, dass H-5 als Dublett zwischen 7,61 - 7,87 ppm mit einer Kopplungskonstante von  $^4J_{5/7} = 2,2 - 2,4$  Hz erscheint, da es eine Fernkopplung mit H-7 zeigt. H-8 ist in allen 7-unsubstituierten Verbindungen als Dublett zwischen 7,03 - 7,23 ppm mit einer Kopplungskonstante von  $J_{8/7} = 8,8 - 8,9$  Hz zu beobachten, welches auf der vicinalen Kopplung mit H-7 beruht. Da H-7 an beiden zuvor

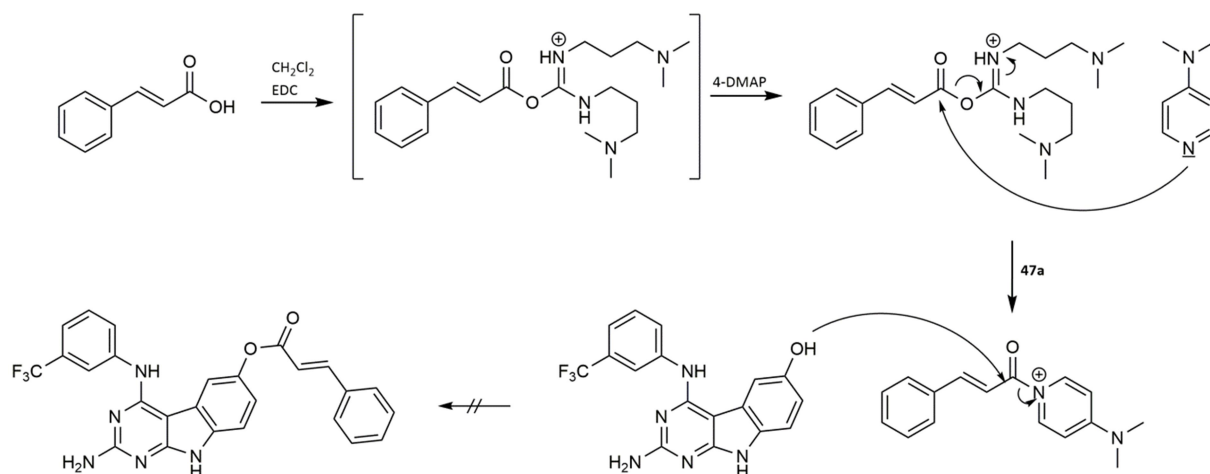
genannten Kopplungen beteiligt ist, erscheint das Resonanzsignal als Doppeldublett im Bereich von 6,76 - 6,88 ppm. Das Signalmuster der drei kohlenstoffgebundenen Protonen des Grundkörpers ist äquivalent der vergleichbaren unalkylierten Verbindung **47a**, wird jedoch durch die entschirmende Wirkung der Alkylether geringfügig ins Tieffeld verschoben, verglichen zur 6-Hydroxygruppe in **47a**. Die Resonanzsignale von H-5 in den Verbindungen **79**, **81** und **82** lassen sich nicht exakt zuordnen, da sie Teil eines größeren Multipletts sind.

Die 7-chlorierten Substanzen verhalten sich analog ihrem Edukt **47b**. So sind die Resonanzsignale für H-5 und H-8 als Singulett im Bereich 7,81 - 7,95 ppm respektive im Bereich von 7,08 - 7,33 ppm zu beobachten. Auch hier zeigt sich leichte Entschirmung durch die zusätzlichen 6-Alkyletherstrukturen im Vergleich zum Edukt **47b**. Die Resonanzsignale der Alkylketten befinden sich im üblichen Bereich für Alkyletherstrukturen. So sind die Methylether der Verbindungen **73** und **74** als Singulett mit Integral 3 bei 3,82 bzw. 3,93 ppm zu beobachten. Für die allyloxysubstituierten Verbindungen **75** (vgl. Abb. 48) und **76** resultieren für die direkt zum Sauerstoffatom benachbarten Methylengruppen Triplett eines Dubletts, welches sich auf vicinale Kopplung ( $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}} = 5,3 \text{ Hz}$ ) zur benachbarten Methingruppe und Fernkopplung ( $^4J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 1,5 \text{ Hz}$ ) zur endständigen Methylengruppe zurückführen lässt. Des Weiteren lassen sich sowohl *E*- als auch *Z*-Proton des Allylsubstituenten kernspektroskopisch nachweisen. Das *Z*-Proton liegt bei 5,25 ppm und hat eine vicinale Kopplungskonstante von  $^3J_{\text{CH}(\text{H})/\text{CH}} = 10,6 \text{ Hz}$ , während das *E*-Proton bei 5,45 ppm mit einer Kopplungskonstante von  $^3J_{\text{CH}(\text{H})/\text{CH}} = 17,3 \text{ Hz}$  zu finden ist. Die 6-Isopropoxyetherverbindungen **77** und **78** zeigen für die Methingruppe ein Septett ( $^3J_{\text{CH}/(\text{CH}_3)_2} = 6,1 \text{ Hz}$ ) bei 4,69 ppm bzw. 4,75 ppm, welches jeweils durch die Kopplung mit den 6 äquivalenten Protonen der zwei Methylgruppen entsteht. Hingegen resultieren für die Methylengruppen der 6-Benzoyloxyether der Verbindungen **79** und **80** Singulett bei 5,17 ppm bzw. 5,30 ppm, da keinerlei Kopplung stattfindet. Allgemein gilt, dass die zusätzlich 7-chlorierten Verbindungen eine geringfügig entschirmende Wirkung auf die Alkylketten haben bzw. auf die Molekülstrukturen, welche direkt am Ethersauerstoffatom sitzen. Der negativ induktive Effekt des Chlorsubstituenten bewirkt leichte Entschirmung des entsprechenden Signals und eine Verschiebung um ca. 0,05 - 0,10 ppm ins Tieffeld.

#### 3.4.3. Synthese 6-carboxylsubstituierter 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole

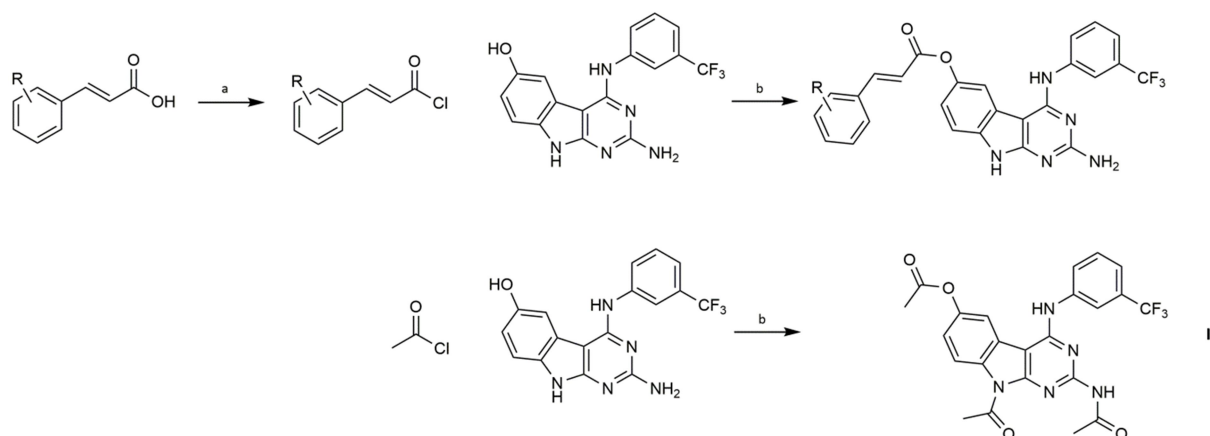
Analog den Veretherungen sollten auch 6-Veresterungen des tricyclischen Grundkörpers stattfinden. Um mögliche Nebenreaktionen zu vermeiden, sollte die Reaktivität der eingesetzten aktivierten Carbonsäure zunächst möglichst gering gehalten werden. Im Sinne einer STEGLICH-Veresterung sollte die Carbonsäure über das Carbodiimid EDC-HCl (1-Ethyl-3-(3-dimethylamino-propyl)carbodiimidhydrochlorid) aktiviert werden und anschließend mit dem nucleophilen Katalysator 4-DMAP (4-(Dimethylamin)pyridin) als Acetylgruppenüberträger auf das 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol transferiert werden<sup>322, 323</sup> (vgl. Abb. 49). Dazu wurde in einem ausgeheizten trockenen Zweihsalskolben Zimtsäure in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  unter Rühren und Argonatmosphäre gelöst und auf 0 °C heruntergekühlt. Anschließend wurde dem Reaktionsansatz EDC-HCl zugesetzt und für weitere 5 min. gerührt. Nachfolgend wurde dem Reaktionsansatz Verbindung **47**, als Edukt der Reaktion in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöst, zugesetzt. Abschließend wurden tropfenweise katalytische Mengen in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gelöstes 4-DMAP zugesetzt. 4-DMAP katalysiert die vergleichsweise langsame Reaktion der aktivierten

Carbonsäure mit dem sterisch anspruchsvollen Alkohol, welches die Abreaktion der aktivierten Carbonsäure zum Nebenprodukt *N*-Acylisoharnstoff minimiert. Der Reaktionsansatz wurde weitere 2 h bei 0 °C gerührt und anschließend bei Raumtemperatur. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Über 48 h war kein Fortschritt zu beobachten, so dass es zum Reaktionsabbruch kam. Als mögliche Ursache für die ausbleibende Umsetzung gilt v.a. die unzureichende Aktivierung der Carbonsäure gegenüber dem sterisch anspruchsvollen Edukt. Die unvollständige Lösung des Edukts in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> bei 0 °C kann nur tlw. als Reaktionshindernis betrachtet werden, da nach Erwärmung des Reaktionsansatzes auf Raumtemperatur vollständige Löslichkeit gegeben war.



**Abb. 49:** Darstellung geplante Veresterung von Zimtsäure und Verbindung **47a** über Aktivierung mit EDC-HCl und 4-DMAP

Wegen der ausbleibenden Reaktion und nach Beobachtung der Veretherungsreaktionen, in welchen sich die *N*-Nucleophile innerhalb des tricyclischen 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ols als vergleichsweise unreaktiv darstellten, kamen in den alternativen Versuchsanordnungen Carbonsäurechloride zum Einsatz. Ausgenommen von Acetylchlorid, welches direkt als Edukt zur Verfügung stand, wurden alle weiteren Säurechloride nach Anwendung von AAV 5 präformiert<sup>324</sup> (vgl. Abb. 50a).



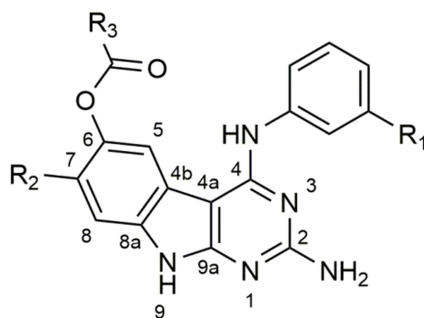
**Abb. 50:** Synthese von 6-carboxylestersubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen. Reagenzien und Bedingungen: (a) 2,0 eq. (COCl<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; kat. DMF; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 0 °C → r.t.; 2-5 h (b) I 1,0 eq. Säurechlorid; Pyridin; 0 °C → r.t.; 4-24 h II 3,0 eq. Säurechlorid; Pyridin; 0 °C → r.t.; 4-24 h

Dazu wurde 1,0 eq. der Carbonsäure in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bei 0 °C gelöst und katalytische Mengen an DMF zugetropft. Anschließend wurden unter Argonatmosphäre und weiterer Kühlung 2,0 eq. Oxalylchlorid zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 0,5 h bei 0 °C und danach weitere 2 - 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Vervollständigung der Umsetzung wurde sowohl  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  als auch verbliebenes Oxalylchlorid im Vakuum entfernt. Die Säurechloride resultierten als weiße bis gelbliche Feststoffe und wurden ohne weitere Aufreinigung für die anschließende Veresterung verwendet. Teilweise wurden die Säurechloride unter Argon bei -20 °C zwischengelagert. Die eingesetzten substituierten Zimtsäurederivate wurden nach AAV 4 synthetisiert, welche auf der DOEBNER-Variante der KNOEVENAGEL-Reaktion basiert<sup>325, 326</sup>.

Die eigentliche Umsetzung des tricyclischen Grundkörpers mit den Carbonsäurechloriden erfolgte in Anlehnung an eine Vorschrift von Li *et al.* und ist in AAV 6 beschrieben<sup>327</sup> (vgl. Abb. 50b (I)). Dazu wurden die tricyclischen Edukte in trockenem Pyridin bei 0 °C gelöst. Anschließend wurde unter weiterer Kühlung portionsweise das entsprechende Carbonsäurechlorid hinzugegeben und der Reaktionsansatz für weitere 0,5 h bei 0 °C gerührt. Danach wurde der Ansatz bis zur Vervollständigung der Umsetzung bei Raumtemperatur gerührt. Die Verfolgung des Reaktionsfortschritts erfolgte dünnschichtchromatographisch. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt als *dry-load* für die Säulenchromatographie präpariert. Die chromatographische Aufreinigung erfolgte mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent gegen Normalphase. Pyridin als Reaktionsmedium eignet sich dabei als polares Solvens für die polaren Edukte, fungiert aber zusätzlich auch als Base zur Deprotonierung der 6-Hydroxygruppe und stärkt somit dessen Nucleophilie. Weiterhin agiert es als Acetylgruppenüberträger ähnlich den Verbindungen 4-DMAP oder PPY und katalysiert somit die Übertragung der räumlich anspruchsvollen Alkohole auf die Carbonylgruppen der Carbonsäuren (STEGLICH-Katalysatoren)<sup>328</sup>.

Die Produkte konnten als weiße bis beige Feststoffe gewonnen werden und sind in Tabelle 22 inklusive ihrer Ausbeuten dargestellt. Es konnten Ausbeuten im Bereich von 11,9 % - 52,8 % erzielt werden. Die 7-chlorierten Derivate liefern i.d.R. geringfügig schlechtere Ausbeuten, jedoch sind die Unterschiede zu klein, um von einer wirklichen Einschränkung der Reaktivität durch den zusätzlichen Substituenten zu sprechen. Ursächlich für die schlechteren Ausbeuten könnten sowohl sterische Einschränkungen als auch elektronische Einflüsse auf die Nucleophilie der Alkoholfunktion durch das 7-Chloratom sein. Reaktionen mit verzweigt-kettigen Carbonsäuren könnten weiteren Aufschluss gewähren. In der Summe resultieren für die Alkylcarbonsäuren schlechtere Ausbeuten als für die Reaktionen mit Zimtsäurederivaten. Da die Umsetzungen im Mikromaßstab durchgeführt und keine Überschüsse der Carboxylchloride genutzt wurden, könnte die Flüchtigkeit der Alkylcarbonsäurechloride eine anteilige Rolle für die Einbußen haben. Im Sinne eines Provokationsversuchs wurde Verbindung **47a** nach beschriebener Synthesemethode auch mit einem Überschuss (3,0 eq.) von Acetylchlorid umgesetzt, welches in Mehrfachacetylierungen resultierte (vgl. Abb. 50b (II)). Es entstanden v.a. di- bzw. triacetylierte Produkte. Bei Einsatz von äquimolaren Mengen der Edukte konnte ausschließlich 2-Amino-4-((3-trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl-acetat gewonnen werden. Im Rückschluss ergibt sich, dass bei Verwendung der beschriebenen Synthesemethode nicht im Überschuss mit Carbonsäurechloriden gearbeitet werden kann, da die *N*-Nucleophile innerhalb des Grundkörpers hinreichend aktiv für eine

Umsetzung sind. Jedoch kann bei äquivalenten Mengen der Reaktanden von hinreichender Selektivität für die Veresterung der 6-Hydroxygruppe ausgegangen werden, welche mit Verwendung von sterisch anspruchsvolleren Carbonsäurechloriden weiter zunimmt. Die Selektivität für die 6-Hydroxyfunktion lässt sich insoweit begründen, dass die 2-Aminogruppe als Nucleophil vergleichsweise schwach ist, da sie Teil eines guanidinogenen Systems ist. Im weiteren Kontext ist die sekundäre 4-Aminofunktion sterisch zu ungünstig für eine weitere Umsetzung und die sekundäre 9-Aminogruppe wiederum ist unter gegebenen Bedingungen nicht deprotoniert und somit unreaktiver als die 6-Hydroxyfunktion.



**Tabelle 22:** Darstellung der synthetisierten 6-carboxylsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	Carbonsäurechlorid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Ausbeute
83	47a	CH <sub>3</sub> C(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	CH <sub>3</sub> -	13,1 %
84	47b	CH <sub>3</sub> C(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-Cl	CH <sub>3</sub> -	12,7 %
85	47a	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> C(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	11,9 %
86	47b	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> C(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-Cl	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -	12,2 %
87	47a	PhCH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	PhCH=CH-	39,6 %
88	47a	(4-ClPh)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	(4-ClPh)CH=CH-	49,2 %
89	47b	(4-ClPh)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-Cl	(4-ClPh)CH=CH-	25,2 %
90	47a	(3-BrPh)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	(3-BrPh)CH=CH-	23,2 %
91	47b	(3-BrPh)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-Cl	(3-BrPh)CH=CH-	13,6 %
92	47a	(4-CH <sub>3</sub> Oph)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	(4-CH <sub>3</sub> Oph)CH=CH-	52,8 %
93	47b	(4-CH <sub>3</sub> Oph)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-Cl	(4-CH <sub>3</sub> Oph)CH=CH-	50,0 %
94	47a	(4-NO <sub>2</sub> Ph)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-H	(4-NO <sub>2</sub> Ph)CH=CH-	35,2 %
95	47b	(4-NO <sub>2</sub> Ph)CH=CHC(=O)Cl	-CF <sub>3</sub>	-Cl	(4-NO <sub>2</sub> Ph)CH=CH-	31,6 %

Analog den 6-Veretherungen wurde auch im etablierten Veresterungsprozess der Einsatz eines Mischprodukts aus Verbindung **47a** und **47b** bzw. eine potenzielle reaktive Trennbarkeit der Derivate geprüft. Beide Edukte ließen sich in ähnlicher Qualität mit Zimtsäurechlorid umsetzen, so dass ein Mischprodukt entstand. Die nachträgliche Trennung über Säulenchromatographie mit pyridinhaltigen Elutionsmitteln war nur eingeschränkt möglich, da die erzielten R<sub>F</sub>-Differenzen von 0,02 - 0,05 keine vollständige Trennung der Derivate ermöglichten. Entsprechend ist der Einsatz von Mischprodukten aus 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-olen und deren zusätzlich 7-chlorierten Analoga nicht praktikabel. Anzuführen ist, dass der Trenneffekt von pyridinhaltigen Eluenten bei den Substanzen **83** - **86**, also Estern von Alkylcarbonsäuren, noch am stärksten ist. Bei Derivaten mit voluminöseren und lipophileren Zimtsäureestern ist der Trenneffekt kaum noch vorhanden. Die Verbindungen

**83** - **86** zeigen weiterhin, dass durch unterschiedlich lange Alkylketten die Beeinflussung der physikochemischen Eigenschaften der Produkte möglich ist. So führt die Verlängerung der Alkylester zu merklicher Steigerung der Lipophilie, welches sich z.B. in Erhöhung des  $R_f$ -Werts von 0,21 auf 0,45 (Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V)) für Ethylesterverbindung **83** respektive Hexylesterverbindung **85** zeigt. Da die Alkylesterketten bei Bindung des Inhibitors an der RTK vermeintlich in die polare lösungsmittel-exponierte Solvensregion dirigieren, wäre eine polare Derivatisierung mit z.B. Aminoalkylestern eine Verbesserungsmöglichkeit für zukünftige Synthesearbeiten. Bei den Verbindungen **87** - **95** handelt es sich um substituierte Zimtsäureestervarianten, welches ebenfalls eine Erhöhung der Lipophilie bedeutet. Zusätzlich jedoch bieten Zimtsäureester stark elektronenziehend substituierte Doppelbindungen, welche nach WARD *et al.* in der Lage sind, als MICHAEL-Akzeptoren mit entsprechend reaktiven Bestandteilen (z.B. Cysteinseitenketten innerhalb der RTKs) zu reagieren<sup>329</sup>. Bei entsprechender Lokalisation in der ATP-Tasche der RTKs wäre somit eine kovalente Inhibitor-Target-Bindung möglich und dadurch eventuell verbesserte Inhibition oder verringerte Resistenzbildung (vgl. 1.6). Unter anderem wird dieses Konzept bereits durch die Arzneistoffe Osimertinib (Tagrisso®)<sup>330</sup> und Afatinib (Gilotrif®)<sup>331</sup> genutzt. Für weitere Evaluierung kovalenter Inhibitoren auf Basis von 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen wäre die Synthese von polarerer substituierten Acrylesterderivaten notwendig.

#### 3.4.4. <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole

Der strukturelle Nachweis der 6-carboxylsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole soll anhand von ausgewählten <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-spektroskopischen Daten erfolgen. Die <sup>1</sup>H-NMR-Resonanzsignale prägnanter gemeinsamer Areale der synthetisierten Verbindungen sind in Tabelle 23 inklusive der von Edukt **47a/b** aufgeführt. Durch den Veresterungsprozess kommt es zum Verlust der Resonanzsignale der 6-Hydroxygruppe bei 8,92 ppm bzw. 9,30 ppm der Edukte **47a** und **47b**, welches die Umsetzung der phenolischen Alkoholfunktion belegt. Im Gegensatz dazu bleiben die Signale der 2-Aminogruppe und der sekundären 4-Aminofunktion (nicht in Tabelle 23 aufgeführt) im Spektrum erhalten. Das breite Resonanzsignal mit Integral 2 der 2-Aminofunktion verschiebt sich durch die Veresterung in den Bereich von 6,10 - 6,12 ppm für alle 7-unsubstituierten Verbindungen (vgl. Abb. 51) bzw. zu 6,20 - 6,21 ppm für alle 7-chlorsubstituierten Substanzen (vgl. Abb. 52). Somit verursacht die 6-Veresterung durch erhöhten Elektronenzug der Carboxylgruppe eine leichte Entschirmung. Der Effekt ist in verstärktem Maße aufgrund des kleineren Abstands bei den Resonanzsignalen der kohlenstoffgebundenen Protonen H-5, H-7 und H-8 zu beobachten. Für alle 7-unsubstituierten Derivate (vgl. Abb. 51) gilt weiterhin, dass H-5 aufgrund Fernkopplung zu H-7 (<sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,1 - 2,2 Hz) als Dublett auftritt. Jedoch verschiebt sich das Resonanzsignal durch Entschirmung der *ortho*-ständigen Carboxygruppe um ca. 0,5 ppm ins Tieffeld zu 7,92 - 8,05 ppm. Analog verschiebt sich das Doppeldublettsignal von H-7, verursacht durch Fernkopplung zu H-5 (<sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,1 - 2,2 Hz) und vicinale Kopplung zu H-8 (<sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 - 8,8 Hz), ebenfalls ins Tieffeld zu 6,86 - 6,98 ppm. Das Dublett von H-8, koppelnd mit H-7 (<sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 - 8,8 Hz), unterliegt der entschirmenden Wirkung der Carboxygruppe aufgrund des größeren Abstands weniger stark. Es kommt zu einem Tieffeldshift von ca. 0,1 - 0,2 ppm in den Bereich 7,10 - 7,14 ppm. Generell ist der entschirmende Effekt bei den

Zimtsäureestern stärker ausgeprägt als bei den Alkylestern der Verbindungen **83** und **85**. Die 7-chlorsubstituierten Substanzen verhalten sich äquivalent (vgl. Abb. 52).

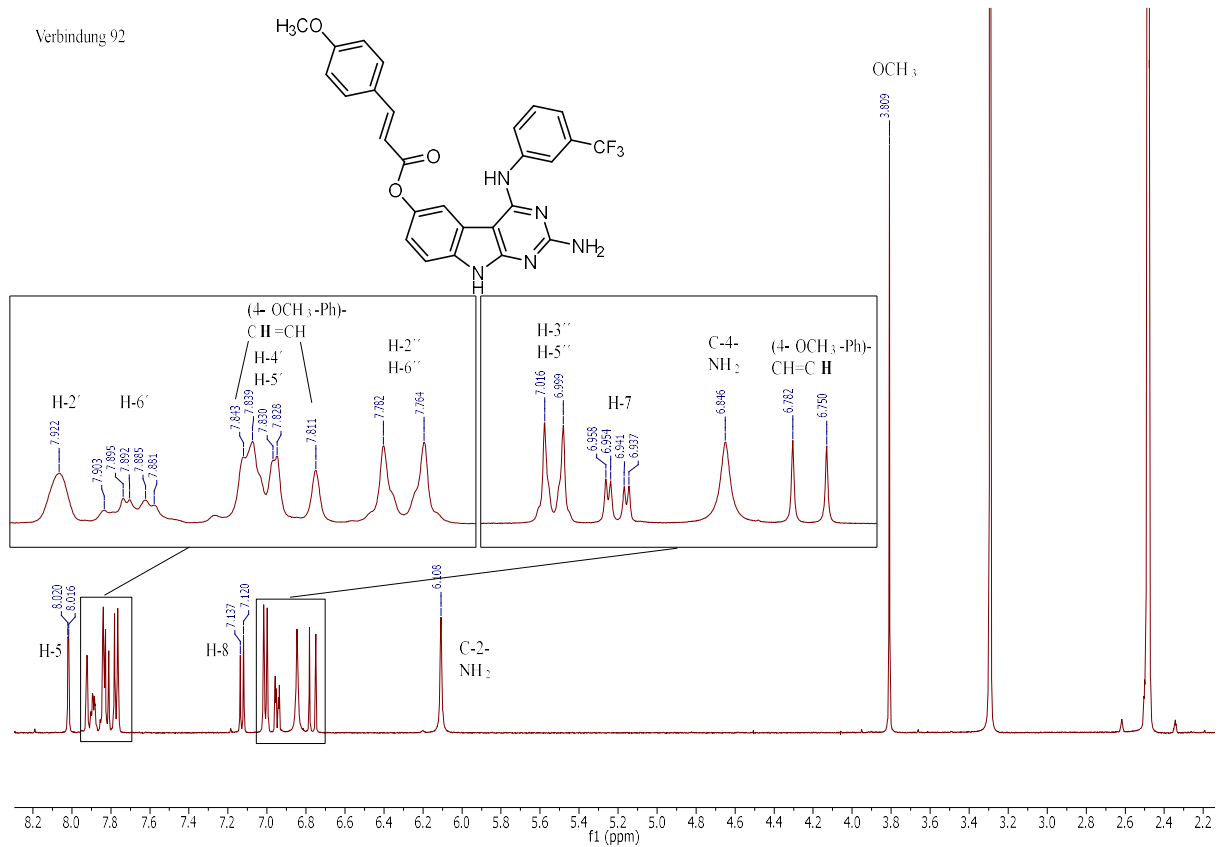
**Tabelle 23:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm				
	Pos 2. (NH <sub>2</sub> )	Pos. 5	Pos. 7	Pos. 8	Pos. 6 (O(O=C)-R)
<b>47a</b>	5,97 (br)	7,48 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz)	6,66 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz)	6,96 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	8,92 (br)
<b>47b</b>	6,08 (br)	7,64 (s)	-S-	7,02 (s)	9,30 (br)
<b>83</b>	6,11 (br)	7,94 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,89 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,10 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz)	2,28 (s)
<b>84</b>	6,20 (br)	8,11 (s)	-S-	7,16 (s)	2,35 (s)
<b>85</b>	6,10 (br)	7,92 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,86 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,10 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	2,57 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,5 Hz)
<b>86</b>	6,20 (br)	8,09 (s)	-S-	7,15 (s)	2,63 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,5 Hz)
<b>87</b>	6,10 (br)	7,95 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,91 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,12 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz)	6,90 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,0 Hz) 7,85 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,0 Hz)
<b>88</b>	6,10 (br)	8,02 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,94 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,12 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,4 Hz)	6,95 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz) 7,87 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz)
<b>89</b>	6,20 (br)	8,19 (s)	-S-	7,18 (s)	7,02 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,7 Hz) 7,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,7 Hz)
<b>90</b>	6,12 (br)	8,04 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz)	6,97 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz)	7,14 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz)	7,03 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz) 7,86 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz)
<b>91</b>	6,21 (br)	8,21 (s)	-S-	7,20 (s)	7,10 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz) 7,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz)
<b>92</b>	6,11 (br)	8,02 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz)	6,95 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	7,13 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz)	6,77 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,9 Hz) 7,82 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,7 Hz)
<b>93</b>	6,20 (br)	8,19 (s)	-S-	7,19 (s)	6,83 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,8 Hz) 7,88 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,8 Hz)
<b>94</b>	6,12 (br)	8,05 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz)	6,98 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz)	7,14 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz)	7,17 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz) 8,01 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 16,1 Hz)
<b>95</b>	6,21 (br)	8,23 (s)	-S-	7,21 (s)	7,24 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,9 Hz) 8,08 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH=CH</sub> = 15,9 Hz)

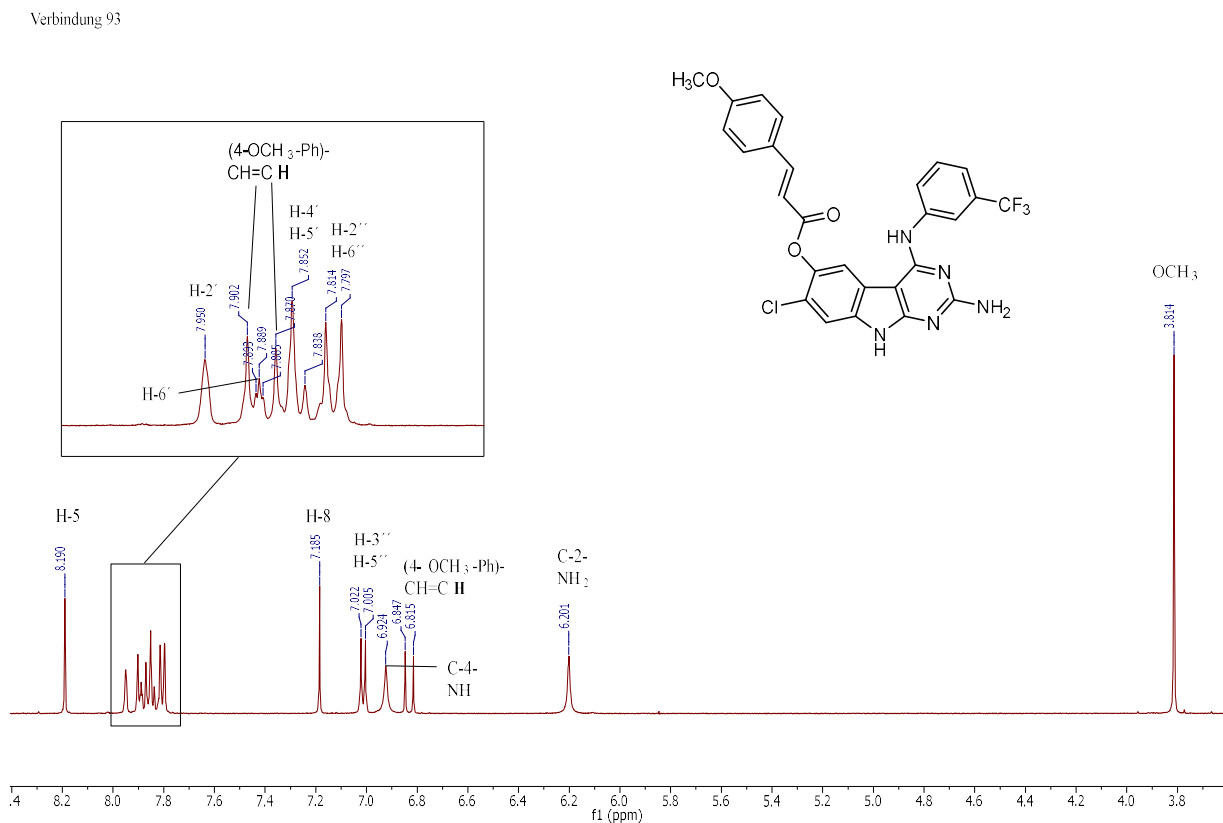
-S- gebundener Substituent; R-CH=CH-C(=O)O-R; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 22

Ausgehend von ihrer Ursprungssubstanz **47b** geben H-5 und H-8 aufgrund isolierter Lage Singulettsignale. Diese werden ebenfalls durch die 6-Carboxylestergruppe bzw. resultierenden Elektronenzug entschirmt. H-5 wird aufgrund der *ortho*-ständigen Lokalisierung um ca. 0,5 - 0,6 ppm zu 8,09 - 8,23 ppm ins Tieffeld verschoben, während das Signal des *meta*-ständigen H-8 um 0,1 - 0,2 ppm zu 7,15 - 7,21 ppm entschirmt wird. Auch bei den 7-chlorierten Produkten ist der Tieffeldshift, verursacht durch die Carboxyfunktion, geringfügig stärker für die Zimtsäureester.

### 3 Ergebnisse und Diskussion



**Abb. 51:**  $^1\text{H-NMR}$ -Beispielspektrum für 6-carboxyl-7-unsubstituierte 9H-Pyrido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung 92)



**Abb. 52:**  $^1\text{H-NMR}$ -Beispielspektrum für 6-carboxyl-7-chlorsubstituierte 9H-Pyrido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung 93)



Die unter Pos. 6 in Tabelle 23 dargestellten Signale beschreiben für Verbindung **83** - **86** die Protonensignale der Methyl- bzw. Methylengruppen in direkter Nachbarschaft zur Carboxylgruppe und für die Produkte **87** - **95** die Protonensignale der ungesättigten Kohlenstoffbrücke. So resultieren für die Ethylester **83** und **84** Singulets bei 2,28 bzw. 2,35 ppm und für die Hexylesterderivate **85** und **86** Triplets bei 2,57 bzw. 2,63 ppm aufgrund der Kopplung zur benachbarten Methylengruppe. Bei beiden Verbindungspaaren ist ersichtlich, dass die zusätzliche 7-Chlorierung des Grundkörpers eine leichte Entschirmung der Alkylkettensignale verursacht. Für die Zimtsäureester erscheinen die Resonanzsignale des  $\alpha$ -Protons als Dublett im Bereich von 6,77 - 7,17 ppm für 7-unsubstituierte bzw. bei 6,83 - 7,24 ppm für 7-chlorsubstituierte Derivate. Weiterhin ist ersichtlich, dass der -M-Effekt und -I-Effekt der Nitro-gruppe in den Verbindungen **85** und **86** zur Entschirmung des  $\alpha$ -Protons führen. Hingegen verursacht der +M-Effekt der Methoxygruppe (Verbindung **92** und **93**) eine verstärkte Schirmung. Das  $\beta$ -Proton liefert zwischen 7,82 - 8,01 ppm und 7,88 - 8,08 ppm für 7-unsubstituierte respektive 7-chlorierte Verbindungen ebenfalls Dublettsignale. Schirmung bzw. Entschirmung durch die Substitution der Zimtsäurearomaten verhalten sich äquivalent dem  $\alpha$ -Proton. Die hohe Kopplungskonstante von  $^3J_{\text{CH}=\text{CH}} = 15,7 - 16,1$  Hz weist darauf hin, dass beide Protonen *trans*-ständig zueinander sind. Auf die Darstellung der Protonensignale des 4-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-substituenten und der aromatischen Zimtsäureesterstrukturen wird an dieser Stelle verzichtet.

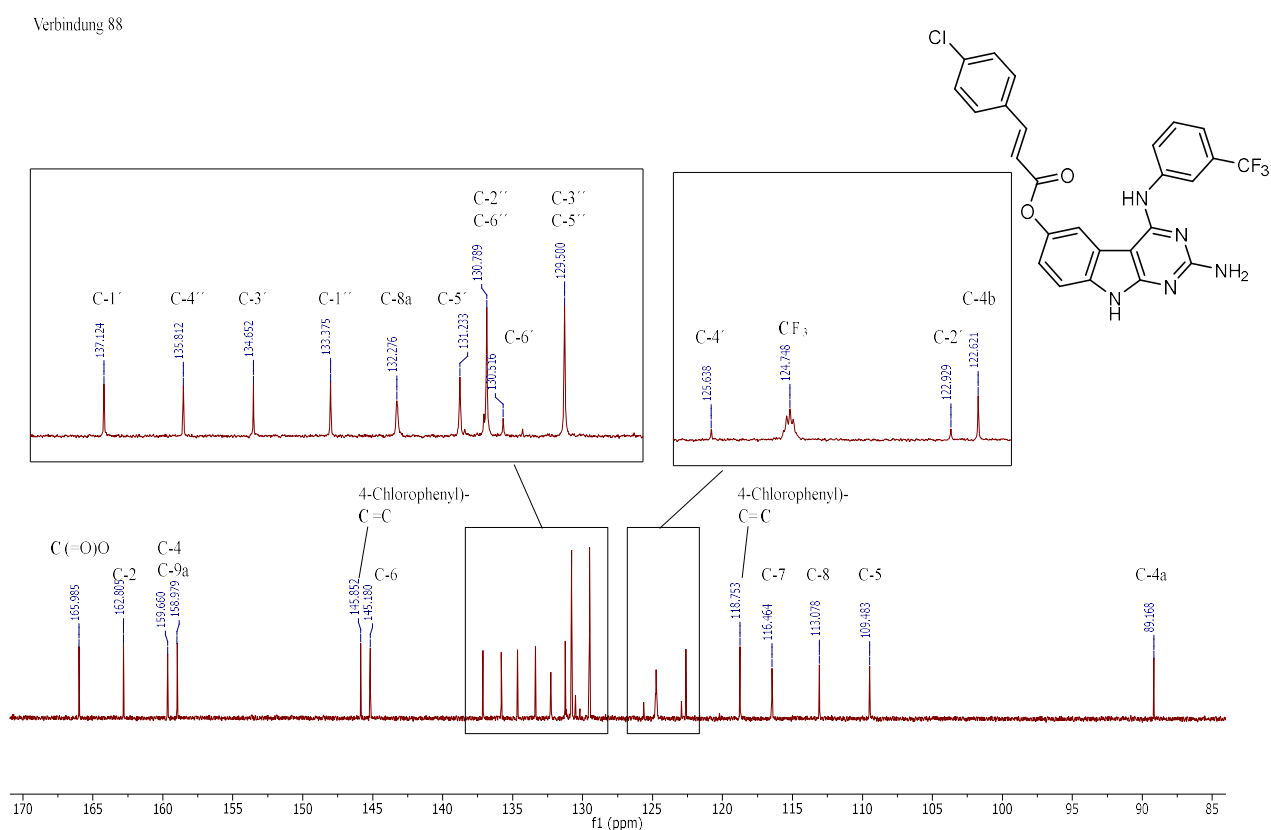
### 3.4.5. <sup>13</sup>C-NMR-Untersuchungen 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Im weiteren Kontext der Strukturaufklärung wurden für vier Verbindungen der 6-carboxylsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole auch <sup>13</sup>C-NMR-Spektren erfasst. Die entsprechenden Resonanzsignale sowie die der zugehörigen Edukte sind vergleichend in Tabelle 24 dargestellt. Bei Betrachtung der Resonanzsignale (vgl. Abb. 53) ist zu erkennen, dass die zusätzliche Veresterung der phenolischen 6-Alkoholgruppe im Wesentlichen nur Einfluss auf die Signale von naheliegenden Kohlenstoffatomen hat. So werden die Resonanzsignale von C-6, verglichen mit ihren Edukten **47a/b**, durch die Carboxylierung stärker geschirmt. Der +M-Effekt der Carboxylgruppe erhöht die Elektronendichte an C-6 und die Resonanzsignale werden um ca. 7 ppm hochfeldverschoben. Zusätzlich wirkt die Elektronenhülle der Carboxygruppe schirmend auf das benachbarte C-6. So ergeben sich für die 7-unsubstituierten Substanzen C-6-Resonanzsignale bei 145 - 146 ppm. Die zusätzlich 7-chlorierten Produkte ergeben Resonanzen bei 141,5 - 142,0 ppm, da C-6 hier verstärkt dem schirmenden Effekt des Chloratoms unterliegt. Bei den Kohlenstoffatomen C-5 und C-7 kommt im Wesentlichen der gleichzeitig vorhandene Elektronenzug der Carboxylgruppe zum Tragen. So verschiebt sich das Resonanzsignal für C-5 ins Tieffeld zu ca. 109 - 110 ppm. Die 7-unsubstituierten Verbindungen **88** und **92** unterliegen dabei stärkerer Verschiebung, welches sich mit leichter Kompensation des Phänomens durch den +M-Effekt der 7-Chlorgruppe der Produkte **89** und **93** erklären lässt. Da an C-7 mehrheitlich der -I-Effekt der 7-Chlorfunktion dominiert und somit kein Ausgleich stattfindet, werden die Resonanzsignale durch den zusätzlichen Elektronenzug der 6-Carboxylestergruppe gleichmäßig entschirmt. Es kommt zu einer Tieffeldverschiebung um ca. 5 - 6 ppm. 7-unsubstituierte Kohlenstoffatome geben damit Resonanzsignale bei ca. 116,5 ppm, 7-chlorsubstituierte liegen weiter im Tieffeld bei rund 120 ppm.

Tabelle 24: Darstellung charakteristischer Daten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm								
	C-2	C-4 C-9a	C-4a	C-4b	C-5	C-6	C-7	C-8	C-8a
47a	162,39	158,99 159,06	89,44	123,12	106,50	153,07	110,99	109,46	130,51
47b	162,62	159,13 159,50	89,04	121,87	108,38	148,21	115,89	109,78	131,06
88	162,81	158,98 159,66	89,17	122,62	109,48	145,18	116,46	113,08	132,27
89	162,03	158,89 160,14	88,72	121,64	109,88	141,56	119,93	114,59	132,42
92	162,90	158,96 159,63	89,18	122,60	109,44	145,99	116,58	115,09	132,27
93	163,01	158,89 160,12	88,72	121,61	109,84	141,72	120,08	114,71	132,41

Atomnummerierung entsprechend Tabelle 22

Abb. 53:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Beispielspektrum für 6-carboxylsubstituierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (Verbindung 88)

Der ausgeübte Elektronen-zug der Estergruppierung verliert über die Distanz an Wirkung, so dass für C-8 der entschirmende Effekt nur noch einen Tieffeldshift von 3 - 4 ppm verursacht bzw. für C-8a nur noch 1 - 2 ppm. Die Resonanzsignale für C-8 liegen im Bereich von 113 - 115 ppm und für

C-8a zwischen 132 - 133 ppm. Die verbliebenen aufgeführten Resonanzsignale sind im Wesentlichen unbeeinflusst durch die zusätzliche Veresterung. Am weitesten im Tieffeld bei 162 - 163 ppm aufgrund des Elektronenzugs von 3 Stickstoffatomen liegen die Resonanzsignale für C-2. Wie bereits bei der Betrachtung der Ausgangssubstanzen geschildert, sind die Signale für C-4 und C-9a nicht klar zuordnungsfähig, liegen aber infolge des jeweilig durch 2 Stickstoffatome verursachten Elektronenzugs unverändert im Tieffeld bei 158,5 - 160,5 ppm. Das hochsubstituierte Kohlenstoffatom C-4a liegt aufgrund der resultierend hohen Elektronendichte weiter im Hochfeld bei ca. 88 - 89 ppm. Kaum verändert verhalten sich auch die Resonanzsignale von C-4b bei 121,5 - 123,0 ppm. Die Resonanzsignale der 3-(Trifluoromethyl)anilinsubstituenten und der veresterten Zimtsäuren sind in den Einzelcharakterisierungen ersichtlich bzw. für Verbindung **88** ebenfalls Abb. 53 zu entnehmen.

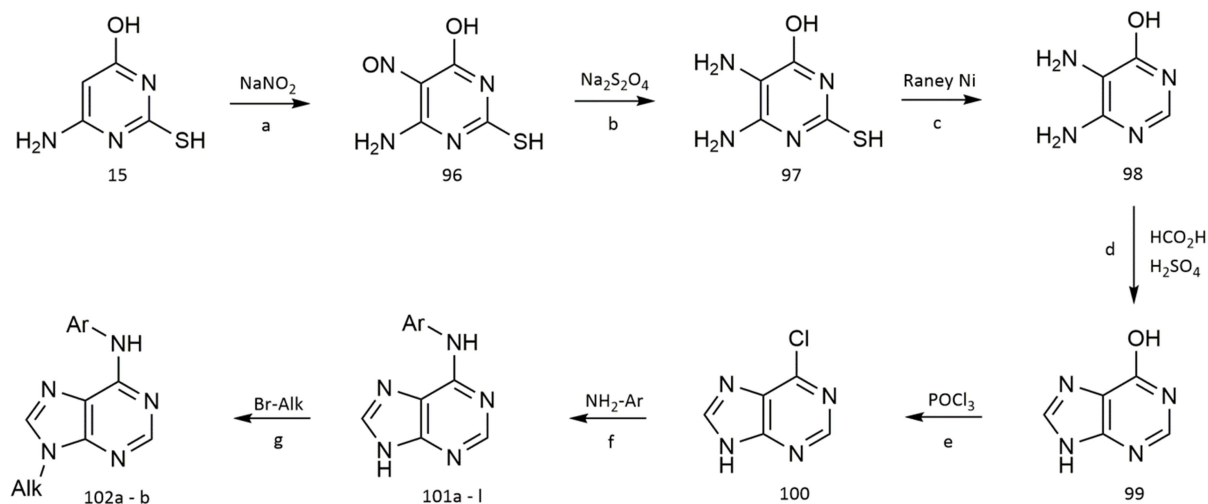
### 3.5. Synthese analoger Bicyclen

Die für die 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole angenommene Wirkung beruht auf kompetitiver Hemmung in der ATP-Bindungstasche an RTKs. Da die synthetisierten Tricyclen zum Teil hohe Ähnlichkeit zum natürlichen Substrat ATP besitzen, liegt eine vergleichende Betrachtung nahe. Gleichermaßen bestehen auch prägnante Unterschiede zwischen 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen und ATP. So besitzt ATP zwar ebenfalls einen 4-Aminopyrimidinring jedoch ohne zusätzliche 2-Aminogruppe. Der Effekt der 2-Substitution wurde bereits im Abschnitt 3.2.2 diskutiert und auch durch Syntheseprodukte adressiert. Ein weiterer wesentlicher Unterschied besteht darin, dass ATP als bicyclischer Heteroaromat ein Puringrundgerüst besitzt, hingegen die 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole tricyclisch sind. Um den Einfluss des zusätzlich anellierten Phenylrings auf Affinität und Selektivität gegenüber RTKs abzuschätzen, war die Synthese bicyclischer Analogverbindungen zu den 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-olen nötig. Diese wiederum nehmen eine Zwischenstellung zwischen ATP und den tricyclischen Inhibitoren ein und sind u.a. als pharmakologische Tools zu betrachten. Folglich kam es zur Etablierung von Synthesevorschriften für substituierte Purine und Pyrrolopyrimidine.

#### 3.5.1. Synthese 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9*H*-Purin-6-amine

Für die von OUWERKERK *et al.* publizierte Synthese<sup>314</sup> von Purinen wurde die im Abschnitt 3.2.2.2 beschriebene und synthetisierte Substanz 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol (**15**) als Edukt verwendet. Die Synthese bis zur Darstellung von 6-Chloro-9*H*-purin folgt im Wesentlichen der Methode von OUWERKERK *et al.* und ist in Abb. 54 in den Reaktionsschritten a - e dargestellt. Nach Suspendierung von **15** in verdünnt salzsaure Lösung wurde unter ständiger Kühlung Natriumnitrit in wässriger Lösung zugetropft. In situ bildet sich ein Nitrosoniumion, welches als starkes Elektrophil mit dem nucleophilen C-5 des Pyrimidinrings reagiert, so dass sich 6-Amino-5-nitroso-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1*H*)-on (**96**) bildet. Die Produktentstehung wurde dabei durch ziegelrote Verfärbung der Suspension indiziert. Der Reaktionsansatz wurde für 7 h unter Kühlung gerührt. Anschließend wurde der rote Feststoff durch Filtration vom Lösungsmittel befreit und mit Ethanol und Wasser nachgewaschen. Nach Trocknung über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> verblieb ein roter Feststoff in 87-prozentiger Ausbeute. Im nachfolgenden Reaktionsschritt wurde die 5-Nitrosogruppe über das Reduktionsmittel Natriumdithionit reduziert. Die Umsetzung wurde in gesättigter NHCO<sub>3</sub>-Lösung durchgeführt. Die

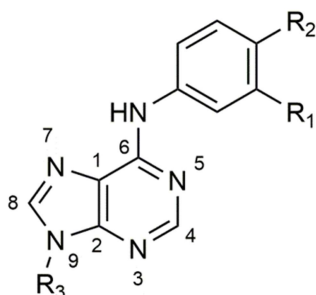
rasche Entfärbung der Suspension von rot nach beige bei Zusatz des Reduktionsmittels zeigte die Umsetzung zum erwarteten Produkt. Die Reaktion wurde ebenfalls durch Filtrations- und Waschschriffe aufgearbeitet. Nach Trocknung resultierte 5,6-Diamino-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on (**97**) als beiger Feststoff mit 64-prozentiger Ausbeute.



**Abb. 54:** Synthese von 4-anilinosubstituierten bzw. 4-anilino-9-alkylsubstituierten 9H-Purin-6-aminen. Reagenzien und Bedingungen: (a) 1,1 eq.  $\text{NaNO}_2$ ; 1 M  $\text{HCl}$ (aq.); 0 °C; 7 h (b) 2,6 eq.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ; gesättigte  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung(aq.); 0 °C  $\rightarrow$  r.t.; 6 h (c) Raney-Nickel; 5%ige wässrige  $\text{NH}_3$ -Lösung; reflux; 1,5 h (d) 1,0 eq.  $\text{HCO}_2\text{H}$ ; 1,0 eq.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ; 130 °C; 16 h (e) 18,6 eq.  $\text{POCl}_3$ ; 2,4 eq. *N,N*-Dimethylanilin; reflux; 0,5 h (f) 3,0 - 5,0 eq. subst. Anilin; NMP; 135 °C; 3,5 h (g) 1,2 eq. Br-Alk; 1,2 eq. NaH; DMF; r.t.; 6 - 8 h

Anschließend konnte über eine Reaktion in verdünnter wässrig-ammoniakalischer Lösung durch Zusatz von Raney-Nickel die Verbindung entschweifelt werden. Bei Aufarbeitung des Reaktionsansatzes musste der fein-disperse Katalysator über Filtration über ein Celite®-Pad entfernt werden, damit nachfolgend die wässrige Phase zur Trockene im Vakuum eingengt werden konnte. Das Produkt 5,6-Diaminopyrimidin-4(3H)-on (**98**) resultierte als weißer Feststoff in quantitativer Ausbeute. Zur Vervollständigung des Purinkörpers mussten die *ortho*-ständigen Aminosubstituenten über eine Kohlenstoffbrücke verbunden werden. Dazu wurde das Zwischenprodukt über Nacht in einer Mischung aus konz. Schwefelsäure und Ameisensäure (85 %) zum Rückfluss erhitzt. Bei der Reaktion kommt es sowohl zu Aminolyse der Ameisensäure als auch zur Bildung eines Azomethins. Die konzentrierte Schwefelsäure bewirkt über Protonierung der Hydroxygruppe der Ameisensäure verbesserte Abgangseigenschaften und funktioniert zusätzlich als stark hygroskopisches Reagenz für die Entstehung der Schiffschen Base. Nach Aufarbeitung der Reaktion konnte die Verbindung **99** als beiger Feststoff mit etwa 50-prozentiger Ausbeute gewonnen werden. Damit das Purin nucleophilen Substitutionsreaktionen in Position 4 zugänglich wurde, musste die Alkoholgruppe durch Einsatz von  $\text{POCl}_3$  in einen Chlorsubstituenten umgesetzt werden. Dazu wurde das Zwischenprodukt mit einem Überschuss an  $\text{POCl}_3$  unter Katalyse von *N,N*-Dimethylanilin für 0,5 h zum Rückfluss erhitzt. Dabei verfärbte sich die Lösung braun. Nach Entfernung des überschüssigen  $\text{POCl}_3$  im Vakuum wurde der Reaktionsansatz unter starker Kühlung in 25-prozentiger wässriger Ammoniaklösung gelöst und als *dry-load* für Säulenchromatographie präpariert. Die nachfolgende chromatographische Aufreinigung ergab 6-Chloro-9H-purin (**100**) als grau-grünen Feststoff in einer Ausbeute von 52 %. Die nachfolgende nucleophile Substitutionsreaktion erfolgte nach AAV 1 in NMP als hochsiedendes Lösungsmittel bei 135 - 140 °C für 3,5 h. Analog den 4-aminosubstituierten Pyrimidin-2,6-triaminen

führt der zum Substitutionszentrum benachbarte Stickstoff durch Stabilisierung der Zwischenprodukte zu guter Umsetzbarkeit in der Reaktion. Die chromatographische Aufreinigung erfolgte mit Ethylacetat-Methanol-Gemischen als Eluent. Wurden die Purine mit den lipophileren Benzyloxyanilinen substituiert, konnte isokratisch mit einer Zusammensetzung von 92,5:7,5 Ethylacetat/Methanol (V/V) eluiert werden. Bei Verwendung von kleineren polarerer Substituenten wie 3-(Trifluormethyl)anilin wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 Ethylacetat/Methanol (V/V) verwendet. Die Verbindungen **101a - l** ergaben sich als beige Feststoffe.



**Tabelle 25:** Darstellung der synthetisierten 6-anilino- und 6-benzyloxyanilinosubstituierten 9H-Purin-6-amine bzw. der zusätzlich 9-alkylierten Derivate (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	Anilin/Alkylbromid	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Ausbeute
<b>101a</b>	<b>100</b>	(3-CF <sub>3</sub> Ph)NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	-H	-H	46,1 %
<b>101b</b>	<b>100</b>	(3-ClPh)NH <sub>2</sub>	-Cl	-H	-H	50,0 %
<b>101c</b>	<b>100</b>	<b>3b</b>	-Cl	-OCH <sub>2</sub> (3-ClPh)	-H	46,0 %
<b>101d</b>	<b>100</b>	<b>2c</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-ClPh)	-H	40,6 %
<b>101e</b>	<b>100</b>	<b>2h</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-H	36,5 %
<b>101f</b>	<b>100</b>	<b>2i</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-CNPh)	-H	27,5 %
<b>101g</b>	<b>100</b>	<b>2j</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-NO <sub>2</sub> Ph)	-H	51,8 %
<b>101h</b>	<b>100</b>	<b>2d</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-NO <sub>2</sub> Ph)	-H	11,7 %
<b>101i</b>	<b>100</b>	<b>2g</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-FPh)	-H	21,4 %
<b>101j</b>	<b>100</b>	<b>2a</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-OCH <sub>3</sub> Ph)	-H	34,5 %
<b>101k</b>	<b>100</b>	<b>2e</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-CH <sub>3</sub> Ph)	-H	35,2 %
<b>101l</b>	<b>100</b>	<b>2b</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-FPh)	-H	30,0 %
<b>102a</b>	<b>101e</b>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> Br	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	12,4 %
<b>102b</b>	<b>101e</b>	PhCH <sub>2</sub> Br	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	24,4 %

Tabelle 25 zeigt die Produkte mit ihren Edukten und Reaktionsausbeuten der nucleophilen Substitution. Im Sinne einer weiteren Derivatisierung wurden Alkylierungsreaktionen von N-9 untersucht. N-7 steht mit N-9 im tautomeren Gleichgewicht, so dass eine Alkylierung an N-7 grundsätzlich als Nebenreaktion möglich ist. Literaturrecherchen jedoch belegen eine starke Favorisierung von N-9 über N-7, welche zusätzlich durch Verwendung von sterisch anspruchsvollen 6-Substituenten des Purins gesteigert wird<sup>332</sup>. Selektive Alkylierungen an N-7 sind unter erhöhtem technischem Aufwand ebenfalls möglich. So werden v.a. Schutzgruppenstrategien beschrieben, aber auch schutzgruppenfreie Synthesen unter Verwendung von GRINGARD-Reagenzien<sup>333</sup> sind möglich, um selektive N-7-Alkylierung des Purins zu erzielen. Die üblichen Synthesemethoden für Derivatisierung an N-9 nutzen entweder Alkohole, welche unter MITSUNOBU-Bedingungen mit dem Purin umgesetzt

werden<sup>334</sup>, oder aber Halogenalkane bzw. Benzylhalogenide, welche unter stark basischen Bedingungen mit dem Purin reagieren<sup>335</sup>. Wenn die Edukte stabil gegenüber stark basischen Bedingungen sind, ergeben sich kürzere Reaktionszeiten und vergleichsweise einfachere Reaktionsführung als Vorteile gegenüber einer MITSUNOBU-Reaktion.

Nachdem zuvor die sterisch anspruchsvollen Benzyloxylaniline durch nucleophile Substitution in Position 6 des Purins eingeführt wurden, welche nachweislich stabil gegenüber basischen Bedingungen sind<sup>476</sup>, war die *N*-Alkylierung unter Verwendung von NaH als starke Base und Halogenalkanen als Elektrophile die favorisierte Synthese. Entsprechend einer Reaktionsvorschrift von BOUCHERLE *et al.*<sup>336</sup> wurde die Verbindung **101e** in DMF gelöst und anschließend ein leichter Überschuss (1,2 eq.) an NaH (60%ig auf Paraffin) zugesetzt. NaH erwies sich als geeignet, da es auch im Mikromaßstab gut wägbbar und vergleichsweise feuchtigkeitsunempfindlich ist. Es führt als starke Base zu Deprotonierung an N-9 und somit zur Bildung eines reaktiven Stickstoffanions. N-9 reagierte nachgehend bei Zugabe von Alkylbromiden als Nucleophil zu den gewünschten Produkten. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch überwacht und durch Zusatz von Wasser beendet. Die nachfolgende Aufreinigungsprozedur enthielt u.a. einen Extraktionsschritt mit 5%iger wässriger Lithiumchloridlösung gegen Chloroform, welcher der verbesserten Entfernung von DMF diene. Die eingeeengte organische Phase wurde säulenchromatographisch aufgereinigt und entstandene Produkte nachgehend umkristallisiert. Es ergaben sich die ebenfalls in Tabelle 25 aufgeführten Verbindungen **102a - b** als weiße Pulver mit ausschließlicher *N*-9-Alkylierung. Die geringen Ausbeuten von 12,4 bzw. 24,4 % sind u.a. auf Verluste durch die Umkristallisation und die dabei verwendeten geringen Substanzmengen zurückzuführen.

### 3.5.2. <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9H-Purin-6-amine

Auf der Basis von Literaturdaten zur Struktur konnten die Verbindungen **96 - 100** erfolgreich reproduziert werden. Tabelle 26 zeigt vergleichend Literaturdaten und Daten eigener Messungen als Strukturbeleg für Verbindung **100**. Die Werte der verschiedenen Bestimmungsmethoden stimmen in soweit überein, dass von gesicherter Identität ausgegangen wird.

Tabelle 26: Vergleich Literaturdaten und exp. Messdaten als Strukturbeleg für Verbindung **100**

	Exp. Messdaten Verbindung <b>100</b>	Literaturdaten 6-Chloro-9H-purin
<sup>1</sup> H-NMR [δ in ppm]	(500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 8,66 (s, 1H, H-8); 8,72 (s, 1H, H-4); 12,61 (br, 1H, N-9-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)	<sup>314</sup> (300 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 8,6 (s, 1H, H-8); 8,7 (s, 1H, H-4)
<sup>13</sup> C-NMR [δ in ppm]	(100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 129,22 (C-1); 146,41 (C-8); 147,61 (C-2); 151,38 (C-4); 154,36 (C-6)	<sup>314</sup> (75 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ): 129,3 (C-1); 146,4 (C-8); 147,7 (C-2); 151,4 (C-4); 154,3 (C-6)
MS-ESI [m/z]	<sup>12</sup> C: 156,0 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C: 157,0 [M+H] <sup>+</sup> 6 % <sup>12</sup> C: 153,6 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>37</sup> Cl: 155,4 [M-H] <sup>-</sup> 17 %	<sup>337</sup> <sup>12</sup> C: 155,7 [M+H] <sup>+</sup> <sup>12</sup> C: 153,6 [M-H] <sup>-</sup>

Die nachfolgende nucleophile Substitution nach AAV 1 soll den 6-Chlorsubstituenten aus **100** durch die entsprechend eingesetzten Aniline bzw. Benzyloxylaniline ersetzen. Sowohl die massen-

spektrometrischen als auch die kernspinresonanzspektroskopischen Messungen belegen diese Substitution. Tabelle 27 zeigt charakteristische <sup>1</sup>H-NMR-Daten der Verbindungen **101a - l** und bezieht sich hauptsächlich auf die strukturellen Gemeinsamkeiten des Puringrundkörpers und des direkt gebundenen 6-Anilins. Die vollständigen Daten sind in den Einzelcharakterisierungen der Verbindungen hinterlegt.

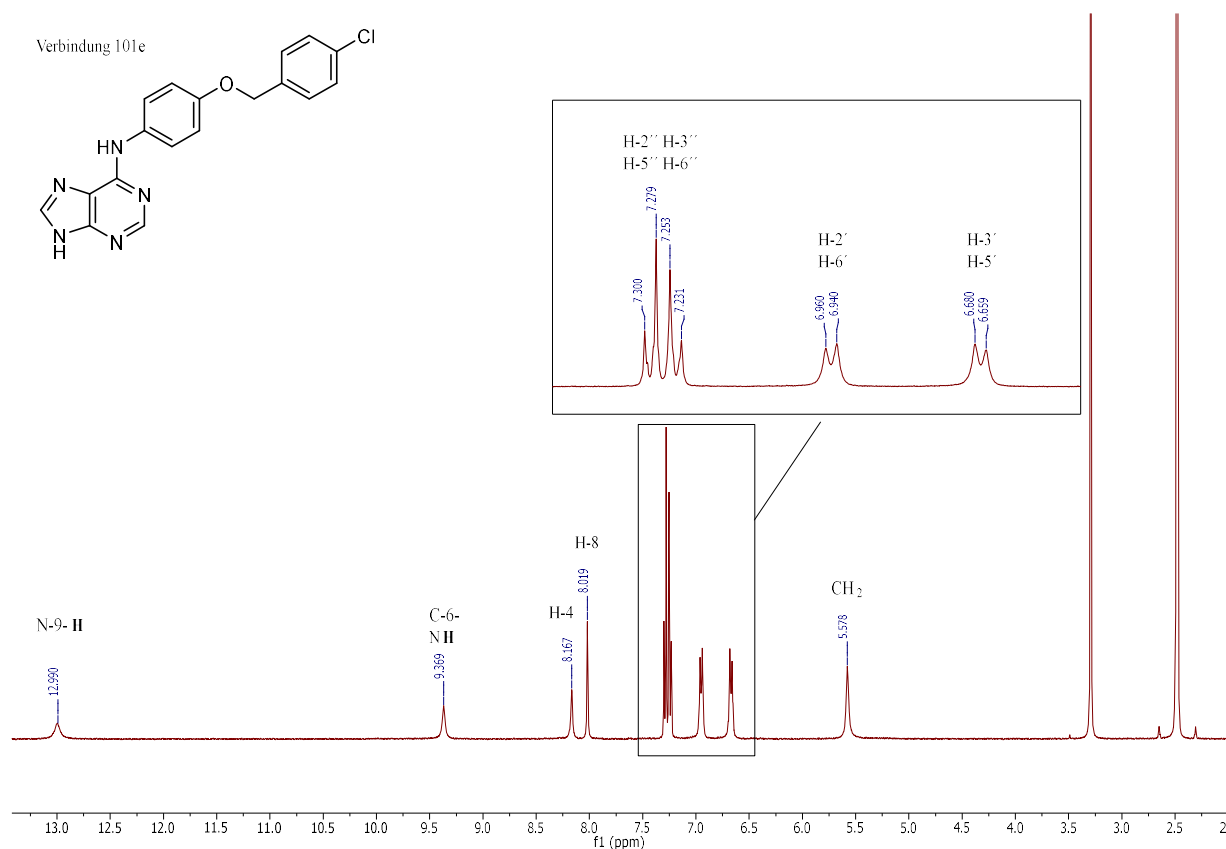
**Tabelle 27:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 6-anilino- und 6-benzyloxyanilinosubstituierter 9H-Purin-6-amine bzw. zusätzlich 9-alkylierter Derivate

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm				
	Pos. 4	Pos. 8	Pos. 9	NH	Pos. 6 (R-Ph)-R
<b>101a</b>	8,45 (s)	8,33 (s)	13,25 (br)	10,14 (br)	7,34 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,9 Hz); 7,55 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'-6'</sub> = 7,9 Hz); 8,26 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 6,7 Hz); 8,50 (s)
<b>101b</b>	8,42 (s)	8,30 (s)	13,22 (br)	9,98 (br)	7,04 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,9 Hz); 7,32 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'-6'</sub> = 7,9 Hz); 7,91 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,9 Hz); 8,24 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'-6'</sub> = 2,0 Hz)
<b>101c</b>	8,18 (s)	8,02 (s)	13,00 (br)	9,47 (br)	7,05 (d, <sup>3</sup> J <sub>5'/6'</sub> = 8,9 Hz); 7,12 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,9 Hz, <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,5 Hz); 7,42 (d, <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> = 2,5 Hz)
<b>101d</b>	8,18 (s)	8,03 (s)	13,02 (br)	9,38 (br)	6,68 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,2 Hz); 6,96 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,2 Hz)
<b>101e</b>	8,17 (s)	8,02 (s)	13,00 (br)	9,37 (br)	6,67 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,6 Hz); 6,95 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,6 Hz)
<b>101f</b>	8,19 (s)	8,02 (s)	13,01 (br)	9,40 (br)	6,67 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,6 Hz); 7,00 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,6 Hz)
<b>101g</b>	8,19 (s)	8,03 (s)	13,03 (br)	9,40 (br)	6,68 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,5 Hz); 7,03 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,5 Hz)
<b>101h</b>	8,21 (s)	8,04 (s)	13,05 (br)	9,40 (br)	6,68 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,7 Hz); 7,00 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,7 Hz)
<b>101i</b>	8,18 (s)	8,02 (s)	12,99 (br)	9,38 (br)	6,67 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,8 Hz); 6,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,8 Hz)
<b>101j</b>	8,18 (s)	8,02 (s)	12,99 (br)	9,37 (br)	6,68 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,5 Hz); 6,97 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,5 Hz)
<b>101k</b>	8,16 (s)	8,01 (s)	12,97 (br)	9,34 (br)	6,66 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,3 Hz); 6,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,3 Hz)
<b>101l</b>	8,19 (s)	8,02 (s)	13,00 (br)	9,39 (br)	6,68 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,4 Hz); 6,98 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,4 Hz)
<b>102a</b>	8,20 (s)	8,09 (s)	4,12 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz)	9,39 (br)	6,67 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> bzw. <sup>5'/3'</sup> = 2,2 Hz); 6,94 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> bzw. <sup>6'/2'</sup> = 2,2 Hz)
<b>102b</b>	8,21 (s)	8,23 (s)	5,36 (s)	9,40 (br)	6,67 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,2 Hz, <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> bzw. <sup>5'/3'</sup> = 2,4 Hz); 6,94 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,2 Hz, <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> bzw. <sup>6'/2'</sup> = 2,4 Hz)

Atomnummerierung entsprechend Tabelle 25

Der Purinheterocyclus zeichnet sich dadurch aus, dass nur 2 kohlenstoffgebundene Protonen für <sup>1</sup>H-NMR-Messungen vorhanden sind (vgl. Abb. 55). Aufgrund isolierter Lage zwischen zwei Stickstoffatomen und dem damit verbundenen Elektronenzug liegt das Resonanzsignal für H-4 vergleichsweise weit im Tieffeld. Für die 6-benzyloxyanilinosubstituierten Verbindungen **101c - l** resultiert ein Signal zwischen 8,17 - 8,21 ppm. Durch hohe Äquivalenz der genannten Substanzen bzw. dadurch, dass die Diversität am entfernteren Benzyloxyrest befindlich ist, kommt es kaum zu Verschiebungen für das Resonanzsignal. Die Produkte **101a - b** hingegen besitzen mit 3-Chloroanilin und 3-(Trifluoromethyl)anilin ein deutlich anderes 6-Substitutionsmuster. Der erhöhte Elektronenzug ohne ausgleichenden +M-Effekt des Benzyloxyethers führt zu Entschirmung von H-4 zu 8,45 bzw.

8,42 ppm. Ähnliche Beobachtungen lassen sich für H-8 nachvollziehen. Für die 6-benzyloxyanilinosubstituierten Verbindungen **101c - I** ergeben sich konstante Resonanzsignale zwischen 8,01 - 8,04 ppm. Der zusätzliche Elektronenzug durch veränderte 6-Substitution in Substanz **101a - b** verursacht einen Tieffeldshift zu 8,30 bzw. 8,33 ppm. Aufgrund der isolierten Lage zwischen zwei Heteroatomen erscheint H-8 ebenfalls als Singulett. Für die 9-unsubstituierten Verbindungen **101a - I** resultieren zusätzlich zwei weitere Resonanzsignale des Purins aus stickstoffgebundenen Protonen. Das breite Signal zwischen 12,97 - 13,25 ppm kann aufgrund von Tautomerie tendenziell sowohl N-7 als auch N-9 zugeordnet werden, wird hinsichtlich der nachfolgenden Substitutionsreaktion an N-9 jedoch unter Position 9 beschrieben. Es unterliegt infolge eigener Acidität einem relativ schnellen Protonen-Deuteronen-Austausch. Analog den kohlenstoffgebundenen Protonen gibt es kaum Schwankungen der chemischen Verschiebung innerhalb der 6-benzyloxyanilinosubstituierten Purine. Die 6-anilinosubstituierten Purine zeigen auch hier die beschriebene Entschirmung. Die Resonanzsignale der sekundären 6-Aminogruppe des Purins verhalten sich grundsätzlich identisch, sind aber aufgrund der größeren Nähe stärker von Substituenteneffekten durch Anilin- bzw. Benzyloxyanilin betroffen. Für die 6-benzyloxyanilinosubstituierten Produkte sind Signale zwischen 9,34 - 9,47 ppm messbar, während die anilinosubstituierten Substanzen breite Resonanzen bei 9,98 bzw. 10,14 ppm zeigen.



**Abb. 55:** <sup>1</sup>H-NMR-Beispielspektrum für 6-benzyloxyanilinosubstituierte 9H-Purin-6-amine (Verbindung **101e**)

Entsprechend ihren *meta*-substituierten Anilinsubstituenten ergeben sich für Verbindung **101a - b** vier weitere Resonanzsignale für die kohlenstoffgebundenen Protonen der Anilinringe.



Hingegen erzeugen die *para*-substituierten Anilinringe der Verbindungen **101d - l** aufgrund ihrer Rotationssymmetrie nur zwei Signale mit jeweiligem Integral von 2, da H-2' und H-6' bzw. H-3' und H-5' infolge der freien Drehbarkeit nicht unterscheidbar sind. Die Resonanzsignale für H-2' und H-6' sind im Bereich 6,93 - 7,03 ppm und für H-3' und H-5' im Bereich 6,66 - 6,68 ppm zu finden. Aufgrund vicinaler Kopplung mit dem jeweils anderen Protonenpaar erscheinen sie als Dubletts mit Kopplungskonstanten von  $^3J_{3'-5'/2'-6'}$  bzw.  $^2J_{6'/3'-5'}$  = 8,2 - 8,8 Hz. Eine Ausnahme stellt Verbindung **101c** dar, da hier ein zusätzlicher 3'-Chlorsubstituent enthalten ist, durch welchen die Rotationssymmetrie entfällt. Es ergeben sich drei klar trennbare Signale für H-2', H-5' und H-6'.

Die Verbindungen **102a - b** sind der Verbindung **101e** analog, besitzen aber zusätzliche Alkylierung an N-9 (vgl. <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum **102a** Anhang NN). Für H-4, die sekundäre 6-Aminofunktion und den Benzyloxylanilinsubstituenten ergeben sich infolge räumlicher Entfernung und geringen elektronischen Einflusses der N-9-Substituenten keinerlei Veränderungen. Das Resonanzsignal von H-8 hingegen wird durch die N-9-Alkylierungen leicht entschirmt, da der Verlust des stickstoffgebundenen Protons mit Verlust an Elektronendichte an C-8 einhergeht. Potenziell würde Alkylierung an N-7 aufgrund ebenfalls direkter Nachbarschaft zu H-8 einen ähnlichen Effekt verursachen. Aufgrund des sterischen Anspruchs besonders im Fall der N-Benzylierung (Verbindung **102b**) ist jedoch Alkylierung an N-9 wahrscheinlich. Zugehörige Daten aus <sup>13</sup>C-NMR-Spektren untermauern dieses zusätzlich (vgl. 3.5.3). Die in Tabelle 27 für Verbindungen **102a - b** unter Position 9 geführten Signale beschreiben die direkt stickstoffgebundenen Methylengruppen der jeweiligen Substituenten.

### 3.5.3. <sup>13</sup>C-NMR-Untersuchungen 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9H-Purin-6-amine

Neben den <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Daten wurden für eine Auswahl an Verbindungen ebenfalls <sup>13</sup>C-NMR-Spektren erfasst. Die in Tabelle 28 dargestellten Daten sind eine zusammenfassende Betrachtung der Signale des Puringrundkörpers und des direkt gebundenen 6-Anilinrings. Sowohl die Resonanzsignale des Anilinrings für C-1' und C-4' als auch alle verbliebenen Substanzsignale sind in den Einzelcharakterisierungen aufgeführt. Für die 6-benzyloxylanilinosubstituierten Verbindungen **101d - l** (vgl. <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum **101e** Anhang LL) und **102a - b** (vgl. Abb. 56) ist ersichtlich, dass der 6-Anilinring aufgrund seiner rotationssymmetrischen Substitution für C-2' und C-6' bzw. für C-3' und C-5' jeweils nur ein Resonanzsignal erzeugt. Aufgrund freier Drehbarkeit um die Einfachbindungen des Substituenten sind die jeweiligen Kohlenstoffe nicht von ihrem Äquivalent zu unterscheiden, welches sich an Resonanzsignalen mit erhöhter Intensität zeigt. Dabei liegen die Signale für C-3' bzw. C-5' aufgrund des positiv mesomeren Effekts des Benzyloxyethers weiter im Hochfeld zwischen 115,77 - 115,94 ppm. Hingegen zeigen C-2' bzw. C-6' konstante Resonanzsignale im Bereich von 129,20 - 130,03 ppm. Für die 3-(trifluoromethyl)anilinsubstituierte Verbindung **101a** ergeben sich infolge *meta*-ständiger Derivatisierung vier verschiedene Signale für die betrachteten Kohlenstoffe. Durch positiv mesomeren Effekt der sekundären Aminogruppe und schirmenden Effekt der Trifluoromethylgruppe liegt das Resonanzsignal für C-2' im Hochfeld bei 118,75 ppm. C-6' wird nur durch den erstgenannten Effekt beeinflusst und zeigt Resonanz bei 123,67 ppm. C-3' liegt von

den betrachteten Anilinsignalen (**101a**) aufgrund des Elektronenzugs der Trifluoromethylgruppe am weitesten im Tieffeld bei 129,93 ppm.

**Tabelle 28:** Darstellung charakteristischer Daten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren 6-anilino- und 6-benzyloxyanilinosubstituierter 9H-Purin-6-amine bzw. zusätzlich 9-alkylierter Derivate

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm								
	C-1	C-2	C-4	C-6	C-8	C-2'	C-6'	C-3'	C-5'
		151,16*	151,16*	151,16*					
<b>101a</b>	120,12	151,99*	151,99*	151,99*	140,85	118,75	123,67	129,93	125,84
		152,12*	152,12*	152,12*					
<b>101d</b>	119,38	152,06	156,16	152,30	139,25		129,23		115,86
<b>101e</b>	119,33	152,03	156,13	152,25	139,14		130,03		115,82
<b>101f</b>	119,28	152,05	156,24	152,33	139,34		129,17		115,92
<b>101g</b>	119,44	152,06	156,24	152,35	139,38		129,23		115,91
<b>101h</b>	119,42	152,07	156,25	152,35	139,41		129,29		115,94
<b>101i</b>	119,33	152,06	156,16	152,26	139,10		129,38		115,82
<b>101j</b>	119,37	152,04	156,07	152,25	139,06		129,20		115,78
<b>101k</b>	119,31	152,04	156,06	152,23	138,93		129,29		115,77
<b>101l</b>	119,44	152,05	156,20	152,39	139,21		129,21		115,90
<b>102a</b>	119,60	151,45	156,22	151,94	141,06		129,32		115,85
<b>102b</b>	119,56	151,37	156,28	152,23	140,98		129,33		115,88

\* aufgrund Signalnähe eindeutige Zuordnung nicht möglich, pro forma Zuordnung jeweils allen 3 möglichen Kohlenstoffen; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 25

Für alle 6-benzyloxyanilinosubstituierten Verbindungen **101d - l** (vgl.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum **101e** Anhang LL) und **102a - b** (vgl. Abb. 56) sind die Resonanzsignale des Purins nahezu konstant. C-1 liegt vergleichsweise weit im Hochfeld aufgrund der hochsubstituierten Lage des Kohlenstoffs. Weiterhin liegt C-1 relativ weit innerhalb des Puringrundkörpers und wird somit partiell vom Ringstromeffekt geschirmt. Es resultieren Signale im Bereich von 119,28 - 119,60 ppm. Ebenso konstante Resonanzsignale sind für C-2 zu sehen. Durch direkte Nachbarschaft zu zwei Stickstoffatomen und dem damit verbundenen Elektronenzug liegen die Signale deutlich weiter entschirmt im Bereich von 152,03 - 152,07 ppm. Lediglich die zusätzlich 9-alkylierten Produkte liefern Signale etwas weiter im Hochfeld bei 151,37 ppm bzw. 151,45 ppm. Die zusätzlichen Alkylierungen verursachen durch positiv induktive Effekte eine leicht verminderte Auswirkung des Elektronenzugs von N-9 auf C-2. C-4 ist ebenfalls durch zwei benachbarte Stickstoffatome stark entschirmt und liefert Signale im Bereich von 156,06 - 156,28 ppm. Die Resonanzsignale für C-6 liegen ebenso im Tieffeld zwischen 151,94 - 152,39 ppm und werden vor allem durch N-5 und die sekundäre 6-Aminogruppe entschirmt. Obwohl C-8 auch von zwei Stickstoffatomen umgeben ist, liegen die Resonanzsignale weiter im Hochfeld zwischen 138,93 - 139,41 ppm, welches sich ebenfalls durch Beeinflussung der Signale durch den Ringstromeffekt bzw. den damit verbundenen Abschirmkegel erklären lässt. Für die zusätzlich N-9-alkylierten Produkte ergibt sich eine leichte Entschirmung von C-8 zu 140,98 ppm bzw. 141,06 ppm.

Durch Verlust von Proton N-9-H und der damit verbundenen Tautomerie verringert sich die Elektronendichte an C-8 und es kommt zu einem leichten Tieffeldshift. Da die zusätzliche Alkylierung v.a. Effekte auf die Signale von C-8 und C-2 ausübt, ist die Alkylierung an N-9 plausibel. Für die Verbindung **101a** ergibt sich aus veränderter 6-Substitution eine Verschiebung der Resonanzsignale des Purins. Die Signale für C-1 und C-8 sind infolge isolierter Lage im Spektrum klar zuordnungsfähig. Jedoch ergibt sich durch Verschiebung des Signals von C-4, dass drei Resonanz-signale (C-2, C-4 und C-6) dicht beieinander liegen und eine klare Zuordnung nicht möglich ist.

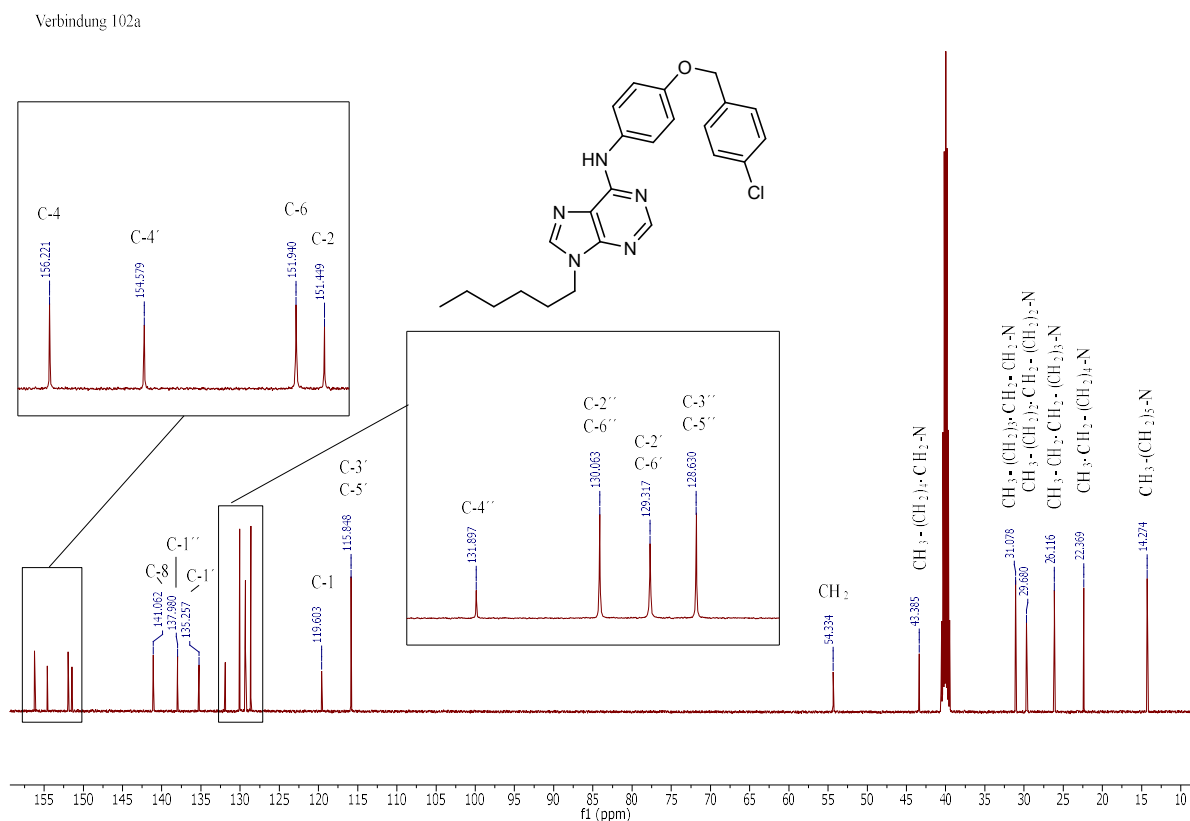
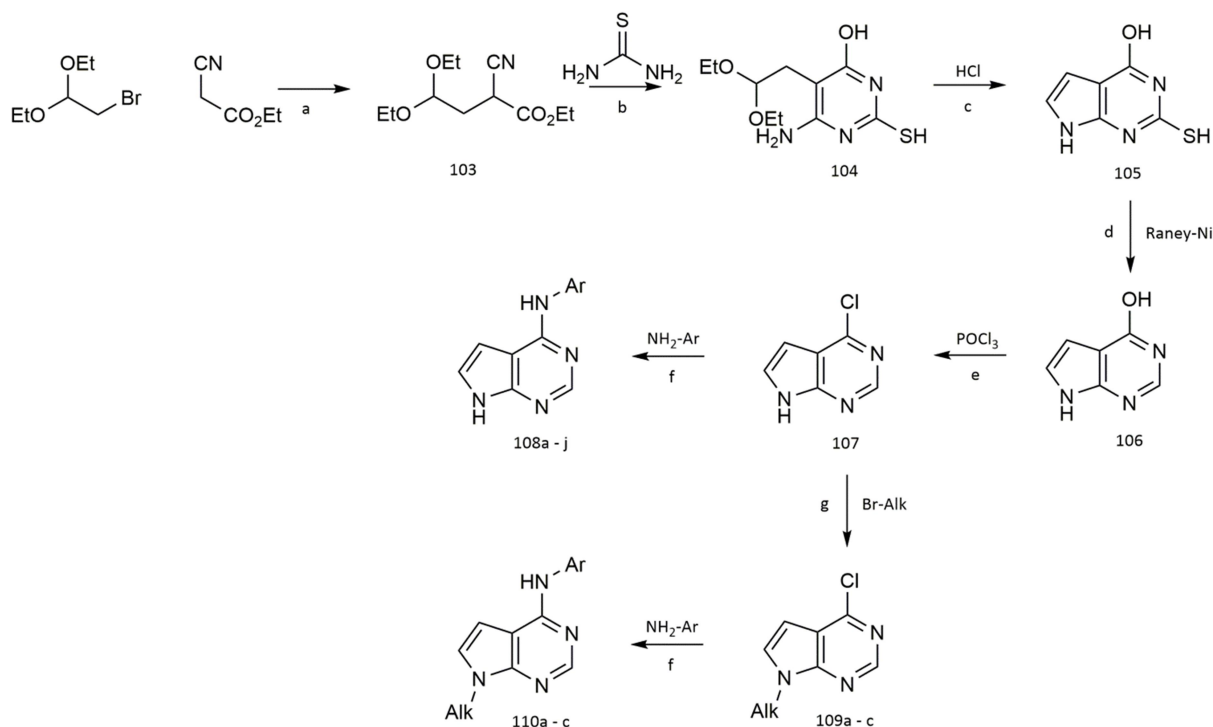


Abb. 56:  $^{13}\text{C-NMR}$ -Beispielspektrum für 6-benzyloxyanilino-9-alkylsubstituierte 9H-Purin-6-amine (Verbindung **102a**)

### 3.5.4. Synthese 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine

Um einen weiteren Bezugspunkt zwischen ATP, dem natürlichen Substrat der RTKs, und der synthetisierten Inhibitor-Klasse der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole zu schaffen, war die Synthese von substituierten Pyrrolopyrimidinen naheliegend. Aufgrund größerer Ähnlichkeit zu den 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-olen lag der Fokus auf Etablierung einer Synthese für 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine. Zusätzlich wurde für vergleichende Betrachtungen auch ein substituiertes 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidin synthetisiert. Die Synthese der 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine (vgl. Abb. 57) bis Verbindung **107** (4-Chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin) wurde basierend auf einem Patent der Firma Merck KGaA durchgeführt<sup>338</sup>. Dazu wurde zunächst in einem ausgeheizten Zweihalskolben wasserfreies  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und eine katalytische Menge NaI vorgelegt und danach Ethylcyanoacetat zugesetzt. Unter Argonatmosphäre wurde nachfolgend Bromoacetaldehyd-diethylacetal zugetropft und der Reaktionsansatz 4,5 h bei 145 °C erhitzt. Bei der nucleophilen Substitutionsreaktion kommt es zur Deprotonierung der

$\alpha$ -Methylengruppe im Ethylcyanoacetat. Das gebildete Carbanion substituiert als Nucleophil das Bromatom in Bromoacetaldehyd-diethylacetal. Die katalytische Menge NaI dient der Verbesserung der Abgangeigenschaften des Bromatoms im Sinne einer FINKELSTEIN-Reaktion<sup>339</sup>. Der strikte Wasserausschluss während der Reaktion dient dem Erhalt der über Acetalbildung geschützten Aldehydfunktion. Die Aufarbeitung des Ansatzes geschah über Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Diethylether gegen Wasser. Danach erfolgte säulenchromatographische Aufreinigung unter Verwendung von *n*-Hexan/Ethylacetat 90:10 (V/V) als Eluent und Detektion mit  $\text{KMnO}_4$ -Tauchreagenz. Das Produkt Ethyl-2-cyano-4,4-diethoxybutanoat (**103**) resultierte als farbloses Öl in ca. 87-prozentiger Ausbeute.

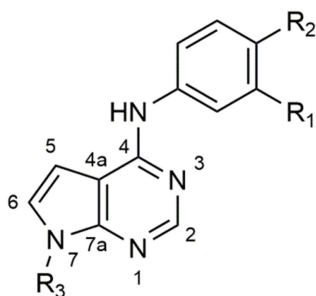


**Abb. 57:** Synthese von 4-anilino- bzw. 4-anilino-7-alkylsubstituierten 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidinen. Reagenzien und Bedingungen: (a) 1,0 eq.  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ; 0,01 eq. NaI; 145 °C; 4,5 h (b) 1,1 eq. Thioharnstoff; methanolische Natriummethanolat-Lösung; reflux; 12 h (c) 0,2 M HCl(aq.); r.t.; 2 d (d) Raney-Nickel; 5%ige wässrige  $\text{NH}_3$ -Lösung; reflux; 7 h (e) 14,8 eq.  $\text{POCl}_3$ ; reflux; 5 h (f) 3,0 - 5,0 eq. subst. Anilin; NMP; 135 °C; 3,5 h (g) 1,2 eq. Br-Alk; 1,2 eq. NaH; DMF; r.t.; 6 - 8 h

Folgend wurde das ölige Produkt in einem Cyclisierungsschritt zu 6-Amino-5-(2,2-diethoxyethyl)-2-mercaptopyrimidin-4-ol umgesetzt. Dazu wurde **103** zunächst in methanolischer  $\text{NaOCH}_3$ -Lösung unter Rühren gelöst. Dabei verfärbte sich der Reaktionsansatz gelb. Danach wurde Thioharnstoff im leichten Überschuss (1,1 eq.) zugesetzt und für 12 h zum Rückfluss erhitzt. Bei der Umsetzung kommt es sowohl zur Aminolyse der Ethylestergruppe als auch zur Reaktion der Nitrilfunktion mit der zweiten Aminogruppe des Thioharnstoffs unter Ausbildung einer Amidinpartialstruktur. Die Reaktion wurde über Zusatz von Wasser beendet und anschließend über Extraktion mit Diethylether von apolaren Verunreinigungen gereinigt. Durch Neutralisation der wässrigen Phase mit Essigsäure bzw. Protonierung von 6-Amino-5-(2,2-diethoxyethyl)-2-mercaptopyrimidin-4-ol (**104**), welches vorher als lösliches Thiolatanion vorlag, kam es zur Bildung eines beigefarbenen Präzipitats. Nach Filtration und Trocknung über  $\text{P}_2\text{O}_5$  konnte dieses weiter verwendet werden. Unter Verwendung von 0,2 N wässriger Salzsäure konnte die Aldehydfunktion aus ihrer Schutzgruppe freigesetzt werden, so dass sie in einer Kondensationsreaktion mit der *ortho*-

ständigen Aminogruppe weiterreagieren kann. Durch Cyclisierung und Ausbildung einer aromatischen Struktur kam es zur Bildung von 2-Mercapto-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ol (**105**) als grau-weißer Feststoff in nahezu quantitativer Ausbeute. Die nachfolgende über Raney-Nickel katalysierte Entschwefelungsreaktion dient der Entfernung des 2-Thiolsubstituenten und wurde in ähnlicher Ausführung für die Purinsynthese genutzt. Es kam zur Bildung eines leicht grünen Feststoffs **106** in etwa 53-prozentiger Ausbeute. Die nachfolgende 4-Chlorierung von 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ol zu 4-Chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin erfolgte durch Erhitzen zum Rückfluss in POCl<sub>3</sub>. In Abweichung zur Patentschrift<sup>338</sup> wurde die Reaktionszeit mit 5 h wesentlich länger gewählt. Die Aufreinigung der Reaktion fand nach Entfernung des überschüssigen POCl<sub>3</sub> im Vakuum durch Neutralisation mit wässriger K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und anschließender Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Diethylether statt. Es resultierte 4-Chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin (**107**) als grünlicher Feststoff in ca. 43-prozentiger Ausbeute.

Die nachfolgenden Substitutionsreaktionen an Position 4 der 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine mit substituierten Anilinen und Benzyloxyanilinen wurden nach AAV 1 durchgeführt. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch mit Chloroform-Methanol-Gemischen als Eluent. Es entstanden die in Tabelle 29 dargestellten Verbindungen **108a - j** in moderaten bis guten Ausbeuten. Lediglich Verbindung **108d** konnte aufgrund schlechter chromatographischer Trennung nur in einer Ausbeute von 14,6 % gewonnen werden.



**Tabelle 29:** Darstellung der synthetisierten 4-anilino- und 4-benzyloxyanilinosubstituierten 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine bzw. der zusätzlich 7-alkylierten Derivate (inkl. Ausbeuten und Edukten)

Verb.	Edukt	Anilin	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Ausbeute
<b>108a</b>	<b>107</b>	(3-CF <sub>3</sub> Ph)NH <sub>2</sub>	-CF <sub>3</sub>	-H	-H	93,8 %
<b>108b</b>	<b>107</b>	<b>2h</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-H	67,6 %
<b>108c</b>	<b>107</b>	<b>2i</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-CNPh)	-H	64,4 %
<b>108d</b>	<b>107</b>	<b>2j</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-NO <sub>2</sub> Ph)	-H	14,6 %
<b>108e</b>	<b>107</b>	<b>2d</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-NO <sub>2</sub> Ph)	-H	57,0 %
<b>108f</b>	<b>107</b>	<b>2g</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-FPh)	-H	48,2 %
<b>108g</b>	<b>107</b>	<b>2a</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-OCH <sub>3</sub> Ph)	-H	32,6 %
<b>108h</b>	<b>107</b>	<b>2e</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-CH <sub>3</sub> Ph)	-H	38,6 %
<b>108i</b>	<b>107</b>	<b>2c</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-ClPh)	-H	28,0 %
<b>108j</b>	<b>107</b>	<b>2b</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (3-FPh)	-H	30,0 %
<b>110a</b>	<b>109a</b>	<b>2h</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	22,1 %
<b>110b</b>	<b>109b</b>	<b>2h</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	24,7 %
<b>110c</b>	<b>109c</b>	<b>2h</b>	-H	-OCH <sub>2</sub> (4-ClPh)	-CH <sub>2</sub> Ph	11,0 %

In Analogie zu den Purinen wurden auch an den 7*H*-Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidinen zusätzliche Alkylierungen an N-7 durchgeführt. Jedoch entfällt aufgrund des nicht vorhandenen zweiten Stickstoffatoms im Pyrrolring die Selektivitätsproblematik, so dass die Alkylierungsreaktion unabhängig von Art und Größe des 4-Substituenten durchgeführt werden kann. Die Modifikationen an N-7 zu den Verbindungen **109b - c** wurden nach AAV 10 in DMF unter Verwendung von NaH (60%ig auf Paraffin) als starke Base durchgeführt<sup>336</sup>. Die Aufarbeitung erfolgte säulenchromatographisch mit Heptan-Ethylacetat-Gemischen als Eluent. Mit 85 % bzw. 64 % Ausbeute ergaben sich farblose Öle für die weitere Umsetzung. Eine vergleichende Umsetzung zu Verbindung **109a** unter Anwendung einer Alternativmethodik nach ARCARI *et al.* konnte mit 38 % Ausbeute durchgeführt werden<sup>340</sup>. Die Synthesevorschrift nutzt Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> als Base zur Deprotonierung des aciden Protons an N-7, um anschließend mit Halogenalkanen in einer Substitutionsreaktion umgesetzt zu werden. Als Reaktionsmedium wird analog zur Vorschrift nach BOUCHERLE *et al.* DMF als polares aprotisches Lösungsmittel genutzt. Alle 4-Chloro-7-alkyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine zeigen blaue Fluoreszenz bei Anregung mit UV-Licht der Wellenlänge  $\lambda = 254$  nm und wurden anschließend mit Verbindung **2h** als Benzyloxyanilinkomponente nach AAV 1 umgesetzt. Nach chromatographischer Aufarbeitung mit Heptan-Ethylacetat-Gemischen als Eluenten und Umkristallisation in Methanol entstanden die Produkte **110a - c** als weiße Feststoffe in Ausbeuten von 11,0 - 24,7 %. Die 7-alkylierten Verbindungen **110a - c** sind ebenfalls in Tabelle 29 aufgeführt.

### 3.5.5. <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7*H*-Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine

Auf Basis von Literaturdaten zur Struktur konnten die Verbindungen **103 - 107** erfolgreich reproduziert werden. Tabelle 30 enthält sowohl eigene Messdaten als auch Literaturbelege verschiedener analytischer Methoden zu Verbindung **107**. Anhand der Übereinstimmung gilt die Identität von Produkt **107** als Ausgangspunkt weiterer Derivatisierungen als erwiesen. Die massenspektrometrischen Bestimmungen fanden mittels unterschiedlicher Ionisierungsmethoden statt und zeigen daher leicht unterschiedliche Messergebnisse. Weiterhin enthalten die Daten unserer <sup>1</sup>H-NMR-Messungen zusätzlich das Resonanzsignal des stickstoffgebundenen Protons N-7-H, da dessen Existenz als Indiz für die Alkylierungsversuche der Verbindungen **109a - c** bzw. **110a - c** genutzt wird.

**Tabelle 30:** Vergleich Literaturdaten und exp. Messdaten als Strukturbeleg für Verbindung **107**

	Exp. Messdaten Verbindung <b>107</b>	Literaturdaten: <b>4-Chloro-7<i>H</i>-pyrrolo[2,3-<i>d</i>]pyrimidin</b>
<sup>1</sup> H-NMR [ $\delta$ in ppm]	(500 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 6,59 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-5); 7,67 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-6); 8,57 (s, 1H, H-2); 12,54 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)	<sup>341</sup> (270 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 6,60 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,8 Hz, 1H, H-5); 7,69 (s, 1H, H-6); 8,58 (s, 1H, H-2)
<sup>13</sup> C-NMR [ $\delta$ in ppm]	(100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 99,02 (C-5); 116,74 (C-4a); 128,43 (C-6); 150,06 (C-2); 150,51 (C-4); 151,93 ppm (C-7a)	<sup>342</sup> (100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 98,9 (C-5); 116,6 (C-4a); 128,3 (C-6); 150,0 (C-2); 150,4 (C-4); 151,8 (C-7a)
MS [m/z]	MS-ESI: 154,2 [M+H] <sup>+</sup>	<sup>341</sup> MS-EI: 153,0 [M <sup>+</sup> ]
Schmelzbereich	189 - 190 °C	<sup>343</sup> 189 - 190 °C

### 3.5.5 1H-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine

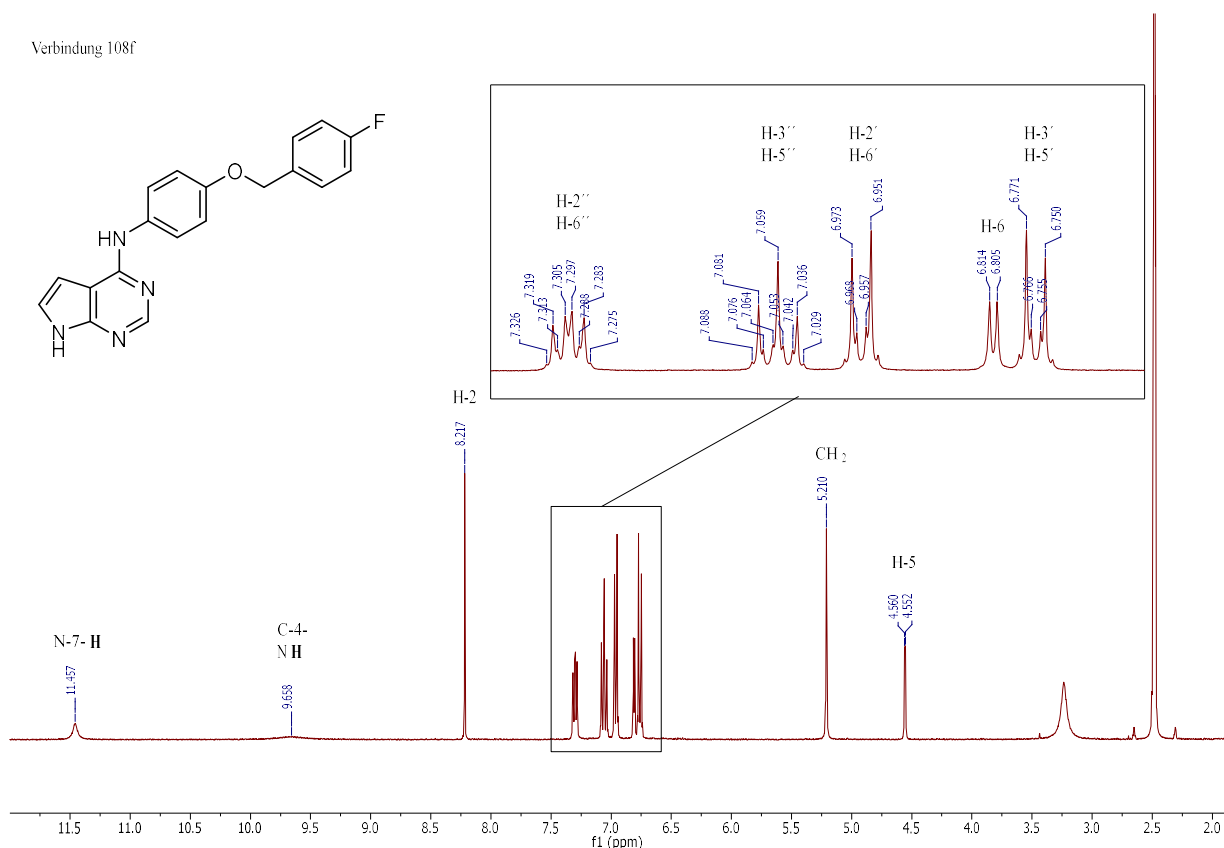
**Tabelle 31:** Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 4-anilino- und 4-benzyloxyanilinosubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine bzw. zusätzlich 7-alkylierter Derivate

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm				
	Pos. 2	Pos. 5	Pos. 6	Pos. 7	Pos. 4 (R-Ph)-R
<b>107</b>	8,57(s)	6,59(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz)	7,67(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz)	12,54(br)	-
<b>108a</b>	8,33(s)	6,80(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,3 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 1,9 Hz)	7,27(dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,3 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,3 Hz)	11,82(br)	7,31(d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,7 Hz); 7,55(t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. 6' = 8,0 Hz); 8,22(d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,4 Hz); 8,50 (s)
<b>108b</b>	8,21(s)	4,54(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 4,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz)	6,83(dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,4 Hz)	11,52(br)	6,77(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 7,00 (dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>108c</b>	8,20(s)	4,56(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz)	6,86(dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,4 Hz)	11,56(br)	6,77(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 7,05(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>108d</b>	8,23(s)	4,77(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,6 Hz)	6,79(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz)	11,54(br)	6,82(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 7,06(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>108e</b>	8,23(s)	4,56(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,4 Hz)	6,86(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,4 Hz)	11,58(br)	6,77(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,5 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,1 Hz); 7,03(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,5 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,1 Hz)
<b>108f</b>	8,22(s)	4,56(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz)	6,81(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz)	11,46(br)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,3 Hz); 6,96(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>108g</b>	8,21(s)	4,54(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz)	6,81 - 6,84(m)	11,51(br)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,5 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 7,00(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,5 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>108h</b>	8,21(s)	4,52(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 1,9 Hz)	6,81(dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,7 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,0 Hz)	11,49(br)	6,75(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,1 Hz); 6,97(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,6 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,1 Hz)
<b>108i</b>	8,21(s)	4,53(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,3 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz)	6,83(dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,3 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,3 Hz)	11,54(br)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,8 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,3 Hz); 6,99(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,8 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,3 Hz)
<b>108j</b>	8,20(s)	4,54(dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,3 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 1,9 Hz)	6,83(dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,3 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,6 Hz)	11,53(br)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,9 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,3 Hz); 7,00(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,9 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,3 Hz)
<b>109a</b>	8,61(s)	6,62(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,6 Hz)	7,77(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz)	4,25(t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,1 Hz)	-S-
<b>109b</b>	8,61(s)	6,63(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,6 Hz)	7,79(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz)	4,29(q, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz)	-S-
<b>109c</b>	8,64(s)	6,67(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,8 Hz)	7,83(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,8 Hz)	5,49(s)	-S-
<b>110a</b>	8,25(s)	4,53(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,6 Hz)	6,93(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz)	4,04(t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 6,99(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>110b</b>	8,25(s)	4,53(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz)	6,95(d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz)	4,09(q, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 6,99(dd, <sup>3</sup> J <sub>X</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>Y</sub> = 2,2 Hz)
<b>110c</b>	8,28(s)	4,56(d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz)	6,99 - 7,02(m)	5,29(s)	6,76(dd, <sup>3</sup> J <sub>V</sub> = 6,7 Hz, <sup>4</sup> J <sub>W</sub> = 2,2 Hz); 6,99 - 7,02 (m)

V: 3'-5'/2'-6'; W: 3'/5' bzw. 5'/3'; X: 2'-6'/3'-5'; Y: 2'/6' bzw. 6'/2'; -S- gebundener Substituent; Atomnummerierung entsprechend Tabelle 29

Die Verbindungen **108a - j** stellen 4-Derivatisierungen des 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidins dar. Tabelle 31 beinhaltet die Protonenresonanzsignale des Pyrrolopyrimidingrundkörpers und des unmittelbar in 4-Position gebundenen Anilinrests. Mit den Verbindungen **109a - c** und **110a - c**

beinhaltet die Tabelle zusätzlich die genannten Resonanzsignale aus den *N*-7-Alkylierungsversuchen bzw. der resultierenden Produkte. H-2 ist in allen dargestellten Substanzen als Singulett ersichtlich und liegt infolge isolierter Lage zwischen zwei Stickstoffatomen relativ weit im Tieffeld. Für die 4-chlorsubstituierten Verbindungen (**107** und **109a - c**) liegen die Resonanzsignale im Bereich von 8,57 - 8,64 ppm. Eine entsprechende 4-Substitution mit Anilinen bzw. Benzyloxylanilinen bewirkt durch verminderten Elektronenzug und positiv mesomeren Effekt der sekundären 4-Aminogruppe eine Verschiebung des Signals ins Hochfeld zu 8,20 - 8,33 ppm (vgl. Abb. 58). Für Verbindung **108a** ist der Hochfeldshift am geringsten, da die 3'-Trifluormethylgruppe einen starken Elektronenzug ausübt.



**Abb. 58:**  $^1\text{H-NMR}$ -Beispielspektrum für 4-benzyloxylanilinosubstituierte 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine (Verbindung **108f**)

Die Auswirkungen von veränderter 4-Substitution sind ebenfalls für das Resonanzsignal H-5 zu beobachten. Generell erscheint H-5 als Dublett oder Doppeldublett je nach Auflösung bzw. Existenz der vicinalen Kopplung zu H-6 ( $^3J_{5/6} = 3,3 - 4,0$  Hz) und der Fernkopplung zu N-7-H ( $^4J_{5/\text{NH}} = 1,9 - 2,0$  Hz). Für die 4-chlorsubstituierten Derivate **107** und **109a - c** liegt H-5 im Bereich von 6,59 - 6,67 ppm. Auch das stark elektronenziehend substituierte Derivat **108a** verschiebt das Doppeldublett von H-5 ins Tieffeld zu 6,80 ppm. Hingegen bewirkt der positiv mesomere Effekt der 4-aminoderivatisierten Produkte eine Hochfeldverschiebung von H-5 zu 4,52 - 4,77 ppm. Der Vergleich der Verbindungen **108b** und **110a - c** wiederum belegt, dass der Effekt der Alkylierungen an N-7 auf H-5 gering ist, da entsprechendes Resonanzsignal kaum beeinflusst wird. Aufgrund der größeren Distanz und des nivellierenden Effekts des benachbarten N-7 sind die Konsequenzen der 4-Substitution für H-6 deutlich schwächer ausgeprägt. So resultieren für H-6 ebenfalls Dubletts bzw.



Doppeldoublets je nach Auflösung bzw. Vorhandensein der Kopplung zu N-7-H. Für die 4-Chlorderivate erscheint das Resonanzsignal bei 7,67 - 7,83 ppm, für Verbindung **108a** bei 7,27 ppm und die 4-benzyloxyanilinosubstituierten Derivate unterliegen wiederum einem Hochfeldshift zu 6,79 - 7,02 ppm. Tendenziell bewirkt die zusätzliche Alkylierung an N-7 (Verbindung **110a - c**) eine leichte Entschirmung an H-6, da der benachbarte Stickstoff leicht an Elektronendichte verliert.

Die Resonanzsignale der stickstoffgebundenen Protonen N-7-H der Verbindungen **107** und **108a - j** resultieren als breite Signale im Tieffeld und unterliegen dem Protonen-Deuteronen-Austausch. Für die 4-benzyloxyanilinoanellierten Substanzen erscheinen die Resonanzsignale im Bereich von 11,46 - 11,58 ppm. 4-Trifluoromethylanilin- oder 4-Chlorosubstitution bewirken durch Elektronenzug eine Entschirmung dieses Signals zu 11,82 ppm bzw. 12,54 ppm. Für die 7-alkylierten Produkte (vgl. <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum **110a** Anhang RR) ist unter Position 7 das Resonanzsignal der direkt an N-7 gebundenen Methylengruppe vermerkt, so dass für die 7-Ethyllderivate **109b** und **110b** Quartettsignale, für die 7-Hexyllderivate **109a** und **110a** Triplets, und für die 7-benzylsubstituierten Substanzen **109c** und **110c** Singulets beschrieben sind. Die Protonensignale der sekundären 4-Aminogruppe (nicht in Tabelle 31 aufgeführt) treten nur in den 4-aminosubstituierten Verbindungen **108a - j** und **110a - c** auf. Die breiten Resonanzsignale erscheinen im Bereich von 9,57 - 9,72 ppm. Unter Position 4 werden die Resonanzsignale der Anilinringe beschrieben. Die Produkte **108b - j** und **110a - c** besitzen infolge *para*-substituierter Aniline jeweils nur ein Resonanzsignal mit Integral 2 für die Protonenpaare H-2' und H-6' bzw. H-3' und H-5'. Die Signale liegen im Bereich von 6,75 - 6,82 ppm für H-3'/H-5' und im Bereich von 6,96 - 7,06 ppm für H-2'/H-6' und erscheinen als Doppeldoublets aufgrund vicinaler Kopplung ( $^3J_{3'-5'}/2'-6'$  bzw.  $2'-6'/3'-5' = 6,5 - 6,9$  Hz) zum anderen Protonenpaar und der Fernkopplung ( $J_{3'/5'}$  bzw.  $2'/6' = 2,1 - 2,3$  Hz) zum jeweiligen rotations-symmetrischen Äquivalentproton. Verbindung **108a** zeigt vier Protonenresonanzsignale infolge des *meta*-substituierten Anilinrings.

### 3.5.6. <sup>13</sup>C-NMR-Untersuchungen 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine

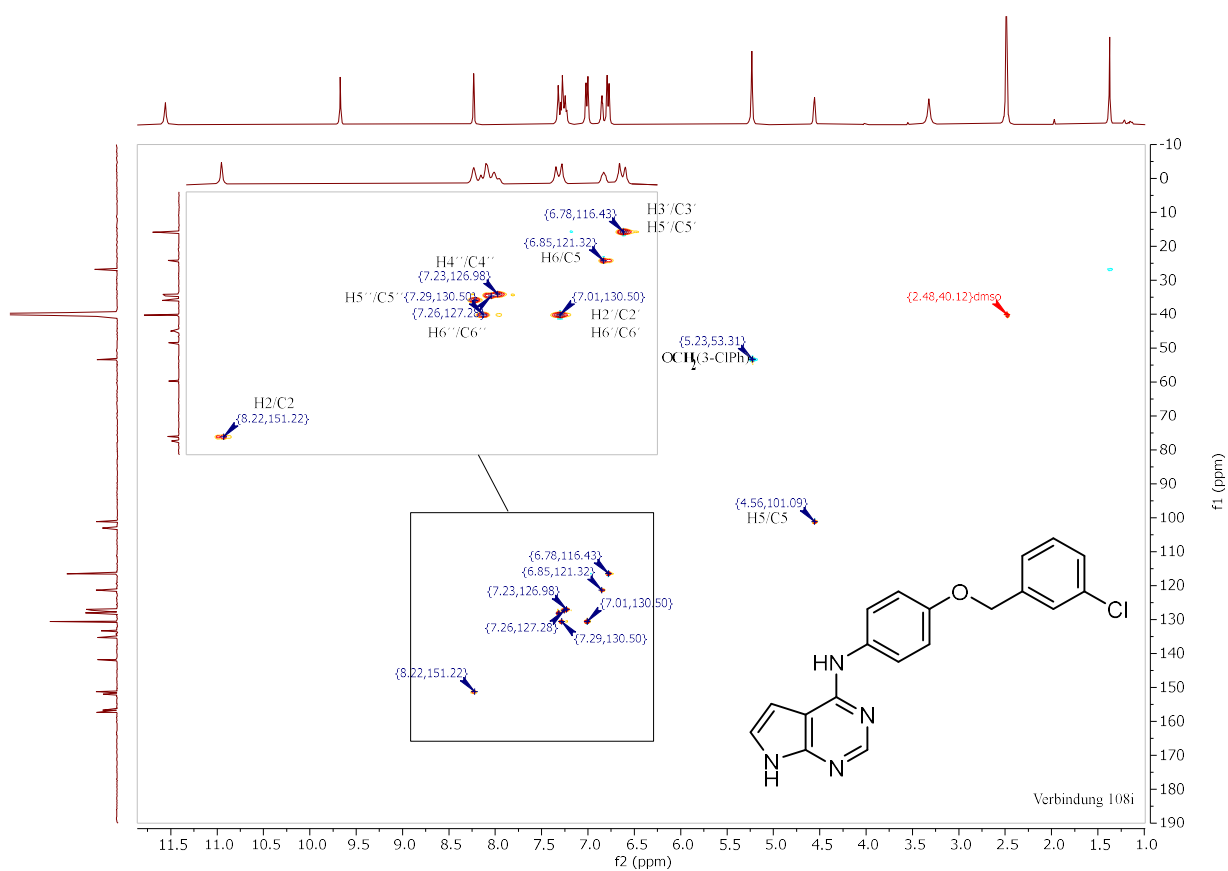
Neben den <sup>1</sup>H-NMR-Daten wurden ebenfalls <sup>13</sup>C-NMR-Spektren für ausgewählte Verbindungen erfasst. Tabelle 32 fasst entsprechende Daten der Kohlenstoffatome des 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidingrundkörpers und des unmittelbar gebundenen Anilinrings in Position 4 zusammen. Zur Erhöhung der Zuordnungssicherheit wurde Verbindung **108i** zusätzlich im HSQC-Verfahren vermessen (vgl. Abb. 59). Das HSQC-Spektrum ermöglicht die Zuordnung von Protonenresonanzsignalen zu Kohlenstoffresonanzen. Somit kann die spezifische Information der Protonenkopplungsmuster für die Kohlenstoffzuordnung genutzt werden. Wie in Tabelle 32 ersichtlich sowie infolge hoher Strukturanalogie nachvollziehbar, gibt es für die betrachteten Kohlenstoffresonanzsignale kaum Abweichungen zwischen den Verbindungen. C-2 ist durch isolierte Lage zwischen zwei Stickstoffatomen relativ stark entschirmt, liefert Resonanzsignale im Bereich von 151,17 - 151,24 ppm und konnte für Produkt **108i** dem Singulett bei 8,22 ppm im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum zugeordnet werden. Ähnliche Voraussetzungen sind ebenfalls für C-4 und C-7a vorhanden. Da C-4 zusätzlich vom Elektronenzug des 4-Benzyloxyanilinrests entschirmt wird, liegt das Resonanzsignal

weiter im Tieffeld bei 157,14 - 157,46 ppm. C-7a liefert ein Signal im Bereich von 156,59 - 156,73 ppm.

**Tabelle 32:** Darstellung charakteristischer Daten  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren 4-benzyloxyanilinosubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm									
	C-2	C-4	C-4a	C-5	C-6	C-7a	C-1'	C-2' C-6'	C-3' C-5'	C-4'
108b	151,20	157,25	102,96	101,09	121,17	156,63	135,25	130,61	116,40	151,94
108c	151,17	157,31	103,01	101,05	121,35	156,59	135,29	130,51	116,45	151,97
108e	151,18	157,46	103,03	101,04	121,40	156,60	135,06	130,58	116,52	151,97
108f	151,20	157,39	102,96	101,11	121,10	156,66	135,10	130,60	116,41	151,91
108g	151,22	157,16	102,96	101,14	121,08	156,73	135,49	130,53	116,33	151,94
108h	151,24	157,14	102,92	101,15	120,97	156,73	135,43	130,62	116,31	151,91
108i	151,18	157,28	102,99	101,08	121,27	156,62	135,25	130,55	116,44	151,92
108j	151,20	157,25	103,00	101,09	121,22	156,65	135,33	130,61	116,41	151,95

Atomnummerierung entsprechend Tabelle 29



**Abb. 59:**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC-Korrelationspektrum 4-benzyloxyanilinosubstituierte 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine (Verbindung 108i)

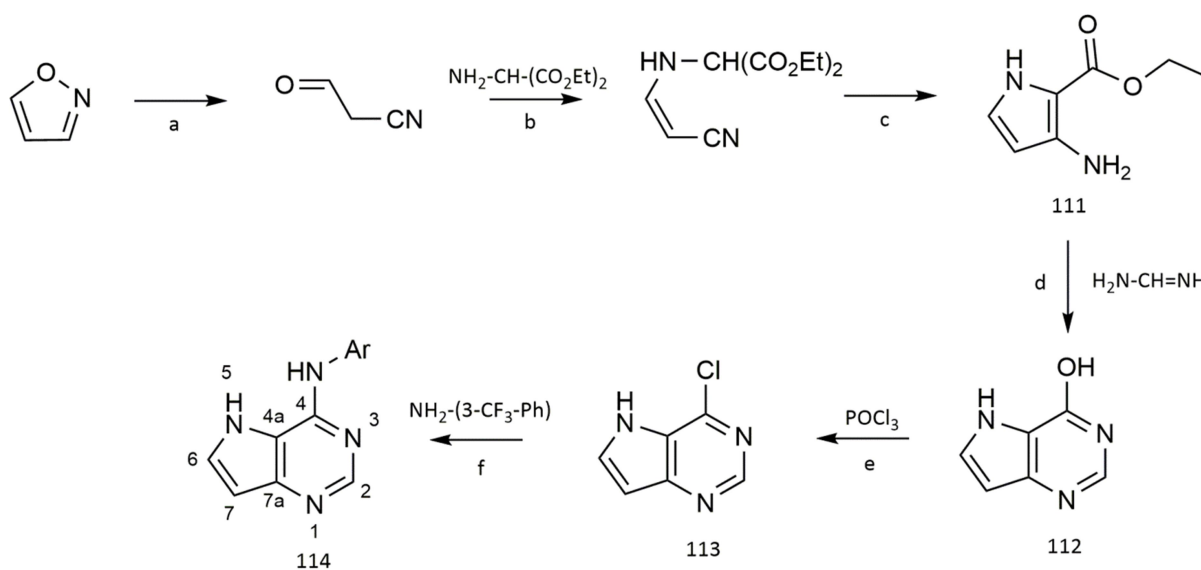
Die Resonanzen von C-5 bzw. C-6 liegen wesentlich weiter im Hochfeld. Beide Kohlenstoffe sind Teil des elektronenreicheren Pyrrolrings und somit insgesamt stärker geschirmt. So liegen die Signale für C-5 im Bereich von 101,04 - 101,15 ppm, bestätigt durch Zuordnung des Doppeldoublets bei 4,56 ppm im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der Verbindung **108i**. Das benachbarte C-6 wird zusätzlich durch den Elektronenzug von N-7 beeinflusst, resultiert deshalb etwas weiter im Tieffeld bei 120,97 - 121,35 ppm, welches durch Assoziation des Signals mit dem Doppeldoublet des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums von Substanz **108i** bei 6,85 ppm untermauert wird. Ebenfalls relativ weit im Hochfeld befindet sich C-4a. Dieses lässt sich mit dem hohen Substitutionsgrad und der relativ zentralen Lage im Pyrrolopyrimidin erklären. Tendenziell verursacht der Abschirmungskegel des Aromaten für C-4a zusätzliche Schirmung und Resonanzsignale im Bereich von 102,92 - 103,03 ppm.

Der Anilinderivat der Benzyloxyanilinsubstituenten zeichnet sich durch Rotationsasymmetrie aus, da er für alle Verbindungen *para*-substituiert ist. Daraus resultiert, dass C-2' und C-6' bzw. C-3' und C-5' nicht unterscheidbar sind und jeweils ein Resonanzsignal mit erhöhter Intensität erzeugen, woraus leichtere Identifizierbarkeit innerhalb des  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrums folgt. Der positiv mesomere Effekt des Benzyloxyethers verschiebt das Resonanzsignal von C-3'/C-5' ins Hochfeld zu 116,31 - 116,52 ppm, gestützt durch die Zuordnung des Doppeldoublets bei 6,78 ppm im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **108i**. Hingegen wirkt das Sauerstoffatom der Etherbrücke direkt an C-4' eher über Elektronenzug und somit entschirmend. Die Resonanzsignale für C-4' liegen folglich im Bereich von 151,91 - 151,97 ppm. Für C-2'/C-6' und C-1' scheint v.a. der Elektronenzug der sekundären Aminogruppe wirksam, so dass für C-2'/C-6' Resonanzsignale im Bereich von 130,53 - 130,62 ppm und für C-1' bei 135,06 - 135,49 ppm resultieren. Die Assoziation des Doppeldoublets bei 7,01 ppm im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der Verbindung **108i** mit dem Resonanzsignal bei 130,55 ppm im  $^{13}\text{C}$ -Spektrum stützt die gewählte Zuordnung.

### 3.5.7. Synthese *N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin

Als Vergleichssubstanz für die 7*H*-Pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine wurde ebenfalls ein substituiertes 5*H*-Pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin synthetisiert (vgl. Abb. 60). Für die Bewertung des Wechselwirkungspotenzials des Pyrrolstickstoffs mit der ATP-Bindungs tasche von RTKs ist dessen Position bzw. Ausrichtung von hoher Relevanz. Im Wesentlichen kann man die synthetischen Zugänge zum Produkt in zwei Varianten unterteilen. Einerseits ausgehend vom 5,6-disubstituierten Pyrimidin und andererseits ausgehend vom substituierten Pyrrol unter Ringschluss zum Pyrrolopyrimidin sind jeweils verschiedene Verfahren beschrieben. Nach Literaturrecherche lässt sich zusammenfassend sagen, dass Synthesen ausgehend vom substituierten Pyrimidin vielschrittiger und ineffizienter sind. Hingegen besteht die von FURNEAUX *et al.* veröffentlichte Synthese bis zur Darstellung des 3,5-Dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-ons (**112**) im Wesentlichen aus zwei Syntheseschritten und ist mit einer moderaten Gesamtausbeute von 45,1 % beschrieben. Dazu wurde zunächst 3-Oxopropionitril *in situ* aus seinem Isomer Isooxazol erzeugt, da dieses weder stabil noch käuflich zu erwerben ist. Unter Rühren und Kühlung auf 0 °C wurde Isooxazol wasserfreie ethanolische NaOEt-Lösung zugesetzt. Die exotherme Umwandlung wurde unter einer Reaktionstemperatur von 8 °C gehalten. Über Zugabe von Essigsäure und Natriumacetat wurde anschließend ein gepufferter pH-

Wert im schwach sauren Bereich generiert, welcher der Kompensation der leicht überschüssig eingesetzten Base NaOEt diene und zusätzlich nachfolgende Kondensationsreaktion begünstigte. Das nachfolgend hinzugegebene Hydrochlorid von Diethylaminomalonat reagierte als Stickstoffnucleophil mit der Carbonylgruppe des in situ gebildeten 3-Oxopropannitrils. Die Kondensationsreaktion führte unter Rühren bei Raumtemperatur für 2 d zum anzunehmenden Zwischenprodukt Diethyl-2-((2-cyanovinyl)amino)malonat, welches aber nicht isoliert wurde. Die Entstehung der Enaminstruktur wird durch Ausbildung von konjugierten Mehrfachbindungen begünstigt. Nach Entfernung aller Lösungsmittelrückstände im Vakuum wurde das Rohprodukt in Wasser aufgenommen und mit Chloroform extrahiert, um polare Verunreinigungen zu entfernen. Nachgehend wurde die organische Phase über ein Celite®-Pad filtriert und im Vakuum zur Trockene eingengt. Das ölige Produkt wurde in 0,5 M wasserfreier ethanolischer NaOEt-Lösung durch Cyclisierung zum Ethyl-3-amino-1*H*-pyrrol-2-carboxylat **111** umgesetzt. Ethanolat führte dabei zur Deprotonierung des durch Dicarboxylethylester stark elektronenziehend substituierten Kohlenstoffs, welches diesen zum nucleophilen Angriff am Nitrilkohlenstoff befähigte. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum konnte über Extraktionsschritte ein gelbes Öl in hinreichender Reinheit für die weitere Umsetzung erzeugt werden.



**Abb. 60:** Synthese von *N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin. Reagenzien und Bedingungen: (a) 1,1 eq. NaOEt; EtOH;  $\leq 8$  °C; 0,5 h (b) 0,7 eq.  $\text{NH}_2\text{CH}(\text{CO}_2\text{Et})_2$ ; 0,7 eq. NaAc; 0,3 eq. HAC; r.t.; 2 d (c) 0,7 eq. NaOEt; EtOH; r.t.; 3 d (d)  $\text{H}_2\text{NCH}=\text{NH}$ ; EtOH; reflux; 16 h (e) 7,2 eq.  $\text{POCl}_3$ ; reflux; 1 h (f) 5,0 eq. 3-(Trifluoromethyl)anilin; NMP; 135 °C; 3,5 h

Nach Lösen von Verbindung **111** in trockenem Ethanol wurde dem Reaktionsansatz Formamidinacetat zugesetzt. Formamidin reagierte dabei bifunktional. Einerseits fand Aminolyse der vorhandenen Carboxylesterstruktur statt, andererseits reagierte die 3-Aminogruppe des Pyrrols am Amidinkohlenstoff. Die Reaktion fand unter Erhitzen des Ansatzes zum Rückfluss für 16 h statt. Das Produkt konnte nach Abkühlen des Reaktionsansatzes auf 0 °C als Präzipitat gewonnen werden und wurde durch einen Waschschrift mit Ethanol und Umkristallisation in Wasser gereinigt. Es entstand 3,5-Dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on **112** als beiger Feststoff in guter Ausbeute von etwa 55 %. Die nachfolgende 4-Chlorierung erfolgte analog den anderen Bicyclen in  $\text{POCl}_3$  unter Erhitzen zum Rückfluss. Nach der Reaktion wurde unter Kühlung der Überschuss an  $\text{POCl}_3$  mit 25-prozentiger

wässriger NH<sub>3</sub>-Lösung abreagiert und ein pH von 7 - 8 eingestellt. Aus der wässrigen Lösung präzipitierte 4-Chloro-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin **113** als gelbes Pulver. Anschließend wurde die Verbindung in nucleophiler Substitutionsreaktion unter Bedingungen nach AAV 1 mit 3-(Trifluoromethyl)anilin umgesetzt. Das Produkt *N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin **114** entstand in etwa 59-prozentiger Ausbeute als beiger Feststoff und dient als Vergleichssubstanz der 5*H*-Pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidine.

### 3.5.8. Strukturbeleg *N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin

Auf der Basis der Literaturdaten zur Struktur konnten die Verbindungen **111** - **113** erfolgreich reproduziert werden. Tabelle 33 enthält vergleichend eigene experimentelle Daten und Literaturbelege verschiedener analytischer Methoden zu Verbindung **113**, welches die Identität der Substanz als Ausgangspunkt eigener Derivatisierungen mit hoher Sicherheit bestätigt.

**Tabelle 33:** Vergleich Literaturdaten und exp. Messdaten als Strukturbeleg für Verbindung **113**

	Exp. Messdaten Verbindung <b>113</b>	Literaturdaten: 4-Chloro-5 <i>H</i> -pyrrolo[3,2- <i>d</i> ]pyrimidin
<sup>1</sup> H-NMR [δ in ppm]	(500 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 6,74 (d, <sup>3</sup> J <sub>7/6</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-7); 7,99 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/7</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-6); 8,63 (s, 1H, H-2); 12,45 (br, 1H, N-5-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)	<sup>344</sup> (300 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 6,72 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/6</sub> = 3,5 Hz, <sup>4</sup> J <sub>7/NH</sub> = 1,7 Hz, 1H, H-7); 7,97 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6/7</sub> = 2,8 Hz, <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,8 Hz, 1H, H-6); 8,61 (s, 1H, H-2); 12,43 (br, 1H, N-5-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR [δ in ppm]	(100 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 102,61 (C-7); 124,18 (C-4a); 134,63 (C-6); 141,97 149,48 151,21 (C-2, C-4, C-7a)	<sup>344</sup> (75 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ): 102,7 (C-7); 124,3 (C-4a); 134,8 (C-6); 142,1 149,6 151,3 (C-2, C-4, C-7a)
MS [m/z]	MS-ESI: 154,55 [M+H] <sup>+</sup>	<sup>345</sup> MS-FAB: 154,0 [M <sup>+</sup> +H]
Schmelzbereich	192 - 194 °C	<sup>344</sup> 191 - 193 °C

Für die <sup>1</sup>H-NMR-spektroskopischen Messdaten ist festzuhalten, dass KAMATH *et al.* für H-5 und H-6 noch eine zusätzliche Kopplung zum stickstoffgebundenen Proton N-5-H beobachten konnte. Eventuell wurde die Kopplung in unseren Messungen aufgrund der kleinen Kopplungskonstante nicht aufgelöst oder fand infolge eines vergleichsweise schnellen Protonen-Deuteronen-Austauschs nicht statt. Chemische Verschiebung und Kopplungsmuster der Resonanzsignale belegen aber mit hinreichender Sicherheit die Identität der Verbindung. Nachfolgend wurde nur eine 4-Derivatisierung vorgenommen, so dass in Tabelle 34 die <sup>1</sup>H-NMR-Daten von Verbindung **114** (vgl. auch Abb. 61) und dem bestätigten Edukt **113** dargestellt sind.

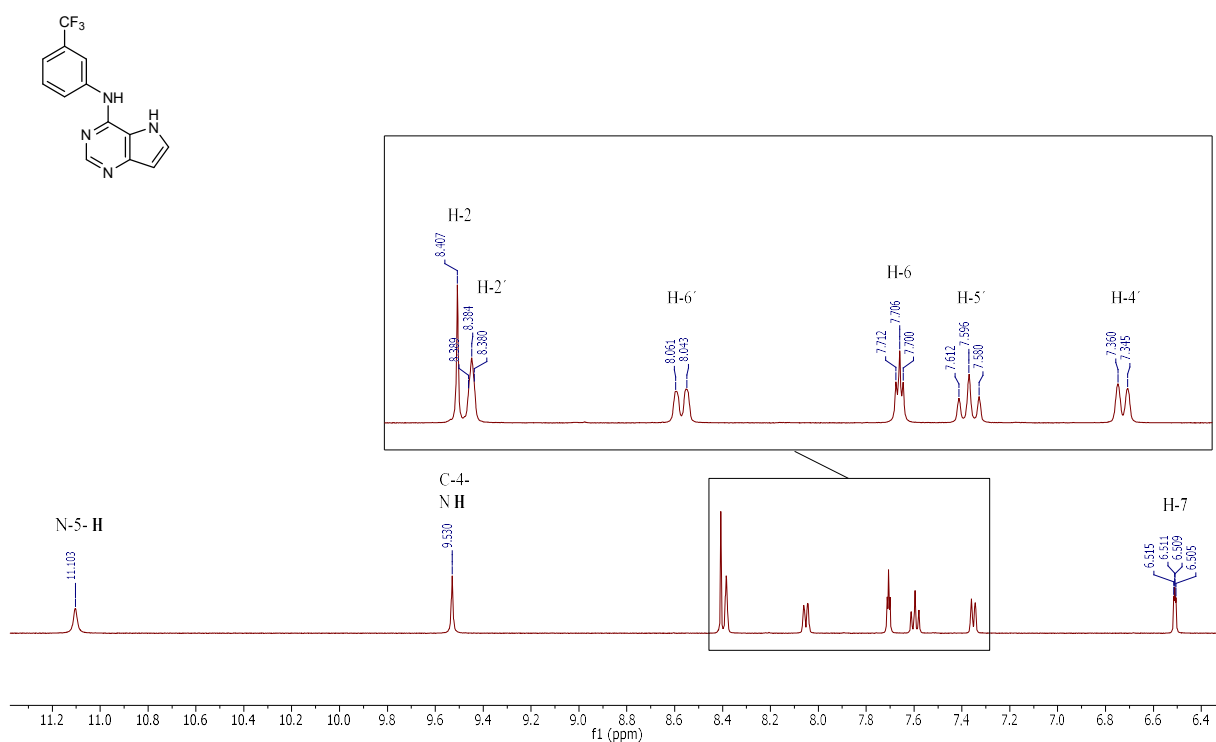
Aufgrund der isolierten Lage zwischen zwei Stickstoffatomen kommt es für H-2 nicht zur Kopplung mit anderen Protonensignalen. Der entschirmende Effekt der Stickstoffatome verursacht eine Lage der Signale im Tieffeld bei 8,63 ppm bzw. 8,41 ppm. Die 4-Substitution mit 3-(Trifluoromethyl)anilin bewirkt durch positiv mesomeren Effekt der Aminogruppe einen leichten Hochfeldshift, dem aber der starke Elektronenzug des Anilins entgegenwirkt.

**Tabelle 34:** Darstellung charakteristischer Daten  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren 4-substituierter 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidine

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm					
	Pos. 2	Pos. 5	Pos. 6	Pos. 7	NH	Pos. 4 NH(R-Ph)
<b>113</b>	8,63 (s)	12,45 (br)	7,99 (d, $^3J_{6/7} = 3,0$ Hz)	6,74 (d, $^3J_{7/6} = 3,0$ Hz)	-	-
<b>114</b>	8,41 (s)	11,10 (br)	7,71 (t, $^3J_{6/7\text{ bzw. NH}} = 2,9$ Hz)	6,51 (dd, $^3J_{7/6} = 2,9$ Hz $^4J_{7/\text{NH}} = 1,8$ Hz)	9,53 (br)	7,35 (d, $^3J_{4'/5'} = 7,8$ Hz); 7,60 (t, $^3J_{5'/4' \text{ bzw. } 6'} = 8,2$ Hz); 8,05 (d, $^3J_{6'/5'} = 8,2$ Hz); 8,38 (t, $^4J_{2'/4' \text{ bzw. } 6'} = 2,0$ Hz)

Atomnummerierung entsprechend Abb. 60

Verbindung 114

**Abb. 61:**  $^1\text{H-NMR}$ -Beispielspektrum für 4-anilinsubstituierte 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidine (Verbindung **114**)

Eine analoge Betrachtung lässt sich auf das breite Resonanzsignal des stickstoffgebundenen Protons N-5-H übertragen. Es resultiert ein Hochfeldshift um 1,35 ppm durch die sekundäre 4-Aminofunktion. Entsprechend der größeren Distanz und des nivellierenden Effekts von N-5 ist die Auswirkung der veränderten 4-Substitution für H-6 und H-7 schwächer. Für H-6 bewirkt der Wechsel von 4-Chlor- zu 4-(3-(Trifluoromethyl)anilin)substitution einen Hochfeldshift um rund 0,3 ppm. Für H-7 ist der Effekt mit einer Abschirmung um etwa 0,2 ppm noch etwas geringer. Interessanterweise ist in Verbindung **114** die zuvor beschriebene Kopplung zum stickstoffgebundenen Proton N-5-H für H-6 und H-7

beobachtbar. Aufgrund nahezu gleicher Kopplungskonstante ( $^3J_{6/5\text{bzW.NH}} = 2,9 \text{ Hz}$ ) ist H-6 im Spektrum als Triplett sichtbar. Für H-7 resultiert ein Doppeldublett durch vicinale Kopplung zu H-6 ( $^3J_{7/6} = 2,9 \text{ Hz}$ ) und Fernkopplung zu N-5-H ( $^4J_{7/\text{NH}} = 1,8 \text{ Hz}$ ). Als weitere Resonanzsignale sind im Spektrum der Verbindung **114** die vier Signale des *meta*-substituierten Anilindrings und der zugehörigen sekundären Aminfunktion sichtbar.

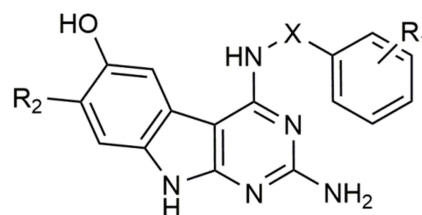
### 3.6. In-vitro-Testung an Rezeptortyrosinkinasen (RTKs)

#### 3.6.1. Erster Entwicklungszyklus: 4- und 4,7-disubstituierte

##### 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole

Tabelle 35: 4-benzylaminsubstituierte  
9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole

Verb.	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>22</b>	CH <sub>2</sub>	H	H
<b>23a</b>	CH <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
<b>24</b>	CH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>
<b>25</b>	CH <sub>2</sub>	H	Cl
<b>26</b>	CH <sub>2</sub>	H	Br
<b>27</b>	CH <sub>2</sub>	4-CH <sub>3</sub>	H
<b>28a</b>	CH <sub>2</sub>	4-CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>29</b>	CH <sub>2</sub>	4-Cl	H
<b>29a</b>	CH <sub>2</sub>	4-Cl	CH <sub>3</sub>
<b>30</b>	CH <sub>2</sub>	3-Cl	H
<b>31a</b>	CH <sub>2</sub>	3-Cl	CH <sub>3</sub>
<b>32</b>	CH <sub>2</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	H
<b>33a</b>	CH <sub>2</sub>	4-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>34</b>	CH <sub>2</sub>	3-OCH <sub>3</sub>	H
<b>35</b>	CH <sub>2</sub>	2-OCH <sub>3</sub>	H
<b>36a</b>	CH <sub>2</sub>	3-OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
<b>37</b>	CH <sub>2</sub>	3,4-di-OCH <sub>3</sub>	H
<b>38</b>	( <i>S</i> )-(CH <sub>3</sub> )CH	H	H
<b>39</b>	( <i>S</i> )-(CH <sub>3</sub> )CH	H	OCH <sub>3</sub>
<b>40</b>	( <i>R</i> )-(CH <sub>3</sub> )CH	H	H
<b>41</b>	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	H	H



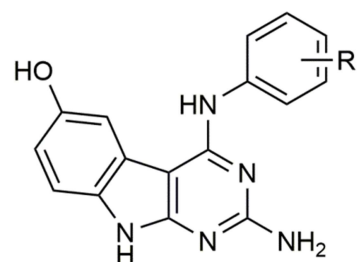
Im Sinne einer Erstevaluierung des Inhibitionspotenzials der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole an gewünschten RTKs wurden die Verbindungen **22** - **52** (vgl. Tabelle 35 und Tabelle 36) gegen zwei aus drei RTKs (EGFR, VEGFR2, IGF-1R) getestet. Wie im einleitenden Teil beschrieben, besitzen alle drei RTKs Relevanz im Tumorigeneseprozess. Für jede Substanz wurde als zentraler Vergleichspunkt die inhibitorische Wirkung gegen EGFR wt bestimmt. Alle getesteten Substanzen des ersten Entwicklungszyklus sind 4-benzylamin- oder 4-anilinosubstituierte Verbindungen mit oder ohne zusätzliche 7-Substitution. Die bestimmten IC<sub>50</sub>- und K<sub>i</sub>-Werte für die folgende Bewertung sind in Tabelle 37 dargelegt.

Bei Vergleich der Verbindungen **22** - **26** fällt auf, dass die verschiedenen 7-Substitutionen auf die EGFR-inhibitorische Wirkung eher einen geringen Einfluss besitzen. Die 7-halogenderivatisierten Verbindungen **25** und **26** besitzen eine etwa zweifach bessere Hemmwirkung auf EGFR, verglichen mit der 7-unsubstituierten Verbindung **22**. Im Gegenzug bewirkt die zusätzliche 7-Substitution einen Verlust der Inhibitorwirkung gegen VEGFR2. Während die 7-unsubstituierte Verbindung **22** noch moderate inhibitorische Wirkung erzielt (K<sub>i</sub> = 2,76 μM), führt der 7-Methoxysubstituent (Verbindung **24**) bereits zu 5fach verschlechterter Inhibition. Für 7-Chloro- und 7-Bromosubstituenten kommt es

zum kompletten Verlust des Inhibitoreffekts. Der damit beobachtete Zuwachs an Selektivität zugunsten EGFR ist potenziell nutzbar für eine Profilierung des Inhibitors. Der beschriebene Effekt gegenüber VEGFR2 ist ebenfalls für das Verbindungspaar **38** und **39** beobachtbar. Der Effekt zusätzlicher 7-Substitution auf die inhibitorische Wirkung gegen IGF-1R kann anhand der Verbindungspaare **30** und **31a** bzw. **32** und **33a** bewertet werden. Für beide Substanzpaare gilt, dass die zusätzliche 7-Methylierung einen 5- bzw. 3fachen Affinitätsverlust gegenüber IGF-1R bewirkt.

Tabelle 36: 4-anilinosubstituierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Verb.	R <sub>1</sub>
<b>42</b>	3-Cl,4-F
<b>43</b>	3,5-di-Cl
<b>44</b>	4-OCH <sub>3</sub>
<b>45</b>	3-OCH <sub>3</sub>
<b>46a</b>	3-NO <sub>2</sub>
<b>47a</b>	3-CF <sub>3</sub>
<b>48</b>	3-F
<b>50</b>	3-Cl
<b>52</b>	3-Br



In Abweichung zu den vorher genannten Verbindungen findet der Affinitätsverlust hier auch gegenüber EGFR statt. Eine mögliche Ursache liegt in einer veränderten Orientierung in der ATP-Bindungstasche infolge der unterschiedlichen 4-Substitution. Zieht man weiterhin die Produktpaare **27** und **28a**, **35** und **36a** sowie **29** und **29a** zur Betrachtung heran, so führt die zusätzliche 7-Methylierung bei den ersten beiden Paaren zu 7fachen bzw. 2fachen Aktivitätsverlust gegenüber EGFR. Beim dritten Verbindungspaar hingegen bleibt die inhibitorische Wirkung nahezu konstant. Im Weiteren resultiert aber für alle drei Verbindungspaare ein Affinitätsverlust gegenüber VEGFR2 durch zusätzliche 7-Methylierung. Zusammenfassend betrachtet scheint der 7-Substituent kritische Auswirkung auf die Affinität zu VEGFR2 auszuüben. Gegenüber IGF-1R ist ebenfalls eine negative Auswirkung der 7-Methylsubstitution zu beobachten, jedoch scheint der Effekt weniger erheblich. Für die Wirkung auf EGFR scheint der Effekt der 7-Derivatisierung unklar bzw. abhängig von weiteren Faktoren wie der 4-Substitution. Da tendenziell aber sogar eine Affinitätsverbesserung mit 7-Halogensubstituenten möglich war, kann Position 7 als Adressat für Selektivitätsprofilierung gegenüber den RTKs dienlich sein. Zukünftige Arbeiten sollten größere 7-Derivatisierungsvielfalt nutzen, um tiefergehende Beobachtungen zu erhalten. Bei Betrachtung der 4-Substitution bzw. deren Einfluss auf die Inhibitorwirkung gegenüber EGFR lässt sich sagen, dass für 4-benzylaminsubstituierte Verbindungen (**22** - **41**) eine zusätzliche 4'-Substitution (Methyl-, Methoxy-, Chlor-) des Benzylamins zu leichtem Aktivitätsverlust (1,2 - 1,4fach) führt, welcher unabhängig von der Art des Substituenten zu sein scheint. Die sterische Begrenzung der hydrophoben Region der ATP-Bindungstasche ist potenziell ursächlich für diese Beobachtung. Generell scheint die Verwendung von Methoxysubstituenten eher negativ und resultiert in Affinitätsverlusten. So kann für die 3'-Methoxyderivatisierung (**34**) ein 1,8facher, für 2'-Methoxysubstitution (**35**) ein 2,6facher und für 3',4'-Dimethoxysubstitution (**37**) ein 5,2facher Affinitätsverlust beobachtet werden, verglichen zu **22**. Bei Verwendung eines 3'-chlorsubstituierten Benzylaminrests kann eine ca. 2,5fache Affinitätssteigerung erzielt werden, so dass die 3'-Derivatisierung des Benzylamins als am vorteilhaftesten bezeichnet werden kann. Die in stereokonservativer Synthese entstandenen *S*-Enantiomere **38** und **39** zeigen leichte Aktivitätssteigerung gegenüber ihren Racematen **22** und **24**. Hingegen resultiert für das *R*-Enantiomer **40** ein Aktivitätsverlust.



Tabelle 37: Darstellung IC<sub>50</sub>- und K<sub>i</sub>-Werte für RTKs EGFR wt, VEGFR2 und IGF-1R der Verbindungen 22 - 52

Verb.	EGFR wt mean		VEGFR2 mean		IGF-1R mean	
	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)	IC <sub>50</sub> (μM)	K <sub>i</sub> (μM)
22	8,82	0,69	15,08	2,76	n.b.	n.b.
23a	8,07	0,63	26,39	4,83	n.b.	n.b.
24	7,66	0,60	73,26	13,41	n.b.	n.b.
25	3,42	0,27	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
26	4,68	0,36	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
27	10,29	0,80	17,79	3,26	n.b.	n.b.
28a	71,00	5,53	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
29	10,33	0,80	17,67	3,23	n.b.	n.b.
29a	9,52	0,74	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
30	3,69	0,29	n.b.	n.b.	14,82	2,13
31a	11,31	0,88	n.b.	n.b.	75,93	10,93
32	12,16	0,95	n.b.	n.b.	25,48	3,67
33a	69,52	5,42	n.b.	n.b.	83,50	12,02
34	15,81	1,23	21,83	3,99	n.b.	n.b.
35	23,35	1,82	6,01	1,10	n.b.	n.b.
36a	50,42	3,93	39,57	7,24	n.b.	n.b.
37	46,01	3,58	60,51	11,07	n.b.	n.b.
38	6,50	0,51	22,70	4,15	n.b.	n.b.
39	5,84	0,46	77,86	14,25	n.b.	n.b.
40	11,41	0,89	10,59	1,94	n.b.	n.b.
41	7,95	0,62	24,39	4,46	n.b.	n.b.
42	17,43	1,36	55,95	10,24	n.b.	n.b.
43	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.b.	n.b.
44	12,98	1,01	n.b.	n.b.	22,08	3,18
45	1,86	0,15	20,71	3,79	n.b.	n.b.
46a	1,37	0,11	7,88	1,44	n.b.	n.b.
47a	1,29	0,10	35,16	6,43	n.b.	n.b.
48	5,89	0,46	29,87	5,47	n.b.	n.b.
50	2,11	0,16	n.b.	n.b.	19,43	2,80
52	1,39	0,11	18,08	3,31	n.b.	n.b.

n.b. nicht bestimmt; n.a. K<sub>i</sub> bzw. IC<sub>50</sub> > 1000 μM

Durch Verlängerung des Alkyllinkers zwischen tricyclischen Grundkörper und Phenylring zu einer Ethylkette (**41**) resultiert im Wesentlichen kaum ein Aktivitätsunterschied. Hingegen scheint durch Verwendung von 4-Anilinsubstituenten ohne zusätzlichen Alkyllinker eine generelle Aktivitätssteigerung stattzufinden. Besonders 3'-substituierte Aniline (Verbindung **45** - **52**) eignen sich als 4-Substituenten gegenüber EGFR und erzielen Affinitätssteigerungen von Faktor 1,5 (Verbindung **48**) bis ca. Faktor 6,5 (Verbindung **46a**, **47a**, **52**). Dabei scheint eine gewisse sterische Größe des 3'-Substituenten vorteilhaft für die Wechselwirkung zur Bindungstasche, da es sich prinzipiell um Substituenten des gleichen Typs, nämlich H-Brücken-Akzeptoren, handelt. Die besten Verbindungen erzielen dabei Inhibitionskonstanten K<sub>i</sub> im oberen nanomolaren Bereich (100 -

110 nM). Mehrfachsubstitutionen des Anilinrings (Verbindung **42** und **43**) scheinen im Vergleich eher nachteilig. Für Verbindung **43** wurde sogar ein kompletter Affinitätsverlust gegenüber EGFR gemessen. Ebenfalls von Nachteil scheint eine 4'-Derivatisierung des Anilins, so besitzt Verbindung **44** im Vergleich zum 3'-Analogon Verbindung **45** 7fach schlechtere Aktivität.

Bei der Bewertung der 4-Substitution der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole gegenüber anderen RTKs (VEGFR2 und IGF-1R) konnten folgende Beobachtungen gemacht werden. Eine generelle Bevorzugung von 4-Benzylamin- oder 4-Anilinsubstitution gegenüber VEGFR2 ist nicht erkennbar. Im Umkehrschluss bedeutet dieses, dass für Selektivitätssteigerung gegenüber EGFR Anilinderivate günstiger sind. Innerhalb der 4-benzylaminoanellierten Verbindungen bewirkt sowohl 4'-Substitution (Verbindung **27** und **29**) als auch 3'-Substitution (Verbindung **34**) einen leichten Affinitätsverlust gegenüber VEGFR2. Stärker ist der Aktivitätsverlust für die 3',4'-dimethoxysubstituierte Verbindung **37**. Hingegen kann für die 2'-Methoxyverbindung **35** eine 2,5fache Steigerung der Aktivität gemessen werden. Bezogen auf die sterische Ausrichtung ist der Trend für VEGFR2 invers zu dem erfassten für EGFR. Für das *S*-Enantiomer (Verbindung **38**) kann ein 1,5facher Aktivitätsverlust beobachtet werden, hingegen verzeichnet das *R*-Enantiomer (Verbindung **40**) eine 1,5fache Steigerung, verglichen zu Verbindung **22**. Innerhalb der 4-anilinosubstituierten Verbindungen der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ole sind die schlechtesten Inhibitorkonstanten gegenüber VEGFR2 für die disubstituierten Anilinderivate **42** und **43** zu verzeichnen. Alle weiteren getesteten 4-Anilinderivate besitzen 3'-Substitution und liefern moderate Aktivitäten im Bereich von  $K_i$  1,44 - 6,43  $\mu$ M. Mit einer Gesamtschwankungsbreite für 7-unsubstituierte Derivate von Faktor 7,7, welches sowohl 4-benzylamin- als auch 4-anilinsubstituierte Verbindungen umfasst, scheint die bisherige Auswahl an 4-Derivatisierungen relativ indifferent bezüglich der VEGFR2-Inhibition. Daraus resultiert, dass verschiedenartigere oder andersartige 4-Substituenten für eine Selektivitätsprofilierung gegenüber VEGFR2 notwendig sind.

Gegenüber der RTK IGF-1R wurden insgesamt 6 Verbindungen getestet. Daher muss die Aussagekraft der Beobachtungen noch durch weitere Messdaten untermauert werden. Sowohl 4-anilino- als auch 4-benzylaminosubstituierte Verbindungen können ähnliche Inhibitionskonstanten erzielen, so dass keine Bevorzugung einer Produktklasse zu sehen ist. Für beide Klassen liefern die 4'-methoxysubstituierten Derivate **32** und **44** die geringfügig schlechteren Inhibitionswerte, verglichen mit ihren 3'-Chloranaloga **30** und **50**.

#### **3.6.2. Zweiter Entwicklungszyklus: 4- und 4,6-disubstituierte 9H-Pyrimido-[4,5-*b*]indol-6-ole ohne bzw. mit alternativer 2-Substitution**

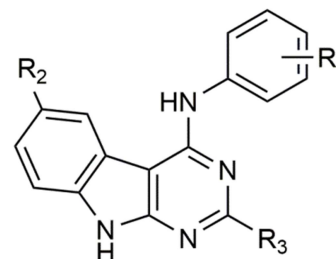
Nachdem bezogen auf EGFR 4-anilinosubstituierte Verbindungen als inhibitorisch aktiver identifiziert wurden, konnten weitere Konzepte wie 2- und 6-Derivatisierung synthetisch umgesetzt werden. Die Erweiterung des 4-Anilinsubstituenten zum 4-Benzoyloxylanilinrest zur potenziellen Adressierung der allosterischen Region der ATP-Bindungstasche war ebenfalls Teil der synthetischen Weiterentwicklung. Die weitergehenden Modifikationen bzw. die daraus resultierenden Verbindungen **49** - **87** wurden in einer zweiten Testreihe auf ihre inhibitorische Potenz gegen die

3.6.2 Zweiter Entwicklungszyklus: 4- und 4,6-disubstituierte 9H-Pyrimido-[4,5-b]indol-6-ole ohne bzw. mit alternativer 2-Substitution

RTKs EGFR und PDGFR $\beta$  geprüft (vgl Tabelle 40). Wie im theoretischen Teil beschrieben, ist PDGFR $\beta$  ebenfalls relevanter Signaltransduktor entarteter Tumorbilogie.

**Tabelle 38:** 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierte 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole ohne/mit 2- oder 6-Derivatisierung

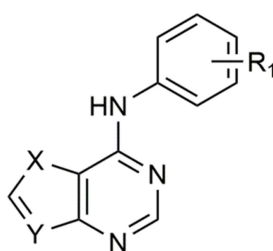
Verb.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
49	4-Cl	OH	NH <sub>2</sub>
51	4-Br	OH	NH <sub>2</sub>
53	4-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	NH <sub>2</sub>
54	3-OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	NH <sub>2</sub>
55	4-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH	NH <sub>2</sub>
56	3-OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH	NH <sub>2</sub>
57	4-C $\equiv$ CH	OH	NH <sub>2</sub>
58	3-C $\equiv$ CH	OH	NH <sub>2</sub>
60	4-(OCH <sub>2</sub> (3-FPh))	OH	NH <sub>2</sub>
61	4-(OCH <sub>2</sub> (3-OCH <sub>3</sub> Ph))	OH	NH <sub>2</sub>
62	4-(OCH <sub>2</sub> (4-OCH <sub>3</sub> Ph))	OH	NH <sub>2</sub>
65	3-Cl,4-(OCH <sub>2</sub> (4-OCH <sub>3</sub> Ph))	OH	NH <sub>2</sub>
70	NHBn	OH	H
71	3-CF <sub>3</sub>	OH	H
72	4-(OCH <sub>2</sub> (3-FPh))	OH	H
73	3-CF <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>
77	3-CF <sub>3</sub>	OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
79	3-CF <sub>3</sub>	OBn	NH <sub>2</sub>
87	3-CF <sub>3</sub>	OC(=O)C=CPh	NH <sub>2</sub>



Die Verbindungen **49** - **58** sind ebenfalls den 4-anilinosubstituierten 9H-Pyrimido-[4,5-b]indolen zuzurechnen. Damit können einerseits erkannte Trends bzgl. der Anilinsubstitution und der assoziierten Inhibitorwirkung gegenüber EGFR abgesichert werden, andererseits kann eine allgemeine Affinitätsuntersuchung zu PDGFR $\beta$  als vierte Kinase stattfinden. So lässt sich für EGFR die zuvor beobachtete Präferenz gegenüber 3'-substituierten Anilinderivaten der 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole größtenteils bestätigen. Für die 3'- bzw. 4'-chloresubstituierten Verbindungen **50** bzw. **49** ist der Affinitätsunterschied 5,2fach, für die 3'- bzw. 4'-bromsubstituierten Analoga **52** und **51** 4,2fach und für die 3'- bzw. 4'-ethoxyderivatisierten Substanzen **54** und **53** 5,1fach zugunsten der *meta*-substituierten Produkte. Hingegen kommt

**Tabelle 39:** 6- bzw. 4-anilinsubstituierte 9H-Purin-6-amine bzw. 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amine

Verb.	X	Y	R <sub>1</sub>
101a	N	N	3-CF <sub>3</sub>
101b	N	N	3-Cl
114	N	C	3-CF <sub>3</sub>



es für die 3'- bzw. 4'-isopropoxyloxy-substituierten Analoga **56** und **55** zur Umkehr des bevorzugten Substitutionsmusters. Die Paraverbindung zeigt eine etwa 1,4fach bessere Inhibitionskonstante für EGFR. Die sterisch kleineren Ethinylsubstituenten der Verbindungen **57** und **58** zeigen wieder eine 2,7fach bessere Hemmung durch das Metaderivat. Zusammengefasst lässt sich sagen, dass EGFR kleine bis mittelgroße Substituenten in Position 3' des Anilins am besten toleriert und größere Reste wie z.B. die Isopropoxygruppe (**56**) zu Affinitätsverlusten führen. In Position 4' hingegen werden eher voluminöse und lipophile Substituenten toleriert, welche ebenfalls submikromolare Aktivitäten an EGFR wt erreichen. Die synthetisierten 4-benzyloxyanilinosubstituierten Verbindungen **60** - **65** eignen sich gut für die weitere Untersuchung der Beobachtung, da sie einerseits über den 4'-Benzyloxyrest

zu Vergrößerung des lipophilen 4'-Substituenten führen und andererseits die Kombination mit dem mittelgroßen favorisierten 3'-Chlorsubstituenten (Verbindung **65**) ermöglichen. Die 3''-substituierten 4-Benzyloxyanilinoverbindungen **60** und **61** ohne 3'-Chlorderivatisierung zeigen eine maßgebliche Affinitätsverbesserung gegenüber EGFR. Es resultieren Inhibitionskonstanten  $K_i$  von 170 nM bzw. 130 nM. Verglichen damit zeigt die 4''-substituierte Verbindung **62** mit einem  $K_i$  von 400 nM schlechtere Inhibition. Kombiniert man ein *meta*-chlorsubstituiertes Anilin mit einem *para*-substituierten Benzyloxyrest (Verbindung **65**) lässt sich die Inhibition 4fach auf einen  $K_i$  von 100 nM verbessern. Eine Untersuchung der Hemmung durch Kombination von *meta*-substituierten Anilin und *meta*-derivatisierten Benzyloxyrest ist empfehlenswert.

**Tabelle 40:** Darstellung  $IC_{50}$ - und  $K_i$ -Werte für RTKs EGFR wt und PDGFR $\beta$  der Verbindungen **49** - **114**

Verb.	EGFR wt mean		PDGFR $\beta$ mean		Verb.	EGFR wt mean		PDGFR $\beta$ mean	
	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)		$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)	$IC_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)
<b>49</b>	8,59	0,67	n.a.	n.a.	<b>70</b>	6,09	0,47	n.a.	n.a.
<b>51</b>	5,95	0,46	52,36	3,23	<b>71</b>	n.a.	n.a.	73,53	4,54
<b>53</b>	11,75	0,92	31,02	1,91	<b>72</b>	2,36	0,18	59,41	3,67
<b>54</b>	2,27	0,18	n.a.	n.a.	<b>73</b>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
<b>55</b>	7,18	0,56	31,45	1,94	<b>77</b>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
<b>56</b>	9,77	0,76	44,63	2,75	<b>79</b>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
<b>57</b>	5,27	0,41	n.a.	n.a.	<b>87</b>	0,77	0,06	n.a.	n.a.
<b>58</b>	1,87	0,15	57,21	3,53	<b>101a</b>	14,20	1,11	n.a.	n.a.
<b>60</b>	2,13	0,17	1,31	0,08	<b>101b</b>	1,80	0,14	2,02	0,12
<b>61</b>	1,65	0,13	3,39	0,21	<b>114</b>	1,21	0,09	n.a.	n.a.
<b>62</b>	5,18	0,40	1,17	0,07					
<b>65</b>	1,29	0,10	3,46	0,21					

n.b. nicht bestimmt; n.a.  $K_i$  bzw.  $IC_{50} > 1000 \mu$ M

Bei den getesteten Produkten **73** - **87** handelt es sich um Untersuchungen der 6-Substitution der 9H-Pyrimido[4,5-b]indole. Die drei 6-alkoxyderivatisierten Verbindungen **73** - **79** zeigen keinerlei Aktivität an EGFR, infolgedessen wurde unmittelbar nach Erhalt der Screeningergebnisse die 6-Modifikation mit Alkylethern eingestellt. Der Sachverhalt, dass selbst die 6-Methylierung der Hydroxygruppe zum vollständigen Affinitätsverlust führt, war zunächst überraschend, kann aber mit den Polaritätsverhältnissen innerhalb der ATP-Bindungs tasche erklärt werden. Die Polarität der 6-Hydroxyfunktion ist essentiell für die Wechselwirkung mit der hydrophilen Solventregion bzw. auch für die Bindung an zugehörige Aminosäuren. Die lipophilen 6-Ethermodifikationen, besonders **77** und **79**, führen zu unvorteilhaften Wechselwirkungen und reduzierter Affinität zum Rezeptor. Die 6-carboxylsubstituierte Verbindung **87** nutzt den beschriebenen Sachverhalt, denn die polare Carboxylestergruppe kann innerhalb der polaren Solventregion wechselwirken. Gleichzeitig führt der lipophile Zimtsäurerest nicht zu einem Aktivitätsverlust und es ergibt sich eine Inhibitionskonstante  $K_i$  von 60 nM. Möglicherweise orientiert sich der lipophile Anteil des Zimtsäureesters aufgrund seines flexiblen Linkers vorteilhaft innerhalb der Solventregion. Der mögliche Effekt der ungesättigten

Doppelbindung für eine irreversible Inhibition kann nicht über die gemachten Untersuchungen abgeschätzt werden.

Die Verbindungen **101a - b** und **114** sind die bicyclischen Äquivalentverbindungen, die zum Testzeitraum verfügbar waren. Für beide Bicyclen gilt, dass eine messbare Affinität gegenüber EGFR vorhanden ist. Während das 3'-(trifluoromethyl)anilinsubstituierte Purin **101a** vergleichsweise schlechte Inhibitionswerte erreicht, kann das 3'-Chloroäquivalent **101b** einen  $K_i$  von 140 nM erzielen und liegt damit in einem ähnlichen Bereich wie das vergleichbare 9H-Pyrimido[4,5-b]indol. Dagegen weist **101a**, verglichen mit seiner Analogsubstanz **47a**, einen ca. 11fach schlechteren Inhibitionswert auf. Weiterhin interessant ist, dass das 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidin **114** ebenfalls wesentlich bessere Hemmwerte als sein Purinanalogue **101a** erzielt. In der Summe wiederum bedeutet das, dass wahrscheinlich aus dem zusätzlich anellierten Phenylring der 9H-Pyrimido[4,5-b]indole kein negativer Effekt für die Hemmung an EGFR resultiert. Darüber hinaus kann die Verwendung von 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidinen bzw. den entsprechenden 5H-Pyrimido[5,4-b]indolen<sup>346</sup> als möglicher Ansatz für weitere Synthesereihen gesehen werden, da die Neuausrichtung des Indolstickstoffs eine verbesserte Rezeptor-Inhibitor-Wechselwirkung ermöglichen könnte. Für eine abschließende Bewertung der Thematik braucht es jedoch weitere Vertreter der bereits getesteten Verbindungsklassen und zusätzlich eine Bestimmung der Inhibitionswerte der analog substituierten 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine.

Aus den ermittelten Inhibitionskonstanten der 9H-Pyrimido[4,5-b]indole gegen PDGFR $\beta$  können folgende Rückschlüsse gezogen werden. Da die 4'-chloranilinsubstituierte Verbindung **49** keine Aktivität zeigt, hingegen bei der 4'-bromoanilinsubstituierten Verbindung **51** eine moderate Aktivität messbar ist, scheint die Vergrößerung zu einem lipophilen Substituenten förderlich. Dieses lässt sich mit den ebenfalls moderat aktiven 4'-substituierten Verbindungen **53** und **55** untermauern. Die analog 3'-derivatisierten Verbindungen **54** und **56** sind weniger aktiv bzw. inaktiv. Da die genannten Substanzen ausschließlich 3'- bzw. 4'-Substituenten mit H-Brücken-Akzeptoreigenschaften besitzen, ist eine Umkehr der Affinität gegenüber PDGFR $\beta$  für die Verbindungen **57** und **58**, welche Substitutionsmuster mit H-Brücken-Donatoreigenschaften aufweisen, durchaus erklärbar. Durch Veränderung der dominanten Wechselwirkungsmechanismen erzielt das 3'-substituierte Derivat hier bessere Inhibitionswerte bzw. ist das 4'-substituierte Derivat inaktiv. In Erweiterung der bisherigen Beobachtungen erreichen die 4-benzyloxyanilinosubstituierten Substanzen **60 - 65** durch größere lipophile 4'-Substituenten gute Inhibitionswerte gegenüber PDGFR $\beta$ . Die 4''-Methoxyverbindung **62** erzielt dabei den niedrigsten  $K_i$  von 70 nM gegenüber PDGFR $\beta$ , ist aber im Vergleich gegenüber EGFR schwächer aktiv. Hingegen konnten mit den Verbindungen **60** und **65** potente duale Inhibitoren gefunden werden, wobei Substanz **60** mit einem  $K_i$  von 170 nM gegen EGFR und 80 nM gegen PDGFR $\beta$  leichte Präferenz gegenüber zweiterem zeigt. Produkt **65** wiederum zeigt mit  $K_i$ -Werten von 100 nM und 210 nM (gegen EGFR und PDGFR $\beta$ ) leichte Präferenz für EGFR.

Die Bewertung der 6-derivatisierten 9H-Pyrimido[4,5-b]indole auf ihre Aktivität gegenüber PDGFR $\beta$  zeigt, dass auch hier die 6-alkoxysubstituierten Derivate **73 - 79** komplett inaktiv sind, welches ein weiterer Grund für die Einstellung von Synthesen dieser Art ist. Die 6-zimtsäure-

derivatisierte Substanz **87** ist trotz guter Aktivität an EGFR komplett inaktiv gegenüber PDGFR $\beta$ , womit die Substanz bzw. ihre Analoga zu interessanten Kandidaten für selektivere EGFR-Hemmung werden. Die bicyclische Substanz **101b** zeigt neben guter Hemmung an EGFR auch potente Inhibition an PDGFR $\beta$ . Da der Puringrundkörper dem natürlichen Substrat ATP der RTKs am nächsten kommt, ist eine unselektivere Hemmung von RTKs auch erwartungsgemäß. Hingegen zeigt die 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidinverbindung **114** komplette Inaktivität gegenüber PDGFR $\beta$  und offenbart damit auch einen möglichen Ansatz für den Ausschluss einer PDGFR $\beta$ -Hemmung. So könnten analoge 5H-Pyrimido[5,4-b]indole eine selektivere Substanzklasse an EGFR bilden. Zur weiteren Evaluierung der Aktivität der 9H-Pyrimido[4,5-b]indole gegenüber verschiedenen Kinasen wurde die Verbindung **28a** auf ihre Inhibitorwirkung gegenüber 16 weiteren Kinasen geprüft (vgl. Tabelle 41).

**Tabelle 41:** Darstellung IC<sub>50</sub>-Werte gegenüber diversen Kinasen von Verbindung **28a**

Verbindung IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	ALK wt (GST-HIS-tag)	CK1-alpha1	DAPK1	DMPK	IRAK1	JAK2	MARK1	MEKK2	MLK4	PKC-alpha	WEE1	MEK1 wt	CDK1/B	CDK2/E	Abl	CRK3
<b>28a</b>	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	61	48	n.a.	26

n.a. IC<sub>50</sub> > 1000  $\mu$ M

Gegen die Serin-Threonin-Kinasen MARK1 und DAPK1, Vertreter der CAMK-Familie, konnte keine messbare Aktivität ermittelt werden. Für die Serin-Threonin-Kinasen MEK1 und MEKK2, welche als Vertreter der STE-Familie zählen, war ebenfalls keinerlei Aktivität messbar. Als Inhibitor von PKC $\alpha$  und DMPK war Verbindung **28a** auch inaktiv. Beide Kinasen gehören zur AGC-Familie. Für CK1 $\alpha$  und Wee1, als Vertreter der CK1-Familie, bzw. für ALK, MLK4 und IRAK1, als Mitglieder der TKL-Familie, konnte keinerlei messbare Inhibitoraktivität bestimmt werden. Während für Abl und JAK2 (TK-Familie) ebenfalls keine Hemmung durch Verbindung **28a** erfolgt, konnten für die Mitglieder der CMGC-Familie (CDK1 und CDK2) zumindest leichte Residualaktivitäten verzeichnet werden. Für CDK1 war eine IC<sub>50</sub> von 61  $\mu$ M bestimmbar. Gegenüber CDK2 erreichte Verbindung **28a** eine IC<sub>50</sub> von 48  $\mu$ M. Basierend auf den ermittelten Inhibitionsdaten der verschiedenen Kinaseassays stellt die Verbindungsklasse der 9H-Pyrimido[4,5-b]indole eine potente Substanzklasse für die Inhibition von RTKs dar. Die mangelnde Aktivität bzw. die geringe Restaktivität bzgl. anderer Kinasefamilien belegt, dass eine gewisse Selektivität direkt von der Substanzklasse ausgeht bzw. mit einem geringen Substitutionsgrad an Position 4 und 7 erreicht werden kann. Interessanterweise konnte ebenfalls eine geringe Aktivität von Verbindung **28a** gegen CRK3 (IC<sub>50</sub> = 26  $\mu$ M) ermittelt werden, welche als essentielle Proteinkinase im Lebenszyklus des Leishmanioseerregers *Leishmania mexicana* gilt<sup>347</sup>. Infolge der ermittelten Residualaktivitäten von Verbindung **28a** gegen CDK1/B, CDK2/E und CRK3 sollte überprüft werden, ob es sich dabei um eine Einzelercheinung für das genannte Produkt handelt oder ob sich dieses auf die gesamte Verbindungsklasse übertragen lässt. Die Durchführung geschah in Kooperation durch die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Vladimir Krystof am Laboratory of Growth Regulators (Olomouc, Tschechien) und wurde im Wesentlichen analog folgender Quelle durchgeführt<sup>348</sup>. Die Tabelle „Darstellung IC<sub>50</sub>-Werte für diverse Produkte an CDK1/B, CDK2/E, Abl und CRK3“ (Anhang SS) zeigt die beispielhaften Messwerte und belegt, dass auch für weitere

4-benzylaminosubstituierte Substanzen (**26 - 33a**) eine entsprechende Aktivität zu verzeichnen ist. Die 6-alkoxysubstituierten Derivate (**73 - 79**), welche durch die 6-Veretherung komplett inaktiv gegenüber gewünschten RTKs waren, zeigen interessanterweise ebenfalls vergleichbare Restaktivität an CDK1/B, CDK2/E und CRK3. Die bicyclischen Vergleichssubstanzen, also die 6-anilinosubstituierten 9H-Purin-6-amine (**101a - 101h**), die 4-anilino- bzw. 4-anilino-7-alkylsubstituierten 7H-Pyrrolo[2,3-d]-pyrimidine (**108a - 108j** bzw. **110a - b**) und das 5H-Pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin **114**, zeigen ebenfalls vergleichbare Aktivitätslevel an entsprechenden Kinasen. Prinzipiell wird durch die Aktivität an CDK1/B und CDK2/E das zytostatische Potenzial der Verbindungen erhöht, da beide Kinasen wichtige Regulatoren des Zellzyklus darstellen. Gleichzeitig steigt auch die Möglichkeit für zytotoxische Nebenwirkungen. Inwiefern eine Isolation bzw. Begrenzung der *off-target*-Wirkungen möglich und sinnvoll ist, sollte Teil zukünftiger Substanzüberlegungen sein.

### 3.7. In-vitro-Testung an NCI-60 cell-line-panel

Neben den zuvor beschriebenen Kinaseassays an isolierten RTKs wurden einzelne Substanzen auch im Rahmen des *60-Cell-Line-Screenings* des *Developmental Therapeutics Program* (DTP) des National Cancer Institute (NCI, Bethesda, MD, USA) untersucht. Für die Untersuchung an humanen Tumorzelllinien wurden die Verbindungen entsprechend ihrer beobachteten Inhibitoraktivität dem NCI vorgestellt. Abb. 62 zeigt die Substanzen, die durch das NCI ausgewählt wurden.

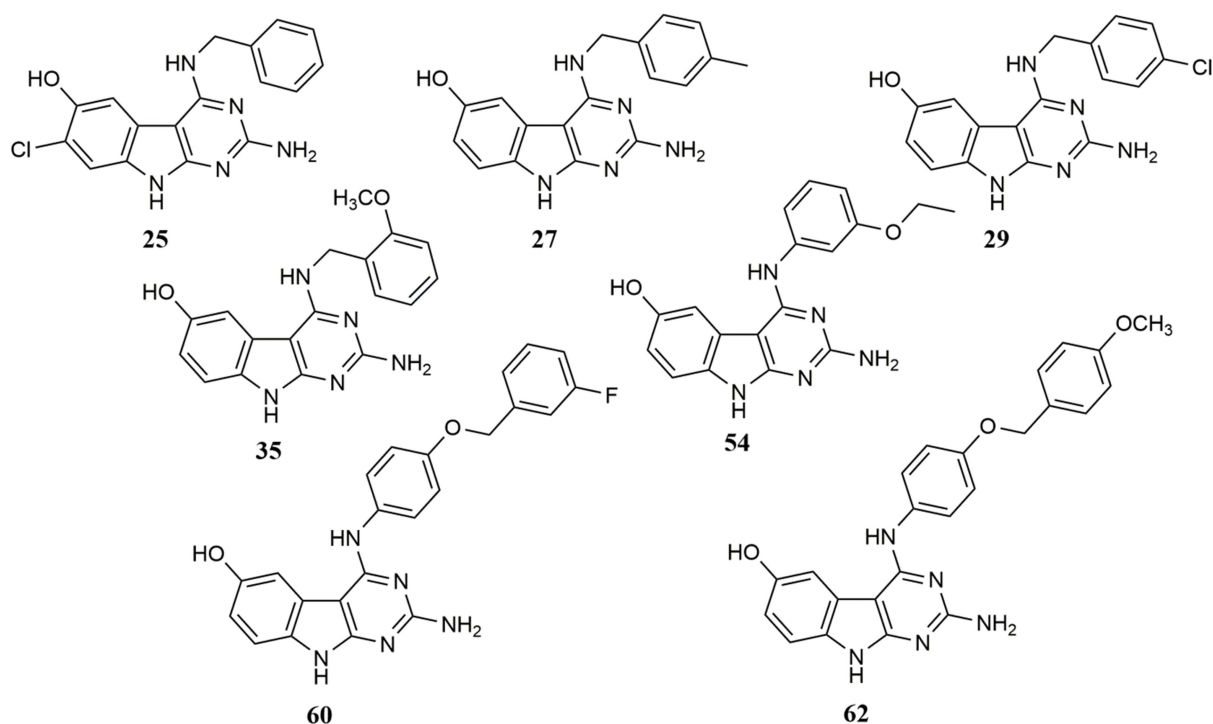


Abb. 62: Testsubstanzen NCI-60 cell-line-panel (One-Dose-Screening)

Das *NCI-60 Cell-Line-Screening* besteht aus 60 verschiedenen humanen Tumorzelllinien, welche wiederum neun Herkunftsorganen bzw. Tumorarten zugeordnet werden können (Leukämie, Melanome, Lungen-, Dickdarm-, ZNS-, Eierstock-, Nieren-, Prostata- und Brusttumoren). Innerhalb der ersten *Screening*-Stufe wird im *One-Dose*-Verfahren jede Zelllinie mit einer Inhibitorkonzentration von 10  $\mu\text{M}$  für 48 h inkubiert, um danach im Wachstum mit einer

Kontrollmessung (ohne Inhibitor) in Relation gesetzt zu werden. Das Restwachstum für jede Zelllinie resultiert als prozentualer Wert, wobei Werte zwischen 0 und 100 Wachstumsinhibition indizieren, Werte über 100 Wachstumsstimulation anzeigen und Werte unter 0 einen zytotoxischen Effekt bedeuten. Für die untersuchten Substanzen wird eine mittlere Wachstumsinhibition über alle 60 Zelllinien ermittelt und zusätzlich eine einzelne für jede Zelllinie. Das daraus resultierende Inhibitionsmuster ermittelt Präferenzen für bestimmte Tumoridentitäten. In der graphischen Darstellung wird die mittlere Wachstumsinhibition als Nullwert und zentrale Senkrechte erfasst (vgl. z.B. *NCI-60 Cell-Line-Screening One-Dose-Screening* 54 Anhang WW). Daraus resultiert, dass für Zelllinien mit einem Balken rechts der Nulllinie eine stärkere und mit Balken links der Nulllinie eine schwächere inhibitorische Aktivität gezeigt wird. Die Balkenlänge ist proportional der Abweichung vom Mittelwert.

**Tabelle 42:** Auswahl von Daten des *NCI-60 One-Dose-Screenings*

mittleres Wachstum [%] in Relation zur nicht inhibierten Zelllinie								
Tumor-identität	Verb. Zelllinie	25	27	29	35	54	60	62
Leukämie	RPMI-8226	57,31	66,95	43,70	48,80	42,39	-37,53	50,26
	SR	33,70	69,14	20,03	4,16	65,66	-48,29	42,17
NSCLC	NCI-H226	77,94	70,67	66,22	92,64	79,54	-56,23	92,45
	HOP-62	54,42	87,34	68,72	37,02	61,66	-17,02	92,04
Kolon	HT29	86,29	107,52	99,36	18,86	93,26	-84,21	80,58
	SW-620	65,77	111,66	81,32	25,87	76,14	-49,51	82,75
ZNS	U251	79,03	88,27	68,21	37,38	79,71	-91,02	88,22
	SNB-19	112,04	86,63	60,42	58,96	70,05	12,30	92,81
Melanom	LOX IMVI	65,09	85,67	67,18	43,21	36,69	-96,04	67,19
	SK-MEL 5	87,10	47,42	62,35	38,33	54,39	-78,14	78,36
Ovarien	OVCAR-3	89,29	96,28	72,74	44,56	58,47	-86,38	81,42
	SK-OV-3	71,71	89,43	75,96	73,35	55,94	-1,21	96,42
Nieren	A498	-	72,65	41,84	27,97	50,97	75,89	82,69
	768-0	83,49	91,16	76,45	83,20	52,81	-96,63	78,41
Brust	MCF7	78,68	94,59	70,13	19,19	43,12	-82,68	68,97
	HS 578T	83,56	74,21	67,38	59,23	58,45	-21,86	86,22
	Mean*	80,92	86,88	67,44	46,78	61,46	-43,75	82,26
	Range*	81,86	79,20	92,15	120,24	88,56	173,00	68,13

\*mean growth inhibition und range beziehen sich auf 60 Zelllinien

Tabelle 42 enthält eine exemplarische Datenauswahl des *One-Dose-Screenings* der untersuchten Verbindungen. Die vollständigen Daten bzw. Graphen der *One-Dose-Screenings* befinden sich im Anhang TT - YY. Auf den ersten Blick ist ersichtlich, dass Verbindung **60** im Vergleich zu sonstigen Substanzen deutlich stärkere Inhibition und zumeist sogar zytotoxische Effekte zeigt (*mean growth* -43,75 %). Die anderen Produkte hingegen erreichen *mean growth* von 46,78 - 86,88 %. Eine mögliche Interpretation ist, dass der kompetitive Hemmeffekt gegen RTKs bei Verbindung **60** durch einen weiteren zytotoxischen Effekt begleitet wird. Aufgrunddessen kann Verbindung **60** nur



begrenzt mit den anderen Substanzen verglichen werden. Zur Bewertung der erhaltenen Messwerte werden die Expressionsmuster der betrachteten RTKs in entsprechenden Zelllinien des *NCI-60 cell-line-panels* in Tabelle 43 aufgeführt<sup>349</sup>.

**Tabelle 43:** Übersicht Expressionsmuster RTKs in Zelllinien des NCI-60

Tumorentität	Zelllinie	EGFR	IGF-1R	VEGFR2	PDGFR $\beta$
Leukämie	RPMI-8226	-	+	+	+
	SR	-	++	+	-
NSCLC	NCI-H226	++	+	+	+
	HOP-62	+	+	+	++
Kolon	HT29	++	+	+	-
	SW-620	-	+	-	+
ZNS	U251	+	++	++	+
	SNB-19	+	++	++	+
Melanom	LOX IMVI	+	+	+	+
	SK-MEL 5	+	++	+	+
Ovarien	OVCAR-3	+	-	+	+
	SK-OV-3	++	-	+	-
Nieren	A498	++	-	+	+
	768-0	++	-	+	+
Brust	MCF7	-	++	+	+
	HS 578T	+	-	+	++

++ Überexpression; + normale Expression; - keine Expression

Für die Leukämiezelllinie SR ist ersichtlich, dass Verbindung **35** mit moderater Aktivität an EGFR und VEGFR2 eine sehr gute Wachstumsinhibition auf 4,16 % erzielt. Die an VEGFR2 schlechter aber an EGFR besser inhibierenden Verbindungen **25**, **27** und **29** erzielen schlechtere Wachstumsinhibitionen. Die Zelllinie SR zeigt nach Literaturdaten normale Expression von VEGFR2 und keine Expression von EGFR bzw. PDGFR $\beta$ . Aufgrund geringer Abhängigkeit von PDGFR $\beta$  ist die schlechtere Wachstumshemmung von Verbindung **54** und **62** an SR erklärbar. Die als duale Inhibitoren für EGFR und PDGFR $\beta$  nachgewiesenen Substanzen **60** und **62** sollten an der Zelllinie NCI-H226 moderate Hemmwerte erzielen, da zumindest EGFR überexprimiert vorliegt. Ein Inhibitionswert von 92,45 % für Verbindung **62** belegt dieses mäßig. Die Inhibition von EGFR und VEGFR2 der Verbindungen **27** und **29** erzielt Wachstumshemmungen von 70,67 % bzw. 66,22 %. Die Lungentumorzelllinie HOP-62 ist durch PDGFR $\beta$ -Überexpression gekennzeichnet und wird in Konsequenz durch Verbindung **62** auf 92,04 % Restwachstum gehemmt. Die Kolontumorzelllinie HT29 kennzeichnet sich durch Überexpression von EGFR und moderate Expression von VEGFR2. Folglich erreicht der „EGFR-selektiv“-getestete Inhibitor **25** moderate Wachstumsinhibition auf 86,29 %, jedoch erzielt der duale Inhibitor (**35**) der RTKs eine deutlich bessere Inhibition auf 18,86 % Restwachstum. Die Verbindungen **54** und **62**, welche ebenfalls potente Inhibitoren von EGFR darstellen, zeigen moderate Wachstumshemmung im Bereich von Verbindung **25**.

Die ZNS-Zelllinien U251 und SNB-19 zeigen Überexpression von VEGFR2 und jeweils normale Expressionslevel von EGFR und PDGFR $\beta$ . In Konsequenz erzeugen die dualen EGFR/VEGFR2-

Inhibitoren **29** und **35** gute Wachstumshemmung auf 68,21 % bzw. 37,38 % an U251 und 60,42 % bzw. 58,96 % an SNB-19. Substanz **25**, welche nachgewiesen keine Hemmung an VEGFR2 erzeugt, bewirkt sogar eine Wachstumsstimulation an SNB-19. Interessanterweise ist SNB-19 eine der wenigen Zelllinien auf die Verbindung **60** keine direkte zytotoxische Wirkung ausübt. Die Melanomzelllinie LOX IMVI zeigt Expression von allen betrachteten RTKs. Dadurch können sowohl der EGFR-Inhibitor **25** als auch der duale EGFR/PDGFR $\beta$ -Inhibitor **62** moderate Wachstumshemmungen auf 65,09 % bzw. 67,19 % erzielen. In Erweiterung dessen kann der duale EGFR/VEGFR2-Inhibitor **35** eine gute Inhibition des Wachstums auf 43,21 % erreichen. Der ebenfalls gute Hemmwert von 36,69 % von Verbindung **54** kann mit potenzieller aber nicht geprüfter dualer Wirkung auf EGFR/VEGFR2 erklärt werden. Die Melanomzelllinie SK-MEL 5 ist nach Literaturdaten durch Expression aller betrachteten RTKs gekennzeichnet. Somit erzielen die dualen Inhibitoren von EGFR/VEGFR2 (**27**, **29**, **35**) leicht bessere Wachstumshemmungen als zum Beispiel Substanz **25**. Die Eierstockkrebszelllinien OVCAR-3 und SK-OV-3 zeichnen sich durch Expression bzw. Überexpression von EGFR aus, so dass alle getesteten Verbindungen moderate bis gute Wachstumshemmungen erzielen.

Die Nierenkrebszelllinien A498 und 768-0 zeichnen sich ebenfalls durch Überexpression von EGFR aus, so dass auch hier moderate bis gute Wachstumshemmung für alle Verbindungen erzielt werden konnte. Tendenziell scheint A498 etwas sensitiver auf die Inhibition zu reagieren. Interessanterweise kann für Verbindung **60** eine der merklich geringsten Wachstumshemmungen gegen A498 beobachtet werden, so dass die Zelllinie eine Überwindung der zytotoxischen Eigenschaften von Verbindung **60** zeigt. Die beschriebenen Schlussfolgerungen anhand der Proteinexpressionsmuster der Zelllinien sind mit einigen Einschränkungen verbunden. Einerseits sind die getesteten Verbindungen nur erste Modellsubstanzen der Verbindungsklasse und daher nicht auf ihr gesamtes Rezeptorselektivitätsverhalten geprüft, andererseits verhindern zelllinien-spezifische Resistenzphänomene (z.B. K-Ras, B-Raf, Met-Amplifikation) eine simple Beobachtung. Nichtsdestotrotz können die Beobachtungen für Ableitung erster Tendenzen und Hypothesengenerierung herangezogen werden. So kann in der Brustkrebszelllinie MCF7 sowohl die Verbindung **35** mit nachgewiesener moderater VEGFR2-Inhibition als auch Verbindung **62** mit belegter PDGFR $\beta$ -Hemmung gute Wachstumshemmung auf 19,19 % bzw. 68,97 % erzielen.

Für ausgewählte Substanzen mit hinreichender Potenz (festgelegt durch NCI) schließt sich das *Five-Dose-Screening* an. Die Verfahrensweise ist grundsätzlich äquivalent, erfolgt jedoch mit verschiedenen Inhibitorkonzentrationen im Bereich von 10 nM bis 100  $\mu$ M, so dass eine konzentrationsabhängige Darstellung der Wachstumshemmung möglich ist. Aus den Dosis-Wirkungs-Kurven können GI<sub>50</sub> (Konzentration für 50%ige Wachstumshemmung), TGI (Konzentration für totale Wachstumshemmung) und LC<sub>50</sub> (Konzentration bei der 50 % der inkubierten Zellen sterben) abgeleitet werden. Nach Logarithmierung der erhaltenen Werte kann für die drei Parameter wieder ein Mittelwert über alle Zelllinien errechnet werden, welcher analog als zentrale Senkrechte bzw. Nullwert für die graphische Darstellung genutzt wird. Die Ausschläge der Balken stellen somit wieder proportionale Abweichungen vom Mittelwert des betrachteten Parameters dar. Aufgrund seiner ausgeprägt zytotoxischen Eigenschaften mit potenten Inhibitionswerten und dem zusätzlichen Phänomen, dass die Inhibition von einzelnen Zelllinien durchbrochen ist, wurde die Verbindung **60**

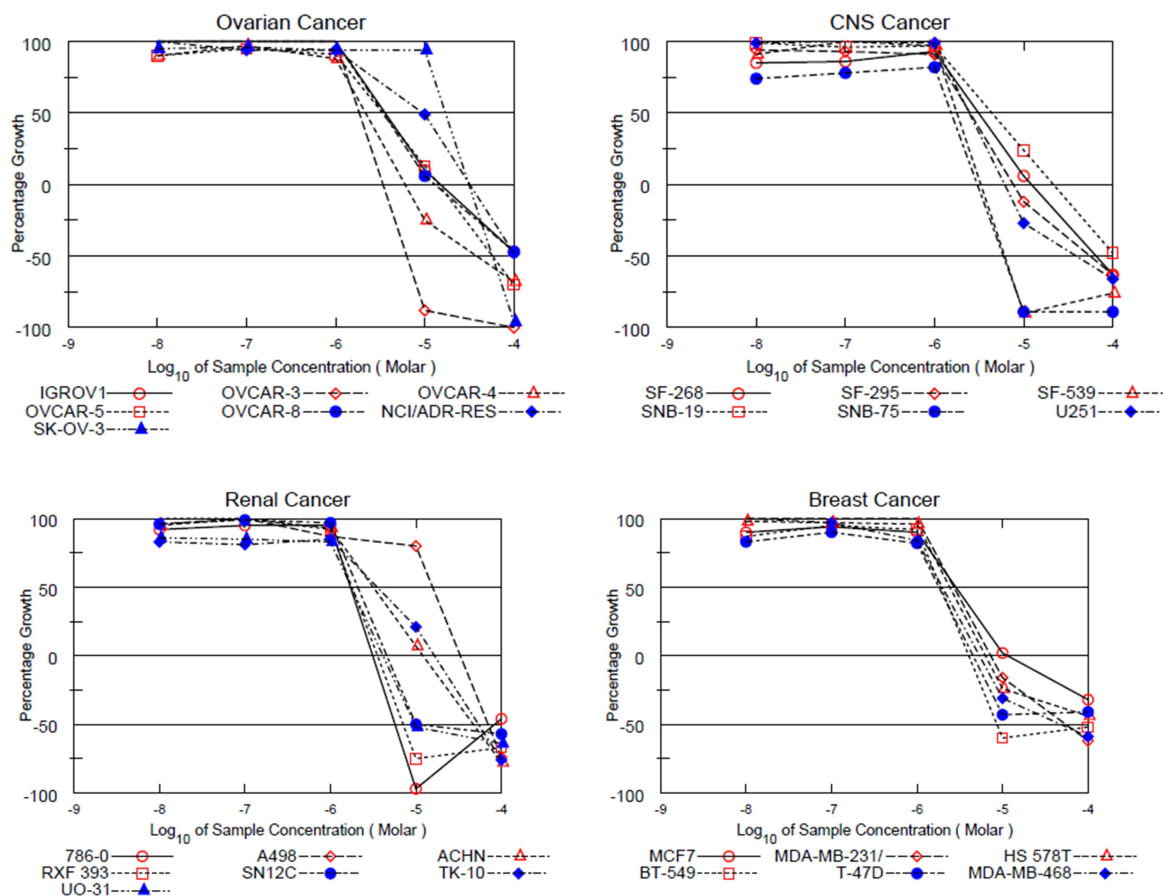
vom NCI für das *Five-Dose-Screening* ausgewählt. Tabelle 44 enthält die Werte für  $GI_{50}$ , TGI und  $LC_{50}$  von Verbindung **60** an ausgewählten Zelllinien.

**Tabelle 44:**  $GI_{50}$ , TGI und  $LC_{50}$  für Verbindung **60** an ausgewählten Zelllinien des NCI-60 cell-line-panels (*Five-Dose-Screening*)

Verb.	Zelllinie	Tumoridentität	$GI_{50}$	TGI	$LC_{50}$
<b>60</b>	SR	Leukämie	2,14 $\mu$ M	5,89 $\mu$ M	> 100 $\mu$ M
	HL-60(TB)	Leukämie	2,00 $\mu$ M	4,17 $\mu$ M	8,71 $\mu$ M
	EKVX	NSCLC	8,91 $\mu$ M	29,51 $\mu$ M	91,20 $\mu$ M
	NCI-H226	NSCLC	23,99 $\mu$ M	54,95 $\mu$ M	> 100 $\mu$ M
	HOP-92	NSCLC	2,34 $\mu$ M	7,94 $\mu$ M	70,79 $\mu$ M
	NCI-H522	NSCLC	2,00 $\mu$ M	4,68 $\mu$ M	53,70 $\mu$ M
	COLO 205	Dickdarm	2,39 $\mu$ M	6,03 $\mu$ M	64,57 $\mu$ M
	HT29	Dickdarm	2,14 $\mu$ M	4,47 $\mu$ M	9,55 $\mu$ M
	SF-295	ZNS	2,51 $\mu$ M	7,59 $\mu$ M	54,95 $\mu$ M
	SNB-75	ZNS	1,55 $\mu$ M	3,02 $\mu$ M	5,89 $\mu$ M
	M14	Melanom	2,14 $\mu$ M	4,79 $\mu$ M	> 100 $\mu$ M
	UACC-62	Melanom	1,95 $\mu$ M	4,07 $\mu$ M	8,51 $\mu$ M
	NCI/ADR-RES	Eierstock	9,55 $\mu$ M	32,36 $\mu$ M	> 100 $\mu$ M
	SK-OV-3	Eierstock	16,98 $\mu$ M	31,62 $\mu$ M	57,54 $\mu$ M
	OVCAR-3	Eierstock	1,91 $\mu$ M	3,47 $\mu$ M	6,31 $\mu$ M
	OVCAR-4	Eierstock	2,19 $\mu$ M	6,03 $\mu$ M	38,90 $\mu$ M
	A498	Nieren	15,85 $\mu$ M	33,11 $\mu$ M	69,18 $\mu$ M
	RXF 393	Nieren	1,78 $\mu$ M	3,55 $\mu$ M	7,08 $\mu$ M
	BT-549	Brust	1,86 $\mu$ M	3,98 $\mu$ M	8,51 $\mu$ M
	MDA-MB-468	Brust	2,00 $\mu$ M	5,37 $\mu$ M	46,77 $\mu$ M
T-47D	Brust	1,78 $\mu$ M	4,47 $\mu$ M	> 100 $\mu$ M	

So ist für die Zelllinie SR ersichtlich, dass sowohl für  $GI_{50}$  als auch für TGI eine Konzentration im unteren mikromolaren Bereich erreicht wird, jedoch  $LC_{50}$  über 100  $\mu$ M liegt. Damit kann belegt werden, dass die Zelllinie durch Verbindung **60** gut in ihrem Wachstum gehemmt wird, aber eine zytotoxische Wirkung durch zelleigene Mechanismen eingeschränkt ist. Vergleicht man nun die Zelllinie HL-60(TB), welche ebenfalls den Leukämiezelllinien zugehörig ist, so liegen hier  $GI_{50}$  und  $LC_{50}$  dicht zusammen, entsprechend besitzt die Zelllinie keine Resistenzmechanismen um das zytotoxische Potenzial von Verbindung **60** zu umgehen. Für die dargestellten NSCLC-Zelllinien (EKVX, NCI-H226, HOP-92 und NCI-H522) lässt sich die beschriebene Aussage erweitern, da hier scheinbar alle Zelllinien eine erhöhte  $LC_{50}$ -Konzentration besitzen. Die vorhandenen Kompensationsmechanismen gegen die zytotoxische Wirkung scheinen in den Zelllinien EKVX und NCI-H226 am stärksten ausgeprägt, da hier auch  $GI_{50}$  und TGI überdurchschnittlich hoch liegen. Die aufgeführten Kolonzelllinien COLO 205 und HT29 bzw. auch die aufgeführten ZNS-Tumorzelllinien SF-295 und SNB-75 zeigen ein ähnliches Bild. Die jeweils erstgenannte Zelllinie besitzt einen entsprechenden Kompensationsmechanismus, welches in erhöhten  $LC_{50}$ -Konzentrationen resultiert. Obwohl  $GI_{50}$  und TGI sich für die Zelllinienpaarungen in ähnlichen Bereichen bewegen, differieren sie in  $LC_{50}$  doch deutlich, so dass für HT29 und SNB-75 von einem Mangel an Schutzfaktoren bezüglich des zytotoxischen Potenzials von **60**

ausgegangen wird. Ähnliche Beobachtungen lassen sich auch an Melanom-, Ovar-, Nieren- und Brustkrebszelllinien bestätigen. Nach vollständiger Etablierung des Wirkmechanismus von Verbindung **60** kann entsprechend den Besonderheiten bzw. Charakteristika der resistenteren Zelllinien auf mögliche Resistenzfaktoren geschlossen werden. So wären bei Voraussetzung einer dualen EGFR/PDGFR $\beta$ -Hemmung zum Beispiel deregulierte *Downstream*-Moleküle wie K-Ras oder PTEN als potenzielle Resistenzmediatoren prüfbar (vgl. 1.6.1).



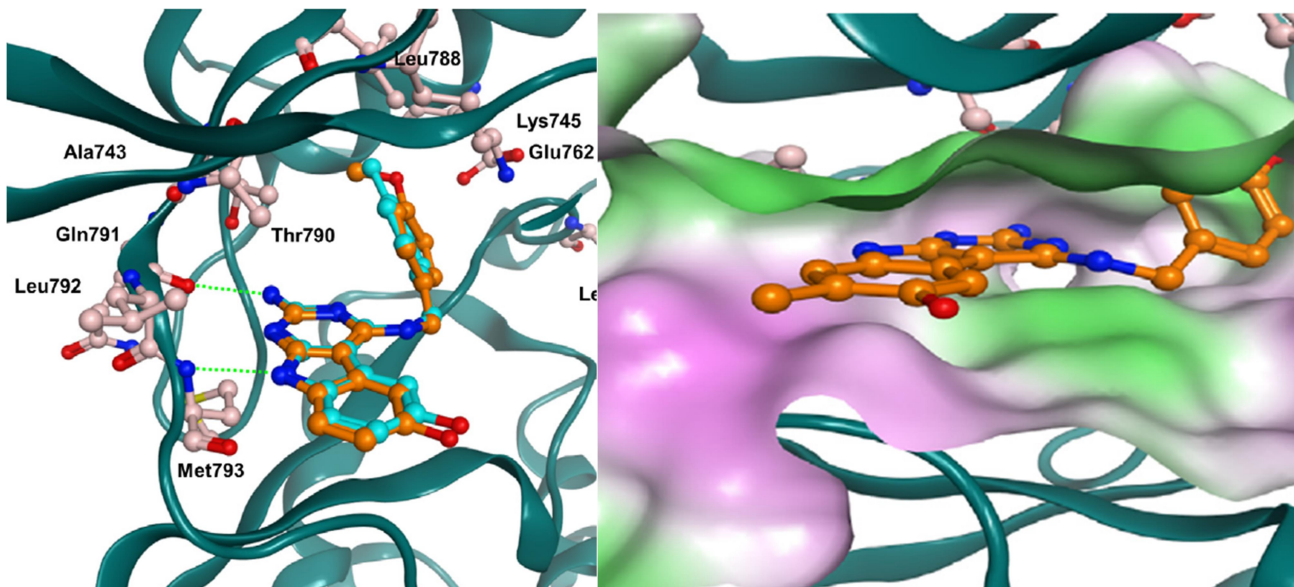
**Abb. 63:** Konzentrations-Wachstumsinhibitionskurven von Verbindung **60** an Zelllinien des NCI-60 cell-line-panels (*Five-Dose-Screening*) von 4 Tumorarten (Ovar-, ZNS-, Nieren- und Brusttumoren)

Der Auszug des *Five-Dose-Screenings* bzw. die daraus resultierenden Konzentrations-Wachstumsinhibitionskurven (vgl. Abb. 63) belegen die oben beschriebenen Tendenzen. Während für die Brustkrebszelllinien (rechts unten) ein relativ ähnlicher Kurvenverlauf über alle Zelllinien verzeichnet werden kann, können für die drei verbliebenen Tumoridentitäten deutliche Differenzen zwischen den individuellen Zelllinien ausgemacht werden. So resultiert für die gleiche Konzentration der Verbindung **60** ( $10^{-5}$  M) eine geringe Wachstumsinhibition für die Nierenzelllinie A498 aber eine nahezu vollkommen letale Wirkung auf 786-0-Zellen. Eine ähnlich große Differenz entsteht bei der Hemmung der Eierstockkrebszelllinien SK-OV-3, welche kaum inhibiert wird, und OVCAR-3, welche zu etwa 88 % zugrunde geht. Die Abbildung der Konzentrations-Wachstumsinhibitionskurven der ZNS-Zelllinien (rechts oben) zeigt, dass jede der Zelllinien bei einer Konzentration von  $10^{-5}$  M einer mindestens 50%igen Wachstumsinhibition unterliegt. Wobei SNB-75 nahezu vollständigem Zelluntergang unterliegt. Zusammenfassend betrachtet sprechen diese Beobachtungen für einen

selektiven Inhibitionsmechanismus bzw. alternativ für selektive Resistenzmechanismen innerhalb gewisser Zelllinien.

### 3.8. Docking-Untersuchungen

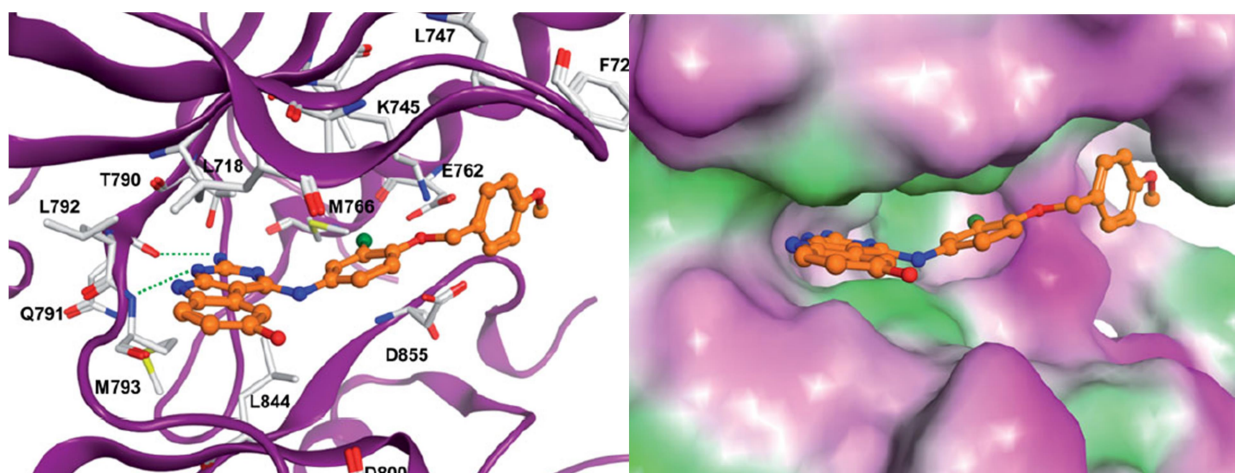
In Kooperation mit der Arbeitsgruppe Prof. Dr. W. Sippl (Institut für Pharmazie, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg) wurden *Docking*-Studien für Verbindungen durchgeführt, welche zuvor synthetisiert und in Kinaseassays untersucht wurden. Die in *Gold 5.2* (Cambridge Crystallographic Data Centre) von Abdulkarim Najjar durchgeführten Docking-Untersuchungen dienen v.a. der Erklärung der ermittelten Messdaten der Kinaseassays und somit der Hypothesengenerierung/Optimierung für weitere Synthesereihen. Die für den EGF-Rezeptor durchgeführten Untersuchungen basieren auf 3D-Strukturen des Rezeptors aus der Protein-datenbank, wobei von den verfügbaren Röntgenkristallstrukturen, aufgrund hoher Ähnlichkeit zu den Pyrimido[4,5-*b*]indolen, der Kokristall aus EGFR und Gefitinib (PDB ID 2ITY) ausgewählt wurde. Zum Vergleich wurde zusätzlich die Röntgenkristallstruktur von Erlotinib gebunden an EGFR (PDB ID 1M17) herangezogen. Die Proteinstrukturen wurden für die *Docking*-Studien folgendermaßen vorbereitet: Nachdem Wassermoleküle und gebundene kleine Inhibitoren entfernt wurden, konnten den Proteinstrukturen Wasserstoffatome hinzugefügt werden. Anschließend erfolgte Minimierung der Konformationsenergie nach MMF94-Kraftfeldmethode und Konjugat-Gradienten-Methode bis zu einem Gradienten von 0,01 kcal/mol. Das *Docking* aller getesteten Verbindungen in der ATP-Tasche der RTK EGFR erfolgte unter der Definition eines Bindungstaschenradius von 15 Å anhand des *Gatekeeper*-Rests. Für jede untersuchte Substanz wurde der *Docking*-Versuch dreißigmal mit *Goldscore* als Fitness-Funktion durchgeführt.



**Abb. 64:** Verbindung **27** (türkise Kohlenstoffatome) und **32** (orangene Kohlenstoffatome) innerhalb der ATP-Bindungstasche von EGFR (links); Verbindung **33a** innerhalb der ATP-Bindungstasche von EGFR (rechts; magenta = polare Regionen, grün = hydrophobe Regionen)

Die *Docking*-Untersuchungen der benzoanellierten 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indole zeigten grundsätzlich, dass alle Verbindungen innerhalb der ATP-Bindungstasche von EGFR analog den Inhibitoren Erlotinib und Gefitinib binden (vgl. Abb. 64 links) bzw. sich etwa 90° gedreht zum

natürlichen Substrat ATP orientieren. Es kommt vermutlich zur Ausbildung von zwei Wasserstoffbrückenbindungen (grün gestrichelt) von der *hinge*-Region der Rezeptorbindungstasche zum 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indolgrundkörper. Dabei interagiert Met793 mit dem zentralen Stickstoff des Pyrrolrings und die 2-Aminogruppe mit Gln791. Die 4-Benzylaminsubstituenten orientieren sich in einer hydrophoben Tasche zwischen Thr790 und Leu788, so dass z.B. 4'-Methyl- und 4'-Methoxysubstitution der Verbindungen **27** und **32** mit Leu788 über hydrophobe Wechselwirkungen interagieren. Überträgt man diese Ausrichtung auf die zusätzlich 7-methylierten Produkte **28a** und **33a**, ist die lipophile 7-Methylgruppe in Richtung der polaren Solventregion ausgerichtet (vgl. Abb. 64 rechts). Die daraus resultierende unvorteilhafte Wechselwirkung führt wahrscheinlich zu den beobachteten Affinitätsverlusten gegenüber EGFR. Im Weiteren lässt sich über diese Interaktion vermutlich auch erklären, dass die 7-chlor- und 7-bromsubstituierten Verbindungen **25** und **26** leichte Affinitätsverbesserungen gegenüber der 7-unsubstituierten Substanz **22** zeigen. Weitere Verbindungen (z.B. **22** und **23a** bzw. **29** und **29a**) befinden sich aufgrund veränderter Substitution des 4-Benzylaminrests tiefer in der hydrophoben Tasche, so dass die negative Wechselwirkung durch die zusätzliche 7-Methylierung nicht zustande kommt.



**Abb. 65:** Verbindung **65** innerhalb der ATP-Bindungstasche von EGFR. Darstellung des Proteinerückgrats mit relevanten Aminosäureresten der ATP-Bindungstasche (links) und Darstellung der Polaritätsverteilung innerhalb der ATP-Bindungstasche (rechts; magenta = polare Regionen, grün = hydrophobe Regionen)

In weiteren *Docking*-Studien wurden u.a. die 4-benzyloxylanilinosubstituierten Verbindungen **60** - **65** auf ihre Wechselwirkungen mit der ATP-Bindungstasche von EGFR untersucht. Insgesamt scheinen die Verbindungen deutlich tiefer in der Bindungstasche zu liegen, so dass die Wasserstoffbrückenbindungen mit der *hinge*-Region des Rezeptors zwischen N-1 und Gln791 beziehungsweise zwischen der 2-Aminogruppe und Leu792 ausgebildet werden. Der 4-Benzylaminrest scheint aufgrund der flexiblen Methylenlinkerbrücke dazu befähigt, sowohl über den Benzylrest mit den hydrophoben Resten des *P-loops* (Phe723, Leu747) zu interagieren, als auch mit dem Anilinring die sterischen Verhältnisse innerhalb der hydrophoben Tasche zu adressieren. Die zusätzlich 3'-chlorsubstituierten Verbindungen wechselwirken dabei über hydrophobe Mechanismen mit Met766. Das Sauerstoffatom der Benzyloxyethergruppe interagiert mit dem polaren Glutaminsäurerest Glu762. Das erhöhte Ausmaß an Wechselwirkungspotenzial der 4-benzyloxysubstituierten 9*H*-Pyrimido[4,5-*b*]indole korreliert mit den beobachteten Ergebnissen der Kinaseassays (vgl. Abb. 65 rechts).

Analog den Betrachtungen zur 7-Substitution ist es möglich, dass die 6-Alkyletherderivatisierungen ebenfalls zu negativen Wechselwirkungen mit der polaren Solventregion führen bzw. die notwendige Interaktion von 6-Hydroxygruppe mit entsprechender Region unterbinden. Inwiefern die synthetisierten 6-Carboxylesterprodukte die notwendigen polaren Wechselwirkungen mit gleichzeitiger Erhöhung der Lipophilie kombinieren können, muss sowohl in weiteren Kinaseassays als auch zugehörigen *Docking*-Untersuchungen geklärt werden. Ebenso wie für 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole mit modifizierter 2-Substitution zu prüfen ist, ob und wie die Wechselwirkung zu Leu792 erhalten werden kann bzw. ob durch veränderte 2-Derivatisierung gewinnbringendere Interaktionen möglich sind.

## 4. Zusammenfassung und Ausblick

### 4.1. Zusammenfassung

RTKs stellen aufgrund ihrer Schlüsselfunktion innerhalb der Regulation von Zellwachstum und -vermehrung attraktive pharmakologische Zielstrukturen dar. Insbesondere bei malignen Erkrankungen sind RTKs vielfach dereguliert und Teil der Tumorigenese. Zugrunde liegende Ursachen sind u.a.: Überexpression und Genamplifikation der Rezeptoren bzw. der zugehörigen Mediatoren, aktivierende Mutationen und der Verlust von Rückkopplungsmechanismen. Nach Mehrschrittentwicklungstheorie sind einzelne dieser Veränderungen unzureichend, um eine maligne Erkrankung zu erzeugen. Jedoch ist die Inhibition einzelner Onkogene tlw. fähig, den Tumorigeneseprozess zu stoppen (*Oncogene-Addiction*). Die enge Verflechtung des Kinasenetzwerks durch u.a. gemeinsame Mediatoren, Dimerisierungsphänomene, *Rezeptorcrosstalk* und gemeinsame *Downstream*-Signalkaskaden bewirkt, dass trotz Identifikation maligner Abhängigkeiten von bestimmten Tumorarten der therapeutische Erfolg in Ausmaß und Dauer begrenzt ist. Für zusätzliche Komplexität sorgen intratumorale Diversität und die Beteiligung des nicht-malignen Tumorstromas, so dass hochselektive Tumorthapeutika gegen RTKs selten therapeutischen Wert als Einzeltherapien erzielen bzw. Resistenzbildung dieses zeitnah unterminiert. Im Weiteren sind RTKs so vielfältig in maligne Teilprozesse wie z.B. Proliferation, Überleben und Angiogenese eingebunden, dass multiple Inhibition sowohl im Sinne einer verbesserten Wirkbreite als auch bzgl. einer erhöhten Wirkdauer höchst rational erscheint. Multiple Angiokinaseinhibitoren wie Nintedanib und Regorafenib zeigen dabei, dass therapeutischer Benefit und ein akzeptables UAW-Profil vereinbar sind.

Neben vielfach bearbeiteten Leitstrukturen basierend auf dem Chinazolin-4-amin-Grundgerüst stellen tricyclische 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole eine potenziell interessante Verbindungsklasse zur Inhibition von RTKs dar. Sowohl die tricyclischen Analoga der  $\alpha$ -Carboline als auch die 1-Aza-9-oxafluorene konnten zuvor als multiple Kinaseinhibitoren synthetisiert und evaluiert werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte zunächst der synthetische Zugang gesichert werden, welcher fortführend auf Möglichkeiten der Derivatisierung bearbeitet werden sollte. In Konsequenz wurde ein 2-Stufen-Synthesekonzept etabliert, welches im Kern über eine NENITZESCU-Reaktion zuvor 4-aminoderivatisierte Pyrimidin-2,4,6-triamine mit 1,4-Benzochinonen zu 4-aminosubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indolen umsetzt. Die Kritikalität des Pyrimidinedukts bzw. der Elektronendichte an C-5 des Edukts wurde beleuchtet und dient dem sicheren Zugang zur Substanzklasse. Durch Einsatz

von diversen Benzylaminen und Anilinen als Aminkomponente konnte eine erste Möglichkeit der Derivatisierung geschaffen werden und entsprechend erste Verbindungsreihen synthetisiert werden. Die Variation der Chinonkomponente mit 2-substituierten 1,4-Benzochinonen erbrachte primär 7-substituierte 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole und somit eine weitere Strukturderivatisierung. Die zusätzliche Entstehung von 8-methylsubstituierten Produkten mit daraus folgender Trennungsproblematik führte zu Erkenntnissen bezüglich der sterischen Verhältnisse des Reaktionsmechanismus und erweiterte die Substanzbibliothek ebenfalls. Durch Verwendung stark elektronenziehender Aniline (3-Nitroanilin, 3-Trifluoromethylanilin) als Aminkomponente bzw. als 4-Derivatisierung der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole (**46a/b**, **47a/b**) konnte außerdem eine zuvor nicht beschriebene Nebenreaktion beobachtet werden. Die simultane Entstehung von 7-un- und 7-chlorsubstituierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indolen im Grenzbereich der zuvor durch DOTZAUER *et al.* definierten Umsetzungsgrenze konnte im Sinne eines alternativen Reaktionsmechanismus interpretiert werden, welcher potenziell für Strukturvariation nutzbar ist.

Die Testung der Verbindungen des ersten Synthesesyklus im <sup>33</sup>PanQinase®-Assay (getestete RTKs: EGFR wt, VEGFR2 und IGF-1R) erbrachte eine Erstevaluierung der Verbindungsklasse, wobei für EGFR nahezu alle Verbindungen eine Aktivität im unteren mikromolaren bzw. teilweise im submikromolaren Bereich erzielten. Die 4-anilinoderivatisierten 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole zeigten dabei potentere Inhibitionswerte als die 4-Benzylaminderivate. Innerhalb der 4-Anilinoprodukte zeigt sich 3'-Monosubstitution vorteilhafter als 4'-Monosubstitution oder Mehrfachsubstitution. Die aktivsten Verbindungen der Testreihe (**46a**, **47a**, **52**) erzielten Inhibitionskonstanten von  $K_{i(46a)} = 110$  nM,  $K_{i(47a)} = 100$  nM und  $K_{i(52)} = 110$  nM. Im Weiteren konnte die 7-Modifikation bezogen auf EGFR mit einem variablem Potenzial belegt werden, welches u.a. in Abhängigkeit zum verwendeten 4-Substituenten bzw. der daraus resultierenden Positionierung in der ATP-Bindungstasche steht. Tendenziell zeigte die Implementierung von Halogenatomen in 7-Position die besten Effekte für EGFR-inhibitorische Wirkung (**25**, **26**). Die Hemmwirkung der untersuchten Derivate gegenüber VEGFR2 zeigte sich generell schlechter und konnte maximal mit mikromolaren Inhibitorkonstanten beziffert werden ( $K_{i(35)} = 1,10$   $\mu$ M,  $K_{i(46a)} = 1,44$   $\mu$ M). VEGFR2 zeigte anhand der untersuchten Derivate keine Präferenz zwischen 4-Benzylamin- und 4-Anilinosubstitution der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole. Die untersuchten 7-Modifikationen resultierten in Aktivitätsverlust bzw. Inaktivität gegenüber VEGFR2 und bieten somit Möglichkeit für Selektivitätsprofilierung. Gegenüber IGF-1R wurden nur wenige Derivate geprüft, welche mikromolare Inhibitorkonstanten lieferten ( $K_{i(30)} = 2,13$   $\mu$ M). Somit können VEGFR2 und IGF-1R als interessante Sekundärtargets einer multiplen Hemmung beschrieben werden, jedoch werden für pharmakologische Adressierung sowohl Strukturoptimierung als auch größere Testsets notwendig.

Im zweiten Synthesesyklus lag der Fokus auf der Synthese weiterer 4-Anilinoderivate und auf Generierung weiterer Derivatisierungsmöglichkeiten. Infolgedessen wurden die 4-Aminosubstituenten der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole um Alkoxyaniline und Benzyloxyaniline erweitert, welches einerseits vermehrte potenzielle Wechselwirkungsmöglichkeiten mit der ATP-Bindungstasche schuf und andererseits die zuvor hypothetisierte Inhibition der inaktiven Rezeptorkonformation durch Adressierung der allosterischen Tasche implementierte. Die erfolgreiche Integration der Benzyloxyaniline in das 2-Stufen-Synthesekonzept konnte mit sechs



Derivaten belegt werden und bietet zusätzliches Potenzial für Strukturoptimierung. Die 6-Hydroxygruppe der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole wurde ebenfalls im Sinne weiterer Strukturmodifikationen untersucht. So wurden sowohl 6-Alkoxyetherderivate als auch 6-Carboxylesterderivate synthetisiert bzw. entsprechende SyntheseprozEDUREN etabliert, welches die Substanzbibliothek der Verbindungsklasse v.a. um lipophilere Vertreter erweiterte. Neben den rein kompetitiven Inhibitoren wurde mit den 6-Zimtsäureesterderivaten auch die Integration eines nicht-reversiblen Inhibitor-Konzepts geprüft. Entsprechende Konzepte für verlängerte Inhibition mit verringerter Resistenzbildung wurden bereits durch Verbindungen wie Afatinib und Osimertinib erfolgreich genutzt. Die Modifikation der 2-Position der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole ließ sich leider nicht ausgehend vom Tricyclus bearbeiten, wurde aber über Präformierung und Einsatz entsprechender Pyrimidine synthetisch bearbeitet und in das bestehende 2-Stufen-Synthesekonzept integriert. Der synthetische Zugang wurde so gewählt, dass ein breites Spektrum an 2-Substituenten zugänglich wird. Fehlende 2-Substitution, 2-Aminoalkylierung und 2-Thioalkylierung wurden mit ersten Derivaten belegt. Zur Überprüfung der inhibitorischen Potenz und des Selektivitätsverhaltens der Verbindungsklasse wurden zusätzlich bicyclische Purin- und Pyrrolopyrimidinanaloga synthetisiert, welche vorwiegend als pharmakologische *Tools* zu betrachten sind. Im weiteren Kontext diente die Synthese der Bicyclen der Bewertung des Einflusses des anellierten Phenylrings der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole und kann zukünftig für dessen Strukturoptimierung herangezogen werden.

Ausgewählte Verbindungen des zweiten Synthesesyklus wurden ebenfalls im <sup>33</sup>PanQinase®-Assay (gegen EGFR wt und PDGFRβ) untersucht. In Erweiterung zu Erkenntnissen der ersten Untersuchung zeigte sich auch hier, dass EGFR 3'-Anilinosubstituenten über entsprechende 4'-Derivate bevorzugt, jedoch mit zunehmender Größe des Substituenten eine Umkehr der Präferenz stattfindet (vgl. **49** und **50** bzw. **55** und **56**). In Konsequenz konnten die 4-benzyloxyanilinosubstituierten Derivate, welche per se besonders voluminöse 4'-Anilinderivate darstellen, gute Inhibitor-Konstanten im mittleren nanomolaren Bereich gegenüber EGFR erzielen ( $K_{i(61)} = 130$  nM,  $K_{i(65)} = 100$  nM). Größere lipophilere 4'-Anilinosubstituenten am 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indol wirkten sich ebenfalls positiv auf die Hemmwirkung gegenüber PDGFRβ aus. So konnten die 4'-Alkoxyanilinderivate **53** und **55** mikromolare Inhibitor-Konstanten gegenüber der RTK erreichen, welches durch die 4'-Benzyloxyprodukte **60** und **62** noch etwa um den Faktor 25 verbessert werden konnte. Es resultierten Inhibitor-Konstanten im nanomolaren Bereich ( $K_{i(60)} = 80$  nM,  $K_{i(62)} = 70$  nM), womit die Derivate **60** - **65** (4-benzyloxyanilinosubstituierte 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole) als echte Dualinhibitoren gegenüber den beiden untersuchten RTKs zu betrachten sind. Bezüglich der Hemmwirkung gegenüber EGFR wt und PDGFRβ zeigten sich die 6-Alkoxyetherderivate komplett inaktiv, wohingegen das untersuchte 6-Carboxylesterderivat **87** ebenfalls inaktiv an PDGFRβ war, aber eine sehr gute Inhibitor-Konstante von  $K_{i(87)} = 60$  nM an EGFR zeigte. Trotz der kleinen Datenauswahl ist 6-Carboxylveresterung der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole ein interessanter Ansatzpunkt für Selektivitätssteigerung und Erhöhung des inhibitorischen Potenzials.

Es konnten für alle primär betrachteten RTKs Inhibitionen mit der Verbindungsklasse der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole demonstriert werden. Bezüglich der Referenzkinase EGFR konnten mit 4-anilinosubstituierten Produkten Hemmwerte im mittleren nanomolaren Bereich beobachtet werden.

Mit den 4-benzyloxyanilinoanellierten Substanzen wurden zusätzlich Inhibitoren etabliert, welche ebenfalls gegenüber PDGFR $\beta$  nanomolare Inhibitionskonstanten erreichen. Für die RTKs VEGFR2 und IGF-1R wurden mit der Produktklasse Hemmwerte im unteren mikromolaren Bereich erzielt, welches diese momentan als Sekundärtargets qualifiziert. Da die Affinität zur TK-Familie damit ausreichend belegt war, wurde im Sinne einer Selektivitätserfassung das Derivat **28a** gegenüber Vertretern weiterer Kinasefamilien getestet. Es wurden Residualaktivitäten im oberen mikromolaren Bereich gegenüber CDK1/B und CDK2/E verzeichnet, welche der CMGC-Kinasefamilie zugerechnet werden. Gegenüber den anderen untersuchten Kinasen zeigte sich **28a** inaktiv, womit erste Hinweise auf ein kinasefamilienabhängiges Selektivitätsmuster vorhanden sind.

Die grundlegenden Überlegungen zur synthetischen Derivatisierung der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole wurden anhand des ATP-Bindungstaschenmodells von VULPETTI *et al.* getroffen, welches im Weiteren voraussetzt, dass der Tricyclus analog gut untersuchten Inhibitoren mit Chinazolin-4-amin-Grundgerüst (z.B. Erlotinib, Gefitinib) bindet. Durch *Docking*-Untersuchungen in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Prof. Dr. W. Sippl am Institut für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg konnte ein entsprechender Bindungsmodus belegt werden. Darüber hinaus konnten den *Docking*-Untersuchungen Erkenntnisse zum variablen Verhalten bzgl. der 7-Substitution, zu sterischen Verhältnissen innerhalb der hydrophoben Tasche und zur Ausrichtung der 4'-Benzyloxyethergruppen entnommen werden.

Fortführend und den im Kinaseassay erhaltenen Daten Rechnung tragend, wurden sieben ausgewählte Testverbindungen auf ihre inhibitorischen Effekte im Tumorzellmodell untersucht. Die etablierten Tumorzelllinien des *NCI-60 cell-line-panels* bestätigten die zytostatische Aktivität der Verbindungen und substanzspezifische Inhibitionsmuster konnten erfasst werden. Da die biologischen Systeme in sich komplex sind und die Datenlage zum vollständigen inhibitorischen Potenzial der RTKs noch unzureichend ist, dienen die Zellwachstumsinhibitionsdaten eher der Orientierung. Überraschend jedoch war das Zellinhibitionsverhalten von Verbindung **60**, da hier z.T. stark zytotoxisches Potenzial beobachtet werden konnte. Die Untersuchung der gleichen Substanz im entsprechenden *Five-Dose-Screening* des *NCI-60* bestätigte obige Beobachtungen und zeigte zusätzlich, welche Zelllinien dem zytotoxischen Potenzial am ehesten widerstehen. Rückschlüsse auf zugehörige Resistenzmechanismen anhand der biologischen Ausstattung der Tumorzelllinien könnten Aufschluss über einen möglichen Wirkmechanismus geben.

## 4.2. Ausblick

Da innerhalb der Erstevaluierung der 9H-Pyrimido[4,5-*b*]indole bereits erste Substanzen mit potentem inhibitorischen Vermögen gegenüber den betrachteten RTKs identifiziert wurden, kann ausgehend von bestehenden Verbindungen optimiert werden. Angemerkt sei, dass aufgrund teils geringer Datenmengen (v.a. biologischer Testdaten) die beobachteten Tendenzen mit Vorsicht zu betrachten sind. Für zukünftige Modifikationen der Verbindungen stehen jedoch praktikable Synthesevorschriften zur Verfügung, welche dem Primärziel Synthese einer breiteren Substanzbibliothek mit Vertiefung der biologischen Daten genügen. Ausgehend von den nanomolaren Dualinhibitoren gegenüber EGFR und PDGFR $\beta$  (4-Benzyloxyanilinderivate) scheint eine Optimierung

der zugehörigen Substitution am Benzyloxylanilinrest besonders erstrebenswert. Bezüglich des bisherigen Sekundärtargets VEGFR2 besteht aktuell v.a. über 7-Modifikation messbarer Einfluss, so dass über 7-Derivatisierung sowohl Selektivitätsprofilierung zugunsten als auch entgegen VEGFR2 denkbar ist. Ebenfalls maßgeblichen Einfluss auf das Selektivitätsverhalten besitzt die 6-Substitution. In Anbetracht der Orientierung des Inhibitors innerhalb der ATP-Bindungstasche sollten v.a. hydrophile 6-Carboxylesterderivate synthetisiert werden, da dieses nicht nur die ADME-Eigenschaften des Moleküls verbessert, sondern auch die Hydrophilie der Lösungsmittel-exponierten Region der ATP-Bindungstasche besser bedient. Denkbar ist außerdem, dass damit der radikale Selektivitätsausschluss gegenüber PDGFR $\beta$  verloren geht, welcher andererseits auch positiv nutzbar sein kann. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob und wie die Implementierung des nicht-reversiblen Bindungsmodus zu verwirklichen ist. Dabei sollte neben *Docking*-Untersuchungen und molekularer Modellierung zur Optimierung der zugehörigen Molekülteilstruktur auch der biologische Beleg eines entsprechenden Bindungsmodus erbracht werden.

Die etablierten Vorschriften zur Modifikation der 2-Position können zukünftig für diverse Derivate genutzt werden. Neben dem maßgeblichen Einfluss auf die ADME-Eigenschaften der Moleküle ist der biologische Einfluss bis jetzt nicht abschätzbar und sollte daher über entsprechende Synthesereihen beleuchtet werden. Zunächst von rein chemischem Interesse sind die beobachteten Nebenreaktionen zu 5- bzw. 7-chlorierten Derivaten innerhalb der NENITZESCU-Reaktion. Untersuchungen entsprechend der Reproduzierbarkeit und Nutzbarkeit sind insofern von Bedeutung, da sowohl die bisher unzugängliche 5-Position als auch die eingeschränkt über Auswahl der Chinonkomponente nutzbare 7-Position betroffen sind. Von pharmakologischem Interesse hingegen ist, eine hinreichende Potenz gegenüber den gewünschten RTKs zuvor vorausgesetzt, wie sich die Selektivität der Verbindungen innerhalb der gesamten Tyrosinkinasefamilie bzw. gegenüber dem gesamten Kinom verhält.

## 5. Experimenteller Teil

### 5.1. Synthese und Charakterisierung der Verbindungen

#### 5.1.1. Methoden, Geräte und Chemikalien

##### 5.1.1.1. Schmelzbereichsbestimmung

Die Schmelzbereiche wurden auf einem *Boetius-Heiztischmikroskop (VEB Wägetechnik Rapido Radebeul/VEB Kombinat NAGEMA)* bestimmt. Sie stellen unkorrigierte Werte dar.

##### 5.1.1.2. NMR-Spektroskopie

$^1\text{H}$ -NMR-Spektren mit einer Arbeitsfrequenz von 400 MHz und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren mit einer Arbeitsfrequenz von 100 MHz wurden an einem *Gemini 2000 (Varian)* aufgenommen. Alternativ erfolgte die Aufnahme von  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren bei der Arbeitsfrequenz von 500 MHz bzw. 125 MHz an einem *Inova Unity 500 (Varian)*. Das Restresonanzsignal des verwendeten deuterierten Lösungsmittels diente als innerer Standard. Die Auswertung und Interpretation der NMR-Spektren wurde mit dem Programm *MestReNova 8.0.0.0-10524 (Mestrelab Research 2012)* durchgeführt. Zur Simulation von Spektren wurde das Programm *ChemBioDraw Ultra 13.0.0.3015 (CambridgeSoft, Cambridge, USA, 2004)* genutzt. Gegebenenfalls wurde die Zuordnung von Resonanzsignalen über 2D-Spektren ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -HSQC) abgesichert. Als Lösungsmittel wurden Aceton- $d_6$ ,  $\text{CDCl}_3$ , Methanol- $d_4$  und DMSO- $d_6$  verwendet. Protonen, welche dem Protonen-Deuteronen-Austausch unterliegen, konnten durch Zugabe kleiner Volumina  $\text{D}_2\text{O}$  oder Methanol- $d_4$  gelöscht (gequencht) werden.

###### $^1\text{H}$ -NMR

Innerhalb der Substanzcharakterisierungen sind zunächst Arbeitsfrequenz und das verwendete deuterierte Lösungsmittel angegeben. Anschließend folgt zu jedem Signal die chemische Verschiebung  $\delta$  in ppm (*parts per million*) und in Klammern die Multiplizität, die Kopplungskonstante  $J$  in Hz, die integrierte Protonenzahl und die chemische Zuordnung. Für die Multiplizitäten wurden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), qua (Quartett), qui (Quintett), sex (Sextett), sept (Septett), m (Multipllett) und br (breites Signal). Unter Umständen wurden Kombinationen von Multiplizitäten, z.B. dt (Dublett eines Triplets), verwendet. Ist die chemische Zuordnung mit dem angegebenen Molekülabschnitt nicht eindeutig, sind die betreffenden Protonen fett markiert (z.B.  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ). Bei Signalen mit definierter Multiplizität erfolgt die Angabe der chemischen Verschiebung  $\delta$  bezogen auf die Symmetrieachse, wohingegen bei Multipletts ein Bereich der chemischen Verschiebung angegeben wird.

###### $^{13}\text{C}$ -NMR

Innerhalb der Substanzcharakterisierungen sind zunächst Arbeitsfrequenz und verwendetes deuteriertes Lösungsmittel angegeben. Es folgt zu jedem Signal die chemische Verschiebung  $\delta$  in ppm (*parts per million*) und in Klammern die chemische Zuordnung.

### 5.1.1.3. Massenspektrometrie

Die Elektrosprayionisation-Massenspektren (ESI-MS) wurden an einem *Finnigan LCQ Classic* (*Thermo Electron, Egelsbach, Deutschland*) aufgenommen. Dazu wurde die Verbindung je nach Löslichkeit mit Chloroform, Aceton oder Methanol als Stammlösung (ca. 1-5 mg/ml) präpariert und mit Methanol im Verhältnis 1:1000 verdünnt. Die Injektion erfolgte mit einer *Harvard Apparatus 22*-Spritzenpumpe (20 µl/min). Das Massenspektrometer besitzt eine beheizbare Kapillare mit einer Betriebstemperatur von 220 °C. Die Ionisierung erfolgte im Elektronenspray bei 5,0 kV positiv und negativ. Das Gerät detektierte in einem Massenbereich von 50 - 2000 m/z. Die Masse/Ladungsverhältnisse im experimentellen Teil sind in folgender Form angegeben: zugeordnetes Substanzisotop: m/z-Verhältnis [Quasimolekül-Ion] prozentualer Anteil des Quasimolekül-Ions.

### 5.1.1.4. IR-Spektroskopie

Die ATR-Spektren wurden an einem FT-IR-Spektroskop des Typs *IFS 28* (*Bruker Optik*) gemessen, wohingegen die Vermessung der KBr-Spektren an einem FT-IR-Spektrometer *Spectrum BX* (*Perkin-Elmer*) durchgeführt wurde. Die Signale wurden mit ihrer Wellenzahl  $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ , ihrer Signalintensität und in Klammern ihrer chemischen Interpretation angegeben. Folgende Abkürzungen kamen dabei zur Anwendung: s = *strong* (stark), m = *medium* (mittel), w = *weak* (schwach) und „br“ = *broad* (breit). Im Weiteren wurden Valenzschwingungen mit st für Streckschwingung und Deformationsschwingungen mit  $\delta$  indiziert. Bezüglich der chemischen Interpretation wurden Gerüstschwingungen von Aromaten als C=C beschrieben. Bei uneindeutiger Zuordnung des angegebenen Molekülabschnitts erfolgt Präzisierung der betroffenen Molekülschwingung durch Unterstreichung (z.B. COOR).

### 5.1.1.5. Elementaranalyse

Für die Durchführung der Elementaranalysen kam der Analysenautomat *CHNS-932* (*LECO-Corporation*) zur Anwendung. Dabei erfolgte die Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehaltsbestimmung im automatischen Mikroverfahren.

### 5.1.1.6. Chromatographie

#### Dünnschichtchromatographie:

Dünnschichtchromatographie wurde verwendet, um Reaktionsverläufe und Trennungen über Säulenchromatographie zu überwachen. Dabei konnten bereits erste Erkenntnisse zu Identität und Reinheit von Zwischen-, Neben- und Endprodukten gewonnen werden. Es wurden mit Kieselgel 60 und Fluoreszenzindikator F254-beschichtete Aluminiumfolien der Firma *Merck KGaA* (*Darmstadt, Deutschland*) verwendet. Substanzen bzw. Substanzgemische wurden nach Lösung in einem geeigneten Lösungsmittel auf den DC-Platten aufgetragen. Die Entwicklung in Chromatographie-kammern erfolgte nach Kammersättigung unter Verwendung von Lösungsmittelgemischen als mobile Phase. Die Zusammensetzungen der mobilen Phasen sind in den Einzelsubstanzcharakterisierungen beschrieben. Nach Trocknung erfolgte die Detektion mittels Bestrahlung durch UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 366 nm. Dabei wurden fluoreszenzlöschende Eigenschaften bzw.

Eigenfluoreszenzen ausgenutzt. Innerhalb der Synthese von Verbindung **103** wurde Kaliumpermanganattauchreagenz zur Detektion verwendet. Für den Gebrauch im Labor wurde 3,00 g Kaliumpermanganat; 20,00 g Kaliumcarbonat und 0,25 g Natriumhydroxid in 300 ml destilliertem Wasser gelöst. Angegebene  $R_f$ -Werte beziehen sich auf Laufhöhe der beschriebenen Substanz relativ zur Lösungsmittelfront.

### Säulenchromatographie:

Die Säulenchromatographie diente zur Trennung und Reinigung von Zwischen-, Neben- und Endprodukten. Die Durchführung erfolgte dabei i.d.R. unter Normaldruck an Kieselgel 60 (Korngröße: 0,063-0,200 mm) der Firma *Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)*. Verwendete Elutionsmittel sind in den entsprechenden Substanzcharakterisierungen beschrieben. In der Regel erfolgte eine Polaritätssteigerung während der Chromatographie, um das Trennverhalten zu optimieren. Alle durchgeführten Säulenchromatographien wurden als „eingeschwemmte Säulen“ gepackt. Dazu wurde die zuvor berechnete Kieselgelmenge (Verhältnis: 100/1 (mKieselgel/mSubstanzgemisch)) mit Elutionsmittel suspendiert und unter kontinuierlichem Elutionsmittelstrom in die Säule eingeschwemmt. Das Auftragen der Substanzgemische erfolgte in Abhängigkeit der Löslichkeit im Elutionsmittel auf zwei verschiedene Varianten. Bei hinreichender Löslichkeit in der unpolaren Komponente des Elutionsmittels erfolgt direktes Auftragen als Lösung. Durch Verwendung möglichst geringer Volumina des Lösungsmittels wird eine schmale Bande als Startpunkt der Chromatographie gewährleistet. Alternativ erfolgte der Substanzauftrag nach Adsorption an Kieselgel. Dazu wurden die Substanzgemische in frei wählbaren geeigneten Lösungsmitteln gelöst und mit Kieselgel im Mengenverhältnis 1/1 (mKieselgel/mSubstanzgemisch) versetzt. Nach vorsichtiger Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum konnte das adsorbierte Kieselgel-Substanzgemisch auf das Säulenmaterial aufgetragen werden.

Für die Verbindungen **46a/b** und **47a/b** kam es zusätzlich zur Verwendung von einer MPLC-Trennmethode, welche an einem *PuriFlash 430* Automaten (*Interchim, Montluçon, Frankreich*) durchgeführt wurde. Die Trennsäulen wurden manuell in entsprechenden 12 g Kartuschen der Firma *Interchim* mit Kieselgel 60 F254 (Korngröße: 0,063-0,200 mm) der Firma *Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)* gepackt oder alternativ vorgepackte *PF-50SIHP-F0025*-Säulen der Firma *Interchim* genutzt. Die Rohprodukte wurden, wie zuvor beschrieben, als *dry-load* in einer entsprechenden Vorsäule präpariert. Die Maximalbeladung mit Rohprodukt entsprach 1 % (m/m) bezogen auf die Kieselgelmenge der Trennsäule. Die Elution erfolgte als Gradientenelution und ist entsprechend im Syntheseabschnitt beschrieben.

### Analytische HPLC:

Die Reinheit bestimmter Endverbindungen wurde mittels analytischer HPLC bestimmt. Dazu wurde eine *LC-10AD* mit *SIL-HAT auto sampler (Shimadzu)* und eine *XTerra (Waters) RP-18*-Säule (3,5  $\mu$ M, 3,9 x 100 mm) verwendet. Der verwendete UV-Vis-Detektor *SPD-M10A VP PDA* wurde auf 254 nm eingestellt. Die Flussrate betrug 0,5 ml/min. Als Eluent wurde ein Gradient aus Wasser und Methanol verwendet. Der Methanol-Anteil wurde innerhalb von 15 min von 5 % auf 95 % erhöht. Für eine verbesserte Trennschärfe wurde beiden Eluenten 0,1 % TFA zugesetzt.

Alternativ kam es zum Einsatz einer *Agilent 1200 HPLC* mit *SL-Hochleistungsprobengeber* (*Agilent Technologies*) in Kombination mit einer *Zorbax Rx* (*Agilent Technologies*) RP-18-Säule (3,5  $\mu$ M, 4,6 x 100 mm). Der verwendete *Diodenarray-Detektor SL* wurde auf 254 nm eingestellt. Die Trennmethode wurde analog zur vorher beschriebenen gewählt.

#### Verwendete Lösungsmittel und Chemikalien

##### Lösungsmittel:

Die verwendeten Lösungsmittel wurden nach literaturbekannten Methoden<sup>339</sup> getrocknet und frisch destilliert.

##### Chemikalien:

Die zur Synthese der in dieser Arbeit beschriebenen Substanzen verwendeten Chemikalien entstammen entweder den Beständen des Instituts für Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (*IP*), der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Andreas Hilgeroth (*AG*) oder wurden im Rahmen dieser Arbeit kommerziell erworben. Die Bezugsquelle ist in Klammern zu den entsprechenden Stoffen aufgeführt.

1-Hydroxybenzotriazol-hydrat 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
1,4-Benzochinon (*Sigma-Aldrich*)  
2-Bromohydrochinon (*Sigma-Aldrich*)  
2-Bromopropan (*AG*)  
2-Chloro-1,4-benzochinon (*Sigma-Aldrich*)  
2-Methoxybenzylamin (*Sigma-Aldrich*)  
2-Methoxyhydrochinon (*Sigma-Aldrich*)  
2-Methyl-1,4-benzochinon (*Sigma-Aldrich*)  
2-Methyl-3-butyn-2-ol (*Sigma-Aldrich*)  
2-Phenylethylamin (*AG*)  
3-Aminophenol (*IP*)  
3-Bromo-1-propen 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Bromoanilin 98 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Chloro-4-fluoroanilin 98 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Chloroanilin (*AG*)  
3-Chlorobenzylamin 98 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Chlorobenzylbromid 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Fluoroanilin 99 % (*Acros Organics*)  
3-Fluorobenzylchlorid 96 % (*Acros Organics*)  
3-(Methylmercapto)anilin 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Methoxyanilin (*AG*)  
3-Methoxybenzylamin 98 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Methoxybenzylchlorid 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Methylthioanilin 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Nitroanilin 98 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Nitrobenzylbromid 98 % (*Sigma-Aldrich*)  
3-Trifluoromethylanilin  $\geq$  99 % (*Sigma-Aldrich*)  
3,4-Dimethoxybenzylamin 97 % (*Sigma-Aldrich*)  
3,5-Dichloroanilin  $\geq$  97 % (*Sigma-Aldrich*)  
4-Aminophenol (*IP*)

4-Amino-2-chlorophenol (IP)  
4-Bromoanilin 99+ % (Acros Organics)  
4-Chloroanilin (AG)  
4-Chlorobenzylamin 98 % (Sigma-Aldrich)  
4-Chlorobenzylchlorid 95 % (Sigma-Aldrich)  
4-(Chloromethyl)benzonnitril (Sigma-Aldrich)  
4-Fluorobenzylchlorid 99 % (Sigma-Aldrich)  
4-Methoxyanilin (AG)  
4-Methoxybenzylamin 98 % (Sigma-Aldrich)  
4-Methoxybenzylchlorid 98 % (Sigma-Aldrich)  
4-Methylbenzylamin 97 % (Sigma-Aldrich)  
4-Methylbenzylbromid 97 % (Sigma-Aldrich)  
4-Nitrobenzylbromid 99 % (Sigma-Aldrich)  
6-Chlor-2,4-diaminopyrimidin 98 % (Sigma-Aldrich)  
Aceton (IP)  
Acetylchlorid (AG)  
Ameisensäure (IP)  
Ammoniak (IP)  
Benzylamin (AG)  
Benzylbromid 98 % (Sigma-Aldrich)  
Bromacetaldehyd-Diethylacetal 97 % (Sigma-Aldrich)  
Brombutan-(n-) (AG)  
Bromethan (IP)  
Bromhexan-(n-) (AG)  
Bromwasserstofflösung 33 %ig (m/m) in Essigsäure (Sigma-Aldrich)  
Butylamin-(n) (IP)  
Caesiumcarbonat (AG)  
Chloroform (IP)  
Cyanamid 99 % (Sigma-Aldrich)  
Cyanessigsäuremethylester 99 % (Sigma-Aldrich)  
Cyclohexan (IP)  
Dichlormethan (IP)  
Diethylamin (IP)  
Diethylaminomalonat-hydrochlorid (Acros Organics)  
Diethylether (IP)  
Dimethylformamid (IP)  
Dimethylsulfat (Sigma-Aldrich)  
EDTA-Na<sub>2</sub> (AG)  
Essigsäure (IP)  
Ethanol (IP)  
Ethylacetat (IP)  
Formamidin-acetat 99 % (Acros Organics)  
Geduran® Si 60 (VWR)  
Heptan (IP)  
Hexan-(n) (IP)  
Iodmethan ≥ 99 % (Sigma-Aldrich)  
Isopropanol (IP)  
Isoxazol 99 % (Acros Organics)  
Kaliumcarbonat (IP)  
Kaliumhydrogencarbonat (IP)  
Kaliumhydroxid (IP)  
Kaliumpermanganat (IP)  
Kalium-tert-butanolat (Sigma-Aldrich)



Kupfer(I)iodid (AG)  
Lithiumchlorid (IP)  
Methanol (IP)  
Methylcyanoacetat 97 % (Acros Organics)  
N-Methyl-2-pyrrolidon (Sigma-Aldrich)  
N,N-Dimethylanilin  $\geq 99,5$  % (Sigma-Aldrich)  
Natrium (IP)  
Natriumcarbonat (IP)  
Natriumdithionit  $\geq 82$  % (Sigma-Aldrich)  
Natriumhydrid 60%ig auf Paraffin (Sigma-Aldrich)  
Natriumhydrogencarbonat (IP)  
Natriumiodid (AG)  
Natrium(meta)periodat  $\geq 99$  % (Sigma-Aldrich)  
Natriumnitrit (AG)  
Oxalylchlorid (Sigma-Aldrich)  
Palladium(II)acetat 98 % (Sigma-Aldrich)  
Petrolether Siedebereich 40-60 °C (IP)  
Phosphoroxychlorid (Sigma-Aldrich)  
Propylamin-(n-) (IP)  
Pyridin (IP)  
(R)-(+)- $\alpha$ -Methylbenzylamin (Sigma-Aldrich)  
Raney-Nickel 50 % Aufschlammung in Wasser (Sigma-Aldrich)  
(S)-(-)- $\alpha$ -Methylbenzylamin (Sigma-Aldrich)  
Salzsäure (IP)  
Schwefelsäure (IP)  
Thioharnstoff (AG)  
Toluol (IP)  
Triethylamin (IP)  
Triphenylphosphin 99 % (AG)

## 5.1.2. Beschreibung der Verbindungen

### 5.1.2.1. Allgemeine Angaben

Feuchtigkeits- und/oder luftempfindliche Reaktionen wurden unter Argonatmosphäre und in ausgeheizten Apparaturen durchgeführt.

### 5.1.2.2. Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Darstellung N<sup>4</sup>-aminosubstituierter Pyrimidin-2,4,6-triamine bzw. entsprechender N<sup>4</sup>-aminosubstituierter Pyrimidinanaloga (Nucleophile Substitution am Aromaten)

1,0 eq. 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin bzw. vergleichbare Pyrimidinanaloga wurden mit 3,0 - 5,0 eq. des umzusetzenden Amins versetzt (subst. Benzylamin, subst. Anilin, subst. Benzyloxyanilin, Alkylamin). Bei Verwendung von flüssigen Aminen mit einer Siedetemperatur  $\geq 135$  °C dienten diese gleichzeitig als Lösungsmittel. Andernfalls wurde dem Reaktionsansatz zusätzlich 1,0 ml N-Methyl-2-pyrrolidon als hochsiedendes Lösungsmittel zugesetzt. Die Reaktion wurde für 2 - 4 h auf 135 °C erhitzt und gerührt. Im Verlauf der Umsetzung verfärbte sich der Ansatz zu einer gelblichen Lösung. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verschwinden von 2,6-

Diamino-4-chloropyrimidin bzw. des entsprechenden Pyrimidinanalogs überwacht. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisches bildete sich ein gelbes öliges Rohprodukt, welches direkt säulenchromatographisch aufgereinigt wurde. Eluiert wurde mit einem Stufengradienten von Ethylacetat/Methanol 95:5 zu 90:10 (V/V). Bei Einsatz eines anderen Trennsystems ist dieses in der Substanzcharakterisierung vermerkt. Die Produkte wurden als helle bis gelbliche Öle erhalten und konnten nachfolgend mit Methanol-Diethylether-Mischungen in weiße bis gelbliche Feststoffe umkristallisiert werden. Die Feststoffe wurden im Vakuum getrocknet und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> gelagert.

### AAV 2: Darstellung 4-aminosubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole (NENITZESCU-Reaktion; Cycloaddition und Oxidation)

1,0 eq. des N<sup>4</sup>-aminosubstituierten Pyrimidin-2,4,6-triamins bzw. eines alternativ 2-substituierten Analogs wurde mit 1,2 - 1,8 eq. von 1,4-Benzochinon oder einem zusätzlich 2-substituierten 1,4-Benzochinon umgesetzt. Dazu wurde der Reaktionsansatz mit 20,0 ml trockenem Ethanol und 5,0 ml trockener Essigsäure pro mmol Pyrimidin versetzt. Anschließend wurde die Reaktion für 3 - 6 h zum Rückfluss erhitzt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnenschichtchromatographisch bis zum Verschwinden des Pyrimidins überwacht. Die Lösung verfärbte sich im Verlauf von gelb-grün zu einem dunklen Braun. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Lösungsmittel vollständig im Rotationsverdampfer entfernt. Das entstandene braune ölige Rohprodukt wurde in Aceton gelöst und mit Kieselgel 60 F254 der Firma Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland) im Rotationsverdampfer als *dry-load* für die Säulenchromatographie präpariert. Eluiert wurde mit einem Stufengradienten aus Chloroform/Methanol 95:5 zu 90:10 (V/V). Erhaltene Produkte variierten farblich von beige bis grau. Eventuelle zusätzliche Chromatographieschritte sind in den Einzelcharakterisierungen der Verbindungen dargelegt. Die Verbindungen wurden im Vakuum getrocknet und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> gelagert.

### AAV 3: Darstellung substituierter 4-(Benzyloxy)aniline (Nucleophile Substitution am Benzylhalogenid)

1,0 eq. 4-Aminophenol bzw. 4-Amino-2-chlorophenol wurden in 4,0 ml DMF pro mmol Aminophenol gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 1,2 eq. Kalium-*tert*-butanolat unter Rühren hinzugegeben. Nachfolgend wurde der Reaktionsansatz unter Argonatmosphäre gesetzt und über eine Spritze 1,0 eq. substituiertes Benzylhalogenid langsam zugetropft. Nachdem die Reaktion für 2 h bei Raumtemperatur gerührt wurde, konnte sie unter erneutem Kühlen auf 0 °C und Zusatz eines äquivalenten Volumens an Wasser beendet werden. Anschließend wurde der Reaktionsansatz in 100,0 ml Brinellösung aufgenommen und mit dreimal je 100,0 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und anschließend im Rotationsverdampfer das Lösungsmittel entfernt. Das erhaltene gelbe bis rötliche ölige Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt. Die Elution erfolgte mit einem Stufengradienten aus *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 zu 60:40 (V/V). Erhaltene gelbliche (Verwendung von 4-Amino-phenol) bzw. rötliche (Verwendung von 4-Amino-2-chlorophenol) ölige Produkte wurden als solche weiter verwendet bzw. bis zur Verwendung unter Argonatmosphäre bei 2 - 8 °C gelagert.

### AAV 4: Darstellung substituierter Zimtsäuren (KNOEVENAGEL-Reaktion)

1,0 eq. substituiertes Benzaldehyd und 3,0 eq. Malonsäure wurden in 0,6 ml DMF pro mmol Benzaldehyd gelöst. Anschließend wurde 1,0 eq. trockenes Pyridin ergänzt und der Ansatz für 5 h bei

90 °C gerührt. Dabei kam es zu starker Gasentwicklung. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes wurde mit konzentrierter Salzsäure auf pH 1 angesäuert. Durch Kühlung des Ansatzes auf 0 °C kam es zur Bildung eines weißen bis beigen Präzipitates, welches per Vakuumfiltration abgetrennt wurde. Das Präzipitat wurde zweimal mit 0,2 ml Wasser pro mmol Benzaldehyd gewaschen und danach über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Die erhaltenen Produkte resultierten als weiße bis beige Feststoffe.

AAV 5: *Darstellung substituierter Carbonsäurechloride (Aktivierung mit Oxalylchlorid)*

1,0 eq. substituiertes Carbonsäurederivat wurde bei 0 °C unter Rühren in trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gelöst und anschließend unter Argonatmosphäre gesetzt. Nach Zugabe von 1 - 2 kat. Tropfen DMF über eine Spritze wurde dem Reaktionsansatz langsam 2,0 eq. Oxalylchlorid zugetropft, welches ebenfalls mittels einer Spritze durchgeführt wurde. Anschließend wurde der Reaktionsansatz 5 h bei Raumtemperatur gerührt und danach im Rotationsverdampfer alle flüchtigen Komponenten entfernt. Es entstanden weiße bis gelbliche Feststoffe, welche bis zur Verwendung unter Argon und Kühlung auf -20 °C gelagert wurden.

AAV 6: *Darstellung von 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-yl-carboxylaten (Veresterung phenolischer Hydroxygruppe)*

1,0 eq. 2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol **47a** bzw. 2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol **47b** wurde in trockenem Pyridin bei 0 °C gelöst. Nachdem der Reaktionsansatz unter Argonatmosphäre gesetzt wurde, konnte anschließend über eine Spritze langsam 1,0 eq. Carbonsäurechlorid, gelöst in trockenem Pyridin, hinzugegeben werden. Nach weiterem Rühren für 0,5 h bei 0 °C wurde anschließend bei Raumtemperatur 4 - 24 h gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verschwinden von **47a** bzw. **47b** überwacht. Nachgehend wurde das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer entfernt und der Reaktionsansatz säulenchromatographisch aufgearbeitet. Eluiert wurde mit Chloroform-Methanol-Gemischen. Das Verhältnis ist substanzspezifisch in den Einzelcharakterisierungen hinterlegt. Die erhaltenen Produkte wurden im Vakuum getrocknet und resultierten als weiße bis beige Feststoffe.

AAV 7: *Darstellung von (7-Chloro)-6-(alkyloxy)-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-2,4-diaminen (WILLIAMSON-Ethersynthese; Veretherung phenolischer Hydroxygruppe)*

1,0 eq. 2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol **47a** bzw. 2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol **47b** wurde in 2,0 ml DMF pro mmol Edukt gelöst. Anschließend wurde der Reaktionsansatz unter Argonatmosphäre gesetzt, 10,0 eq. K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> zugesetzt und für 0,5 h gerührt. Mit einer Mikroliterspritze wurde der Reaktion unter Rühren 1,0 eq. Alkylhalogenid zugetropft und danach für 8 - 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verschwinden von **47a** bzw. **47b** überwacht. Anschließend wurde der Reaktionsansatz säulenchromatographisch aufgearbeitet. Eluiert wurde mit einem Stufengradienten aus Chloroform/Methanol 95:5 zu 90:10 (V/V). Da tlw. ein Mischprodukt aus **47a/b** zum Einsatz kam, resultierte auch die entsprechende Bildung von Mischprodukten. Diese wiederum mussten einem zweiten chromatographischen Reinigungsschritt unterzogen werden, bei welchem mit Chloroform-Pyridin-Gemischen eluiert wurde. Die

Eluentenzusammensetzung des zweiten chromatographischen Aufreinigungsschritts ist, so durchgeführt, in den Einzelsubstanzcharakterisierungen dargelegt. Die erhaltenen Produkte wurden im Vakuum getrocknet und resultierten als beige Feststoffe.

### AAV 8: Darstellung von 6-Amino-2-(alkylthio)pyrimidin-4-olen (Veretherung von Thiolen)

1,0 eq. 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol **15** wurde in möglichst wenig 1M wässriger Natronlauge gelöst. Nachdem der Reaktionsansatz unter Argonatmosphäre gesetzt wurde, konnte über eine Spritze 1,0 eq. Alkylhalogenid unter Rühren zugetropft werden. Der Reaktionsansatz wurde für 6 - 10 h bei Raumtemperatur gerührt. Sollte eine erhöhte Reaktionstemperatur notwendig gewesen sein, so ist diese in der Einzelcharakterisierung der Substanz dargestellt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verschwinden von **15** überwacht. Über den Reaktionsverlauf bildete sich ein weißes Präzipitat, welches im Anschluss über Vakuumfiltration separiert wurde. Das Präzipitat wurde je zweimal mit äquivalenten Mengen (bezogen auf die Menge des Reaktionsmediums: wässrige Natronlauge) Wasser und Petrolether (Siedebereich 60 - 80 °C) gewaschen. Die erhaltenen weißen Feststoffe wurden über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

### AAV 9: Darstellung von 6-Aminopyrimidin-4-ol bzw. 5,6-Diaminopyrimidin-4-ol (Katalytische Entschwefelung von Thiolen)

1,0 eq. von 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol **15** bzw. 5,6-Diamino-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on **97** wurde in 4,0 ml 5%iger wässriger Ammoniaklösung pro mmol Edukt gelöst. Anschließend wurde 0,5 ml einer 50%igen Raney-Nickel-Aufschlämmung in Wasser pro mmol Edukt vorsichtig hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde anschließend 1,5 h zum Rückfluss erhitzt und nachgehend heiß über ein Celite®-Pad filtriert. Der Filtrückstand wurde mit kochendem Wasser nachgewaschen. Das gesammelte leicht grünliche Filtrat wurde im Rotationsverdampfer zur Trockene eingedunstet. Es resultierte ein weißer bzw. gelblicher Feststoff, welcher über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet wurde.

### AAV 10: Darstellung von 7-Alkyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidinen bzw. 9-Alkyl-9H-purin-6-aminen (Alkylierung azider Aminogruppen)

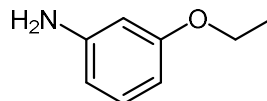
1,0 eq. von 4-Chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin **107** bzw. N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin **101e** wurde in 1,5 ml DMF pro mmol Edukt gelöst. Anschließend wurde der Reaktionsansatz unter Argonatmosphäre gesetzt und 1,2 eq. NaH (60%ige Suspension auf Paraffin) vorsichtig und unter Kühlung auf 0 °C zugesetzt. Nach weiterem Rühren bei Raumtemperatur für 0,5 h wurde der Lösung 1,2 eq. Alkylhalogenid über eine Spritze zugetropft und für 5 - 8 h gerührt. Der Reaktionsfortschritt wurde dünnschichtchromatographisch bis zum Verschwinden von **107** bzw. **101e** überwacht. Die Reaktion wurde durch Zusatz von 25,0 ml Wasser pro mmol Edukt gestoppt. Anschließend wurde dreimal mit je 50,0 ml Chloroform pro mmol Edukt extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit jeweils 50,0 ml Wasser, 5%iger wässriger Lithiumchloridlösung und Brinelösung pro mmol Edukt gewaschen. Die organische Phase wurde über CaSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer entfernt. Das verbliebene gelbe Öl wurde säulenchromatographisch aufgereinigt. Die Zusammensetzungen der Eluentengemische sind in den Substanzcharakterisierungen dargelegt. Zwischenprodukte wurden anschließend direkt weiterverwendet, während finale Produkte zum Feststoff umkristallisiert wurden.

### 5.1.2.3. Synthese kommerziell nicht verfügbarer Reagenzien

#### 5.1.2.3.1. Synthese Alkoxyaniline

##### 3-Ethoxyanilin

Verbindung:	<b>1a</b>
Summenformel:	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO
Molekulargewicht:	137,18 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3

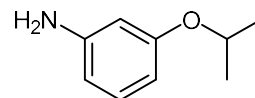


Es wurden 5,46 g (50,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Aminophenol mit 5,45 g bzw. 3,73 ml (50,0 mmol; 1,0 eq.) Bromethan nach AAV 3 umgesetzt. Die Reaktionszeit bei Raumtemperatur betrug 2 h. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 5,88 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 85,7 % entspricht.

Ausbeute:	85,7 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:138,0 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:139,0 [M+H] <sup>+</sup> 11 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3456 w „br“, 3373 w „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3037 w, 3024 w (aromat. CH st); 2978 m, 2929 w (aliph. CH st); 1664 m (NH <sub>2</sub> δ); 1620 m, 1597 s, 1495 s, 1477 m (C=C st); 1464 m, 1366 m (CH δ); 1287 m (CN st); 1189 s, 1154 s (C-O-C st Ether); 764 w, 688 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,26 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,9 Hz, 3H, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,88 (qua, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 6,9 Hz, 2H, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,97 (br, 2H, NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,04 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 8,2 Hz, 1H, H-6); 6,10 - 6,13 (m, 2H, H-2 H-4); 6,86 (t, <sup>3</sup> J <sub>5/4bzw.6</sub> = 8,2 Hz, 1H, H-5)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,30 Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) 0,46 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

##### 3-Isopropoxyanilin

Verbindung:	<b>1b</b>
Summenformel:	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO
Molekulargewicht:	151,21 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3



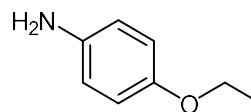
Es wurden 5,46 g (50,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Aminophenol mit 6,15 g bzw. 4,69 ml (50,0 mmol; 1,0 eq.) 2-Brompropan nach AAV 3 umgesetzt. Die Reaktionszeit bei Raumtemperatur betrug 4 h. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als

Eluent aufgereinigt. Es wurden 6,04 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 79,9 % entspricht.

Ausbeute:	79,9 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:152,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \%$ ; ${}^{13}\text{C}:153,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 12 \%$
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3460 w „br“, 3373 w „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3037 w, 3022 w (aromat. CH st); 2975 m, 2932 w (aliph. CH st); 1665 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1623 m, 1596 s, 1493 s, 1481 m (C=C st); 1465 m, 1383 m, 1371 m (CH $\delta$ ); 1286 m (CN st); 1186 s, 1154 s (C-O-C st Ether); 767 w, 688 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
${}^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 1,21 (d, ${}^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}} = 6,0$ Hz, 6H, $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ); 4,42 (sep, ${}^3J_{\text{CH}/\text{CH}_3} = 6,0$ Hz, 1H, $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ); 4,94 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,03 (ddd, ${}^3J_{6/5} = 8,2$ Hz ${}^4J_{6/4} = 2,3$ Hz ${}^4J_{6/2} = 1,0$ Hz, 1H, H-6); 6,08 - 6,11 (m, 2H, H-2 H-4); 6,85 (t, ${}^3J_{5/4\text{ bzw. }6} = 8,2$ Hz, 1H, H-5)
$R_f$ -Werte:	0,31 Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) 0,49 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

#### 4-Ethoxyanilin

Verbindung:	<b>1c</b>
Summenformel:	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}$
Molekulargewicht:	137,18 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3

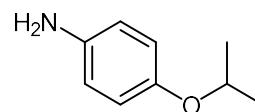


Es wurden 5,46 g (50,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 5,45 g bzw. 3,73 ml (50,0 mmol; 1,0 eq.) Bromethan nach AAV 3 umgesetzt. Die Reaktionszeit bei Raumtemperatur betrug 2 h. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 6,02 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 87,8 % entspricht.

Ausbeute:	87,8 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:138,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \%$ ; ${}^{13}\text{C}:139,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 10 \%$
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3457 w „br“, 3361 w „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3037 w, 3025 w (aromat. CH st); 2979 m, 2928 w (aliph. CH st); 1668 s ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1620 m, 1596 s, 1495 s, 1477 m (C=C st); 1463 m, 1388 m (CH $\delta$ ); 1287 m (CN st); 1187 s, 1152 s (C-O-C st Ether); 839 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
${}^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 1,23 (t, ${}^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 3,85 (qua, ${}^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,0$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 4,54 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,48 (d, ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,8$ Hz, 2H, H-3 H-5); 6,61 (d, ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,8$ Hz, 2H, H-2 H-6)
$R_f$ -Werte:	0,27 Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) 0,47 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

**4-Isopropoxyanilin**

Verbindung:	<b>1d</b>
Summenformel:	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO
Molekulargewicht:	151,21 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3

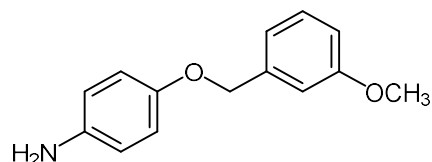


Es wurden 5,46 g (50,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 6,15 g bzw. 4,69 ml (50,0 mmol; 1,0 eq.) 2-Brompropan nach AAV 3 umgesetzt. Die Reaktionszeit bei Raumtemperatur betrug 4 h. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 6,41 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 84,8 % entspricht.

Ausbeute:	84,8 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:152,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:153,2 [M+H] <sup>+</sup> 14 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3457 w „br“, 3373 w „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3037 w, 3025 w (aromat. CH st); 2978 m, 2929 w (aliph. CH st); 1664 m (NH <sub>2</sub> δ); 1620 m, 1597 s, 1495 s, 1477 m (C=C st); 1464 m, 1393 m, 1366 w (CH δ); 1287 m (CN st); 1188 s, 1154 s (C-O-C st Ether); 840 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,19 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,0 Hz, 6H, OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ); 4,40 (sep, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,0 Hz, 1H, OCH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ); 4,52 (br, 2H, NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,45 (d, <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3 H-5); 6,59 (d, <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2 H-6)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,29 Cyclohexan/Ethylacetat 70:30 (V/V) 0,50 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

**5.1.2.3.2. Synthese Benzyloxyaniline****4-((3-Methoxybenzyl)oxy)anilin**

Verbindung:	<b>2a</b>
Summenformel:	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	229,28 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3



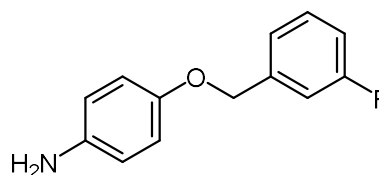
Es wurden 1,09 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 1,57 g bzw. 1,46 ml (10,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Methoxybenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,96 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 85,5 % entspricht.

Ausbeute:	85,5 %
-----------	--------

Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:230,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:231,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 13\%$
${}^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,73 (s, 3H, $\text{OCH}_3$ ); 4,58 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,90 (s, 2H, $\text{OCH}_2(3'-\text{OCH}_3\text{Ph})$ ); 6,48 (d, ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,8$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,69 (d, ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,8$ Hz, 2H, H-3 H-5); 6,84 (dd, ${}^3J_{4'/5'} = 8,0$ Hz ${}^4J_{4'/6'} = 2,3$ Hz, 1H, H-4'); 6,95 (m, 2H, H-2' H-6'); 7,26 (t, ${}^3J_{5'/4'}$ bzw. $6' = 7,9$ Hz, 1H, H-5')
$R_f$ -Werte:	0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,25 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

#### 4-((3-Fluorobenzyl)oxy)anilin

Verbindung:	<b>2b</b>
Summenformel:	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FNO}$
Molekulargewicht:	217,24 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3

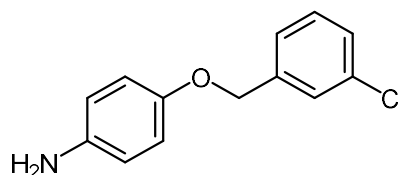


Es wurden 1,09 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 1,44 g bzw. 0,95 ml (10,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Fluorobenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,84 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 84,7 % entspricht.

Ausbeute:	84,7 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:218,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:219,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 14\%$
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3439 w „br“, 3359 w „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3062 w, 3041 w (aromat. CH st); 2925 w, 2867 w (aliph. CH st); 1662 w ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1623 m, 1600 m, 1508 s, 1477 w (C=C st); 1430 w, 1376 w (CH $\delta$ ); 1228 s, 1172 w (C-O-C st Ether); 1215 m (aromat. C-F $\delta$ ); 822 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat); 774 w, 694 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
${}^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 4,60 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,95 (s, 2H, $\text{OCH}_2(3'-\text{FPh})$ ); 6,49 (d, ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,8$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,70 (d, ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,8$ Hz, 2H, H-3 H-5); 7,10 (dt, ${}^3J_{4'/5'}$ bzw. $6' = 8,5$ Hz ${}^4J_{4'/6'} = 2,2$ Hz, 1H, H-4'); 7,21 (m, 2H, H-2' H-6'); 7,39 (dt, ${}^3J_{5'/4'}$ bzw. $6' = 7,8$ Hz ${}^4J_{5'/6'} = 6,3$ Hz, 1H, H-5')
$R_f$ -Werte:	0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,24 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

#### 4-((3-Chlorobenzyl)oxy)anilin

Verbindung:	<b>2c</b>
Summenformel:	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClNO}$
Molekulargewicht:	233,70 g/mol





Darstellung: nach AAV 3

Es wurden 2,18 g (20,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 4,11 g bzw. 2,63 ml (20,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Chlorbenzylbromid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Heptan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,93 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 82,6 % entspricht.

Ausbeute: 82,6 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:234,6 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:235,6 [\text{M}+\text{H}]^+ 10\%$ ;  ${}^{37}\text{Cl}:236,6 [\text{M}+\text{H}]^+ 60\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:232,4 [\text{M}-\text{H}]^- 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:233,4 [\text{M}-\text{H}]^- 11\%$ ;  ${}^{37}\text{Cl}:234,3 [\text{M}-\text{H}]^- 24\%$

${}^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 4,57 (br, 2H,  $\text{NH}_2$  with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable); 4,89 (s, 2H,  $\text{OCH}_2(3'-\text{ClPh})$ ); 6,48 (d,  ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,8$  Hz, 2H, H-2 H-6); 6,69 (d,  ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,8$  Hz, 2H, H-3 H-5); 7,18 (dd,  ${}^3J_{4'/5'} = 7,6$  Hz  ${}^4J_{4'/6'} = 1,3$  Hz, 1H, H-4'); 7,23 - 7,25 (m, 2H, H-2' H-6'); 7,31 (t,  ${}^3J_{5'/4'}$  bzw.  $6' = 7,6$  Hz, 1H, H-5')

$R_f$ -Werte: 0,09 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V)

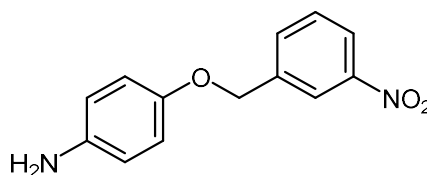
0,25 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

#### 4-((3-Nitrobenzyl)oxy)anilin

Verbindung: **2d**

Summenformel:  $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$

Molekulargewicht: 244,25 g/mol



Darstellung: nach AAV 3

Es wurden 0,82 g (7,5 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 1,62 g (7,5 mmol; 1,0 eq.) 3-Nitrobenzylbromid nach AAV 3 umgesetzt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Heptan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,38 g rötliches öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 75,3 % entspricht.

Ausbeute: 75,3 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:245,0 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:246,0 [\text{M}+\text{H}]^+ 13\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:243,1 [\text{M}-\text{H}]^- 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:244,1 [\text{M}-\text{H}]^- 11\%$

${}^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 4,58 (br, 2H,  $\text{NH}_2$  with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable); 4,96 (s, 2H,  $\text{OCH}_2(3'-\text{NO}_2\text{Ph})$ ); 6,49 (d,  ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,9$  Hz, 2H, H-2 H-6); 6,70 (d,  ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,9$  Hz, 2H, H-3 H-5); 7,59 (t,  ${}^3J_{5'/4'}$  bzw.  $6' = 7,9$  Hz, 1H, H-5'); 7,79 (ddd,  ${}^3J_{6'/5'} = 7,6$  Hz  ${}^4J_{6'/4'} = 1,6$  Hz  ${}^4J_{6'/2'} = 1,0$  Hz; 1H, H-6'); 8,05 (ddd,  ${}^3J_{4'/5'} = 8,2$  Hz  ${}^4J_{4'/6'} = 2,4$  Hz  ${}^4J_{4'/2'} = 1,0$  Hz; 1H, H-4'); 8,18 (t,  ${}^4J_{2'/4'}$  bzw.  $6' = 1,8$  Hz, 1H, H-2')

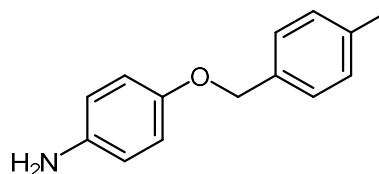
$R_f$ -Werte: 0,09 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V)

0,26 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

**4-((4-Methylbenzyl)oxy)anilin**Verbindung: **2e**Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO

Molekulargewicht: 213,28 g/mol

Darstellung: nach AAV 3



Es wurden 1,09 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 1,41 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Methylbenzylbromid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Heptan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,83 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 85,8 % entspricht.

Ausbeute: 85,8 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:214,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:215,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 11\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:212,3 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:213,3 [\text{M}-\text{H}]^- 12\%$ 

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,24 (s, 3H, 4'-CH<sub>3</sub>); 4,56 (br, 2H, NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 4,88 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>(4'-CH<sub>3</sub>Ph)); 6,47 (d, <sup>3</sup>J<sub>2-6/3-5</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-2 H-6); 6,66 (d, <sup>3</sup>J<sub>3-5/2-6</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-3 H-5); 7,08 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,0 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,20 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,0 Hz, 2H, H-2' H-6')

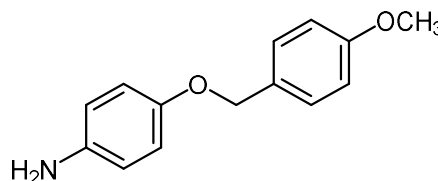
R<sub>F</sub>-Werte: 0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V)

0,24 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

**4-((4-Methoxybenzyl)oxy)anilin**Verbindung: **2f**Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 229,28 g/mol

Darstellung: nach AAV 3



Es wurden 1,09 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 1,57 g bzw. 1,36 ml (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Methoxybenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,67 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 72,8 % entspricht.

Ausbeute: 72,8 %

Schmelzbereich: -

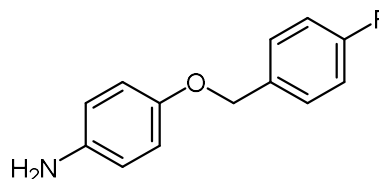
MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:230,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:231,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 16\%$ 

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3422 w „br“, 3348 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3043 w, 3034 w (aromat. CH st); 2928 m, 2916 m, 2874 w, 2838 w (aliph. CH st); 1662 m (NH<sub>2</sub> δ); 1609 m, 1584 w, 1513 s, 1502 s (C=C st); 1472 m, 1378 m (CH δ); 1223 s, 1178 s, 1111 m (C-O-C st Ether); 825 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,29 (s, 3H, $\text{OCH}_3$ ); 4,57 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,83 (s, 2H, $\text{OCH}_2(4\text{-OCH}_3\text{Ph})$ ); 6,48 (d, $^3J_{2-6/3-5} = 8,7$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,68 (d, $^3J_{3-5/2-6} = 8,7$ Hz, 2H, H-3 H-5); 6,90 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,6$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,31 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,6$ Hz, 2H, H-2' H-6')
$R_f$ -Werte:	0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,25 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

**4-((4-Fluorobenzyl)oxy)anilin**

Verbindung:	<b>2g</b>
Summenformel:	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{FNO}$
Molekulargewicht:	217,24 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3

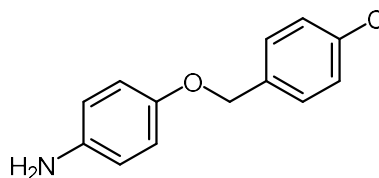


Es wurden 1,64 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 2,17 g bzw. 1,80 ml (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Fluorobenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,82 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 86,5 % entspricht.

Ausbeute:	86,5 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:218,0$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 100 %; $^{13}\text{C}:219,0$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 11 %
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}:216,2$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 100 %; $^{13}\text{C}:217,2$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 12 %
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 4,59 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,90 (s, 2H, $\text{OCH}_2(4'\text{-FPh})$ ); 6,49 (d, $^3J_{2-6/3-5} = 8,8$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,69 (d, $^3J_{3-5/2-6} = 8,8$ Hz, 2H, H-3 H-5); 7,09 (m, 2H, H-3' H-5'); 7,35 (m, 2H, H-2' H-6')
$R_f$ -Werte:	0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,24 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

**4-((4-Chlorobenzyl)oxy)anilin**

Verbindung:	<b>2h</b>
Summenformel:	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClNO}$
Molekulargewicht:	233,70 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3



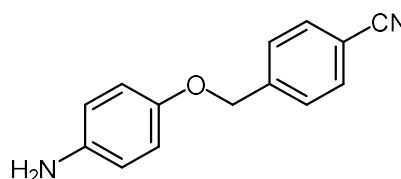
Es wurden 1,64 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 2,42 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Chlorobenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,96 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 84,4 % entspricht.

Ausbeute:	84,4 %
-----------	--------

Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:234,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:235,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 14\% ; {}^{37}\text{Cl}:236,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 34\%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:232,2 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:233,2 [\text{M}-\text{H}]^- 12\% ; {}^{37}\text{Cl}:234,2 [\text{M}-\text{H}]^- 30\%$
${}^1\text{H}$ -NMR:	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 4,56 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,88 (s, 2H, $\text{OCH}_2(4'\text{-ClPh})$ ); 6,48 (d, ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,9$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,69 (d, ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,9$ Hz, 2H, H-3 H-5); 7,33 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6')
$R_f$ -Werte:	0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,25 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

#### 4-((4-Aminophenoxy)methyl)benzonitrile

Verbindung:	<b>2i</b>
Summenformel:	$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$
Molekulargewicht:	224,26 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3

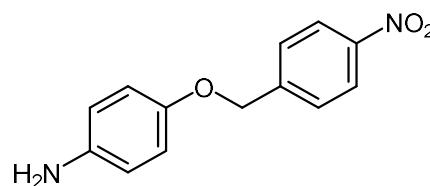


Es wurden 1,64 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 2,27 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-(Chloromethyl)benzonitril nach AAV 3 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,29 g gelbes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 67,2 % entspricht.

Ausbeute:	67,2 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:225,0 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:226,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 12\%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:223,1 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:224,1 [\text{M}-\text{H}]^- 10\%$
${}^1\text{H}$ -NMR:	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 4,55 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,86 (s, 2H, $\text{OCH}_2(4'\text{-CNPh})$ ); 6,48 (d, ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,8$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,69 (d, ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,8$ Hz, 2H, H-3 H-5); 7,51 (d, ${}^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,5$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,34 (d, ${}^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,5$ Hz, 2H, H-3' H-5')
$R_f$ -Werte:	0,08 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,24 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

#### 4-((4-Nitrobenzyl)oxy)anilin

Verbindung:	<b>2j</b>
Summenformel:	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$
Molekulargewicht:	244,25 g/mol
Darstellung:	nach AAV 3



Es wurden 1,64 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Aminophenol mit 3,24 g (15,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Nitrobenzylbromid nach AAV 3 umgesetzt. Das rötliche Rohprodukt wurde

säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,61 g rötliches öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 71,2 % entspricht.

Ausbeute:	71,2 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:245,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \%$ ; ${}^{13}\text{C}:246,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 14 \%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:243,2 [\text{M}-\text{H}]^- 100 \%$ ; ${}^{13}\text{C}:244,1 [\text{M}-\text{H}]^- 10 \%$
${}^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 4,62 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 4,93 (s, 2H, $\text{OCH}_2(4'-\text{NO}_2\text{Ph})$ ); 6,50 (d, ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,9$ Hz, 2H, H-2 H-6); 6,69 (d, ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,8$ Hz, 2H, H-3 H-5); 7,59 (d, ${}^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,9$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 8,15 (d, ${}^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,9$ Hz, 2H, H-3' H-5')
$R_f$ -Werte:	0,09 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,26 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

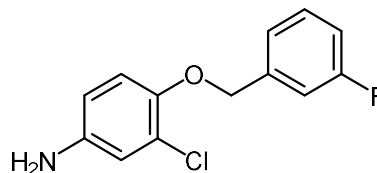
### 3-Chloro-4-((3-fluorobenzyl)oxy)anilin

Verbindung: **3a**

Summenformel:  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClFNO}$

Molekulargewicht: 251,09 g/mol

Darstellung: nach AAV 3



Es wurden 1,44 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Amino-2-chlorophenol mit 1,45 g bzw. 1,21 ml (10,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Fluorobenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,33 g rotes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 92,6 % entspricht.

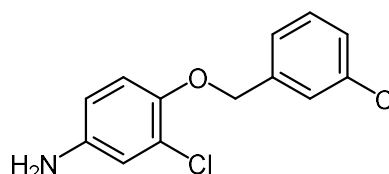
Ausbeute:	92,6 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:252,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \%$ ; ${}^{13}\text{C}:253,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 14 \%$ ; ${}^{37}\text{Cl}:254,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 28 \%$
${}^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 4,90 (br, 2H, $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 5,01 (s, 2H, $\text{OCH}_2(3'-\text{FPh})$ ); 6,46 (dd, ${}^3J_{6/5} = 8,8$ Hz ${}^4J_{6/2} = 2,7$ Hz, 1H, H-6); 6,65 (d, ${}^4J_{2/6} = 2,7$ Hz, 1H, H-2); 6,90 (d, ${}^3J_{5/6} = 8,8$ Hz, 1H, H-5); 7,12 (dt, ${}^3J_{4'/5'}$ bzw. $F = 8,5$ Hz ${}^4J_{4'/6'} = 2,6$ Hz, 1H, H-4'); 7,21 - 7,26 (m, 2H, H-2' H-6'); 7,40 (dt, ${}^3J_{5'/4'}$ bzw. $6' = 8,1$ Hz ${}^4J_{5'/F} = 6,2$ Hz, 1H, H-5')
$R_f$ -Werte:	0,10 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) 0,32 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

### 3-Chloro-4-((3-chlorobenzyl)oxy)anilin

Verbindung: **3b**

Summenformel:  $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}$

Molekulargewicht: 268,14 g/mol



Darstellung: nach AAV 3

Es wurden 1,44 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Amino-2-chlorophenol mit 1,61 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 3-Chlorobenzylbromid nach AAV 3 umgesetzt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,64 g rotes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 98,5 % entspricht.

Ausbeute: 98,5 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:269,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:270,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 12\%$ ;  ${}^{37}\text{Cl}:271,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 40\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3449 w „br“, 3369 w „br“ ( $\text{NH}_2$  st); 3064 w, 3040 w (aromat. CH st); 2925 w, 2871 w (aliph. CH st); 1662 w ( $\text{NH}_2$   $\delta$ ); 1624 m, 1600 m, 1497 s (C=C st); 1431 m, 1374 m (CH  $\delta$ ); 1221 s, 1164 w (C-O-C st Ether); 1055 m (aromat. C-Cl  $\delta$ ); 870 w, 803 w (CH  $\delta$  1,2,4-trisubst. Aromat); 777 w, 695 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

${}^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 4,92 (br, 2H,  $\text{NH}_2$  with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable); 5,00 (s, 2H,  $\text{OCH}_2(3'\text{-ClPh})$ ); 6,45 (dd,  ${}^3J_{6/5} = 8,7$  Hz  ${}^4J_{6/2} = 2,7$  Hz, 1H, H-6); 6,63 (d,  ${}^3J_{2/6} = 2,7$  Hz, 1H, H-2); 6,89 (d,  ${}^3J_{5/6} = 8,7$  Hz, 1H, H-5); 7,35 - 7,38 (m, 2H, H-4' H-6'); 7,40 (t,  ${}^3J_{5'/4'\text{ bzw. }6'} = 7,4$  Hz, 1H, H-5'); 7,47 (t,  ${}^4J_{2'/4'\text{ bzw. }6'} = 1,6$  Hz, 1H, H-2')

$R_f$ -Werte: 0,12 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V)

0,36 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

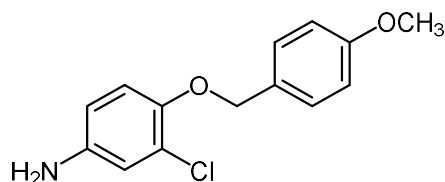
### 3-Chloro-4-((4-methoxybenzyl)oxy)anilin

Verbindung: **3c**

Summenformel:  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{ClNO}_2$

Molekulargewicht: 263,72 g/mol

Darstellung: nach AAV 3



Es wurden 1,44 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Amino-2-chlorophenol mit 1,57 g bzw. 1,36 ml (10,0 mmol; 1,0 eq.) 4-Methoxybenzylchlorid nach AAV 3 umgesetzt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 2,31 g rotes öliges Produkt gewonnen, welches einer Ausbeute von 87,6 % entspricht.

Ausbeute: 87,6 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:263,8 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:264,8 [\text{M}+\text{H}]^+ 12\%$ ;  ${}^{37}\text{Cl}:265,7 [\text{M}+\text{H}]^+ 40\%$

${}^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 3,73 (s, 3H, 4'- $\text{OCH}_3$ ); 4,89 (br, 4H,  $\text{NH}_2$  with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable,  $\text{OCH}_2(4'\text{-OCH}_3\text{Ph})$ ); 6,44 (dd,  ${}^3J_{6/5} = 8,8$  Hz  ${}^4J_{6/2} = 2,6$  Hz, 1H, H-6); 6,61 (d,  ${}^4J_{2/6} = 2,6$  Hz, 1H, H-2); 6,88 (d,  ${}^3J_{5/6} = 8,8$  Hz, 1H, H-5); 6,92 (d,  ${}^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,6$  Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,33 (d,  ${}^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,6$  Hz, 2H, H-2' H-6')

$R_f$ -Werte: 0,10 Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 (V/V)

0,33 Cyclohexan/Ethylacetat 50:50 (V/V)

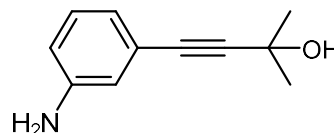
### 5.1.2.3.3. Synthese Ethinylaniline

#### 4-(3-Aminophenyl)-2-methylbut-3-yn-2-ol

Verbindung: **4a**

Summenformel:  $C_{11}H_{13}NO$

Molekulargewicht: 175,23 g/mol



Darstellung: Einzelschrift

Es wurden 7,24 g bzw. 4,55 ml (42,09 mmol; 1,0 eq.) 3-Bromoanilin; 0,37 g (1,41 mmol; 0,03 eq.) Triphenylphosphan; 50,5 mg (0,27 mmol; 0,006 eq.) Kupfer(I)iodid; 25,3 mg (0,11 mmol; 0,003 eq.) Palladium(II)acetat und 21,05 g bzw. 28,84 ml Triethylamin vorgelegt. Anschließend wurde unter Argonatmosphäre tropfenweise 4,21 g bzw. 4,90 ml (50,05 mmol; 1,2 eq.) 2-Methyl-3-butyn-2-ol hinzugegeben und die Reaktionsmischung danach 7 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wurden unlösliche Komponenten abfiltriert und das Filtrat im Vakuum von organischem Lösungsmittel befreit. Der verbliebene Rückstand wurde in einer Mischung aus 6,3 ml Isopropanol und 16,8 ml *n*-Hexan unter Anwendung von Hitze gelöst. Bei nachfolgendem Abkühlen auf ca. 10 °C bildete sich ein beiges Präzipitat, welches abfiltriert wurde. Es ergaben sich 2,90 g eines beigen Feststoffs, welches einer Ausbeute von 39,3 % entspricht.

Ausbeute: 39,3 %

Schmelzbereich: 117 – 118 °C

MS (ESI-positiv):  $m/z = ^{12}C:176,2 [M+H]^+ 100\%$ ;  $^{13}C:177,3 [M+H]^+ 10\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = ^{12}C:174,3 [M-H]^- 100\%$ ;  $^{13}C:175,3 [M-H]^- 8\%$

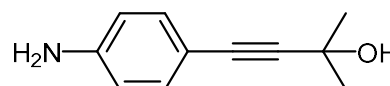
$^1H$ -NMR: 400 MHz,  $CDCl_3$  [ $\delta$  in ppm]: 1,60 (s, 6H,  $C(CH_3)_2OH$ ); 3,64 (br, 2H,  $NH_2$ , with  $D_2O$  exchangeable); 6,63 (ddd,  $^3J_{6/5} = 8,1$  Hz  $^4J_{6/4} = 2,4$  Hz  $^4J_{6/2} = 1,00$  Hz, 1H, H-6); 6,74 (m, 1H, H-2); 6,82 (ddd,  $^3J_{4/5} = 7,6$  Hz  $^4J_{4/6} = 1,5$  Hz  $^4J_{4/2} = 1,0$  Hz, 1H, H-4); 7,08 (t,  $^3J_{5(4bzw.6)} = 8,0$  Hz, 1H, H-5)

#### 4-(4-Aminophenyl)-2-methylbut-3-yn-2-ol

Verbindung: **4b**

Summenformel:  $C_{11}H_{13}NO$

Molekulargewicht: 175,23 g/mol



Darstellung: Einzelschrift

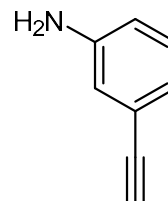
Es wurden 2,58 g (15,00 mmol; 1,0 eq.) 4-Bromoanilin; 1,02 g (3,88 mmol; 0,26 eq.) Triphenylphosphan; 0,19 g (1,00 mmol; 0,07 eq.) Kupfer(I)iodid; 0,07 g (0,31 mmol; 0,02 eq.) Palladium(II)acetat und 35,35 g bzw. 50,00 ml Diethylamin vorgelegt. Anschließend wurde der Mischung unter Argonatmosphäre tropfenweise 2,52 g bzw. 2,93 ml (30,00 mmol; 2,0 eq.) 2-Methyl-3-butyn-2-ol hinzugegeben. Der Reaktionsansatz wurde 48 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen

wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der ölige Rückstand in 50,0 ml Ethylacetat aufgenommen, filtriert und das Filtrat erneut im Vakuum zur Trockene eingengt. Der erhaltene ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 2:1 (V/V) als Eluent getrennt. Es ergaben sich 0,53 g eines schwach gelblichen Feststoffs, welches einer Ausbeute von 20,2 % entspricht.

Ausbeute: 20,2 %  
 Schmelzbereich: 85 – 86 °C [Lit. 85 °C]  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:176,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:177,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 10\%$   
 MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:174,3 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:175,3 [\text{M}-\text{H}]^- 8\%$   
 ${}^1\text{H-NMR}$ : 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  [ $\delta$  in ppm]: 1,59 (s, 6H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$ ); 3,77 (br, 2H,  $\text{NH}_2$ , with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable); 6,59 (d,  ${}^3J_{3-5/2-6} = 8,6$  Hz, 2H, H-3 H-5); 7,22 (d,  ${}^3J_{2-6/3-5} = 8,6$  Hz, 2H, H-2 H-6)

### 3-Ethynylanilin

Verbindung: **5a**  
 Summenformel:  $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$   
 Molekulargewicht: 117,15 g/mol  
 Darstellung: Einzelschrift



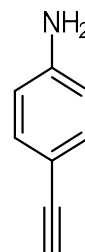
Es wurden 3,40 g (19,40 mmol; 1,0 eq.) 4-(3-Aminophenyl)-2-methylbut-3-yn-2-ol (**4a**) und 0,32 g (5,75 mmol; 0,3 eq.) KOH vorgelegt und nachgehend mit 8,0 ml trockenem Toluol versetzt. Anschließend wurde die Suspension 3 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wurden die unlöslichen Komponenten abfiltriert und das Filtrat nacheinander mit gleichen Volumina 5%iger wässriger Natriumacetat-Lösung und Wasser gewaschen. Nachgehend erfolgte die Trocknung der organischen Phase über  $\text{CaSO}_4$ . Nach Filtration wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es verblieb eine farblose Flüssigkeit, welche anschließend per Vakuumdestillation bei 132 - 134 °C und ca. 5 mbar aufgereinigt wurde. Es ergaben sich 2,13 g eines farblosen Öls, welches einer Ausbeute von 93,7 % entspricht.

Ausbeute: 93,7 %  
 Schmelzbereich: -  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:118,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:119,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 8\%$   
 MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:116,1 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:117,1 [\text{M}-\text{H}]^- 9\%$   
 ${}^1\text{H-NMR}$ : 400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  [ $\delta$  in ppm]: 3,01 (s, 1H,  $3-\text{C}\equiv\text{CH}$ ); 3,67 (br, 2H,  $\text{NH}_2$ ; with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable); 6,67 (ddd,  ${}^3J_{6/5} = 8,0$  Hz  ${}^4J_{6/4} = 2,5$  Hz  ${}^4J_{6/2} = 1,0$  Hz, 1H, H-6); 6,81 (m, 1H, H-2); 6,90 (ddd,  ${}^3J_{4/5} = 7,6$  Hz  ${}^4J_{4/6} = 1,5$  Hz  ${}^4J_{4/2} = 1,0$  Hz, 1H, H-4); 7,10 (t,  ${}^3J_{5/4\text{bz}w.6} = 7,6$  Hz, 1H, H-5)



**4-Ethynylanilin**

Verbindung:	<b>5b</b>
Summenformel:	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> N
Molekulargewicht:	117,15 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift

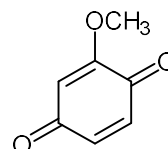


Es wurden 2,37 g (13,50 mmol; 1,0 eq.) 4-(4-Aminophenyl)-2-methylbut-3-yn-2-ol (**4b**) und 0,76 g (13,50 mmol; 1,0 eq.) KOH vorgelegt und nachgehend mit 20,0 ml trockenem Toluol versetzt. Anschließend wurde die Suspension 9 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionsmischung wurden die unlöslichen Komponenten abfiltriert und das Filtrat nacheinander mit gleichen Volumina 5%iger wässriger Natriumacetat-Lösung und Wasser gewaschen. Nachgehend erfolgte die Trocknung der organischen Phase über CaSO<sub>4</sub>. Nach Filtration wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das ölige Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 75:25 (V/V) als Eluent getrennt. Es ergaben sich 0,89 g eines schwach gelblichen Öls, welches einer Ausbeute von 56,3 % entspricht.

Ausbeute:	56,3 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:118,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:119,1 [M+H] <sup>+</sup> 8 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:116,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:117,2 [M-H] <sup>-</sup> 6%
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, CDCl <sub>3</sub> [δ in ppm]: 2,96 (s, 1H, 4-C≡CH); 3,82 (br, 2H, NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,61 (d, <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-3 H-5); 7,31 (d, <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-2 H-6)

**5.1.2.3.4. Synthese 2-substituierter 1,4-Benzochinone****2-Methoxycyclohexa-2,5-diene-1,4-dion**

Verbindung:	<b>6a</b>
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
Molekulargewicht:	138,12 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift

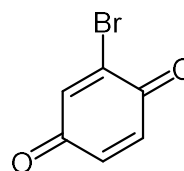


2,80 g (20,0 mmol; 1,0 eq.) 2-Methoxy-1,4-hydrochinon wurden zu 280,0 ml einer wässrigen NaIO<sub>4</sub>-Lösung (14,12 g; 66,0 mmol; 3,30 eq.) gegeben und bei Raumtemperatur kräftig für 1 h gerührt. Das Reaktionsgemisch, eine gelbe Lösung mit gelbem Niederschlag, wurde dreimal mit jeweils 70,0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit 100,0 ml einer gesättigten wässrigen NaCl-Lösung gewaschen und über wasserfreiem NaSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Filtration wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Ethanol umkristallisiert. Es wurden 2,74 g gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 99,2 % entspricht.

Ausbeute:	99,2 %
Schmelzbereich:	142 – 144 °C [Lit.: 142 – 146 °C]
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:139,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:140,2 [M+H] <sup>+</sup> 8 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3065 m, 3052 w (aromat. CH st); 2984 w, 2946 w, 2850 w (aliph. CH st); 1679 s (C=O st); 1642 s (C=O st); 1614 w, 1588 s (C=C st); 1461 w, 1377 w, 1357 m, 1313 m (CH δ); 1240 m, 1208 w (C-O-C st Ether)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,78 (s, 3 H, 2-OCH <sub>3</sub> ); 6,10 (d, <sup>3</sup> J <sub>3/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-3); 6,74 (dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 9,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/3</sub> = 2,2 Hz, 1 H, H-5); 6,78 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 9,9 Hz, 1 H, H-6)
Rf-Werte:	0,62 Chloroform/Ethylacetat 85:15 (V/V) 0,36 Cyclohexan/Ethylacetat 60:40 (V/V)

### 2-Bromocyclohexa-2,5-diene-1,4-dion

Verbindung:	<b>6b</b>
Summenformel:	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> BrO <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	186,99 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



3,78 g (20,0 mmol; 1,0 eq.) 2-Bromo-1,4-hydrochinon wurden zu 280,0 ml einer wässrigen NaIO<sub>4</sub>-Lösung (14,12 g; 66,0 mmol; 3,30 eq.) gegeben und bei Raumtemperatur kräftig für 1 h gerührt. Das Reaktionsgemisch, eine braun-gelbe Lösung mit gelbem Niederschlag, wurde dreimal mit jeweils 70,0 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit 100,0 ml einer gesättigten wässrigen NaCl-Lösung gewaschen und über wasserfreiem NaSO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Filtration wurde das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Ethanol umkristallisiert. Es wurden 3,69 g gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 98,6 % entspricht.

Ausbeute:	98,6 %
Schmelzbereich:	55 °C [Lit.: 55 – 56 °C]
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>79</sup> Br:188,0 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>81</sup> Br:190,0 [M+H] <sup>+</sup> 56 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3054 m, 3045 w (aromat. CH st); 1660 s (C=O st, mit α-Brom); 1642 w (C=O st); 1580 s, 1490 w (C=C st); 1450 w, 1325 w, 1308 w (CH δ); 976 m (C-Br δ)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,91 (dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 10,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/3</sub> = 2,3 Hz, 1 H, H-5); 7,06 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 10,0 Hz, 1 H, H-6); 7,55 (d, <sup>4</sup> J <sub>3/5</sub> = 2,3 Hz, 1 H, H-3)
Rf-Werte:	0,62 Chloroform/Ethylacetat 85:15 (V/V) 0,36 Cyclohexan/Ethylacetat 60:40 (V/V)

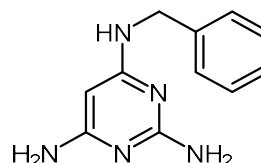
## 5.1.2.4. Synthese substituierter Pyrimidine

## 5.1.2.4.1. Synthese 4-aminosubstituierter Pyrimidin-2,6-triamine

**N<sup>4</sup>-Benzylpyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **7a**Summenformel: C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 215,26 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,22 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) Benzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,56 g weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 72,5 % entspricht.

Ausbeute: 72,5 %

Schmelzbereich: 144 – 146 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:216,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:217,2 [M+H]<sup>+</sup> 13 %

IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3332 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3199 m „br“ (NH st) 3063 w, 3030 w (aromat. CH st); 2917 w, 2853 w (aliph. CH st); 1652 m (NH<sub>2</sub> δ); 1626 m, 1589 s, 1530 s, 1496 s (C=C st); 1579 s (NH δ); 1447 m, 1429 m (CH δ); 1238 m (CN st); 738 w, 697 w (CH δ monosubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,27 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,89 (s, 1H, H-5); 5,38 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 5,59 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,11 (m, 1H, H-4'); 7,17 - 7,21 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'),

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub> [δ in ppm]: 44,565 (CH<sub>2</sub>); 73,887 (C-5); 126,532 (C-4'); 126,647 (C-2' C-6'); 128,062 (C-3' C-5'); 139,379 (C-1'); 162,550 (C-4); 164,152 (C-2); 164,561 (C-6)

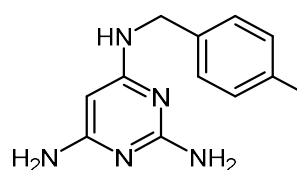
R<sub>f</sub>-Werte: 0,08 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

0,17 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-Methylbenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **7b**Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 229,29 g/mol

Darstellung: nach AAV 1

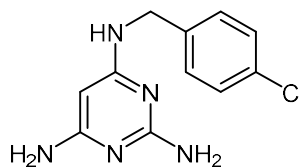


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,64 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Methylbenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,84 g weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 80,3 % entspricht.

Ausbeute:	80,3 %
Schmelzbereich:	144 – 146 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:230,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:231,3 [M+H] <sup>+</sup> 14 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3330 w „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3187 w „br“ (NH st) 3090 w, 3052 w (aromat. CH st); 2923 w, 2855 w (aliph. CH st); 1649 m (NH <sub>2</sub> δ); 1624 m, 1586 s, 1514 m, 1502 w (C=C st); 1579 s (NH δ); 1446 m, 1430 m, 1354 w (CH δ); 1238 m (CN st)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 2,29 (s, 3H, 4'-CH <sub>3</sub> ); 4,31 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 4,83 (s, 1H, H-5); 7,11 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 7,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,17 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 7,9 Hz, 2H, H-2' H-6')
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 19,668 (CH <sub>3</sub> ); 44,392 (CH <sub>2</sub> ); 73,870 (C-5); 126,663 (C-2' C-6'); 128,670 (C-3' C-5'); 136,963 (C-4'); 137,014 (C-1'); 163,386 (C-4); 164,987 (C-2); 165,383 (C-6)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,08 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,17 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(4-Chlorobenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung:	<b>7c</b>
Summenformel:	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	249,70 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



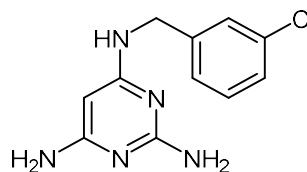
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,25 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Chlorobenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,55 g weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 62,0 % entspricht.

Ausbeute:	62,0 %
Schmelzbereich:	166 – 168 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:250,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:251,1 [M+H] <sup>+</sup> 16 %; <sup>37</sup> Cl:252,1 [M+H] <sup>+</sup> 35 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3322 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3187 m „br“ (NH st) 3076 w, 3054 w (aromat. CH st); 2941 w, 2856 w (aliph. CH st); 1642 m (NH <sub>2</sub> δ); 1624 m, 1586 s, 1534 m, 1490 m (C=C st); 1574 s (NH δ); 1446 m 1431 m, 1353 w (CH δ), 1237 m (CN st); 1091 w (aromat. C-Cl δ)

<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,37 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 4,97 (s, 1H, H-5); 5,45 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,72 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,72 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,27 - 7,31 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,08 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,17 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Chlorobenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>7d</b>
Summenformel:	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	249,70 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



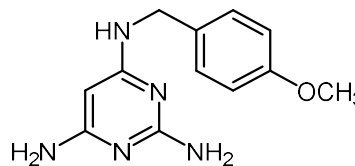
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,25 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Chlorobenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,45 g hellgelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 58,0 % entspricht.

Ausbeute:	58,0 %
Schmelzbereich:	157 – 159 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:250,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:251,2 [M+H] <sup>+</sup> 12 %; <sup>37</sup> Cl:252,2 [M+H] <sup>+</sup> 34%
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3331 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st) 3076 w, 3051 w (aromat. CH st); 2925 w, 2855 w (aliph. CH st); 1653 m (NH <sub>2</sub> δ); 1623 m, 1583 s, 1533 m, 1491 m (C=C st); 1577 s (NH C); 1447 m, 1425 m, 1346 w (CH δ), 1237 w (CN st); 1033 w (aromat. C-Cl δ)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,34 (d, J = 6,5 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ); 4,82 (s, 1H, H-5); 5,37 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,55 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,64 (t, <sup>3</sup> J <sub>NH/CH<sub>2</sub></sub> = 6,5 Hz, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,20 - 7,33 (m, 4H, H-2' H-4' H-5' H-6')
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 43,444 (CH <sub>2</sub> ); 74,634 (C-5); 126,011 (C-6'); 126,762 (C-5'); 127,043 (C-4'); 130,475 (C-2'); 133,351 (C-3'); 144,225 (C-1'); 163,335 (C-4); 164,203 (C-2); 164,822 (C-6)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,10 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,18 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-Methoxybenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **7e**Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 245,29 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,12 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Methoxybenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,80 g hellgelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 73,4 % entspricht.

Ausbeute: 73,4 %

Schmelzbereich: 127 – 129 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:246,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:247,2 [M+H]<sup>+</sup> 15 %

IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3331 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3198 m „br“ (NH st) 3074 w, 3053 w (aromat. CH st); 2917 w, 2845 w (aliph. CH st); 1653 m (NH<sub>2</sub> δ); 1611 m, 1590 s, 1511 m (C=C st); 1581 s (NH δ); 1450 m, 1433 m, 1356 w (CH δ); 1245 m (CN st); 1228 m, 1177 w (C-O-C st Ether)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, Methanol-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,75 (s, 3H, 4'-OCH<sub>3</sub>); 4,29 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,83 (s, 1H, H-5); 6,85 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,21 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2' H-6')

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, Methanol-d<sub>4</sub> [δ in ppm]: 44,111 (CH<sub>2</sub>); 54,265 (OCH<sub>3</sub>); 73,832 (C-5); 113,490 (C-3' C-5'); 127,953 (C-2' C-6'); 131,177 (C-1'); 158,855 (C-4'); 162,356 (C-4); 163,987 (C-2); 165,283 (C-6)

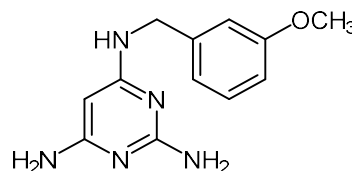
R<sub>f</sub>-Werte: 0,07 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

0,16 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Methoxybenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **7f**Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 245,29 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



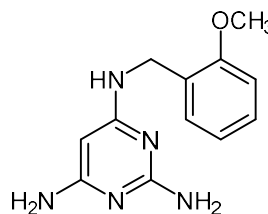
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,12 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Methoxybenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig

Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,89 g hellgelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 77,1 % entspricht.

Ausbeute:	77,1 %
Schmelzbereich:	184 – 186 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:246,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:247,2 [M+H] <sup>+</sup> 13 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3312 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st) 3075 w, 3054 w (aromat. CH st); 2917 w, 2852 w (aliph. CH st); 1653 m (NH <sub>2</sub> δ); 1647 s, 1588 m, 1491 m (C=C st); 1559 m (NH δ); 1457 m, 1436 w, 1374 w (CH δ); 1237 m (CN st); 1264 m, 1157 w (C-O-C st Ether); 779 w, 694 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,71 (s, 3H, 3'-OCH <sub>3</sub> ); 4,34 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/NH</sub> = 6,2 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,00 (s, 1H, H-5); 6,78 - 6,81 (m, 1H, H-4'); 6,82 - 6,85 (m, 2H, H-2' H-6'); 6,92 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,07 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,22 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4' bzw. 6'</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 7,94 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 44,157 (CH <sub>2</sub> ); 55,456 (OCH <sub>3</sub> ); 73,265 (C-5); 112,625 (C-2'); 113,357 (C-4'); 119,696 (C-6'); 129,910 (C-5'); 141,126 (C-1'); 155,950 (C-3'); 159,800 (C-4); 163,853 (C-2); 165,154 (C-6)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,07 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,14 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(2-Methoxybenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung:	<b>7g</b>
Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	245,29 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



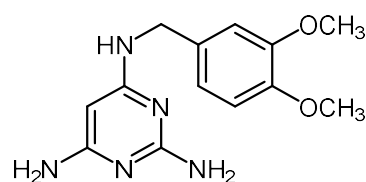
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,12 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 2-Methoxybenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,66 g hellgelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 67,7 % entspricht.

Ausbeute:	67,7 %
Schmelzbereich:	96 – 99 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:246,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:247,2 [M+H] <sup>+</sup> 12 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3328 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st) 3087 w, 3043 w (aromat. CH st); 2937 w, 2836 w (aliph. CH st); 1648 m (NH <sub>2</sub> δ); 1625 m, 1600 m, 1534 m, 1490 m (C=C st); 1579 s (NH δ); 1461 m, 1429 m, 1356 w (CH δ); 1240 m (CN st); 1227 w, 1161 w (C-O-C st Ether); 755 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,85 (s, 3H, 2'-OCH <sub>3</sub> ); 4,34 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,00 (s, 1H, H-5); 5,37 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,56 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,51 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,88 (t, $^3J_{5'/4'bz\omega.6'}$ = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 6,94 (d, $^3J_{3'/4'}$ = 8,1 Hz, 1H, H-3'); 7,19 - 7,24 (m, 2H, H-4' H-6')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,07 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,15 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3,4-Dimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>7h</b>
Summenformel:	C <sub>13</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	275,31 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



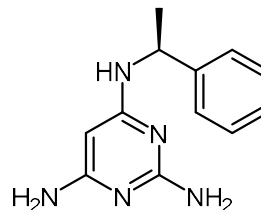
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 5,02 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3,4-Dimethoxybenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 2,01 g hellgelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 73,0 % entspricht.

Ausbeute:	73,0 %
Schmelzbereich:	155 – 157 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:276,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:277,2 [M+H] <sup>+</sup> 14 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3368 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st) 3083 w, 3050 w (aromat. CH st); 2938 w, 2835 w (aliph. CH st); 1652 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1625 m, 1604 m, 1514 s (C=C st); 1581 s (NH $\delta$ ); 1463 m, 1430 m, 1354 w (CH $\delta$ ); 1263 m, 1158 w, 1138 w (C-O-C st Ether); 1233 m (CN st)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,69 (s, 3H, 3'-OCH <sub>3</sub> ); 3,71 (s, 3H, 4'-OCH <sub>3</sub> ); 4,23 (d, $^3J_{\text{CH}_2/\text{NH}}$ = 5,8 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ); 4,82 (s, 1H, H-5); 5,32 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,50 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,45 (t, $^3J_{\text{NH}/\text{CH}_2}$ = 5,8 Hz, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,77 (dd, $^3J_{6'/5'}$ = 8,1 Hz $^4J_{6'/2'}$ = 1,7 Hz, 1H, H-6'); 6,85 (d, $^3J_{5'/6'}$ = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 6,89 (d, $^4J_{2'/6'}$ = 1,7 Hz, 1H, H-2')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,06 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,11 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)



**(S)-N<sup>4</sup>-(1-Phenylethyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>7i</b>
Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	229,29 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

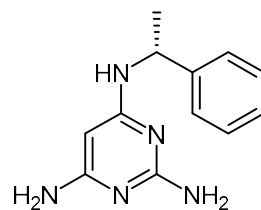


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,64 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) (S)-(-)- $\alpha$ -Methylbenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,11 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 48,4 % entspricht.

Ausbeute:	48,4 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:230,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:231,1 [M+H] <sup>+</sup> 18 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:228,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:228,2 [M-H] <sup>-</sup> 13 %
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 1,21 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,8 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3,95 (qua, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,8 Hz, 1H, NHCHPh); 4,76 (s, 1H, H-5); 5,24 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,47 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,42 (d, <sup>3</sup> J <sub>NH/CH</sub> = 5,6 Hz, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,16 (t, <sup>3</sup> J <sub>4'/3' bzw. 5'</sub> = 7,4 Hz, 1H, H-4'); 7,24 - 7,35 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,08 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,17 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**(R)-N<sup>4</sup>-(1-Phenylethyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>7j</b>
Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	229,29 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



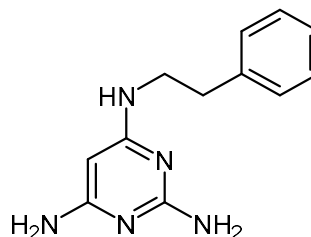
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,64 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) (R)-(+)- $\alpha$ -Methylbenzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,67 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 73,0 % entspricht.

Ausbeute:	73,0 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:230,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:231,1 [M+H] <sup>+</sup> 15 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:228,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:228,2 [M-H] <sup>-</sup> 12 %

$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 1,22 (d, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}} = 6,7$ Hz, 3H, $\text{CH}_3$ ); 3,95 (qua, $^3J_{\text{CH}/\text{CH}_3} = 6,7$ Hz, 1H, $\text{NHCHPh}$ ); 4,76 (s, 1H, H-5); 5,24 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 5,47 (br, 2H, C-6- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,43 (d, $^3J_{\text{NH}/\text{CH}} = 5,6$ Hz, 1H, C-4- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 7,16 (t, $^3J_{4'/3'\text{ bzw. }5'} = 7,3$ Hz, 1H, H-4'); 7,24 - 7,35 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6')
$R_f$ -Werte:	0,08 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,17 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

 **$N^4$ -(Phenethyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>7k</b>
Summenformel:	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_5$
Molekulargewicht:	229,29 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

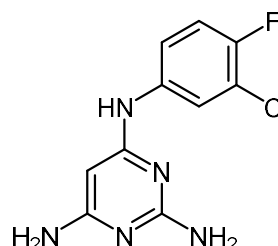


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,64 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 2-Phenethylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das gelbliche Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,82 g weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 79,4 % entspricht.

Ausbeute:	79,4 %
Schmelzbereich:	107 – 110 °C
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:230,3$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 100 %; $^{13}\text{C}:231,2$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 14 %
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 2,75 (t, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 7,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3,27 (t, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 7,6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4,84 (s, 1H, H-5); 5,29 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 5,49 (br, 2H, C-6- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,01 (br, 1H, C-4- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 7,17 - 7,27 (m, 5H, <b>Ph</b> )
$R_f$ -Werte:	0,10 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,20 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

 **$N^4$ -(3-Chloro-4-fluorophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8a</b>
Summenformel:	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{ClFN}_5$
Molekulargewicht:	253,67 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



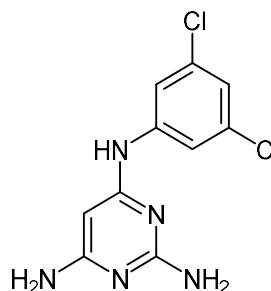
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,37 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Chloro-4-Fluoroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5

zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das rosafarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,11 g rosafarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 43,8 % entspricht.

Ausbeute:	43,8 %
Schmelzbereich:	94 – 96 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:254,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:254,1 [M+H] <sup>+</sup> 14 %; <sup>37</sup> Cl:256,2 [M+H] <sup>+</sup> 30 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:252,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:253,1 [M-H] <sup>-</sup> 13 %; <sup>37</sup> Cl:254,2 [M+H] <sup>+</sup> 32 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3329 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3196 m „br“ (NH st) 3079 m, 3047 w (aromat. CH st); 1666 s (NH <sub>2</sub> δ); 1627 m, 1612 s, 1496 s, 1473 m (C=C st); 1579 s (NH δ); 1417 m (C=N st); 1258 w (CN st); 1217 m (aromat. C-F δ); 1056 w (aromat. C-Cl δ)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,12 (s, 1H, H-5); 5,67 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,83 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,20 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/Fbzw.6'</sub> = 9,3 Hz, 1H, H-5'); 7,45 - 7,49 (m, 1H, H-6'); 7,92 (dd, <sup>4</sup> J <sub>2'/F</sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-2'); 8,65 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,22 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,36 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(3,5-Dichlorophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung:	<b>8b</b>
Summenformel:	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	270,12 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

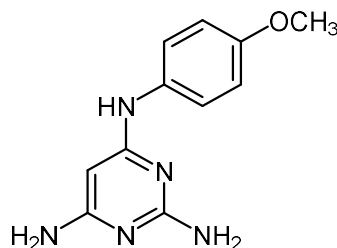


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,86 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3,5-Dichloroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,09 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 40,4 % entspricht.

Ausbeute:	40,4 %
Schmelzbereich:	117 – 119 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:270,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:271,1 [M+H] <sup>+</sup> 17 %; <sup>37</sup> Cl:272,1 [M+H] <sup>+</sup> 66 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3299 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3153 s „br“ (NH st) 3079 m, 3044 w (aromat. CH st); 1664 s (NH <sub>2</sub> δ); 1644 s, 1582 s, 1509 m (C=C st); 1582 s (NH δ); 1440 m (C=N st); 1267 w (CN st)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 5,44 (s, 1H, H-5); 7,11 (s, 1H, H-4'); 7,61 (s, 2H, H-2' H-6')
R <sub>F</sub> -Werte:	0,36 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,55 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-Methoxyphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8c</b>
Summenformel:	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	231,26 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

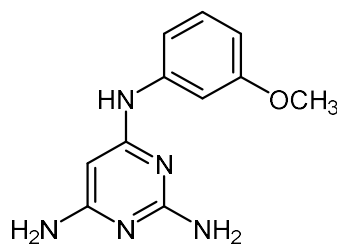


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,69 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Methoxyanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,50 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 64,9 % entspricht.

Ausbeute:	64,9 %
Schmelzbereich:	139 – 141 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:232,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:233,1 [M+H] <sup>+</sup> 12 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3312 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3174 s „br“ (NH st) 3076 m, 3053 w (aromat. CH st); 2918 m, 2850 w (aliph. CH st); 1661 m (NH <sub>2</sub> δ); 1649 s, 1597 m, 1535 m, 1510 s (C=C st); 1573 m (NH δ); 1464 m, 1372 w (CH δ); 1245 m (CN st); 1236 m, 1178 w (C-O-C st Ether)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 3,79 (s, 3H, 4'-OCH <sub>3</sub> ); 5,22 (s, 1H, H-5); 6,91 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,25 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,12 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,22 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Methoxyphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8d</b>
Summenformel:	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	231,26 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

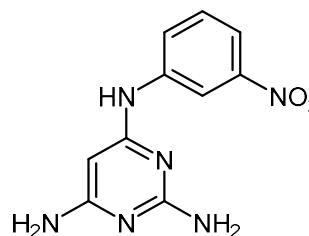


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,69 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Methoxyanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,11 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 48,0 % entspricht.

Ausbeute:	48,0 %
Schmelzbereich:	126 – 129 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:232,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:233,2 [M+H] <sup>+</sup> 12 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3299 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3161 s „br“ (NH st) 3076 m, 3014 w (aromat. CH st); 2935 m, 2836 w (aliph. CH st); 1664 m (NH <sub>2</sub> δ); 1644 s, 1596 s, 1526 m, 1493 m (C=C st); 1575 m (NH δ); 1464 m, 1369 w (CH δ); 1257 w (CN st); 1230 m, 1158 w (C-O-C st Ether)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 3,80 (s, 3H, 3'-OCH <sub>3</sub> ); 5,41 (s, 1H, H-5); 6,73 (dd, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/6'</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-4'); 6,98 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/4'</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-6'); 7,03 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw.6' = 2,4 Hz, 1H, H-2'); 7,25 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw.6' = 8,2 Hz, 1H, H-5')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,17 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,32 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Nitrophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8e</b>
Summenformel:	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	246,23 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

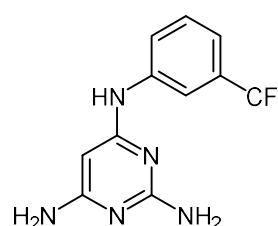


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,14 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Nitroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,29 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 52,4 % entspricht.

Ausbeute:	52,4 %
Schmelzbereich:	128 – 130 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:247,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:248,1 [M+H] <sup>+</sup> 11 %
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, Methanol-d <sub>4</sub> [δ in ppm]: 5,47 (s, 1H, H-5); 7,55 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw.6' = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 7,93 (dd, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/6'</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-4'); 7,97 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/4'</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-6'); 8,46 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw.6' = 2,1 Hz, 1H, H-2')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,30 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,51 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8f</b>
Summenformel:	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	269,23 g/mol



Darstellung: nach AAV 1

Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,83 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,04 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 38,6 % entspricht.

Ausbeute: 38,6 %  
 Schmelzbereich: 137 – 139 °C  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:270,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \%$ ;  ${}^{13}\text{C}:271,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 15 \%$   
 IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3302 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3159 s „br“ (NH st) 3087 m, 3043 w (aromat. CH st); 1663 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1646 s, 1598 m, 1505 m, 1477 m (C=C st); 1582 s (NH  $\delta$ ); 1419 w (C=N  $\nu$ ); 1332 (aliph. C-F  $\delta$ ); 1252 w (CN st); 795 w, 697 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,22 (s, 1H, H-5); 5,70 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 5,85 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,39 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,52 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 7,78 (s, 1H, H-2'); 7,86 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-6'); 8,72 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
 R<sub>F</sub>-Werte: 0,27 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)  
 0,49 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

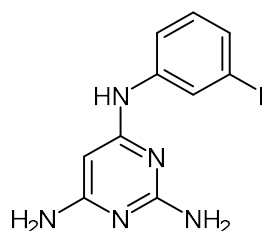
#### N<sup>4</sup>-(3-Fluorophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung: **8g**

Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>FN<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 219,22 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



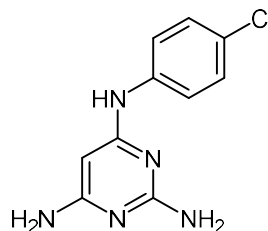
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,33 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Fluoroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,24 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 56,6 % entspricht.

Ausbeute: 56,6 %  
 Schmelzbereich: 148 – 149 °C  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:220,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \%$ ;  ${}^{13}\text{C}:221,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 12 \%$   
 IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3320 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3188 m „br“ (NH st) 3087 m, 3020 w (aromat. CH st); 1664 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1645 s, 1609 m, 1532 m, 1489 m (C=C st); 1577 s (NH  $\delta$ ); 1427 s (C=N st); 1254 w (CN st); 1225 w (aromat. C-F  $\delta$ )

<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,18 (s, 1H, H-5); 5,69 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,84 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,59 (tt, <sup>3</sup> J <sub>4'/FbzW.5'</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2' bzw. 6'</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-4'); 7,14 - 7,22 (m, 2H, H-5' H-6'); 7,74 (td, <sup>3</sup> J <sub>2'/F</sub> = 12,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-2'); 8,71 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,26 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,43 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-Chlorophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8h</b>
Summenformel:	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	235,68 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

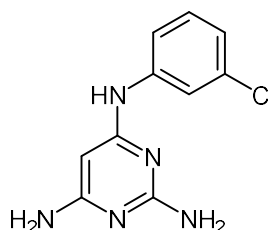


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,83 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Chloroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,43 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 60,7 % entspricht.

Ausbeute:	60,7 %
Schmelzbereich:	145 – 147 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:236,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:237,1 [M+H] <sup>+</sup> 13 %; <sup>37</sup> Cl:238,1 [M+H] <sup>+</sup> 31 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3298 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3165 s „br“ (NH st) 3077 m, 3012 w (aromat. CH st); 1644 s (NH <sub>2</sub> δ); 1624 s, 1590 m, 1509 m, 1490 s (C=C st); 1567 m (NH δ); 1426 w (C=N st); 1248 w (CN st); 1091 w (aromat. C-Cl δ); 825 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,20 (s, 1H, H-5); 5,96 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,17 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,32 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5' bzw. 3'-5'/2'-6'</sub> = 8,4 Hz, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'); 7,50 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,13 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,25 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Chlorophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8i</b>
Summenformel:	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> ClN <sub>5</sub>
Molekulargewicht:	235,68 g/mol



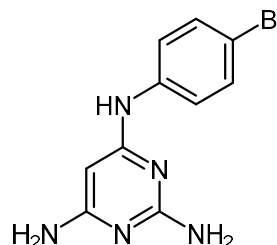
Darstellung: nach AAV 1

Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,83 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Chloroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das beigefarbene Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,26 g beigefarbener Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 53,5 % entspricht.

Ausbeute: 53,5 %  
 Schmelzbereich: 133 – 135 °C  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:236,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:237,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 12\%$ ;  ${}^{37}\text{Cl}:238,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 30\%$   
 IR: ATR [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3300 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3168 s „br“ (NH st) 3076 m, 3055 w (aromat. CH st); 1653 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1646 s, 1590 m, 1506 m, 1477 m (C=C st); 1565 m (NH  $\delta$ ); 1437 w (C=N st); 1253 w (CN st); 1033 w (aromat. C-Cl  $\delta$ )  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,17 (s, 1H, H-5); 5,76 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 5,90 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,10 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-4'); 7,30 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 7,41 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-6'); 7,63 (s, 1H, H-2'); 8,73 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
 R<sub>F</sub>-Werte: 0,27 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)  
 0,38 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(4-Bromophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung: **8j**  
 Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>BrN<sub>5</sub>  
 Molekulargewicht: 280,13 g/mol  
 Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 0,72 g (5,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 3,44 g (20,0 mmol; 4,0 eq.) 4-Bromoanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,13 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 80,7 % entspricht.

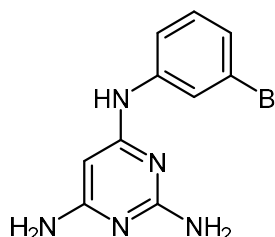
Ausbeute: 80,7 %  
 Schmelzbereich: -  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:280,4 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:281,4 [\text{M}+\text{H}]^+ 12\%$ ;  ${}^{79}\text{Br}:282,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 92\%$   
 IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3324 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3186 m „br“ (NH st) 3116 m, 3058 w (aromat. CH st); 1663 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1628 m, 1612 s, 1505 m, 1487 s (C=C st); 1568 s (NH  $\delta$ ); 1413 s (C=N st); 1241 m (CN st); 1072 w (aromat. C-Br  $\delta$ ); 823 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat)



$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, $\text{CDCl}_3$ [ $\delta$ in ppm]: 5,20 (s, 1H, H-5); 5,95 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,07 (br, 2H, C-6- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 7,36 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'}$ = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,59 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'}$ = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 8,82 (br, 1H, C-4-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
$R_f$ -Werte:	0,25 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,42 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

 **$N^4$ -(3-Bromophenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8k</b>
Summenformel:	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{BrN}_5$
Molekulargewicht:	280,13 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

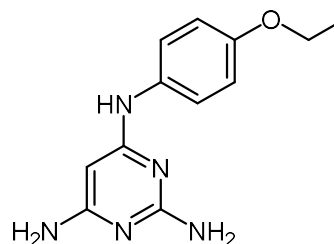


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 5,16 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Bromoanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach Entfernung der Eluenten im Vakuum wurde das hellgelbe Öl in wenig Methanol gelöst und anschließend mit Diethylether umkristallisiert. Es wurden 1,87 g weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 66,8 % entspricht.

Ausbeute:	66,8 %
Schmelzbereich:	120 – 121 °C
MS (ESI-positiv):	$m/z$ = $^{12}\text{C}$ :280,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 100 %; $^{13}\text{C}$ :281,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 12 %; $^{81}\text{Br}$ :282,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 98%
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3321 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3181 m „br“ (NH st) 3094 m, 3063 w (aromat. CH st); 1664 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1625 m, 1602 m, 1526 m, 1474 s (C=C st); 1569 s (NH $\delta$ ); 1422 s (C=N st); 1242 w (CN st); 1068 w (aromat. C-Br $\delta$ )
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, $\text{DMSO-d}_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,17 (s, 1H, H-5); 5,65 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 5,84 (br, 2H, C-6- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,96 (dd, $^3J_{4'/5'}$ = 8,2 Hz $^4J_{4'/6'}$ = 1,9 Hz, 1H, H-4'); 7,12 (t, $^3J_{5'/4'}$ bzw. $6'$ = 8,2 Hz, 1H, H-5'); 7,57 (dd, $^3J_{6'/5'}$ = 8,2 Hz $^4J_{6'/4'}$ = 1,9 Hz, 1H, H-6'); 7,84 (t, $^4J_{2'/4'}$ bzw. $6'$ = 1,9 Hz, 1H, H-2'); 8,64 (br, 1H, C-4-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
$R_f$ -Werte:	0,27 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,45 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

 **$N^4$ -(4-Ethoxyphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8l</b>
Summenformel:	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}$
Molekulargewicht:	245,29 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

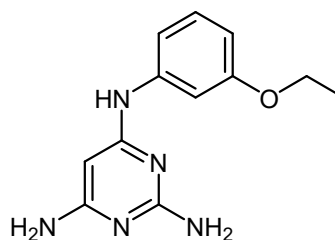


Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,12 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Ethoxyanilin **1c** nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,62 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 66,0 % entspricht.

Ausbeute:	66,0 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:246,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:247,2 [M+H] <sup>+</sup> 14 %
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,29 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,9 Hz, 3H, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,95 (qua, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 6,9 Hz, 2H, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 5,11 (s, 1H, H-5); 5,85 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,98 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,80 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,35 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 8,39 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,10 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,18 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(3-Ethoxyphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung:	<b>8m</b>
Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	245,29 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



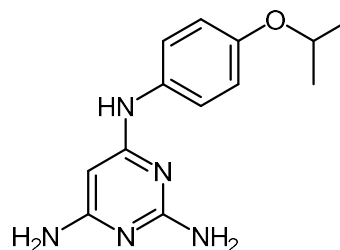
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,12 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Ethoxyanilin **1a** nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,89 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 77,0 % entspricht.

Ausbeute:	77,0 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:246,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:247,3 [M+H] <sup>+</sup> 13 %
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,30 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,0 Hz, 3H, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,98 (qua, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,0 Hz, 2H, OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 5,27 (s, 1H, H-5); 6,33 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,40 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,50 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/6'</sub> = 2,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'</sub> = 1,0 Hz, 1H, H-4'); 7,04 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/4'</sub> = 2,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 1,0 Hz, 1H, H-6'); 7,11 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4' bzw. 6'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 7,16 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-2'), 8,90 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,14 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,25 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-Isopropoxyphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **8n**Summenformel: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 259,31 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,54 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-Isopropoxyanilin **1d** nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,88 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 72,5 % entspricht.

Ausbeute: 72,5 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:260,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:261,2 [M+H]<sup>+</sup> 14 %

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,25 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,0 Hz, 6H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,56 (sep, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,0 Hz, 1H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,13 (s, 1H, H-5); 5,92 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,03 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,83 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,36 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 8,50 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

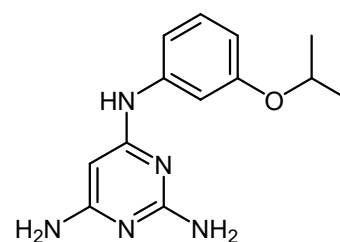
R<sub>F</sub>-Werte: 0,13 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

0,20 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Isopropoxyphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **8o**Summenformel: C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 259,31 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 4,54 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Isopropoxyanilin **1b** nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 2,01 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 77,5 % entspricht.

Ausbeute: 77,5 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:260,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:261,2 [M+H]<sup>+</sup> 15 %

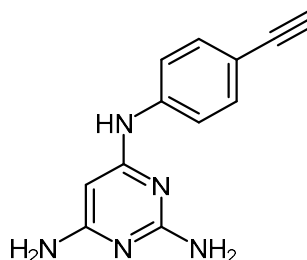
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,24 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,0 Hz, 6H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,54 (sep, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,0 Hz, 1H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,29 (s, 1H, H-5); 6,49 - 6,51 (m, 3H,

H-4', C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,56 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,04 - 7,11 (m, 3H, H-2' H-5' H-6'); 8,95 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,15 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)  
0,26 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(4-Ethynylphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung: **8p**  
Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>  
Molekulargewicht: 225,26 g/mol  
Darstellung: nach AAV 1

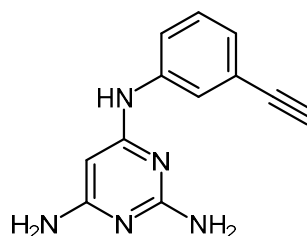


Es wurden 0,72 g (5,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 0,89 g (7,6 mmol; 1,5 eq.) 4-Ethynylanilin **5b** nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 0,59 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 52,4 % entspricht.

Ausbeute: 52,4 %  
Schmelzbereich: -  
MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:226,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:227,3 [M+H]<sup>+</sup> 14 %  
MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:224,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:225,2 [M-H]<sup>-</sup> 10 %  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, CDCl<sub>3</sub> [δ in ppm]: 2,82 (s, 1H, C≡CH); 5,27 (s, 1H, H-5); 5,74 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 5,92 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,33 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,60 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 9,00 (br, 2H, C-4-NH), with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
R<sub>F</sub>-Werte: 0,16 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)  
0,22 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(3-Ethynylphenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung: **8q**  
Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>  
Molekulargewicht: 225,26 g/mol  
Darstellung: nach AAV 1

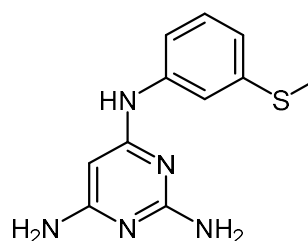


Es wurden 0,72 g (5,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 1,76 g (15,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Ethynylanilin **5a** nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 0,63 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 55,9 % entspricht.

Ausbeute:	55,9 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:226,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:227,2 [M+H] <sup>+</sup> 12 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:224,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:225,2 [M-H] <sup>-</sup> 10 %
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, CDCl <sub>3</sub> [δ in ppm]: 4,10 (s, 1H, C≡CH); 5,21 (s, 1H, H-5); 5,88 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,03 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,97 (td, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,3 Hz, 1 H, H-4'); 7,21 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,6 Hz, 1H, H-5'); 7,63 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,7 Hz, 1H, H-2'); 7,67 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,3 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/4'</sub> = 2,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 0,9 Hz, 1H, H-6'); 8,72 (br, 2H, C-4-NH), with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,18 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,26 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-(Methylthio)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>8r</b>
Summenformel:	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> S
Molekulargewicht:	247,32 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



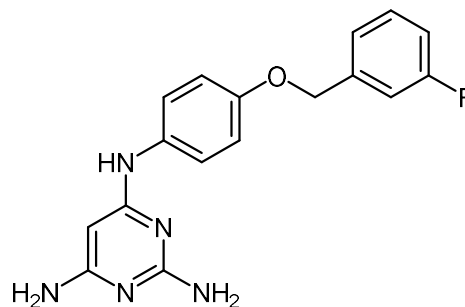
Es wurden 0,72 g (5,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 1,00 g (7,2 mmol; 1,4 eq.) 3-Methylthioanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 1,16 g hellgraues Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 93,8 % entspricht.

Ausbeute:	93,8 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:248,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:249,4 [M+H] <sup>+</sup> 13 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:246,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:247,3 [M-H] <sup>-</sup> 11 %
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, CDCl <sub>3</sub> [δ in ppm]: 3,16 (s, 3H, SCH <sub>3</sub> ); 5,24 (s, 1H, H-5); 6,10 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,22 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,79 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/6'</sub> = 1,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'</sub> = 0,9 Hz, 1H, H-4'); 7,15 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,9 Hz, 1H, H-5'); 7,36 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/4'</sub> = 2,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 1,0 Hz, 1H, H-6'); 7,45 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 2,0 Hz, 1H, H-2'); 8,81 (br, 2H, C-4-NH), with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,12 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,20 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-((3-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **9a**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>FN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 325,35 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 6,52 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-((3-Fluorobenzyl)oxy)anilin **2b** nach AAV 1 umgesetzt. Das rote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 2,58 g hellbrauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 79,3 % entspricht.

Ausbeute: 79,3 %

Schmelzbereich: 96 – 98 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:326,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:327,2 [M+H]<sup>+</sup> 23 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3323 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3191 m „br“ (NH st); 3085 m, 3050 w (aromat. CH st); 2929 m, 2874 w (aliph. CH st); 1650 m (NH<sub>2</sub> δ); 1615 s, 1588 s, 1507 s, 1490 m (C=C st); 1580 s (NH δ); 1438 m, 1379 w (CH δ); 1422 m (C=N v); 1251 m (CN st); 1235 m, 1173 w (C-O-C st Ether); 1216 m (aromat. C-F δ); 831 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,08 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 5,12 (s, 1H, H-5); 6,07 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,16 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,91 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,14 (dt, <sup>3</sup>J<sub>4''/Fbzw.5''</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/6''</sub> = 2,5 Hz, 1H, H-4''); 7,23 - 7,28 (m, 2H, H-2'' H-6''); 7,37 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,42 (dt, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'bzw.6'</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup>J<sub>5'/F</sub> = 6,1 Hz, 1H, H-5''); 8,58 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

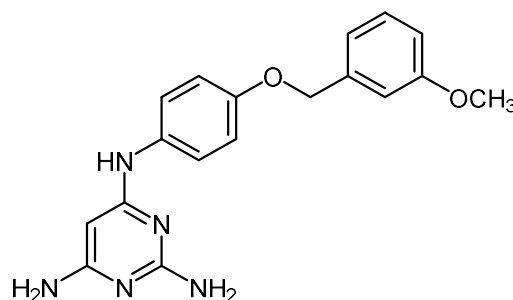
R<sub>f</sub>-Werte: 0,11 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

0,23 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-((3-Methoxybenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **9b**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 337,38 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



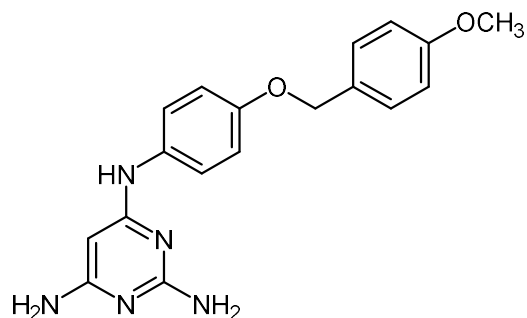
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 6,88 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-((3-Methoxybenzyl)oxy)anilin **2a** nach AAV 1 umgesetzt. Das rote Rohprodukt wurde säulen-

chromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 2,96 g hellbrauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 87,7 % entspricht.

Ausbeute:	87,7 %
Schmelzbereich:	172 – 174 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:338,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:339,2 [M+H] <sup>+</sup> 20 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3323 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3181 s „br“ (NH st); 3098 m, 3062 w (aromat. CH st); 2937 m, 2885 w (aliph. CH st); 1663 s (NH <sub>2</sub> δ); 1653 s, 1603 s, 1507 s, 1492 m (C=C st); 1584 s (NH δ); 1457 m, 1433 m, 1380 m (CH δ); 1421 m (C=N ν); 1268 m, 1233 m, 1168 w (C-O-C st Ether); 833 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,74 (s, 3H, 3''-OCH <sub>3</sub> ); 5,02 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> (3''-OCH <sub>3</sub> Ph)); 5,11 (s, 1H, H-5); 5,93 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,05 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,85 - 6,88 (m, 1H, H-4''); 6,89 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 9,0 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,97 - 7,00 (m, 2H, H-2'' H-6''); 7,28 (t, <sup>3</sup> J <sub>5''/4''bzW.6''</sub> = 8,2 Hz, 1H, H-5''); 7,37 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 9,0 Hz, 2H, H-2' H-6'); 8,48 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 55,488 (OCH <sub>3</sub> ); 69,714 (OCH <sub>2</sub> Ph); 75,490 (C-5); 113,504 (C-4''); 113,534 (C-2''); 115,344 (C-3' C-5'); 120,058 (C-6''); 122,565 (C-5''); 129,949 (C-2' C-6'); 134,531 (C-1'); 139,419 (C-1''); 153,877 (C-4'); 159,767 (C-3''); 161,352 (C-2); 162,073 (C-6); 163,059 (C-4)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,12 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,25 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

#### N<sup>4</sup>-(4-((4-Methoxybenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin

Verbindung:	<b>9c</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	337,38 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



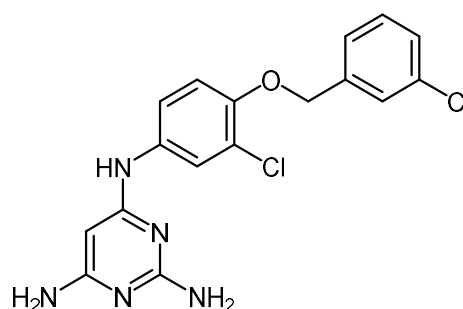
Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 6,88 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 4-((4-Methoxybenzyl)oxy)anilin **2f** nach AAV 1 umgesetzt. Das rote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 2,66 g hellbrauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 78,8 % entspricht.

Ausbeute:	78,8 %
Schmelzbereich:	179 – 181 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:338,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:339,2 [M+H] <sup>+</sup> 25 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3323 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3191 m „br“ (NH st); 3085 m, 3052 w (aromat. CH st); 2933 m, 2868 w (aliph. CH st); 1663 m (NH <sub>2</sub> δ); 1650 s,

	1611 s, 1507 s, 1465 m (C=C st); 1583 s (NH $\delta$ ); 1435 m, 1380 w (CH $\delta$ ); 1421 m (C=N st); 1237 m, 1174 w (C-O-C st Ether); 828 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,74 (s, 3H, 4''-OCH <sub>3</sub> ); 4,95 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> (4''-OCH <sub>3</sub> Ph)); 5,10 (s, 1H, H-5); 5,88 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,01 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,88 (d, $^3J_{3'-5'}/2'-6' = 8,9$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,93 (d, $^3J_{2'-6'}/3'-5' = 8,9$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,35 (m, 4H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6''); 8,43 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,11 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,24 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Chloro-4-((3-chlorobenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**

Verbindung:	<b>9d</b>
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	376,24 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 8,04 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Chloro-4-((3-chlorobenzyl)oxy)anilin **3b** nach AAV 1 umgesetzt. Das rote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 2,96 g beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 78,7 % entspricht.

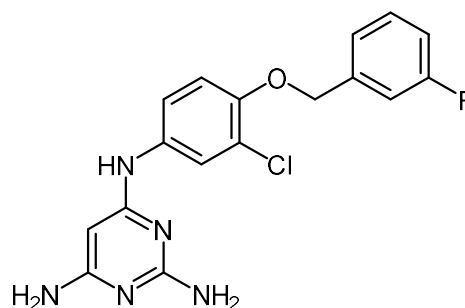
Ausbeute:	78,7 %
Schmelzbereich:	77 – 79 °C
MS (ESI-positiv):	m/z= <sup>12</sup> C:376,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:377,1 [M+H] <sup>+</sup> 17 %; <sup>37</sup> Cl:378,1 [M+H] <sup>+</sup> 69 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3326 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3191 m „br“ (NH st); 3075 m, 3041 w (aromat. CH st); 2929 m, 2876 w (aliph. CH st); 1661 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1654 s, 1608 s, 1497 s, 1457 m (C=C st); 1576 s (NH $\delta$ ); 1432 s, 1379 m (CH $\delta$ ); 1419 s (C=N st); 1222 m, 1154 w (C-O-C st Ether); 1056 w (aromat. C-Cl $\delta$ )
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,10 (s, 1H, H-5); 5,14 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> (3''-ClPh)); 5,58 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> with D <sub>2</sub> O exchangeable); 5,77 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,05 (d, $^3J_{5'/6'} = 8,9$ Hz, 1H, H-5'); 7,37 - 7,42 (m, 4H, H-6' H-4'' H-5'' H-6''); 7,50 (s, 1H, H-2''); 7,71 (d, $^4J_{2'/6'} = 2,5$ Hz, 1H, H-2'); 8,41 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,15 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) 0,33 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)



**N<sup>4</sup>-(3-Chloro-4-((3-fluorobenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **9e**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ClFN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 359,79 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 7,55 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Chloro-4-((3-fluorobenzyl)oxy)anilin **3a** nach AAV 1 umgesetzt. Das rote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 3,16 g beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 87,8 % entspricht.

Ausbeute: 87,8 %

Schmelzbereich: 190 – 191 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:360,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:361,2 [M+H]<sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup>Cl:362,2 [M+H]<sup>+</sup> 22 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3305 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3159 m „br“ (NH st); 3086 m, 3049 w (aromat. CH st); 2947 m, 2891 w (aliph. CH st); 1653 s (NH<sub>2</sub> δ); 1626 s, 1616 s, 1509 s, 1492 s (C=C st); 1572 s (NH δ); 1448 m, 1380 m (CH δ); 1409 s (C=N st); 1221 m, 1144 m (C-O-C st Ether); 1052 m (aromat. C-Cl δ)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,11 (s, 1H, H-5); 5,14 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 5,62 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 5,80 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,05 (d, <sup>3</sup>J<sub>5'/6'</sub> = 8,9 Hz, 1H, H-5'); 7,14 (dt, <sup>3</sup>J<sub>4''/Fbzw.5''</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/6''</sub> = 2,5 Hz, 1H, H-4''); 7,24 - 7,29 (m, 2H, H-2'' H-6''); 7,40 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-6'); 7,44 (dt, <sup>3</sup>J<sub>5''/4''bzw.6''</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup>J<sub>5''/F</sub> = 6,1 Hz, 1H, H-5''); 7,71 (d, <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-2'); 8,43 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 70,029 (OCH<sub>2</sub>Ph); 76,621 (C-5); 114,278 114,494 (C-2''); 114,911 115,120 (C-4'') 115,378 (C-5'); 119,284 (C-2'); 121,169 (C-3'); 121,875 (C-6'); 123,680 123,706 (C-6''); 130,882 130,965 (C-5''); 136,639 (C-1'); 140,356 140,432 (C-1''); 147,835 (C-4'); 161,409 163,833 (C-3''); 161,409 (C-2); 163,199 (C-6); 164,936 (C-4)

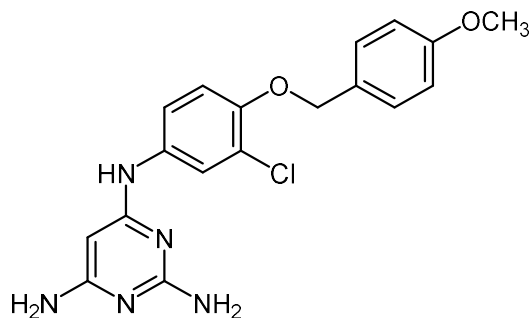
R<sub>F</sub>-Werte: 0,18 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

0,33 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-Chloro-4-((4-methoxybenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **9f**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 371,82 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 1,45 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) 2,6-Diamino-4-chloropyrimidin mit 7,91 g (30,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Chloro-4-((4-methoxybenzyl)oxy)anilin **3c** nach AAV 1 umgesetzt. Das rote Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 2,76 g hellbrauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 74,2 % entspricht.

Ausbeute: 74,2 %

Schmelzbereich: 140 – 143 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:372,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:373,1 [M+H]<sup>+</sup> 18 %; <sup>37</sup>Cl:374,1 [M+H]<sup>+</sup> 32 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3307 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3159 s „br“ (NH st); 3074 m, 3054 w (aromat. CH st); 2930 m, 2877 w (aliph. CH st); 1663 m (NH<sub>2</sub> δ); 1648 s, 1613 s, 1513 s, 1496 s (C=C ν); 1585 s (NH δ); 1463 m, 1380 m (CH δ); 1417 m (C=N st); 1246 m, 1226 m, 1175 m (C-O-C st Ether); 1053 w (aromat. C-Cl δ); 818 (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,74 (s, 3H, 4''-OCH<sub>3</sub>); 5,06 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>(4''-OCH<sub>3</sub>Ph)); 5,19 (s, 1H, H-5); 6,66 (br, 4H, C-2-NH<sub>2</sub> C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,94 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5''/2''-6'' = 8,7 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,15 (d, <sup>3</sup>J<sub>5'/6'</sub> = 9,0 Hz, 1H, H-5'); 7,37 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> und <sup>2''-6''/3''-5''</sup> = 8,7 Hz, 3H, H-6' H-2'' H-6''); 7,64 (d, <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-2'), 9,09 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)</sub>

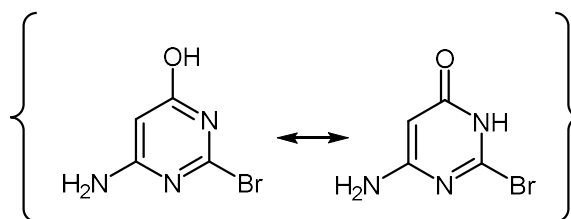
R<sub>F</sub>-Werte: 0,14 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

0,32 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**5.1.2.4.2. Synthese Pyrimidin-4,6-diamine mit alternativer 2-Substitution****5.1.2.4.2.1. Synthese 2-alkylaminosubstituierter Pyrimidin-4,6-triamine****6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol**Verbindung: **10**Summenformel: C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>BrN<sub>3</sub>O

Molekulargewicht: 190,00 g/mol

Darstellung: Einzelvorschrift

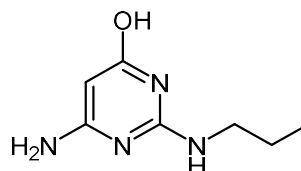


Es wurden 1,31 g (10,0 mmol; 1,0 eq.) *N*,2-Dicyanoacetamid-Natriumsalz **14** vorgelegt und in 15,0 ml Eisessig gelöst. Über einen Zeitraum von 5 min. und unter Rühren wurde nachgehend 12,26 g bzw. 8,76 ml (50,0 mmol; 5,0 eq.) Bromwasserstoffsäure (33%ig (m/m) in Essigsäure) zugetropft. Danach wurde der Reaktionsansatz 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Das entstandene Präzipitat wurde abfiltriert, mit Eisessig und Diethylether gewaschen und in Wasser suspendiert. Die Suspension wurde mit wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert, erneut abfiltriert und der erhaltene weiße Feststoff über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 1,60 g weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 84,2 % entspricht.

Ausbeute:	84,2 %
Schmelzbereich:	> 320 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:190,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>79</sup> Br:192,2 [M+H] <sup>+</sup> 95 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:188,3 [M-H] <sup>-</sup> 90 %; <sup>79</sup> Br:190,4 [M-H] <sup>-</sup> 100 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,40 (s, 1H, H-5); 6,89 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,65 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3317 w „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3173 m „br“ (NH st); 3072 m, 3029 m (aromat. CH st); 1621 s (NH <sub>2</sub> δ); 1589 m, 1484 w (C=C st); 1551 w (NH δ); 1449 w (C=N st)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,47 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,30 Ethylacetat

### 6-Amino-2-(propylamino)pyrimidin-4-ol

Verbindung:	<b>11a</b>
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	168,20 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

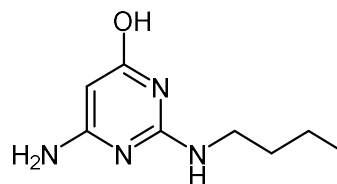


Es wurden 1,52 g (8,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol **10** mit 2,36 g bzw. 3,28 ml (40,0 mmol; 5,0 eq.) *n*-Propylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbe Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 0,88 g farbloses Öl gewonnen, welches einer Ausbeute 65,4 % entspricht.

Ausbeute:	65,4 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:169,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:170,2 [M+H] <sup>+</sup> 8 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,86 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,4 Hz, 3H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,45 (sex, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,16 (dt, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,2 Hz, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/NH</sub> = 5,6 Hz, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,43 (s, 1H, H-5); 5,93 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,15 (t br, <sup>3</sup> J <sub>NH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,6 Hz, 1H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 9,57 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,22 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,39 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**6-Amino-2-(butylamino)pyrimidin-4-ol**

Verbindung:	<b>11b</b>
Summenformel:	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	182,23 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

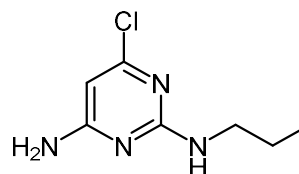


Es wurden 3,80 g (20,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-bromopyrimidin-4-ol **10** mit 4,39 g bzw. 5,93 ml (60,0 mmol; 3,0 eq.) *n*-Butylamin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbe Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 3,07 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute 84,2 % entspricht.

Ausbeute:	84,2 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:183,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:184,4 [M+H] <sup>+</sup> 14 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:181,6 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:182,6 [M-H] <sup>-</sup> 28 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,87 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,4 Hz, 3H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ); 1,29 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,42 (tt, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,7 Hz <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,4 Hz, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,16 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,43 (s, 1H, H-5); 5,93 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,14 (t br, <sup>3</sup> J <sub>NH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,8 Hz, 1H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 9,45 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,23 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,40 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**6-Chloro-N<sup>2</sup>-propylpyrimidin-2,4-diamin**

Verbindung:	<b>12a</b>
Summenformel:	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>
Molekulargewicht:	186,64 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift

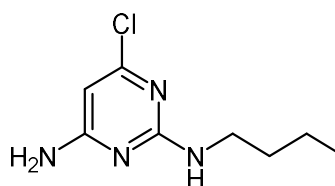


Es wurden 1,31 g (7,8 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-(propylamino)pyrimidin-4-ol **11a** vorgelegt und unter Kühlung auf 0 °C 4,40 g bzw. 2,62 ml (28,7 mmol; 3,7 eq.) POCl<sub>3</sub> hinzugegeben. Anschließend wurde der Reaktionsansatz für 0,5 h zum Rückfluss erhitzt und danach auf 0 °C gekühlt. Der Überschuss an POCl<sub>3</sub> wurde durch vorsichtige Zugabe von Eis abreagiert. Die entstandene Mischung wurde mit 5 M wässriger NaOH-Lösung auf pH 9-10 alkalisiert. Nachgehend wurde die wässrige Phase dreimal mit je 75,0 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum von Lösungsmittel befreit. Das resultierende Öl wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 0,50 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute 34,4 % entspricht.

Ausbeute:	34,4 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:187,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:188,2 [M+H] <sup>+</sup> 7 %; <sup>37</sup> Cl:189,2 [M+H] <sup>+</sup> 27 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,83 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,5 Hz, 3H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,45 (sex, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,10 (dt, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,1 Hz <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/NH</sub> = 6,4 Hz; 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 5,64 (s, 1H, H-5); 6,56 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,83 (br, 1H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,73 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,65 Ethylacetat

**N<sup>2</sup>-Butyl-6-chloropyrimidin-2,4-diamin**

Verbindung:	<b>12b</b>
Summenformel:	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub>
Molekulargewicht:	200,67 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



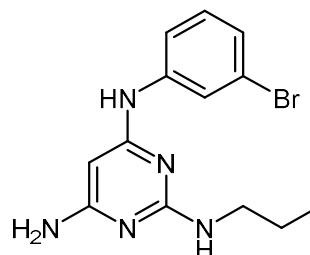
Es wurden 3,07 g (16,9 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-(butylamino)pyrimidin-4-ol **11b** vorgelegt und unter Kühlung auf 0 °C 9,52 g bzw. 5,67 ml (62,1 mmol; 3,7 eq.) POCl<sub>3</sub> hinzugegeben. Anschließend wurde der Reaktionsansatz für 0,5 h zum Rückfluss erhitzt und danach auf 0 °C gekühlt. Der Überschuss an POCl<sub>3</sub> wurde durch vorsichtige Zugabe von Eis abreagiert. Die entstandene Mischung wurde mit 5 M wässriger NaOH-Lösung auf pH 9-10 alkalisiert. Nachgehend wurde die wässrige Phase dreimal mit je 150,0 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum von Lösungsmittel befreit. Das resultierende Öl wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat als Eluent aufgereinigt. Es wurden 1,06 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer Ausbeute 31,3 % entspricht.

Ausbeute:	31,3 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:201,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:202,3 [M+H] <sup>+</sup> 8 %; <sup>37</sup> Cl:203,3 [M+H] <sup>+</sup> 32 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:199,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:200,4 [M-H] <sup>-</sup> 10 %; <sup>37</sup> Cl:201,3 [M-H] <sup>-</sup> 30 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3351 w „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3285 w „br“ (NH st); 2956 m, 2929 m, 2863 w (aliph. CH st); 1608 m (C=C st); 1540 s (NH <sub>2</sub> δ); 1503 s (NH δ); 1439 m 1362 w (CH δ); 1401 w (C=N st); 1289 m (CN st); 1079 (aromat. C-Cl δ)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,86 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 3H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> ); 1,28 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,42 (tt, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,7 Hz <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,3 Hz, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,14 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 5,64 (s, 1H, H-5); 6,56 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,83 (br, 1H, NHCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,75 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,67 Ethylacetat

***N*<sup>4</sup>-(3-Bromophenyl)-*N*<sup>2</sup>-propylpyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **13a**Summenformel: C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>BrN<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 322,21 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 0,56 g (3,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Chloro-*N*<sup>2</sup>-propylpyrimidin-2,4-diamin **12a** mit 1,55 g bzw. 0,98 ml (9,0 mmol; 3,0 eq.) 3-Bromoanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbe Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 0,92 g farbloses Öl gewonnen, welches einer Ausbeute 95,2 % entspricht.

Ausbeute: 95,2 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:322,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:323,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 14\%$ ;  ${}^{79}\text{Br}:324,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 94\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:320,3 [\text{M}-\text{H}]^- 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:321,3 [\text{M}-\text{H}]^- 12\%$ ;  ${}^{79}\text{Br}:322,3 [\text{M}-\text{H}]^- 80\%$ 

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,87 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,5 Hz, 3H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,50 (sex, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,35 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 5,13 (s, 1H, H-5); 5,82 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,17 (t br, <sup>3</sup>J<sub>NH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,8 Hz, 1H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,95 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-4'); 7,11 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'</sub>bzw.6' = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 7,43 (br, 1H, H-6'); 8,20 (br, 1H, H-2'); 8,72 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

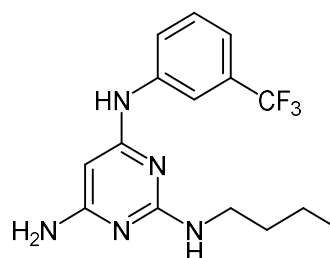
R<sub>f</sub>-Werte: 0,53 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V)

0,21 Ethylacetat

***N*<sup>2</sup>-Propyl-*N*<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)pyrimidin-2,4,6-triamin**Verbindung: **13b**Summenformel: C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 311,31 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 0,31 g (1,6 mmol; 1,0 eq.) *N*<sup>2</sup>-Butyl-6-chloropyrimidin-2,4-diamin **12b** mit 0,75 g (4,7 mmol; 3,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Das gelbe Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 0,50 g hellgelbes Öl gewonnen, welches einer quantitativen Ausbeute entspricht.

Ausbeute: quant.

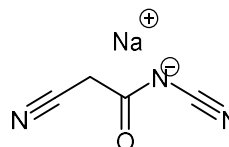
Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:326,4 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:327,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 20\%$

$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 0,86 (t, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,2$ Hz, 3H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_3$ ); 1,31 (sex, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2\text{bzw.}\text{CH}_3} = 7,2$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 1,48 (tt, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 7,9$ Hz $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 6,3$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 3,21 (qua, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2\text{bzw.}\text{NH}} = 6,7$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 5,16 (s, 1H, H-5); 5,87 (br, 2H, C-6- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,16 (t, $^3J_{\text{NH}/\text{CH}_2} = 5,80$ Hz, 1H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_3$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 7,11 (d, $^3J_{4'/5'} = 7,6$ Hz, 1H, H-4'); 7,38 (t, $^3J_{5'/4'\text{bzw.}6'} = 8,0$ Hz, 1H, H-5'); 7,69 (br, 1H, H-2'); 8,42 (br, 1H, H-6'); 8,93 (br, 1H, C-4- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3318 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3196 m „br“ (NH st); 2959 s, 2930 s, 2872 m (aliph. CH st); 1653 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1623 m, 1595 m, 1519 s, 1490 s (C=C st); 1574 s (NH $\delta$ ); 1444 s, 1386 m (CH $\delta$ ); 1406 s (C=N st); 1330 (aliph. C-F $\delta$ ); 1279 m (CN st); 791 w, 696 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 14,236 ( $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 20,129 ( $\text{NHCH}_2\text{-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 32,095 ( $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 40,905 ( $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ); 77,421 (C-5); 114,843 114,881 (C-4'); 116,296 116,333 (C-2'); 122,000 (C-6'); 123,547 ( $\text{CF}_3$ ); 126,255 (C-5') 129,494 129,699 129,801 (C-3'); 143,151 (C-1'); 161,261 (C-2); 162,346 (C-6); 164,766 (C-4)
$R_f$ -Werte:	0,55 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,22 Ethylacetat

**N,2-Dicyanoacetamid (Natriumsalz)**

Verbindung:	<b>14</b>
Summenformel:	$\text{C}_4\text{H}_2\text{N}_3\text{NaO}$
Molekulargewicht:	131,07 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



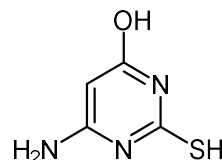
Es wurden 1,68 g (40,0 mmol; 1,0 eq.) Cyanamid mit 3,96 g bzw. 3,53 ml (40,0 mmol; 1,0 eq.) Cyanessigsäuremethylester umgesetzt. Die Mischung wurde in 40,0 ml einer 1 M  $\text{NaOCH}_3$ -Lösung gelöst und bei Raumtemperatur für 5 h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebende Rückstand wurde mit Ethanol gewaschen und anschließend getrocknet. Es resultierte 4,90 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 93,5 % entspricht.

Ausbeute:	93,5 %
Schmelzbereich:	196 – 197 °C
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}: 154,0$ [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 5 % 284,8 [ $2\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 25 % 415,7 [ $3\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 75 % 546,7 [ $4\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 85 % 677,7 [ $5\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 100 % 808,6 [ $6\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 90 % 939,6 [ $7\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 60 % 1070,6 [ $8\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 1201,6 [ $9\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 28 %
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 2958 m, 2916 w (aliph. CH st); 2277 m, 2162 s ( $\text{C}\equiv\text{N}$ st); 1673 m ( $\text{RNC}=\text{O}$ st); 1619 m ( $\text{RNC}=\text{O}$ st); 1416 m, 1367 s (CH $\delta$ )
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,24 (s, 2H, $\text{NC-CH}_2$ )
$R_f$ -Werte:	0,07 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,15 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 5.1.2.4.2.2. Synthese 2-thioether-/2-unsubstituierter Pyrimidin-4,6-diamine

#### 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol

Verbindung:	<b>15</b>
Summenformel:	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> OS
Molekulargewicht:	143,16 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift

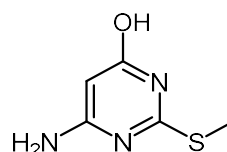


Es wurden 8,82 g bzw. 7,85 ml (89,0 mmol; 1,0 eq.) Cyanessigsäuremethylester in 100,0 ml 2,2 M NaOCH<sub>3</sub>-Lösung gelöst. Anschließend wurden 8,07 g (106,0 mmol; 1,2 eq.) Thioharnstoff zugesetzt. Der Reaktionsansatz wurde 2 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen bildete sich ein Präzipitat, welches abfiltriert und mit kaltem Methanol gewaschen wurde. Der erhaltene weiße Rückstand wurde nachgehend in 20%iger wässriger K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung (m/m) gelöst. Bei folgender Neutralisation der Lösung mit Eisessig fiel das Produkt als weißer Feststoff aus, wurde abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Nach Trocknung des Produkts über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ergab sich 9,10 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 71,4 % entspricht.

Ausbeute:	71,4 %
Schmelzbereich:	> 320 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:144,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:145,2 [M+H] <sup>+</sup> 6 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:142,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:143,3 [M-H] <sup>-</sup> 5 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3424 m (OH st); 3311 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3197 m „br“ (NH st); 3094 m, 3071 m (aromat. CH st); 1670 m (NH <sub>2</sub> δ); 1640 s, 1588 s (C=C st); 1554 s (NH δ); 1401 w (C=N st); 1244 w (OH δ); 1186 s (C=S st)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,68 (s, 1H, H-5); 6,33 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,49 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,56 (br, 1H, SH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,26 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

#### 6-Amino-2-(methylthio)pyrimidin-4-ol

Verbindung:	<b>16a</b>
Summenformel:	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> OS
Molekulargewicht:	157,19 g/mol
Darstellung:	nach AAV 8



Es wurden 2,04 g (14,3 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol **15** in 10,0 ml 1 M wässriger NaOH-Lösung gelöst. Anschließend wurde unter Kühlung 2,03 g bzw. 0,89 ml (14,3 mmol; 1,0 eq.) Iodmethan zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde 6 h bei 10 - 15 °C gerührt. Nachgehend

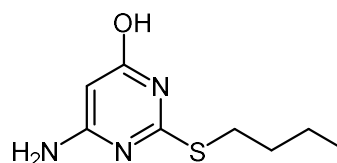


wurde das gebildete weiße Präzipitat abfiltriert und je zweimal mit Wasser und Petrolether (Siedebereich: 40 - 60 °C) gewaschen. Nach Trocknung des Rückstands über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ergab sich 2,15 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 95,7 % entspricht.

Ausbeute:	95,7 %
Schmelzbereich:	266 – 268 °C [Lit. 267,7 – 268,8 °C]
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:158,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:159,1 [M+H] <sup>+</sup> 6 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:156,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:157,3 [M-H] <sup>-</sup> 4 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3469 m (OH st); 3325 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3197 m „br“ (NH st); 3098 m, 3013 m (aromat. CH st); 2923 m, 2825 m (aliph. CH st); 1631 s (NH <sub>2</sub> δ); 1611 s, 1542 m, 1505 w (C=C st); 1570 s (NH δ); 1446 m, 1389 w (CH δ); 1417 w (C=N st); 1300 w (OH δ); 1224 m (COH st)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,41 (s, 3H, SCH <sub>3</sub> ) 4,89 (s, 1H, H-5); 6,41 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,44 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,18 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,06 Ethylacetat

### 6-Amino-2-(butylthio)pyrimidin-4-ol

Verbindung:	<b>16b</b>
Summenformel:	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> OS
Molekulargewicht:	199,27 g/mol
Darstellung:	nach AAV 8



Es wurden 2,86 g (20,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol **15** in 20,0 ml 1 M wässriger NaOH-Lösung bei 60 °C gelöst. Anschließend wurde unter Rühren 2,74 g bzw. 2,14 ml (20,0 mmol; 1,0 eq.) Brombutan zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde 6 h bei 50 - 60 °C gerührt. Nachgehend wurde das gebildete weiße Präzipitat abfiltriert und je zweimal mit Wasser und Petrolether (Siedebereich: 40 - 60 °C) gewaschen. Nach Trocknung des Rückstands über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ergab sich 3,02 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 75,8 % entspricht.

Ausbeute:	75,8 %
Schmelzbereich:	222 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:200,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:201,1 [M+H] <sup>+</sup> 8 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:198,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:198,1 [M-H] <sup>-</sup> 5 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3469 m (OH st); 3328 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3199 m „br“ (NH st); 3092 m, 3033 m (aromat. CH st); 2956 m, 2925 m, 2851 m (aliph. CH st); 1635 m (NH <sub>2</sub> δ); 1615 s, 1600 s, 1541 m, 1513 w (C=C st); 1568 s (NH δ); 1445 m, 1389 w (CH δ); 1411 w (C=N st); 1294 w (OH δ); 1217 m (COH st)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,87 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 8,0 Hz, 3H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,36 (sex, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,5 Hz, 2H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,56 (m, 2H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,03 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,86 (s, 1H, H-5); 6,37

(br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,40 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,29 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V)  
0,15 Ethylacetat

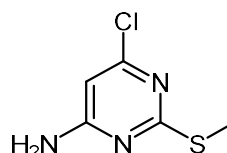
### 6-Chloro-2-(methylthio)pyrimidin-4-amin

Verbindung: **17a**

Summenformel: C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>ClN<sub>3</sub>S

Molekulargewicht: 175,63 g/mol

Darstellung: Einzelschrift



Es wurden 1,95 g (12,4 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-(methylthio)pyrimidin-4-ol **16a** vorgelegt und unter Kühlung auf 0 °C 13,43 g bzw. 8,00 ml (87,6 mmol; 7,1 eq.) POCl<sub>3</sub> hinzugegeben. Nachgehend wurde eine katalytische Menge DMF hinzugetropft. Danach wurde der Reaktionsansatz 0,75 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0 °C heruntergekühlt. Der Überschuss an POCl<sub>3</sub> wurde durch vorsichtige Zugabe von Eis abreagiert. Die entstandene Mischung wurde mit 5 M wässriger NaOH-Lösung auf pH 9-10 alkalisiert. Das entstandene gelbe Präzipitat wurde abfiltriert und als *dry-load* für die Säulenchromatographie präpariert. Als Eluent wurde Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V) genutzt. Es ergaben sich 0,67 g gelber Feststoff, welches einer Ausbeute von 30,8 % entspricht.

Ausbeute: 30,8 %

Schmelzbereich: 125 – 127 °C [Lit. 125 – 127 °C]

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:176,6 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:177,6 [M+H]<sup>+</sup> 6 %; <sup>37</sup>Cl:178,5 [M+H]<sup>+</sup> 48%

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:174,5 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:175,5 [M-H]<sup>-</sup> 6 %; <sup>37</sup>Cl:176,5 [M-H]<sup>-</sup> 37 %

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,39 (s, 3H, SCH<sub>3</sub>) 6,15 (s, 1H, H-5); 7,24 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,25 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

0,36 Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V)

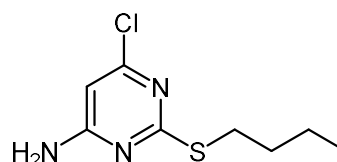
### 2-(Butylthio)-6-chloropyrimidin-4-amin

Verbindung: **17b**

Summenformel: C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>ClN<sub>3</sub>S

Molekulargewicht: 217,72 g/mol

Darstellung: Einzelschrift



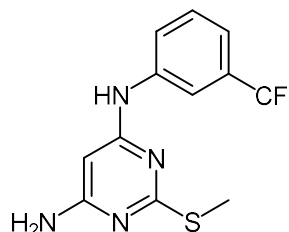
Es wurden 6,58 g (33,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-(butylthio)pyrimidin-4-ol **16b** vorgelegt und unter Kühlung auf 0 °C 35,95 g bzw. 21,40 ml (234,4 mmol; 7,1 eq.) POCl<sub>3</sub> hinzugegeben. Nachgehend wurde eine katalytische Menge DMF hinzugetropft. Danach wurde der Reaktionsansatz 0,75 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0 °C heruntergekühlt. Der Überschuss an POCl<sub>3</sub> wurde durch

vorsichtige Zugabe von Eis abreagiert. Die entstandene Mischung wurde mit 5 M wässriger NaOH-Lösung auf pH 9-10 alkalisiert. Das entstandene gelbe Präzipitat wurde abfiltriert und als *dry-load* für die Säulenchromatographie präpariert. Als Eluent wurde ein Stufengradient von Cyclohexan/Ethylacetat 75:25 zu 70:30 (V/V) genutzt. Es ergaben sich 1,93 g beiger Feststoff, welches einer Ausbeute von 26,9 % entspricht.

Ausbeute:	26,9 %
Schmelzbereich:	90 – 92 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:217,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:218,3 [M+H] <sup>+</sup> 6 %; <sup>37</sup> Cl:219,3 [M+H] <sup>+</sup> 33 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:216,0 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:217,1 [M-H] <sup>-</sup> 6 %; <sup>37</sup> Cl:218,0 [M-H] <sup>-</sup> 30 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,89 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 8,0 Hz, 3H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,38 (sex, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,5 Hz, 2H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,62 (m, 2H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 3,08 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, SCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 6,14 (s, 1H, H-5); 7,22 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,41 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V) 0,47 Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V)

### 2-(Methylthio)-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)pyrimidin-4,6-diamin

Verbindung:	<b>18a</b>
Summenformel:	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> S
Molekulargewicht:	300,30 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1

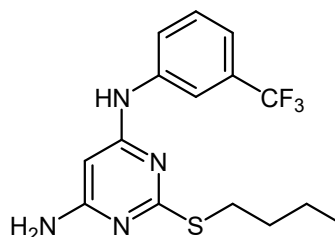


Es wurden 0,37 g (2,1 mmol; 1,0 eq.) 6-Chloro-2-(methylthio)pyrimidin-4-amin **17a** mit 1,34 g bzw. 1,03 ml (8,3 mmol; 4,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes kam es zur selbstständigen Präzipitatbildung. Der Rückstand wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Es ergab sich 0,62 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 98,3 % entspricht.

Ausbeute:	98,3 %
Schmelzbereich:	136 – 138 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:301,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:302,3 [M+H] <sup>+</sup> 15 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:300,0 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:300,9 [M-H] <sup>-</sup> 16 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3294 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3141 m „br“ (NH st); 3088 m, 3028 m (aromat. CH st); 2927 m, 2837 m (aliph. CH st); 1666 s (NH <sub>2</sub> δ); 1634 s, 1603 m, 1546 m, 1482 m (C=C st); 1569 s (NH δ); 1463 m, 1390 w (CH δ); 1417 m (C=N st); 1338 (aliph. C-F δ); 799 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,50 (s, 3H, SCH <sub>3</sub> ); 5,71 (s, 1H, H-5); 6,70 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,34 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,7 Hz, 1H, H-4'); 7,52 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw.6' = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 7,66 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,2 Hz, 1H, H-6'); 8,16 (s, 1H, H-2'); 10,10 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,08 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V) 0,12 Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V)

**2-(Butylthio)-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)pyrimidin-4,6-diamin**

Verbindung: **18b**  
 Summenformel: C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>S  
 Molekulargewicht: 342,38 g/mol  
 Darstellung: nach AAV 1

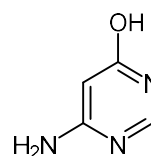


Es wurden 1,17 g (5,4 mmol; 1,0 eq.) 6-Chloro-2-(butylthio)pyrimidin-4-amin **17b** mit 2,60 g bzw. 2,01 ml (16,1 mmol; 3,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes kam es zur selbstständigen Präzipitatbildung. Der Rückstand wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Es ergab sich 1,83 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 99,0 % entspricht.

Ausbeute: 99,0 %  
 Schmelzbereich: 94 – 96 °C  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:343,3 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:344,2 [M+H]<sup>+</sup> 17 %  
 MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:341,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:342,2 [M-H]<sup>-</sup> 14 %  
 IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3291 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3151 m „br“ (NH st); 3072 m, 3027 m (aromat. CH st); 2963 m, 2934 m, 2876 m (aliph. CH st); 1660 s (NH<sub>2</sub> δ); 1631 s, 1604 s, 1545 m, 1478 s (C=C st); 1567 s (NH δ); 1467 m, 1380 w (CH δ); 1416 w (C=N st); 1332 (aliph. C-F δ); 795 w, 696 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)  
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,85 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,4 Hz, 3H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,38 (sex, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,5 Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,58 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,02 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 5,51 (s, 1H, H-5); 6,46 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,20 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,44 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'bzw.6'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 7,67 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 8,4 Hz, 1H, H-6'); 8,15 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'bzw.6'</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-2'); 9,27 (br, 2H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 13,803 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 21,620 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 30,206 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 30,897 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 81,377 (C-5); 123,187 (C-2'); 125,019 (CF<sub>3</sub>); 125,895 (C-4'); 129,737 (C-6'); 130,051 (C-5'); 130,343 (C-3'); 140,117 (C-1'); 157,802 (C-6); 159,467 (C-2); 164,144 (C-4)  
 R<sub>f</sub>-Werte: 0,12 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)  
 0,15 Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V)

**6-Aminopyrimidin-4-ol**

Verbindung: **19**  
 Summenformel: C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O  
 Molekulargewicht: 111,10 g/mol  
 Darstellung: nach AAV 9

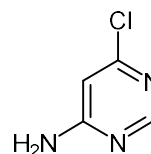


Es wurden 2,63 g (18,4 mmol; 1,0 eq.) 6-Amino-2-mercaptopyrimidin-4-ol **15** in 80,0 ml 5%iger wässriger NH<sub>3</sub>-Lösung (m/m) gelöst. Anschließend wurde dem Reaktionsansatz 10,0 ml einer 50%igen Aufschlämmung von Raney-Nickel (m/m) in Wasser zugesetzt und für 1,5 h zum Rückfluss erhitzt. Der Ansatz wurde nachgehend im heißen Zustand über ein Celite®-Pad filtriert und der Filtrückstand mit kochendem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum bis zur Trockene eingengt. Der entstandene weiße Feststoff wurde über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es resultierte 1,75 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 85,6 % entspricht.

Ausbeute:	85,6 %
Schmelzbereich:	271 – 273 °C [Lit. 272 °C]
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:110,4 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:111,4 [M-H] <sup>-</sup> 6 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3328 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3151 m „br“ (NH st); 3067 m, 3024 m (aromat. CH st); 1678 s (NH <sub>2</sub> δ); 1640 s, 1595 s, 1480 m (C=C st); 1402 w (C=N st); 1301 w (OH δ); 1238 w (COH st)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,95 (s, 1H, H-5); 6,36 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,75 (s, 1H, H-2); 11,47 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,06 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 6-Chloropyrimidin-4-amin

Verbindung:	<b>20</b>
Summenformel:	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> ClN <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	129,55 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



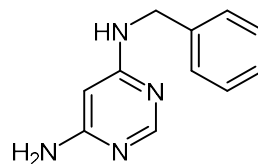
Es wurden 1,00 g (9,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Aminopyrimidin-4-ol **19** vorgelegt und unter Kühlung auf 0 °C 5,04 g bzw. 3,00 ml (32,87 mmol; 3,7 eq.) POCl<sub>3</sub> hinzugegeben. Nachgehend wurde eine katalytische Menge DMF hinzugeetropt. Danach wurde der Reaktionsansatz 0,5 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend auf 0 °C heruntergekühlt. Der Überschuss an POCl<sub>3</sub> wurde durch vorsichtige Zugabe von Eis abreagiert. Die entstandene Mischung wurde mit 5 M wässriger NaOH-Lösung auf pH 9-10 alkalisiert und dann dreimal mit je 75,0 ml CHCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und anschließend im Vakuum von Lösungsmittel befreit. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt. Als Eluent wurde Ethylacetat genutzt. Es ergaben sich 0,83 g gelber Feststoff, welches einer Ausbeute von 71,2 % entspricht.

Ausbeute:	71,2 %
Schmelzbereich:	216 – 217 °C [Lit. 215 – 217 °C]
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:130,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:131,3 [M+H] <sup>+</sup> 6 %; <sup>37</sup> Cl:132,3 [M+H] <sup>+</sup> 33 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:130,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:133,2 [M-H] <sup>-</sup> 4 %; <sup>37</sup> Cl:132,5 [M-H] <sup>-</sup> 35 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,43 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/NH2</sub> = 0,8 Hz, 1H, H-5); 7,20 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 8,18 (s, 1H, H-2)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,61 Ethylacetat/Methanol 80:20 (V/V)

**N<sup>4</sup>-Benzylpyrimidin-4,6-diamin**Verbindung: **21a**Summenformel: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 200,24 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 0,78 g (6,0 mmol; 1,0 eq.) 6-Chloropyrimidin-4-amine **20** mit 2,14 g bzw. 2,18 ml (20,0 mmol; 3,3 eq.) Benzylamin nach AAV 1 umgesetzt. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes kam es zur selbstständigen Präzipitatbildung. Der Rückstand wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Es resultierte 1,18 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 98,2 % entspricht.

Ausbeute: 98,2 %

Schmelzbereich: 131 – 133 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:201,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:202,3 [M+H]<sup>+</sup> 12 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:199,3 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:200,4 [M-H]<sup>-</sup> 10 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3307 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3204 m „br“ (NH st); 3057 m, 3030 m (aromat. CH st); 2922 m, 2852 w (aliph. CH st); 1663 m (NH<sub>2</sub> δ); 1624 s, 1600 s, 1546 m, 1495 m (C=C st); 1454 m, 1380 w (CH δ); 1430 w (C=N st); 749 w, 697 w (CH δ monosubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,37 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/NH</sub> = 5,8 Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>Ph); 5,37 (s, 1H, H-5); 6,02 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,08 (t br, <sup>3</sup>J<sub>NH/CH<sub>2</sub></sub> = 6,2 Hz, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,19 (tt, <sup>3</sup>J<sub>4'/3'</sub> bzw. <sup>5'</sup> = 7,2 Hz <sup>4</sup>J<sub>4'/2'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,7 Hz, 1H, H-4'); 7,24 - 7,32 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'); 7,85 (s, 1H, H-2)

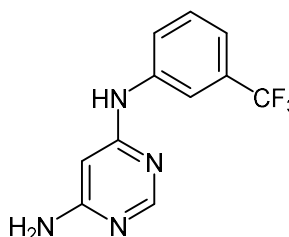
R<sub>f</sub>-Werte: 0,22 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,19 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)pyrimidin-4,6-diamin**Verbindung: **21b**Summenformel: C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 254,22 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 0,51 g (3,9 mmol; 1,0 eq.) 6-Chloropyrimidin-4-amine **20** mit 3,17 g (19,7 mmol; 5,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes kam es zur selbstständigen Präzipitatbildung. Der Rückstand wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Es resultierte 0,87 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 87,8 % entspricht.

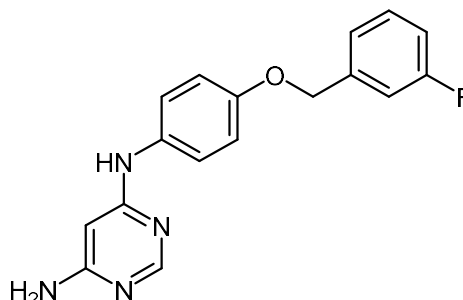
Ausbeute: 87,8 %

Schmelzbereich: 183 – 185 °C

MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:255,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:256,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 12\%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:253,4 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:254,4 [\text{M}-\text{H}]^- 13\%$
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3316 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3155 m „br“ (NH st); 3074 m, 3007 m (aromat. CH st); 1647 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1622 s, 1590 s, 1536 m, 1490 m (C=C st); 1576 s (NH $\delta$ ); 1419 w (C=N st); 1334 (aliph. C-F $\delta$ ); 795 w, 700 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 5,79 (s, 1H, H-5); 6,44 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,21 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,47 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4' bzw. 6'</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 7,80 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2' bzw. 4'</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-6'); 8,07 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-2'); 8,10 (s, 1H, H-2); 9,24 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 85,939 (C-5); 122,795 (CF <sub>3</sub> ); 123,403 (C-2'); 126,111 (C-4'); 129,653 (C-6'); 129,964 (C-5') 130,059 (C-3'); 142,393 (C-1'); 158,181 160,415 164,310 (C-2 C-4 C-6)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,22 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N<sup>4</sup>-(4-((3-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)pyrimidin-4,6-diamin**

Verbindung:	<b>21c</b>
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> FN <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	310,33 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 0,51 g (3,9 mmol; 1,0 eq.) 6-Chloropyrimidin-4-amine **20** mit 2,57 g (11,8 mmol; 3,0 eq.) 4-((3-Fluorobenzyl)oxy)anilin **2b** nach AAV 1 umgesetzt. Nach Abkühlen des Reaktionsansatzes kam es zur selbstständigen Präzipitatbildung. Der Rückstand wurde abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Es resultierte 1,18 g weißer Feststoff, welches einer Ausbeute von 97,5 % entspricht.

Ausbeute:	97,5 %
Schmelzbereich:	186 °C
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:311,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:312,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 20\%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:309,2 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:310,2 [\text{M}-\text{H}]^- 15\%$
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3302 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3150 m „br“ (NH st); 3071 m, 3040 m (aromat. CH st); 2927 m, 2853 w (aliph. CH st); 1639 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1614 s, 1591 s, 1508 s, 1488 m (C=C st); 1566 m (NH $\delta$ ); 1440 m, 1380 w (CH $\delta$ ); 1413 w (C=N st); 1238 m, 1138 w (C-O-C st Ether)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 5,08 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> (3'-FPh)); 5,65 (s, 1H, H-5); 6,21 (br, 2H, C-6-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,94 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,15 (m, 1H, H-4'); 7,25 - 7,29 (m, 2H, H-2'' H-6''); 7,35 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,43 (dt, <sup>3</sup> J <sub>5''/4'' bzw. 6''</sub> = 7,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>5''/F</sub> = 6,6 Hz, 1H, H-5''); 7,96 (s, 1H, H-2); 8,61 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)

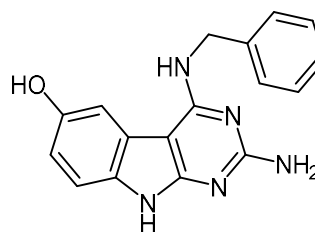
$^{13}\text{C}$ -NMR:	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 69,035 (OCH $_2$ (3''-FPh)); 83,739 (C-5); 114,452 114,668 (C-2''); 114,801 115,010 (C-4''); 115,469 (C-3' C-5'); 122,546 (C-2' C-6'); 123,858 123,885 (C-6''); 130,821 130,905 (C-5''); 134,428 (C-1'); 140,728 140,804 (C-1''); 153,793 (C-4'); 158,204 161,178 163,848 (C-2 C-4 C-6); 161,428 164,166 (C-3'')
R <sub>F</sub> -Werte:	0,26 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,28 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 5.1.2.5. Synthese 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

#### 5.1.2.5.1. Synthese 4-benzylaminsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

##### 2-Amino-4-(benzylamino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>22</b>
Summenformel:	C $_{17}$ H $_{15}$ N $_5$ O
Molekulargewicht:	305,34 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 538 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7a** mit 324 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 169 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 22,1% entspricht.

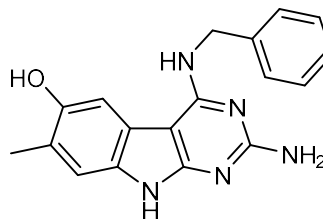
Ausbeute:	22,1 %
Schmelzbereich:	263 – 265 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 66,87; H 4,95; N 22,94 gef.: C 66,83; H 5,25; N 22,87
MS (ESI-positiv):	m/z = $^{12}\text{C}$ :306,3 [M+H] $^+$ 100 %; $^{13}\text{C}$ :307,2 [M+H] $^+$ 17 %
IR:	ATR [ $\nu$ in cm $^{-1}$ ]: 3460 m „br“ (OH st); 3342 s „br“ (NH $_2$ st); 3195 s „br“ (NH st); 3065 m, 3034 m (aromat. CH st); 2929 m, 2880 w (aliph. CH st); 1641 s (NH $_2$ $\delta$ ); 1620 s, 1595 s, 1542 m, 1497 s (C=C st); 1568 s (NH $\delta$ ); 1452 m, 1389 m (CH $\delta$ ); 1415 s (C=N st); 1360 w (OH $\delta$ ); 1210 m (CN st); 1183 w (COH st); 737 w, 700 w (CH $\delta$ monosubst. Aromat)
$^1\text{H}$ -NMR:	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,32 (s, 2H, CH $_2$ ); 5,94 (br, 2H, C-2-NH $_2$ , with D $_2$ O exchangeable); 6,51 (br, 1H, C-4-NH, with D $_2$ O exchangeable); 6,58 (dd, $^3J_{7/8} = 8,3$ Hz $^4J_{7/5} = 2,3$ Hz, 1H, H-7); 7,01 (d, $^3J_{8/7} = 8,3$ Hz, 1H, H-8); 7,15 - 7,26 (m, 5H, Ph); 7,40 (d, $^4J_{5/7} = 2,3$ Hz, 1H, H-5); 8,73 (br, 1H, OH, with D $_2$ O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D $_2$ O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,39 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)



**2-Amino-4-(benzylamino)-7-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **23a**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 319,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 538 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7a** mit 366 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 159 mg braungrauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 19,9 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,7 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute: Mischung Isomere: 19,9 %

Schmelzbereich: 237 – 239 °C

Elementaranalyse: ber.: C 67,70; H 5,37; N 21,93

gef.: C 67,52; H 5,45; N 21,67

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:320,3 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:321,3 [M+H]<sup>+</sup> 16 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:318,3 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:319,2 [M-H]<sup>-</sup> 16 %

IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3476 m „br“ (OH st); 3338 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3068 m, 3033 m (aromat. CH st); 2922 m, 2851 w (aliph. CH st); 1648 s (NH<sub>2</sub> δ); 1627 s, 1606 s, 1511 m, 1496 m (C=C st); 1570 s (NH δ); 1466 m, 1390 w (CH δ); 1417 m (C=N st); 1362 w (OH δ); 1228 w (CN st); 1184 w (C=O st); 737 w, 699 w (CH δ monosubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,29 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 5,31 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,90 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,37 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,96 (s, 1H, H-8); 7,13 - 7,27 (m, 5H, Ph); 7,33 (s, 1H, H-5); 8,45 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 17,43 (C-7-CH<sub>3</sub>); 44,01 (CH<sub>2</sub>); 89,10 (C-4a); 106,72 (C-5); 110,74 (C-8); 119,93 120,06 (C-4b C-7); 127,22 (C-2' C-6'); 127,40 (C-4'); 128,84 (C-3' C-5'); 130,75 (C-8a); 138,55 (C-1'); 150,17 (C-6); 158,48 158,59 (C-4 C-9a); 162,00 (C-2)

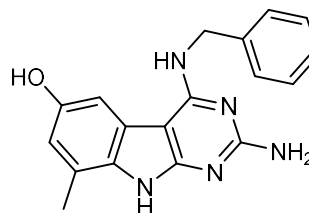
R<sub>f</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,39 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

0,18 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-(benzylamino)-8-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>23b</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	319,37 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



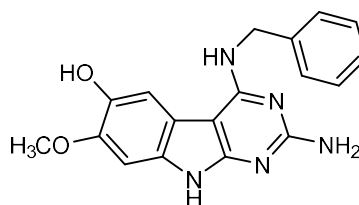
Es wurden 538 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7a** mit 366 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (v/v) verwendet. Es wurden 159 mg braungrauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 19,9 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,7 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute:	Mischung Isomere: 19,9 %
Schmelzbereich:	256 – 257 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 67,70; H 5,37; N 21,93 gef.: C 67,58; H 5,42; N 21,74
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:320,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:321,3 [M+H] <sup>+</sup> 15 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:318,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:319,2 [M-H] <sup>-</sup> 16 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3470 m „br“ (OH st); 3340 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3072 m, 3036 m (aromat. CH st); 2921 m, 2856 w (aliph. CH st); 1646 s (NH <sub>2</sub> δ); 1625 s, 1606 s, 1509 m, 1498 m (C=C st); 1568 s (NH δ); 1472 m, 1388 w (CH δ); 1415 m (C=N st); 1360 w (OH δ); 1228 w (CN st); 1182 w (C=O st); 738 w, 701 w (CH δ monosubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,29 (s, 3H, CH <sub>3</sub> ); 5,60 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,87 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,33 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-7); 6,48 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,85 (t, <sup>3</sup> J <sub>4'/3'</sub> bzw. <sup>5'</sup> = 7,3 Hz, 1H, H-4'); 7,15 - 7,24 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'); 7,25 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-5); 8,68 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 19,27 (C-8-CH <sub>3</sub> ); 45,54 (CH <sub>2</sub> ); 89,14 (C-4a); 104,21 (C-5); 114,12 (C-7); 120,41 (C-4b); 123,56 (C-8); 125,64 (C-2' C-6'); 127,12 (C-4'); 128,96 (C-8a); 129,98 (C-3' C-5'); 140,33 (C-1'); 151,96 (C-6); 158,84 159,52 (C-9a C-4); 162,14 (C-2)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,39 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,29 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-(benzylamino)-7-methoxy-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **24**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 335,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 538 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7a** mit 621 mg (4,5 mmol; 1,8 eq.) 2-Methoxybenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 204 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 24,4 % entspricht.

Ausbeute: 24,4 %

Schmelzbereich: 264 – 265 °C

Elementaranalyse: ber.: C 64,47; H 5,11; N 20,88

gef.: C 64,25; H 5,21; N 20,63

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:336,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:337,2 [M+H]<sup>+</sup> 17 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:334,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:335,2 [M-H]<sup>-</sup> 20 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3481 m „br“ (OH st); 3352 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st), 3067 m, 3039 m (aromat. CH st); 2915 m, 2849 w (aliph. CH st); 1656 m (NH<sub>2</sub> δ); 1610 m, 1592 s, 1496 m, 1527 w, 1496 m (C=C st); 1568 s (NH δ); 1453 m, 1380 w (CH δ); 1416 s (C=N st); 1334 s (OH δ); 1263 w, 1082 w (C-O-C st Ether); 1218 w (CN st); 1183 m (COH st); 732 w, 700 w (CH δ monosubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,74 (s, 3H, 7-OCH<sub>3</sub>); 5,36 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,83 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,44 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,92 (s, 1H, H-8); 7,16 - 7,27 (m, 5H, Ph); 7,48 (s, 1H, H-5); 8,08 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,97 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 44,09 (CH<sub>2</sub>); 56,76 (7-OCH<sub>3</sub>); 89,10 (C-4a); 94,95 (C-8); 107,25 (C-5); 114,51 (C-4b); 127,41 (C-2' C-4' C-6'); 128,82 (C-3' C-5'); 130,48 (C-8a); 138,52 (C-1'); 141,88 (C-6); 145,26 (C-7); 158,19 158,22 (C-4 C-9a); 161,59 (C-2)

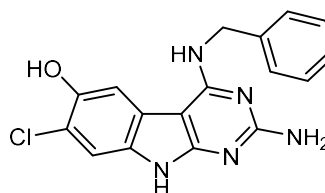
R<sub>f</sub>-Werte: 0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,38 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-(benzylamino)-7-chloro-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **25**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 339,78 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 538 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7a** mit 639 mg (4,5 mmol; 1,8 eq.) 2-Chlorobenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 120 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 14,1 % entspricht.

Ausbeute: 14,1 %

Schmelzbereich: 168 – 171 °C

Elementaranalyse: ber.: C 60,09; H 4,15; N 20,61

gef.: C 59,84; H 4,25; N 20,41

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:340,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:341,2 [M+H]<sup>+</sup> 18 %; <sup>37</sup>Cl:342,2 [M+H]<sup>+</sup> 35 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C: 338,13 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>37</sup>Cl: 340,21 [M-H]<sup>-</sup> 37 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3469 m „br“ (OH st); 3345 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3202 s „br“ (NH st); 3066 m, 3032 m (aromat. CH st); 2925 m, 2856 w (aliph. CH st); 1645 s (NH<sub>2</sub> δ); 1624 s, 1599 s, 1538 m, 1497 m (C=C st); 1568 s (NH δ); 1453 s, 1377 m (CH δ); 1412 s (C=N st); 1360 s (OH δ); 1221 w (CN st); 1181 w (C-OH st); 1096 w (aromat. C-Cl δ); 733 w, 701 w (CH δ monosubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,34 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,05 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,57 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,15 - 7,28 (m, 5H, Ph); 7,23 (s, 1H, H-8); 7,56 (s, 1H, H-5); 9,09 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

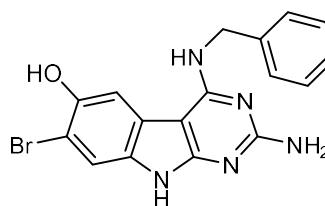
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 44,02 (CH<sub>2</sub>); 88,64 (C-4a); 108,31 (C-5); 109,96 (C-8); 115,62 (C-7); 121,41 (C-4b); 127,28 (C-2' C-6'); 127,54 (C-4'); 128,91 (C-3' C-5'); 131,04 (C-8a); 138,16 (C-1'); 147,37 (C-6); 158,92 159,29 (C-4 C-9a); 162,55 (C-2)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,17 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,38 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-(benzylamino)-7-bromo-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **26**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>BrN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 384,24 g/mol



Darstellung: nach AAV 2

Es wurden 538 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7a** mit 697 mg (3,8 mmol; 1,5 eq.) 2-Bromobenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 66 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 6,9 % entspricht.

Ausbeute: 6,9 %  
 Schmelzbereich: 154 – 156 °C  
 Elementaranalyse: ber.: C 53,14; H 3,67; N 18,23  
 gef.: C 53,10; H 3,72; N 18,15  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:384,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:385,1 [M+H]<sup>+</sup> 15 %; <sup>81</sup>Cl:386,1 [M+H]<sup>+</sup> 90 %  
 MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:382,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:383,1 [M-H]<sup>-</sup> 13 %; <sup>81</sup>Br:384,1 [M-H]<sup>-</sup> 69 %  
 IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3463 m „br“ (OH st); 3340 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3198 s „br“ (NH st); 3067 m, 3033 m (aromat. CH st); 2923 m, 2851 w (aliph. CH st); 1644 s (NH<sub>2</sub> δ); 1625 s, 1594 s, 1509 w, 1497 m (C=C st); 1569 s (NH δ); 1452 s, 1379 w (CH δ); 1410 s (C=N st); 1359 m (OH δ); 1219 w (CN st); 1179 w (CQH st); 1049 w (aromat. C-Br δ); 735 w, 700 w (CH δ monosubst. Aromat)  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,34 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,06 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,56 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,14 -7,28 (m, 5H, Ph); 7,36 (s, 1H, H-8); 7,53 (s, 1H, H-5); 9,18 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 43,98 (CH<sub>2</sub>); 88,66 (C-4a); 105,10 (C-5); 108,05 (C-7); 112,74 (C-8); 122,07 (C-4b); 127,24 (C-2' C-6'); 127,54 (C-4'); 128,91 (C-3' C-5'); 131,50 (C-8a); 138,17 (C-1'); 148,23 (C-6); 159,00 159,25 (C-4 C-9a); 162,61 (C-2)  
 R<sub>f</sub>-Werte: 0,18 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
 0,38 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

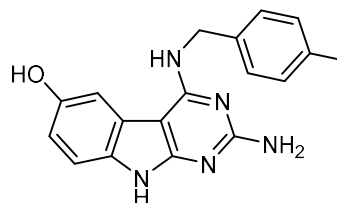
### 2-Amino-4-((4-methylbenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **27**

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 319,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 687 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **7b** mit 389 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 101 mg graugrüner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 10,5 % entspricht.

Ausbeute: 10,5 %  
 Schmelzbereich: 253 – 255 °C

Elementaranalyse:	ber.: C 67,70; H 5,37; N 21,93 gef.: C 67,42; H 5,49; N 21,69
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:320,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:321,2 [M+H] <sup>+</sup> 19 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:318,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:319,2 [M-H] <sup>-</sup> 19 %
IR:	ATR [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3455 m „br“ (OH st); 3339 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3194 s „br“ (NH st); 3060 m, 3027 m (aromat. CH st); 2922 m, 2853 w (aliph. CH st); 1662 s (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1628 s, 1595 s, 1514 m, 1495 m (C=C st); 1568 s (NH $\delta$ ); 1447 m, 1384 m (CH $\delta$ ); 1415 s (C=N st); 1359 w (OH $\delta$ ); 1209 w (CN st); 1182 w (COH st); 838 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 2,20 (s, 3H, 4'-CH <sub>3</sub> ); 5,27 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,97 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,52 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,58 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 1,7 Hz, 1H, H-7); 6,97 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,4 Hz, 1H, H-8); 7,02 - 7,10 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'); 7,39 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 1,7 Hz, 1H, H-5); 8,72 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,17 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

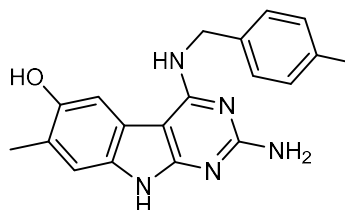
### 2-Amino-7-methyl-4-((4-methylbenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **28a**

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 333,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



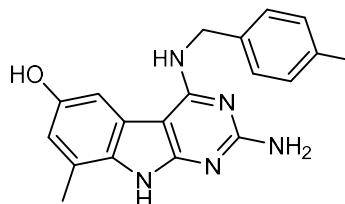
Es wurden 917 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **7b** mit 586 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 170 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 12,8 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,7 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute:	Mischung Isomere: 12,8 %
Schmelzbereich:	269 – 270 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 68,45; H 5,74; N 21,01 gef.: C 68,25; H 5,82; N 20,92
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:334,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:335,2 [M+H] <sup>+</sup> 19 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:332,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:333,2 [M-H] <sup>-</sup> 23 %
IR:	ATR [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3465 m „br“ (OH st); 3329 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3178 m „br“ (NH st); 3052 m, 3038 m (aromat. CH st); 2915 m, 2849 w (aliph. CH st);

	1647 s (NH <sub>2</sub> δ); 1615 s, 1600 s, 1515 m, 1490 m (C=C st); 1563 m (NH δ); 1465 s, 1380 w (CH δ); 1415 s (C=N st); 1363 m (OH δ); 1231 m (CN st); 1182 w (C=O st); 834 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,16 (s, 3H, 7-CH <sub>3</sub> ); 2,20 (s, 3H, 4'-CH <sub>3</sub> ); 5,26 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,92 (br, 2H, C-4-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,38 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,94 (s, 1H, H-8); 7,05 (br, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'); 7,32 (s, 1H, H-5); 8,43 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 17,45 (7-CH <sub>3</sub> ); 21,08 (4'-CH <sub>3</sub> ); 43,80 (CH <sub>2</sub> ); 89,08 (C-4a); 106,66 (C-5); 110,81 (C-8); 119,90 120,05 (C-4b C-7); 127,25 (C-2' C-6'); 129,38 (C-3' C-5'); 130,75 (C-8a); 135,49 (C-4'); 136,50 (C-1'); 150,15 (C-6); 158,44 158,54 (C-4 C-9a); 161,94 (C-2)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,18 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

### 2-Amino-8-methyl-4-((4-methylbenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

Verbindung:	<b>28b</b>
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	333,39 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



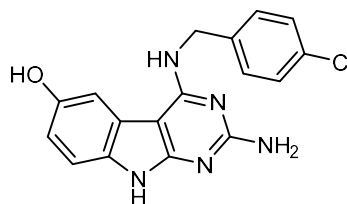
Es wurden 917 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **7b** mit 586 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 170 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 12,8 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,7 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute:	Mischung Isomere: 12,8 %
Schmelzbereich:	299 – 301 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 68,45; H 5,74; N 21,01 gef.: C 68,19; H 5,85; N 20,86
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:334,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:335,2 [M+H] <sup>+</sup> 19 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:332,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:333,2 [M-H] <sup>-</sup> 23 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3461 m „br“ (OH st); 3328 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3178 m „br“ (NH st); 3060 m, 3037 m (aromat. CH st); 2917 m, 2854 w (aliph. CH st); 1650 s (NH <sub>2</sub> δ); 1617 s, 1601 s, 1510 m, 1493 m (C=C st); 1565 m (NH δ);

	1466 s, 1381 w (CH $\delta$ ); 1419 s (C=N st); 1359 m (OH $\delta$ ); 1226 m (CN st); 1180 w (C=O st); 836 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 2,20 (s, 3H, 4'-CH $_3$ ); 2,29 (s, 3H, 8-CH $_3$ ); 5,54 (s, 2H, CH $_2$ ); 5,89 (br, 2H, C-2-NH $_2$ , with D $_2$ O exchangeable); 6,33 (d, $^4J_{7/5} = 2,0$ Hz, 1H, H-7); 6,49 (br, 1H, C-4-NH, with D $_2$ O exchangeable); 6,74 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 7,9$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,04 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 7,9$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,24 (d, $^4J_{5/7} = 2,0$ Hz, 1H, H-5); 8,67 (br, 1H, OH, with D $_2$ O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D $_2$ O exchangeable)
$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 19,29 (8-CH $_3$ ); 21,04 (4'-CH $_3$ ); 45,34 (CH $_2$ ); 89,13 (C-4a); 104,17 (C-5); 114,13 (C-7); 120,47 (C-4b); 123,52 (C-8); 125,60 (C-2' C-6'); 129,02 (C-8a); 129,52 (C-3' C-5'); 136,14 (C-4'); 137,27 (C-1'); 151,95 (C-6); 158,73 159,49 (C-9a C-4); 162,03 (C-2)
R $_f$ -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,28 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

### 2-Amino-4-((4-chlorobenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>29</b>
Summenformel:	C $_{17}$ H $_{14}$ ClN $_5$ O
Molekulargewicht:	339,78 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 747 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **7c** mit 389 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 109 mg graugrüner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 10,7 % entspricht.

Ausbeute:	10,7 %
Schmelzbereich:	274 – 276 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 60,09; H 4,15; N 20,61 gef.: C 59,84; H 4,19; N 20,47
MS (ESI-positiv):	m/z = $^{12}\text{C}$ :340,2 [M+H] $^+$ 99 %; $^{13}\text{C}$ :341,3 [M+H] $^+$ 17 %; $^{37}\text{Cl}$ :342,3 [M+H] $^+$ 22 %
IR:	ATR [ $\nu$ in cm $^{-1}$ ]: 3473 m „br“ (OH st); 3347 s „br“ (NH $_2$ st); 3195 s „br“ (NH st); 3071 m, 3037 m (aromat. CH st); 2923 m, 2851 w (aliph. CH st); 1668 s (NH $_2$ $\delta$ ); 1629 s, 1595 s, 1544 m, 1492 s (C=C st); 1569 s (NH $\delta$ ); 1447 m, 1386 m (CH $\delta$ ); 1409 s (C=N st); 1360 m (OH $\delta$ ); 1212 m (CN st); 1181 w (C=O st); 1093 w (aromat. C-Cl $\delta$ ); 839 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,31 (s, 2H, CH $_2$ ); 5,96 (br, 2H, C-2-NH $_2$ , with D $_2$ O exchangeable); 6,52 (br, 1H, C-4-NH, with D $_2$ O exchangeable); 6,59 (dd, $^3J_{7/8} = 8,6$ Hz $^4J_{7/5} = 2,3$ Hz, 1H, H-7); 7,01 (d, $^3J_{8/7} = 8,6$ Hz, 1H, H-8); 7,17 (dd, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,6$ Hz $^4J_{2'/6'}$ bzw. $6'/2' = 2,0$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,31 (dd, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,6$ Hz $^4J_{3'/5'}$ bzw. $5'/3' = 2,0$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,40 (d, $^4J_{5/7} = 2,3$ Hz, 1H, H-5); 8,74



(br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,18 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

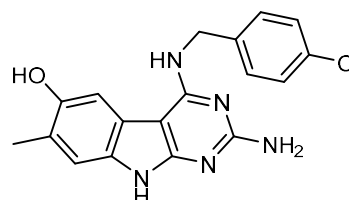
### 2-Amino-4-((2-chlorobenzyl)amino)-7-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **29a**

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 353,81 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 996 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **7c** mit 586 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 201 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 14,2 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,9 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute: Mischung Isomere: 14,2 %

Schmelzbereich: 268 – 270 °C

Elementaranalyse: ber.: C 61,11; H 4,56; N 19,79

gef.: C 60,68; H 4,73; N 19,61

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:354,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:355,2 [M+H]<sup>+</sup> 17 %; <sup>37</sup>Cl:356,2 [M+H]<sup>+</sup> 28 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:352,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:353,1 [M-H]<sup>-</sup> 17 %; <sup>37</sup>Cl:354,2 [M-H]<sup>-</sup> 42 %

IR: ATR [ $\nu$  in cm<sup>-1</sup>]: 3471 w „br“ (OH st); 3374 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3177 m „br“ (NH st); 3067 m, 3037 m (aromat. CH st); 2921 m, 2853 w (aliph. CH st); 1649 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1633 s, 1610 s, 1507 m, 1492 s (C=C st); 1576 s (NH  $\delta$ ); 1462 s, 1384 m (CH  $\delta$ ); 1410 s (C=N st); 1364 m (OH  $\delta$ ); 1231 w (CN st); 1180 w (COH st); 1096 w (aromat. C-Cl  $\delta$ ); 836 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 2,17 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>); 5,31 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,98 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,48 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,97 (s, 1H, H-8); 7,17 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,32 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,34 (s, 1H, H-5); 8,48 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 17,42 (7-CH<sub>3</sub>); 43,39 (CH<sub>2</sub>); 89,10 (C-4a); 106,74 (C-5); 110,72 (C-8); 120,07 120,09 (C-4b C-7); 128,86 (C-3' C-5'); 129,14 (C-2' C-6'); 130,56 (C-8a); 132,03 (C-4'); 137,56 (C-1'); 150,30 (C-6); 158,37 158,49 (C-9a C-4); 161,88 (C-2)

R <sub>f</sub> -Werte:	0,17	Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)
	0,37	Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)
	0,18	Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

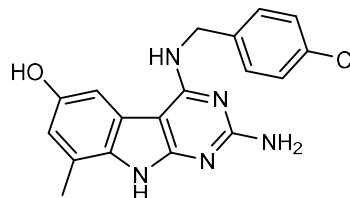
### 2-Amino-4-((4-chlorobenzyl)amino)-8-methyl-9H-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol

Verbindung: **29b**

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 353,81 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 996 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **7c** mit 586 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 201 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 14,2 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,9 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

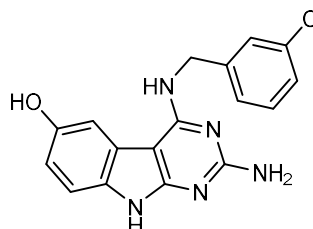
Ausbeute:	Mischung Isomere: 14,2 %
Schmelzbereich:	> 320 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 61,11; H 4,56; N 19,79 gef.: C 60,98; H 4,61; N 19,67
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:354,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:355,2 [M+H] <sup>+</sup> 17 %; <sup>37</sup> Cl:356,2 [M+H] <sup>+</sup> 28 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:352,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:353,1 [M-H] <sup>-</sup> 17 %; <sup>37</sup> Cl:354,2 [M-H] <sup>-</sup> 42 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3465 w „br“ (OH st); 3372 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3169 m „br“ (NH st); 3068 m, 3040 m (aromat. CH st); 2920 m, 2853 w (aliph. CH st); 1651 s (NH <sub>2</sub> δ); 1636 s, 1612 s, 1506 m, 1495 s (C=C st); 1572 s (NH δ); 1460 s, 1383 m (CH δ); 1412 s (C=N st); 1366 m (OH δ); 1230 w (CN st); 1183 w (COH st); 1097 w (aromat. C-Cl δ); 834 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,28 (s, 3H, 8-CH <sub>3</sub> ); 5,58 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,93 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,35 (d, <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,89 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,4 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,25 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-5); 7,31 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,4 Hz, 2H, H-3' H-5'); 8,70 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 19,26 (8-CH <sub>3</sub> ); 45,03 (CH <sub>2</sub> ); 89,13 (C-4a); 104,25 (C-5); 114,20 (C-7); 120,38 (C-4b); 123,61 (C-8); 127,63 (C-3' C-5'); 128,76 (C-8a); 129,02 (C-2' C-6'); 131,72 (C-4'); 139,32 (C-1'); 152,09 (C-6); 158,72 159,41 (C-4 C-9a); 162,01 (C-2)

R <sub>f</sub> -Werte:	0,17	Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)
	0,37	Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)
	0,29	Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-((3-chlorobenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **30**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 339,78 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 624 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7d** mit 324 mg (3,0 mmol; 1,2 q.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 114 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 13,5 % entspricht.

Ausbeute: 13,5 %

Schmelzbereich: 147 – 150 °C

Elementaranalyse: ber.: C 60,09; H 4,15; N 20,61

gef.: C 59,79; H 4,21; N 20,34

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:340,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:341,2 [M+H]<sup>+</sup> 18 %; <sup>37</sup>Cl:342,2 [M+H]<sup>+</sup> 33 %

IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3474 m „br“ (OH st); 3336 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3204 s „br“ (NH st); 3071 m, 3036 m (aromat. CH st); 2924 m, 2851 w (aliph. CH st); 1640 s (NH<sub>2</sub> δ); 1628 s, 1597 s, 1545 m, 1492 s (C=C st); 1569 s (NH δ); 1447 m, 1383 m (CH δ); 1416 s (C=N st); 1354 m (OH δ); 1259 w (OH δ); 1207 w (CN st); 1185 w (C=O st); 1095 w (aromat. C-Cl δ); 793 w, 696 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

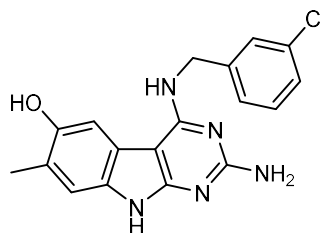
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,97 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,60 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 7,05 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,10 (td, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>6'/2' bzw. 4'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-6'); 7,21 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-2'); 7,25 - 7,31 (m, 2H, H-4' H-5'); 7,41 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 8,75 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,36 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-((3-chlorobenzyl)amino)-7-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>31a</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	353,81 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



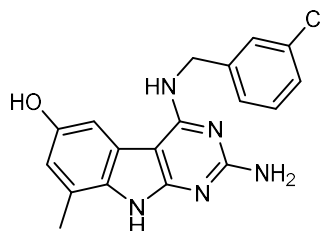
Es wurden 624 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7d** mit 366 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 64 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 7,2 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 3,2 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute:	Mischung Isomere: 7,2 %
Schmelzbereich:	102 – 104 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 61,11; H 4,56; N 19,79 gef.: C 60,85; H 4,69; N 19,52
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:354,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:355,2 [M+H] <sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup> Cl:356,3 [M+H] <sup>+</sup> 29 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:352,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:353,2 [M-H] <sup>-</sup> 18 %; <sup>37</sup> Cl:354,2 [M-H] <sup>-</sup> 30 %
IR:	ATR [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3473 m „br“ (OH st); 3343 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3203 s „br“ (NH st); 3072 m, 3037 m (aromat. CH st); 2919 m, 2852 w (aliph. CH st); 1646 s (NH <sub>2</sub> δ); 1627 s, 1600 s, 1537 m, 1493 m (C=C st); 1570 s (NH δ); 1467 s, 1378 w (CH δ); 1418 s (C=N st); 1359 s (OH δ); 1228 w (CN st); 1183 w (CQH st); 1097 w (aromat. C-Cl δ); 796 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,18 (s, 3H, 7-CH <sub>3</sub> ); 5,33 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,94 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,42 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,00 (s, 1H, H-8); 7,10 (td, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> bzw. <sup>4</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 1,6 Hz, 1H, H-6'); 7,19 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 1,6 Hz, 1H, H-2'); 7,25 - 7,31 (m, 2H, H-4' H-5'); 7,35 (s, 1H, H-5); 8,49 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 17,42 (7-CH <sub>3</sub> ); 43,46 (CH <sub>2</sub> ); 89,12 (C-4a); 106,76 (C-5); 110,63 (C-8); 120,05 120,09 (C-4b C-7); 125,93 (C-6'); 126,95 (C-5'); 127,46 (C-4'); 130,53 (C-2'); 130,83 (C-8a); 133,51 (C-1'); 136,55 (C-3'); 150,05 (C-6); 158,42 158,69 (C-4 C-9a); 162,10 (C-2)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,33 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,17 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-((3-chlorobenzyl)amino)-8-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **31b**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 353,81 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 624 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7d** mit 366 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 64 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 7,2 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 3,2 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute: Mischung Isomere: 7,2 %

Schmelzbereich: &gt; 320 °C

Elementaranalyse: ber.: C 61,11; H 4,56; N 19,79

gef.: C 60,84; H 4,62; N 19,65

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:354,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:355,2 [M+H]<sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup>Cl:356,3 [M+H]<sup>+</sup> 29 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:352,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:353,2 [M-H]<sup>-</sup> 18 %; <sup>37</sup>Cl:354,2 [M-H]<sup>-</sup> 30 %

IR: ATR [ $\nu$  in cm<sup>-1</sup>]: 3478 m „br“ (OH st); 3340 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3197 s „br“ (NH st); 3075 m, 3033 m (aromat. CH st); 2921 m, 2850 w (aliph. CH st); 1650 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1626 s, 1598 s, 1535 m, 1491 m (C=C st); 1572 s (NH  $\delta$ ); 1465 s, 1372 w (CH  $\delta$ ); 1418 s (C=N st); 1363 s (OH  $\delta$ ); 1230 w (CN st); 1182 w (CQH st); 1096 w (aromat. C-Cl  $\delta$ ); 798 w, 698 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 2,29 (s, 3H, 8-CH<sub>3</sub>); 5,60 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,08 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,37 (d, <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-7); 6,69 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,85 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 7,4 Hz, 1H, H-6'); 6,93 (s, 1H, H-2'); 7,25 - 7,32 (m, 3H, H-5 H-4' H-5'); 8,76 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

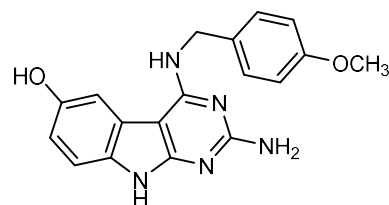
0,33 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

0,27 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-((4-methoxybenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **32**Summenformel:  $C_{18}H_{17}N_5O_2$ 

Molekulargewicht: 335,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 735 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **7e** mit 389 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 176 mg grüngrauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 17,5 % entspricht.

Ausbeute: 17,5 %

Schmelzbereich: 250 – 252 °C

Elementaranalyse: ber.: C 64,47; H 5,11; N 20,88

gef.: C 64,31; H 5,23; N 20,69

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:336,2 [M+H]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}C:337,2 [M+H]^+ 19\%$ 

IR: ATR [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3463 m „br“ (OH st); 3335 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3203 s „br“ (NH st); 3069 m, 3043 m (aromat. CH st); 2917 m, 2850 w (aliph. CH st); 1649 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1625 s, 1595 s, 1513 s, 1498 m (C=C st); 1569 s (NH  $\delta$ ); 1444 m, 1380 w (CH  $\delta$ ); 1415 s (C=N st); 1359 m (OH  $\delta$ ); 1247 m, 1033 w (C-O-C st Ether); 1205 w (CN st); 1177 m (COH st); 825 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 3,66 (s, 3H, 4'-OCH<sub>3</sub>); 5,24 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,99 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,53 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,59 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,80 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,03 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 7,13 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,38 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,73 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

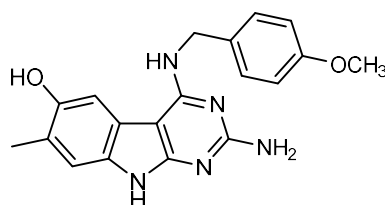
R<sub>f</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,34 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-((4-methoxybenzyl)amino)-7-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **33a**Summenformel:  $C_{19}H_{19}N_5O_2$ 

Molekulargewicht: 349,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2

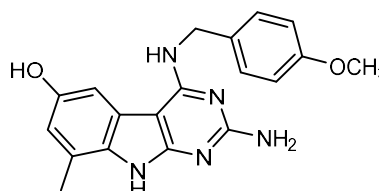


Es wurden 735 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **7e** mit 440 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 210 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 20,0 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,4 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluenten konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute:	Mischung Isomere: 20,0 %
Schmelzbereich:	238 – 240 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04 gef.: C 65,16; H 5,58; N 19,93
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:350,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:351,2 [M+H] <sup>+</sup> 18 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:348,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:349,2 [M-H] <sup>-</sup> 20 %
IR:	ATR [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3475 m „br“ (OH st); 3337 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3194 m „br“ (NH st); 3073 m, 3037 m (aromat. CH st); 2926 m, 2854 w (aliph. CH st); 1653 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1614 s, 1598 s, 1513 s, 1486 m (C=C st); 1569 s (NH $\delta$ ); 1439 s, 1391 w (CH $\delta$ ); 1416 s (C=N st); 1357 m (OH $\delta$ ); 1246 m, 1031 w (C-O-C st Ether); 1205 w (CN st); 1175 m ( <u>COH</u> st); 825 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 2,17 (s, 3H, 7-CH <sub>3</sub> ); 3,66 (s, 3H, 4'-OCH <sub>3</sub> ); 5,23 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,90 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,34 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,80 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,97 (s, 1H, H-8); 7,12 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,31 (s, 1H, H-5); 8,42 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,13 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,31 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,15 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

### 2-Amino-4-((4-methoxybenzyl)amino)-8-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>33b</b>
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	349,39 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



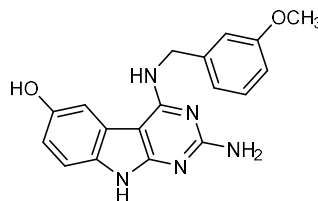
Es wurden 735 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **7e** mit 440 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 210 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 20,0 % entspricht. Die Ausbeute

entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 1,4 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluenten konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute:	Mischung Isomere: 20,0 %
Schmelzbereich:	275 – 277 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04 gef.: C 65,21; H 5,41; N 19,89
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:350,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ; $^{13}\text{C}:351,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 16\%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}:348,2 [\text{M}-\text{H}]^- 100\%$ ; $^{13}\text{C}:349,3 [\text{M}-\text{H}]^- 19\%$
IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3476 m „br“ (OH st); 3340 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3193 m „br“ (NH st); 3070 m, 3039 m (aromat. CH st); 2924 m, 2859 w (aliph. CH st); 1650 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1614 s, 1601 s, 1516 s, 1490 m (C=C st); 1572 s (NH $\delta$ ); 1435 s, 1391 w (CH $\delta$ ); 1414 s (C=N st); 1357 m (OH $\delta$ ); 1244 m, 1030 w (C-O-C st Ether); 1206 w (CN st); 1178 m ( <u>COH</u> st); 824 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 2,31 (s, 3H, 8-CH <sub>3</sub> ); 3,65 (s, 3H, 4'-OCH <sub>3</sub> ); 5,52 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,88 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,33 (d, $^4J_{7/5} = 2,1$ Hz, 1H, H-7); 6,47 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,80 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,9$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,12 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,9$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,23 (d, $^4J_{5/7} = 2,1$ Hz, 1H, H-5); 8,70 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,13 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,31 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,25 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

## 2-Amino-4-((3-methoxybenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>34</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	335,37 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 400 mg (1,6 mmol; 1,0 eq.) **7f** mit 213 mg (2,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 60 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 10,9 % entspricht.

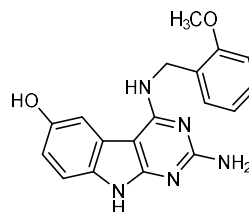
Ausbeute:	10,9 %
Schmelzbereich:	143 – 146 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 64,47; H 5,11; N 20,88 gef.: C 64,41; H 5,13; N 20,84



MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:336,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:337,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 22\%$
IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3455 m „br“ (OH st); 3356 s „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3194 s „br“ (NH st); 3057 m, 3039 m (aromat. CH st); 2920 m, 2849 w (aliph. CH st); 1643 s ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1628 s, 1598 s, 1524 m, 1490 s (C=C st); 1568 s (NH $\delta$ ); 1453 s, 1381 m (CH $\delta$ ); 1415 s (C=N st); 1358 m (OH $\delta$ ); 1260 m, 1049 w (C-O-C st Ether); 1214 m (CN st); 1188 w ( <u>COH</u> st); 791 w, 700 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
${}^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,65 (s, 3H, 3'-OCH <sub>3</sub> ); 5,28 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,95 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,51 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,59 (dd, ${}^3J_{7/8} = 8,6$ Hz ${}^4J_{7/5} = 2,4$ Hz, 1H, H-7); 6,69 (d, ${}^3J_{4'/5'} = 7,7$ Hz, 1H, H-4'); 6,74 - 6,77 (m, 2H, H-2' H-6'); 7,02 (d, ${}^3J_{8/7} = 8,6$ Hz, 1H, H-8); 7,13 - 7,17 (m, 1H, H-5'); 7,39 (d, ${}^4J_{5/7} = 2,4$ Hz, 1H, H-5); 8,73 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,87 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-((2-methoxybenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>35</b>
Summenformel:	$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2$
Molekulargewicht:	335,37 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 613 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7g** mit 324 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 138 mg graugrüner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 16,4 % entspricht.

Ausbeute:	16,4 %
Schmelzbereich:	152 – 154 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 64,47; H 5,11; N 20,88 gef.: C 64,39; H 5,15; N 20,82
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:336,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:337,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 23\%$
IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3470 m „br“ (OH stv); 3348 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3193 m „br“ (NH st); 3054 m, 3037 m (aromat. CH st); 2922 m, 2850 w (aliph. CH st); 1646 s ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1630 s, 1600 s, 1543 m, 1491 s (C=C st); 1566 s (NH $\delta$ ); 1463 m, 1383 m (CH $\delta$ ); 1415 s (C=N st); 1363 m (OH $\delta$ ); 1244 m, 1026 w (C-O-C st Ether); 1215 w (CN st); 1193 w ( <u>COH</u> st); 751 w (CH $\delta$ 1,2-disubst. Aromat)
${}^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,89 (s, 3H, O-CH <sub>3</sub> ); 5,26 (s, 2H, CH <sub>2</sub> ); 5,92 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,36 (d, J = 7,4 Hz, 1H, H-3'); 6,51 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,58 (dd, J = 8,5 Hz, J = 2,1 Hz, 1H, H-7); 6,69 (t, J = 7,4 Hz, 1H, H-5'); 6,92 (d, J = 8,6 Hz, 1H, H-6'); 7,01 (d, J = 8,5 Hz,

1H, H-8); 7,17 (t, J = 7,4 Hz, 1H, H-4'); 7,42 (d, J = 2,1 Hz, 1H, H-5); 8,74 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,95 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,39 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

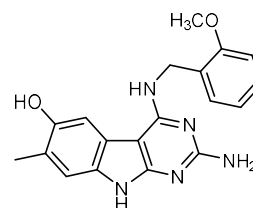
### 2-Amino-4-((2-methoxybenzyl)amino)-7-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **36a**

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 349,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 613 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7g** mit 366 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 184 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 21,0 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 3,4 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute: Mischung Isomere: 21,0 %

Schmelzbereich: 172 – 174 °C

Elementaranalyse: ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04

gef.: C 65,56; H 5,39; N 19,85

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:350,3 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:351,3 [M+H]<sup>+</sup> 27 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:348,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:349,3 [M-H]<sup>-</sup> 24 %

IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3489 m „br“ (OH st); 3388 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3194 m „br“ (NH st); 3072 m, 3035 m (aromat. CH st); 2920 m, 2851 w (aliph. CH st); 1656 s (NH<sub>2</sub> δ); 1610 s, 1597 s, 1553 m, 1493 s (C=C st); 1567 s (NH δ); 1422 s (C=N st); 1366 m (OH δ); 1248 s, 1026 w (C-O-C st Ether); 1233 m (CN st); 1189 m (CQH st); 747 w (CH δ 1,2-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,16 (s, 3H, 7-CH<sub>3</sub>); 3,90 (s, 3H, 2'-OCH<sub>3</sub>); 5,25 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,88 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,33 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'/4'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-3'); 6,37 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,68 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'bzw.6'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 6,88 (s, 1H, H-8); 7,01 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-6'); 7,18 (t, <sup>3</sup>J<sub>4'/3'bzw.5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,35 (s, 1H, H-5); 8,45 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

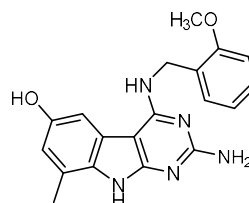
0,35 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

0,16 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-((2-methoxybenzyl)amino)-8-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **36b**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 349,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 613 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **7g** mit 366 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) 2-Methylbenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 184 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 21,0 % entspricht. Die Ausbeute entspricht der Mischung aus Isomer A und B. Das zugehörige <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Substanzmischung indiziert ein Verhältnis von ca. 3,4 zu 1. Unter Verwendung einer weiteren säulenchromatographischen Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent konnte eine vollständige Trennung der Isomeren erfolgen.

Ausbeute: Mischung Isomere: 21,0 %

Schmelzbereich: 217 – 218 °C

Elementaranalyse: ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04  
gef.: C 64,96; H 5,55; N 19,79MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:350,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:351,2 [M+H]<sup>+</sup> 21 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:348,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:349,1 [M-H]<sup>-</sup> 16 %IR: ATR [ $\nu$  in cm<sup>-1</sup>]: 3496 m „br“ (OH st); 3390 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3188 m „br“ (NH st); 3070 m, 3032 m (aromat. CH st); 2921 m, 2854 w (aliph. CH st); 1649 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1612 s, 1599 s, 1554 m, 1490 s (C=C st); 1569 s (NH  $\delta$ ); 1420 s (C=N st); 1368 m (OH  $\delta$ ); 1246 s, 1023 w (C-O-C st Ether); 1230 m (CN st); 1189 m (COH st); 746 w (CH  $\delta$  1,2-disubst. Aromat)<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 2,22 (s, 3H, 8-CH<sub>3</sub>); 3,88 (s, 3H, 2'-OCH<sub>3</sub>); 5,49 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,87 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,33 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'/4'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-3'); 6,35 (d, <sup>4</sup>J<sub>7/8</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 6,48 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,68 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4' bzw. 6'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 7,01 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-6'); 7,18 (t, <sup>3</sup>J<sub>4'/3' bzw. 5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,26 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-5); 8,72 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)R<sub>f</sub>-Werte: 0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

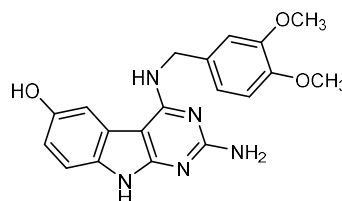
0,35 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

0,26 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-((3,4-dimethoxybenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **37**Summenformel:  $C_{19}H_{19}N_5O_3$ 

Molekulargewicht: 365,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 385 mg (1,4 mmol; 1,0 eq.) **7h** mit 182 mg (1,7 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 100 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 19,6 % entspricht.

Ausbeute: 19,6 %

Schmelzbereich: 125 – 127 °C

Elementaranalyse: ber.: C 62,46; H 5,24; N 19,17

gef.: C 62,35; H 5,28; N 19,09

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:366,1 [M+H]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}C:367,1 [M+H]^+ 17\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:364,1 [M-H]^- 100\%$ ;  ${}^{13}C:365,1 [M-H]^- 25\%$ 

IR: ATR [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3454 m „br“ (OH st); 3347 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3195 s „br“ (NH st); 3065 m, 3039 m (aromat. CH st); 2923 m, 2852 w (aliph. CH st); 1645 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1630 s, 1594 s, 1515 s, 1465 s (C=C st); 1568 s (NH  $\delta$ ); 1451 m, 1390 w (CH  $\delta$ ); 1417 s (C=N st); 1363 s (OH  $\delta$ ); 1259 m, 1238 m, 1026 w (C-O-C st Ether); 1214 m (CN st); 1187 m (COH st)

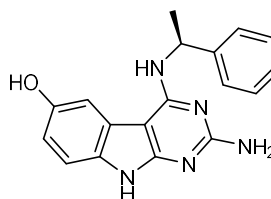
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 3,62 (s, 3H, 3'-OCH<sub>3</sub>); 3,66 (s, 3H, 4'-OCH<sub>3</sub>); 5,23 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 5,95 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,48 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,55 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 8,4 Hz <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-6'); 6,60 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-7); 6,77 (d, <sup>3</sup>J<sub>5'/6'</sub> = 8,4 Hz, 1H, H-5'); 7,00 (d, <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-2'); 7,06 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 7,38 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-5); 8,72 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,95 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,18 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,42 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**(S)-2-Amino-4-((1-phenylethyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **38**Summenformel:  $C_{18}H_{17}N_5O$ 

Molekulargewicht: 319,37 g/mol



Darstellung: nach AAV 2

Es wurden 458 mg (2,0 mmol; 1,0 eq.) **7i** mit 259 mg (2,4 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 30 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,8 % entspricht.

Ausbeute: 4,8 %  
 Schmelzbereich: 124 – 126 °C  
 Elementaranalyse: ber.: C 67,70; H 5,37; N 21,93  
 gef.: C 67,75; H 5,42; N 21,83  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:320,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:321,1 [M+H]<sup>+</sup> 18 %  
 IR: ATR [ $\nu$  in cm<sup>-1</sup>]: 3471 m „br“ (OH st); 3360 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3199 m „br“ (NH st); 3065 m, 3032 m (aromat. CH st); 2923 m, 2851 w (aliph. CH st); 1646 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1618 s, 1590 s, 1493 m, 1477 m (C=C st); 1567 s (NH  $\delta$ ); 1448 m, 1376 m (CH  $\delta$ ); 1412 s (C=N st); 1361 s (OH  $\delta$ ); 1219 m (CN st); 1187 m (CQH st); 750 w, 699 w (CH  $\delta$  monosubst. Aromat)  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 1,87 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 7,1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>); 5,92 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,18 (q, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 7,1 Hz, 1H, NH-CH-Ph); 6,46 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,48 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,76 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 7,17 - 7,30 (m, 5H, Ph); 7,37 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,70 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
 R<sub>f</sub>-Werte: 0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
 0,37 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

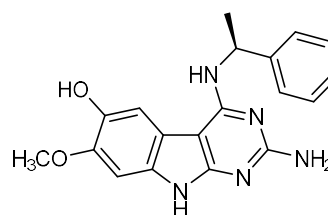
**(S)-2-Amino-7-methoxy-4-((1-phenylethyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung: **39**

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 349,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



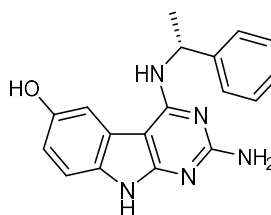
Es wurden 917 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **7i** mit 663 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) 2-Methoxybenzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 16 mg graugrüner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 1,1 % entspricht.

Ausbeute: 1,1 %  
 Schmelzbereich: 138 – 140 °C  
 Elementaranalyse: ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04  
 gef.: C 65,25; H 5,53; N 19,88  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:350,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:351,1 [M+H]<sup>+</sup> 20 %

MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:348,1 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:349,2 [\text{M}-\text{H}]^- 20\%$
IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3473 m „br“ (OH st); 3372 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3198 m „br“ (NH st); 3070 m, 3031 m (aromat. CH st); 2915 m, 2850 w (aliph. CH st); 1644 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1616 m, 1596 s, 1506 w, 1489 m (C=C st); 1570 s (NH $\delta$ ); 1451 m, 1378 w (CH $\delta$ ); 1413 s (C=N st); 1354 w (OH $\delta$ ); 1229 w, 1164 w (C-O-C st Ether); 1218 w (CN st); 1186 w (COH st); 752 w, 699 w (CH $\delta$ monosubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 1,91 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 7,5 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> ); 3,59 (s, 3H, 7-OCH <sub>3</sub> ); 5,81 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,18 (q, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 7,5 Hz, 1H, NH-CH-Ph); 6,40 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,54 (s, 1H, H-8); 7,21 - 7,32 (m, 5H, Ph); 7,45 (s, 1H, H-5); 8,06 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**(R)-2-Amino-4-((1-phenylethyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>40</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	319,37 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 1605 mg (7,0 mmol; 1,0 eq.) **7j** mit 1135 mg (10,5 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Erhaltene Fraktionen enthielten eine Verunreinigung und wurden erneut säulenchromatographisch getrennt mit Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) als Eluent. Es wurden 52 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 2,3 % entspricht.

Ausbeute:	2,3 %
Schmelzbereich:	124 – 126 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 67,70; H 5,37; N 21,93 gef.: C 67,63; H 5,39; N 21,86
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:320,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% ; {}^{13}\text{C}:321,1 [\text{M}+\text{H}]^+ 18\%$
MS (ESI-negativ):	$m/z = {}^{12}\text{C}:318,3 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% ; {}^{13}\text{C}:319,3 [\text{M}-\text{H}]^- 20\%$
IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3474 m „br“ (OH st); 3372 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3199 m „br“ (NH st); 3067 m, 3030 m (aromat. CH st); 2927 m, 2855 w (aliph. CH st); 1660 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1621 s, 1593 s, 1490 m, 1479 m (C=C st); 1570 s (NH $\delta$ ); 1449 m, 1377 w (CH $\delta$ ); 1415 m (C=N st); 1366 w (OH $\delta$ ); 1206 w (CN st); 1188 w (COH st); 751 w, 699 w (CH $\delta$ monosubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 1,87 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 7,4 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> ); 5,92 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,19 (q, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 7,4 Hz, 1H, NH-CH-Ph); 6,46 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,48 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O

exchangeable); 6,76 (d,  $^3J_{8/7} = 8,8$  Hz 1H, H-8); 7,19 - 7,30 (m, 5H, **Ph**); 7,37 (d,  $^4J_{5/7} = 2,3$  Hz, 1H, H-5); 8,70 (br, 1H, **OH**, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
0,37 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

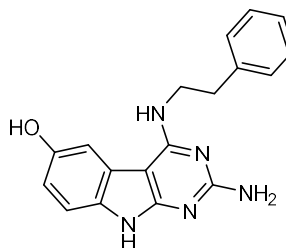
### 2-Amino-4-(phenethylamino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **41**

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 319,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1147 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **7k** mit 649 mg (6,0 mmol, 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 110 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 6,9 % entspricht.

Ausbeute: 6,9 %

Schmelzbereich: 216 – 219 °C

Elementaranalyse: ber.: C 67,70; H 5,37; N 21,93

gef.: C 67,23; H 5,49; N 21,66

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:320,2 [M+H]<sup>+</sup> 100%; <sup>13</sup>C:321,3 [M+H]<sup>+</sup> 20 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:318,3 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:319,3 [M-H]<sup>-</sup> 21 %

IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3472 m „br“ (OH st); 3373 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3199 s „br“ (NH st); 3063 m, 3028 m (aromat. CH st); 2924 m, 2851 w (aliph. CH st); 1647 m (NH<sub>2</sub> δ); 1623 s, 1595 s, 1546 w, 1495 s (C=C st); 1568 s (NH δ); 1453 m, 1381 m (CH δ); 1418 s (C=N st); 1362 w (OH δ); 1205 w (CN st); 1168 w (C=O st); 749 w, 701 w (CH δ monosubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,96 (t,  $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 8,1$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph); 4,30 (t,  $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 8,1$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph); 6,00 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,53 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (dd,  $^3J_{7/8} = 8,4$  Hz  $^4J_{7/5} = 2,2$  Hz, 1H, H-7); 7,11 (d,  $^3J_{8/7} = 8,4$  Hz, 1H, H-8); 7,17 - 7,28 (m, 5H, **Ph**); 7,38 (d,  $^4J_{5/7} = 2,2$  Hz, 1H, H-5); 8,73 (br, 1H, **OH**, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 34,87 (CHCH<sub>2</sub>Ph); 42,46 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Ph); 88,95 (C-4a); 106,38 (C-5); 109,30 (C-8); 110,74 (C-7); 122,32 (C-4b); 126,72 (C-4'); 128,77 (C-2' C-6'); 129,18 (C-3' C-5'); 130,59 (C-8a); 139,21 (C-1'); 152,08 (C-6); 158,21 158,31 (C-9a C-4); 161,59 (C-2)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,13 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,35 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

### 5.1.2.5.2. Synthese 4-anilino-/4-benzyloxyanilinosubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

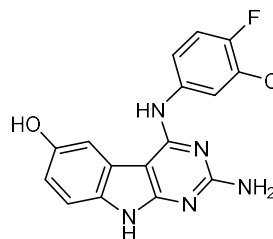
#### 2-Amino-4-((3-chloro-4-fluorophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: 42

Summenformel:  $C_{16}H_{11}ClFN_5O$

Molekulargewicht: 343,75 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 506 mg (2,0 mmol; 1,0 eq.) **8a** mit 259 mg (2,4 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 30 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,4 % entspricht.

Ausbeute: 4,4 %

Schmelzbereich: 237 – 239 °C

HPLC-Reinheit: 99,02 % (Retentionszeit: 9,54 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = ^{12}C:344,2 [M+H]^+ 100\%$ ;  $^{13}C:345,2 [M+H]^+ 19\%$ ;  $^{37}Cl:346,2 [M+H]^+ 35\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = ^{12}C:342,3 [M-H]^- 100\%$ ;  $^{13}C:343,2 [M-H]^- 22\%$ ;  $^{37}Cl:344,3 [M-H]^- 34\%$

IR: ATR [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3463 m „br“ (OH st); 3354 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3194 m „br“ (NH st); 3068 m, 3032 m (aromat. CH st); 1640 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1626 m, 1596 m, 1536 w, 1503 s (C=C st); 1573 m (NH  $\delta$ ); 1414 m (C=N st); 1366 m (OH  $\delta$ ); 1216 w (CN st); 1206 w (aromat. C-F  $\delta$ ); 1187 m (C=O st); 1058 w (aromat. C-Cl  $\delta$ ); 876 w, 820 w (CH  $\delta$  1,3,4-trisubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,98 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,61 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,64 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,94 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,45 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,52 - 7,55 (m, 1H, H-6'); 7,59 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/Fbz.w.6'</sub> = 8,9 Hz, 1H, H-5'); 7,76 (dd, <sup>4</sup>J<sub>2'/F</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-2'); 8,90 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,21 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

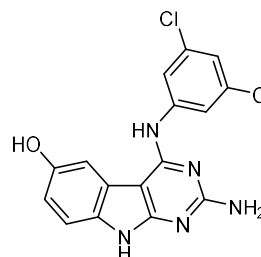
0,47 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

#### 2-Amino-4-((3,5-dichlorophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: 43

Summenformel:  $C_{16}H_{11}Cl_2N_5O$

Molekulargewicht: 360,20 g/mol





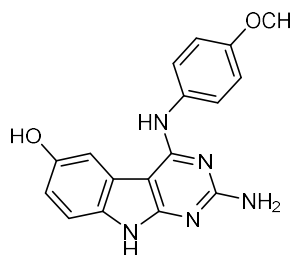
Darstellung: nach AAV 2

Es wurden 810 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **8b** mit 389 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 7 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 0,7 % entspricht.

Ausbeute: 0,7 %  
 Schmelzbereich: 220 – 223 °C  
 Elementaranalyse: ber.: C 53,35; H 3,08; N 19,44  
 gef.: C 52,81; H 3,21; N 19,16  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:360,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:361,2 [M+H]<sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup>Cl:362,1 [M+H]<sup>+</sup> 66 %  
 MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:358,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:359,1 [M-H]<sup>-</sup> 16 %; <sup>37</sup>Cl:360,1 [M-H]<sup>-</sup> 70%  
 IR: ATR [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3470 m „br“ (OH st); 3356 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3194 m „br“ (NH st); 3067 m, 3035 m (aromat. CH st); 1644 m (NH<sub>2</sub> δ); 1625 s, 1600 s, 1525 w, 1490 m (C=C st); 1580 s (NH δ); 1405 m (C=N st); 1371 s (OH δ); 1216 w (CN st); 1188 w (COH st); 1053 (aromat. C-Cl δ)  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,97 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,61 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,00 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,24 (s, 1H, H-4'); 7,30 (s, 2H, H-2' H-6'); 7,43 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,86 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,85 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
 R<sub>f</sub>-Werte: 0,24 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
 0,51 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

### 2-Amino-4-((4-methoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **44**  
 Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>  
 Molekulargewicht: 321,34 g/mol  
 Darstellung: nach AAV 2



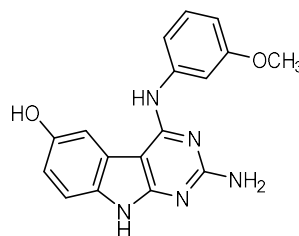
Es wurden 809 mg (3,5 mmol; 1,0 eq.) **8c** mit 454 mg (4,2 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 33 mg hellgrauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 2,9 % entspricht.

Ausbeute: 2,9 %  
 Schmelzbereich: 266 – 268 °C  
 Elementaranalyse: ber.: C 63,54; H 4,71; N 21,79  
 gef.: C 63,46; H 4,79; N 21,68  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:322,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:323,2 [M+H]<sup>+</sup> 20 %  
 MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:320,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:321,3 [M-H]<sup>-</sup> 19 %

IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3474 m „br“ (OH st); 3372 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3184 m „br“ (NH st); 3071 m, 3043 m (aromat. CH st); 2917 m, 2850 w (aliph. CH st); 1655 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1625 s, 1595 s, 1537 w, 1514 s (C=C st); 1567 s (NH $\delta$ ); 1455 m, 1393 w (CH $\delta$ ); 1416 m (C=N st); 1367 s (OH $\delta$ ); 1249 m, 1031 w (C-O-C st Ether); 1204 m (CN st); 1171 w ( $\underline{\text{COH}}$ st); 844 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,82 (s, 3H, 4'- $\text{OCH}_3$ ); 6,03 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,62 (dd, $^3J_{7/8} = 8,5$ Hz $^4J_{7/5} = 2,4$ Hz, 1H, H-7); 6,68 (br, 1H, C-4- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,84 (d, $^3J_{8/7} = 8,5$ Hz, 1H, H-8); 7,09 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,8$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,36 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,8$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,45 (d, $^4J_{5/7} = 2,4$ Hz, 1H, H-5); 8,85 (br, 1H, OH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 11,90 (br, 1H, C-8a- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,17 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,37 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

### 2-Amino-4-((3-methoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>45</b>
Summenformel:	$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2$
Molekulargewicht:	321,34 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



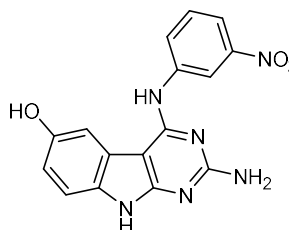
Es wurden 809 mg (3,5 mmol; 1,0 eq.) **8d** mit 454 mg (4,2 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 65 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 5,8 % entspricht.

Ausbeute:	5,8 %
Schmelzbereich:	139 – 142 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 63,54; H 4,71; N 21,79 gef.: C 63,28; H 4,83; N 21,69
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:322,2$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 100 %; $^{13}\text{C}:323,2$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 20 %
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}:320,4$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 100 %; $^{13}\text{C}:321,4$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 18 %
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3472 m „br“ (OH st); 3336 s „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3198 s „br“ (NH st); 3070 m, 3040 m (aromat. CH st); 2926 m, 2854 w (aliph. CH st); 1643 s ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1605 s, 1590 s, 1539 w, 1498 s (C=C st); 1569 s (NH $\delta$ ); 1454 m, 1389 m (CH $\delta$ ); 1411 s (C=N st); 1366 m (OH $\delta$ ); 1223 m, 1044 w (C-O-C st Ether); 1207 m (CN st); 1181 w ( $\underline{\text{COH}}$ st); 794 w, 690 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,79 (s, 3H, 3'- $\text{OCH}_3$ ) 5,93 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,56 (br, 1H, C-4- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,63 (dd, $^3J_{7/8} = 8,5$ Hz $^4J_{7/5} = 2,3$ Hz, 1H, H-7); 6,95 - 7,06 (m, 3H, H-2' H-4' H-6'); 7,04 (d, $^3J_{8/7} = 8,5$ Hz, 1H, H-8); 7,44 (d, $^4J_{5/7} = 2,3$ Hz, 1H, H-5); 7,44 (t,

	$^3J_{5'/4' \text{ bzw. } 6'} = 8,3 \text{ Hz}$ , 1H, H-5'); 8,86 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,18 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,42 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-((3-nitrophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>46a</b>
Summenformel:	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> N <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
Molekulargewicht:	336,31 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2

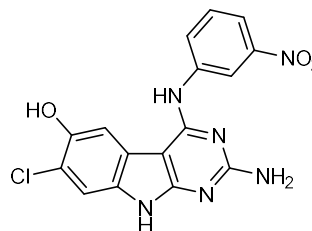


Es wurden 1231 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **8e** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach unvollständiger Trennung vom zusätzlich 7-chlorierten Nebenprodukt **46b** musste eine weitere chromatographische Trennung per MPLC erfolgen, welches in Summe zu reduzierter Ausbeute führte. Es wurden 13 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 0,8 % entspricht.

Ausbeute:	0,8 %
Schmelzbereich:	232 – 235 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 57,14; H 3,60; N 24,99 gef.: C 56,96; H 3,71; N 24,81
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:337,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:338,2 [M+H] <sup>+</sup> 20 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3472 m „br“ (OH st); 3378 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3198 m „br“ (NH st); 3059 m, 3037 m (aromat. CH st); 1645 m (NH <sub>2</sub> δ); 1624 s, 1596 s, 1500 m, 1476 s (C=C st); 1572 s (NH δ); 1529 s (NO <sub>2</sub> st); 1410 m (C=N st); 1363 m (OH δ); 1347 s (NO <sub>2</sub> δ); 1205 m (CN st); 1179 w (COH st); 793 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,01 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,66 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,68 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,09 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,49 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 7,84 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4' bzw. 6'</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 8,05 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-4'); 8,24 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2' bzw. 4'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-6'); 8,35 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-2'); 8,96 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,86 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,44 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,43 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-7-chloro-4-((3-nitrophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>46b</b>
Summenformel:	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
Molekulargewicht:	370,75 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2

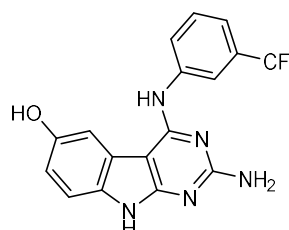


Es wurden 1231 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **8e** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach unvollständiger Trennung vom 7-unsubstituierten Produkt **46a** musste eine weitere chromatographische Trennung per MPLC erfolgen, welches in Summe zu reduzierter Ausbeute führte. Es wurden 16 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 0,9 % entspricht.

Ausbeute:	0,9 %
Schmelzbereich:	207 – 209 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 51,83; H 2,99; N 22,67 gef.: C 51,65; H 3,11; N 22,48
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:371,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:372,2 [M+H] <sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup> Cl:373,2 [M+H] <sup>+</sup> 30 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3470 m „br“ (OH st); 3372 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3201 m „br“ (NH st); 3061 m, 3035 m (aromat. CH st); 1643 m (NH <sub>2</sub> δ); 1621 s, 1598 s, 1506 m, 1478 s (C=C st); 1571 s (NH δ); 1530 s (NO <sub>2</sub> st); 1412 m (C=N st); 1359 m (OH δ); 1348 s (NO <sub>2</sub> δ); 1209 m (CN st); 1180 w (COH st); 1066 w (aromat. C-Cl δ); 795 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,11 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,73 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,19 (s, 1H, H-8); 7,64 (s, 1H, H-5); 7,85 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw.6' = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 8,04 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-4'); 8,26 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> bzw.4' = 1,9 Hz, 1H, H-6'); 8,34 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw.6' = 2,1 Hz, 1H, H-2'); 9,35 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,90 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,44 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,37 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>47a</b>
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	359,31 g/mol



Darstellung: nach AAV 2

Es wurden 942 mg (3,5 mmol; 1,0 eq.) **8f** mit 454 mg (4,2 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach unvollständiger Trennung vom zusätzlich 7-chlorierten Nebenprodukt **47b** musste eine weitere chromatographische Trennung per MPLC erfolgen, welches in Summe zu reduzierter Ausbeute führte. Es wurden 15,0 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 1,2 % entspricht. In späteren Umsetzungen wurde eine säulenchromatographische Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent genutzt, welche zur vollständigen Trennung der beiden Derivate führte.

Ausbeute: 1,2 %  
 Schmelzbereich: 275 – 277 °C  
 HPLC-Reinheit: 99,92 % (Retentionszeit: 11,33 min)  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:360,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:361,4 [\text{M}+\text{H}]^+ 20\%$   
 MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:358,4 [\text{M}-\text{H}]^- 100\%$ ;  ${}^{13}\text{C}:359,4 [\text{M}-\text{H}]^- 19\%$   
 IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3468 m „br“ (OH st); 3347 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3198 s „br“ (NH st); 3068 m, 3036 m (aromat. CH st); 1640 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1620 s, 1593 s, 1538 m, 1499 m (C=C st); 1563 s (NH  $\delta$ ); 1404 s (C=N st); 1367 m (OH  $\delta$ ); 1321 s (aliph. C-F  $\delta$ ); 1203 m (CN st); 1169 m (COH st); 798 w, 698 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)  
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,97 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,65 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,66 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,96 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 7,48 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,75 - 7,86 (m, 4H, H-2' H-4' H-5' H-6'); 8,92 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 89,44 (C-4a); 106,50 (C-5); 109,46 (C-8); 110,99 (C-7); 115,89 (C-2'); 123,12 (C-4b); 124,07 (C-4'); 124,25 (CF<sub>3</sub>); 130,37 (C-6'); 130,51 (C-8a); 131,18 (C-5'); 131,80 (C-3'); 137,58 (C-1'); 153,07 (C-6); 158,99 159,06 (C-4 C-9a); 162,39 (C-2)  
 R<sub>f</sub>-Werte: 0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
 0,44 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)  
 0,43 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

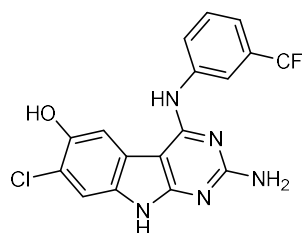
### 2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **47b**

Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 393,75 g/mol

Darstellung: nach AAV 2

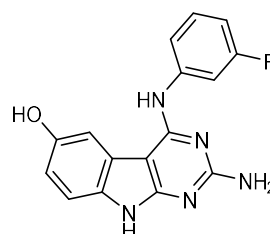


Es wurden 942 mg (3,5 mmol; 1,0 eq.) **8f** mit 454 mg (4,2 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Nach unvollständiger Trennung vom 7-unsubstituierten Produkt **47a** musste eine weitere chromatographische Trennung per MPLC erfolgen, welches in Summe zu reduzierter Ausbeute führte. Es wurden 17 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 1,2 % entspricht. In späteren Umsetzungen wurde eine säulenchromatographische Trennung mit Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V) als Eluent genutzt, welche zur vollständigen Trennung der beiden Derivate führte.

Ausbeute:	1,2 %
Schmelzbereich:	248 – 249 °C
HPLC-Reinheit:	98,07 % (Retentionszeit: 12,04 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:394,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:395,2 [M+H] <sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup> Cl:396,2 [M+H] <sup>+</sup> 35 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:392,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:393,1 [M-H] <sup>-</sup> 18 %; <sup>37</sup> Cl:394,1 [M-H] <sup>-</sup> 34 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3465 m „br“ (OH st); 3342 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3201 s „br“ (NH st); 3066 m, 3036 m (aromat. CH st); 1647 s (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1618 s, 1595 s, 1532 m, 1500 m (C=C st); 1563 s (NH $\delta$ ); 1406 s (C=N st); 1365 m (OH $\delta$ ); 1322 s (aliph. C-F $\delta$ ); 1205 m (CN st); 1172 m ( <u>COH</u> st); 1069 m (aromat. C-Cl $\delta$ ); 798 w, 697 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 6,08 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,70 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,02 (s, 1H, H-8); 7,64 (s, 1H, H-5); 7,79 - 7,89 (m, 4H, H-2' H-4' H-5' H-6'); 9,30 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 89,04 (C-4a); 108,38 (C-5); 109,78 (C-8); 115,89 (C-7); 116,07 (C-2'); 121,87 (C-4b); 124,57 (C-4'); 124,66 (CF <sub>3</sub> ); 130,77 (C-6'); 131,06 (C-8a); 131,25 (C-5'); 131,96 (C-3'); 137,07 (C-1'); 148,21 (C-6); 159,13 159,50 (C-4 C-9a); 162,62 (C-2)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,44 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V) 0,37 Chloroform/Pyridin 50:50 (V/V)

## 2-Amino-4-((3-fluorophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>48</b>
Summenformel:	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> FN <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	309,30 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2

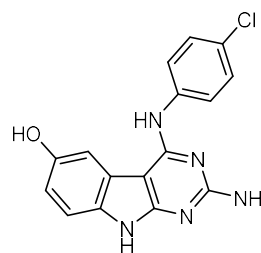


Es wurden 658 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **8g** mit 487 mg (4,5 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 130 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 14,0 % entspricht.

Ausbeute:	14,0 %
Schmelzbereich:	165 – 168 °C
HPLC-Reinheit:	98,57 % (Retentionszeit: 8,37 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:310,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:311,4 [M+H] <sup>+</sup> 20 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:308,4 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:309,3 [M-H] <sup>-</sup> 16 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3466 m „br“ (OH st); 3345 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3200 s „br“ (NH st); 3067 m, 3035 m (aromat. CH st); 1648 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1624 s, 1599 s, 1496 s, 1476 m (C=C st); 1570 s (NH $\delta$ ); 1410 s (C=N st); 1368 w (OH $\delta$ ); 1213 m (CN st); 1195 m (COH st); 794 w, 686 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 5,99 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,62 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,64 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,02 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,24 (dt, <sup>3</sup> J <sub>4'/Fbzw.5'</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2' bzw.6'</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-4'); 7,37 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-6'); 7,41 (td, <sup>3</sup> J <sub>2'/F</sub> = 10,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw.6'</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-2'); 7,46 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 7,58 (q, <sup>3</sup> bzw. <sup>4</sup> J <sub>5'/Fbzw.4' bzw.6'</sub> = 7,5 Hz, 1H, H-5'); 8,90 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,89 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 89,40 (C-4a); 106,40 (C-5); 109,74 (C-8); 110,96 (C-7); 114,13 114,30 (C-2'); 114,83 115,02 (C-4'); 123,00 (C-4b); 123,55 123,58 (C-6'); 130,51 (C-8a); 131,17 131,24 (C-5'); 138,30 138,39 (C-1'); 152,97 (C-6); 158,88 158,97 (C-3'); 161,68 162,30 (C-9a, C-4); 163,63 (C-2)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,18 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

### 2-Amino-4-((4-chlorophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>49</b>
Summenformel:	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	325,76 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



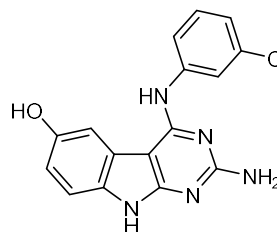
Es wurden 825 mg (3,5 mmol; 1,0 eq.) **8h** mit 454 mg (4,2 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 105 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 9,2 % entspricht.

Ausbeute:	9,2 %
Schmelzbereich:	295 – 297 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 58,99; H 3,71; N 21,50 gef.: C 58,65; H 3,46; N 21,35
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:326,7 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:327,7 [M+H] <sup>+</sup> 20 %; <sup>37</sup> Cl:328,9 [M+H] <sup>+</sup> 38 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:324,7 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:325,7 [M-H] <sup>-</sup> 18 %; <sup>37</sup> Cl:326,6 [M-H] <sup>-</sup> 32 %

IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3470 m „br“ (OH st); 3339 s „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3189 s „br“ (NH st); 3073 m, 3048 m (aromat. CH st); 1663 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1622 s, 1587 s, 1496 s, 1473 s (C=C st); 1567 s (NH $\delta$ ); 1411 s (C=N st); 1366 m (OH $\delta$ ); 1204 w (CN st); 1176 m ( $\underline{\text{COH}}$ st); 1091 m (aromat. C-Cl $\delta$ ); 1280 w (OH $\delta$ ); 794 w, 701 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,99 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,63 (dd, $^3J_{7/8} = 8,9$ Hz $^4J_{7/5} = 2,2$ Hz, 1H, H-7); 6,66 (br, 1H, C-4-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,96 (d, $^3J_{8/7} = 8,9$ Hz, 1H, H-8); 7,46 (d, $^4J_{5/7} = 2,2$ Hz, 1H, H-5); 7,54 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,7$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,61 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,7$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 8,91 (br, 1H, OH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 11,95 (br, 1H, C-8a-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
$R_f$ -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-chlorophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>50</b>
Summenformel:	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{ClN}_5\text{O}$
Molekulargewicht:	325,76 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 589 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **8i** mit 324 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 62 mg hellgrauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 7,6 % entspricht.

Ausbeute:	7,6 %
Schmelzbereich:	164 – 166 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 58,99; H 3,71; N 21,50 gef.: C 58,69; H 3,52; N 21,39
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:326,2$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 100 %; $^{13}\text{C}:327,2$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 17 %; $^{37}\text{Cl}:328,3$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 28%
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}:324,3$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 100 %; $^{13}\text{C}:325,3$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 19 %; $^{37}\text{Cl}:326,3$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 32%
IR:	ATR [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3474 m „br“ (OH st); 3379 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3194 m „br“ (NH st); 3070 m, 3033 m (aromat. CH st); 1666 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1626 s, 1602 s, 1529 w, 1487 s (C=C st); 1570 s (NH $\delta$ ); 1407 m (C=N st); 1371 s (OH $\delta$ ); 1203 m (CN st); 1183 w ( $\underline{\text{COH}}$ st); 1075 w (aromat. C-Cl $\delta$ ), 792 w, 696 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,99 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,62 (br, 1H, C-4-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,64 (dd, $^3J_{7/8} = 8,7$ Hz $^4J_{7/5} = 2,4$ Hz, 1H, H-7); 6,97 (d, $^3J_{8/7} = 8,7$ Hz, 1H, H-8); 7,46 (d, $^4J_{5/7} = 2,4$ Hz, 1H, H-5); 7,49 (d, $^3J_{4'/5'} = 7,8$ Hz, 1 H, H-4'); 7,55 - 7,62 (m, 3H, H-2' H-5' H-6'); 8,90 (br, 1H, OH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)



R<sub>f</sub>-Werte: 0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
0,41 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

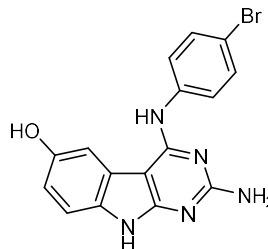
**2-Amino-4-((4-bromophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung: **51**

Summenformel: C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>BrN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 370,21 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1121 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **8j** mit 519 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 90 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 6,1 % entspricht.

Ausbeute: 6,1 %

Schmelzbereich: 303 – 305 °C

Elementaranalyse: ber.: C 51,91; H 3,27; N 18,92

gef.: C 51,75; H 3,14; N 18,55

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:370,8 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:371,7 [M+H]<sup>+</sup> 16 %; <sup>79</sup>Br:372,7 [M+H]<sup>+</sup> 90 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:368,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:369,4 [M-H]<sup>-</sup> 15 %; <sup>79</sup>Br:370,4 [M-H]<sup>-</sup> 80 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3450 m „br“ (OH st); 3343 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3188 s „br“ (NH st); 3072 m, 3039 m (aromat. CH st); 1644 m (NH<sub>2</sub> δ); 1626 s, 1601 s, 1494 s, 1472 s (C=C st); 1566 s (NH δ); 1410 s (C=N st); 1364 s (OH δ); 1206 m (CN st); 1172 m (COH st); 1069 m (aromat. C-Br δ); 794 w, 696 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,94 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,60 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,64 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,97 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,45 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,48 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6' bzw. 6'/2'</sub> = 2,6 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,73 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5' bzw. 5'/3'</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-3' H-5'); 8,89 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,89 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

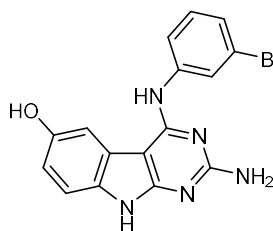
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 89,43 (C-4a); 106,44 (C-5); 109,59 (C-8); 110,94 (C-7); 119,96 (C-4'); 122,99 (C-4b); 129,76 (C-2' C-6'); 130,58 (C-8a); 132,63 (C-3' C-5'); 136,12 (C-1'); 152,92 (C-6); 158,90 159,04 (C-4 C-9a); 162,38 (C-2)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,41 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-bromophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>52</b>
Summenformel:	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> BrN <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	370,21 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



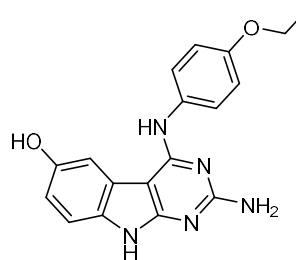
Es wurden 981 mg (3,5 mmol; 1,0 eq.) **8k** mit 454 mg (4,2 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 78 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 6,0 % entspricht.

Ausbeute:	6,0 %
Schmelzbereich:	153 – 155 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 51,91; H 3,27; N 18,92 gef.: C 51,84; H 3,30; N 18,88
HPLC-Reinheit:	98,45 % (Retentionszeit: 9,08 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:370,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:371,1 [M+H] <sup>+</sup> 18 %; <sup>79</sup> Br:372,2 [M+H] <sup>+</sup> 98 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3438 m „br“ (OH st); 3349 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3202 s „br“ (NH st); 3075 m, 3042 m (aromat. CH st); 1644 s (NH <sub>2</sub> δ); 1626 s, 1588 s, 1538 m, 1480 s (C=C st); 1566 m (NH δ); 1409 s (C=N stv); 1368 s (OH δ); 1210 m (CN st); 1173 w (COH st); 1069 w (aromat. C-Br δ); 794 w, 708 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,12 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,66 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,75 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,96 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 7,47 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,51 - 7,55 (m, 2H, H-4' H-5'); 7,62 (td, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2' bzw. 4'</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-6'); 7,71 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-2'); 8,94 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 89,29 (C-4a); 106,46 (C-5); 109,72 (C-8); 111,15 (C-7); 116,07 (C-2'); 122,15 (C-6'); 122,89 (C-4b); 126,81 (C-4'); 130,45 130,51 130,69 (C-3'); 131,61 (C-8a); 138,18 (C-5'); 150,15 (C-1'); 153,09 (C-6); 158,32 158,80 (C-9a C-4); 161,62 (C-2)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,19 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,43 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-((4-ethoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **53**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 335,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 981 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **8I** mit 519 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 96 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 7,2 % entspricht.

Ausbeute: 7,2 %

Schmelzbereich: 255 – 257 °C

Elementaranalyse: ber.: C 64,47; H 5,11; N 20,88

gef.: C 64,12; H 5,05; N 20,48

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:336,3 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:337,3 [M+H]<sup>+</sup> 22 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:334,3 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:335,3 [M-H]<sup>-</sup> 21 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3456 m „br“ (OH st); 3339 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3189 m „br“ (NH st); 3072 m, 3040 m (aromat. CH st); 2979 m, 2924 m, 2851 w (aliph. CH st); 1644 m (NH<sub>2</sub> δ); 1625 s, 1595 s, 1513 s, 1476 m (C=C st); 1566 s (NH δ); 1456 m, 1390 m (CH δ); 1413 s (C=N st); 1365 s (OH δ); 1246 m, 1044 w (C-O-C st Ether); 1208 w (CN st); 1171 w (C=O st); 836 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,36 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,0 Hz, 3H, 4'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,09 (qua, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,0 Hz, 2H, 4'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 5,89 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,61 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,83 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 7,07 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5' bzw. 5'/3'</sub> = 2,7 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,34 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6' bzw. 6'/2'</sub> = 2,7 Hz, 1H, H-2' H-6'); 7,44 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,82 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

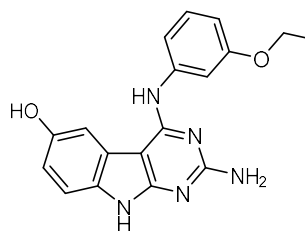
R<sub>f</sub>-Werte: 0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,30 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-ethoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **54**Summenformel:  $C_{18}H_{17}N_5O_2$ 

Molekulargewicht: 335,37 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 981 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **8m** mit 519 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 65 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,80 % entspricht.

Ausbeute: 4,80 %

Schmelzbereich: 154 – 157 °C

Elementaranalyse: ber.: C 64,47; H 5,11; N 20,88

gef.: C 64,07; H 5,20; N 20,55

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:336,2 [M+H]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}C:337,3 [M+H]^+ 20\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:334,4 [M-H]^- 100\%$ ;  ${}^{13}C:335,4 [M-H]^- 20\%$ 

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3457 m „br“ (OH st); 3333 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3190 s „br“ (NH st); 3073 m, 3039 m (aromat. CH st); 2979 m, 2928 m, 2852 w (aliph. CH st); 1647 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1624 s, 1588 s, 1496 m, 1475 m (C=C st); 1567 s (NH  $\delta$ ); 1447 m, 1387 m (CH  $\delta$ ); 1410 s (C=N st); 1366 m (OH  $\delta$ ); 1249 w, 1047 w (C-O-C st Ether); 1203 w (CN st); 1172 w (COH st); 794 w, 690 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 1,33 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,0 Hz, 3H, 3'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,06 (qua, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,0 Hz, 2H, 3'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 5,93 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,57 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,96 (td, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup>J<sub>4'/2'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,9 Hz, 1H, H-4'); 6,96 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,01 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,9 Hz, 1H, H-2'); 7,04 (m, 1H, H-6'); 7,42 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 7,45 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,85 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 15,07 (3'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 63,72 (3'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 89,38 (C-4a); 106,32 (C-5); 109,76 (C-8); 110,91 (C-7); 113,53 (C-4'); 113,98 (C-2'); 119,63 (C-6'); 122,81 (C-4b); 130,37 (C-5'); 130,98 (C-8a); 137,89 (C-1'); 152,73 (C-6); 159,00 159,02 159,53 (C-4 C-9a C-3'); 162,37 (C-2)

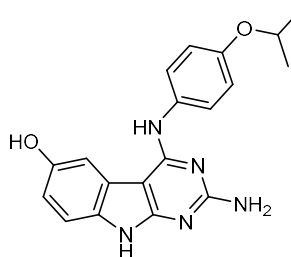
R<sub>F</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,34 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((4-isopropoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **55**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 349,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1037 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **8n** mit 519 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 100 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 7,2 % entspricht.

Ausbeute: 7,2 %

Schmelzbereich: 215 – 217 °C

Elementaranalyse: ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04

gef.: C 65,15; H 5,08; N 19,85

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:350,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:351,3 [M+H]<sup>+</sup> 20 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:348,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:349,3 [M-H]<sup>-</sup> 21 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3450 m „br“ (OH st); 3325 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3194 m „br“ (NH st); 3079 m, 3050 m (aromat. CH st); 2976 m, 2924 m, 2851 w (aliph. CH st); 1651 s (NH<sub>2</sub> δ); 1626 s, 1597 s, 1513 s, 1480 m (C=C st); 1567 s (NH δ); 1449 m, 1385 m (CH δ); 1412 s (C=N st); 1373 s (OH δ); 1248 m, 1113 w (C-O-C st Ether); 1216 m (CN st); 1181 w (C=O st); 836 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,31 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,0 Hz, 6H, 4'-OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,66 (sep, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,0 Hz, 1H, 4'-OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,89 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,61 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,84 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,06 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5' bzw. 5'/3'</sub> = 2,7 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,33 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6' bzw. 6'/2'</sub> = 2,7 Hz, 1H, H-2' H-6'); 7,44 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 8,82 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

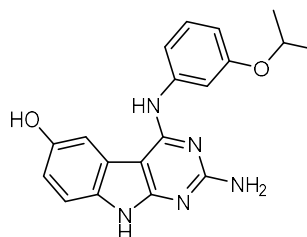
R<sub>f</sub>-Werte: 0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,33 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-isopropoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **56**Summenformel:  $C_{19}H_{19}N_5O_2$ 

Molekulargewicht: 349,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1037 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **8o** mit 519 mg (4,8 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 88 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 6,3 % entspricht.

Ausbeute: 6,3 %

Schmelzbereich: 147 – 149 °C

Elementaranalyse: ber.: C 65,32; H 5,48; N 20,04

gef.: C 64,95; H 5,10; N 20,32

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:350,5 [M+H]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}C:351,5 [M+H]^+ 20\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:348,5 [M-H]^- 100\%$ ;  ${}^{13}C:349,5 [M-H]^- 20\%$ 

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3464 m „br“ (OH st); 3333 s „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3187 s „br“ (NH st); 3074 m, 3039 m (aromat. CH st); 2976 m, 2929 m, 2853 w (aliph. CH st); 1646 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1623 s, 1588 s, 1494 m, 1475 m (C=C st); 1568 s (NH  $\delta$ ); 1446 m, 1384 m (CH  $\delta$ ); 1410 s (C=N st); 1373 s (OH  $\delta$ ); 1243 m, 1113 w (C-O-C st Ether); 1203 m (CN st); 1180 w (C=O st); 794 w, 690 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 1,29 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,0 Hz, 6H, 3'-OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 4,64 (sep, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,0 Hz, 1H, 3'-OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 5,93 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,55 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,61 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,93 (td, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,1 Hz <sup>4</sup>J<sub>4'/2'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 2,0 Hz, 1H, H-4'); 6,97 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,02 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 2,0 Hz, 1H, H-2'); 7,06 (m, 1H, H-6'); 7,42 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 8,1 Hz, 1H, H-5'); 7,46 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,87 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

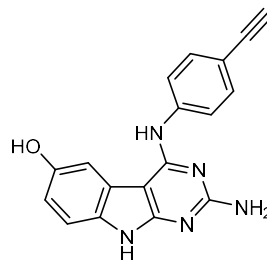
R<sub>F</sub>-Werte: 0,17 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,37 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((4-ethynylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **57**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 315,34 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 588 mg (2,6 mmol; 1,0 eq.) **8p** mit 338 mg (3,1 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 8 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 1,0 % entspricht

Ausbeute: 1,0 %

Schmelzbereich: &gt; 320 °C

Elementaranalyse: ber.: C 68,56; H 4,16; N 22,21

gef.: C 68,35; H 3,97; N 22,04

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:316,4 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:316,4 [M+H]<sup>+</sup> 17 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:314,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:315,3 [M-H]<sup>-</sup> 15 %

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,63 (s, 1H, 4'-C≡CH); 5,97 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,66 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-7); 7,08 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,48 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-5); 7,71 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-2' H-6'); 8,12 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-3' H-5'); 8,94 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,97 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

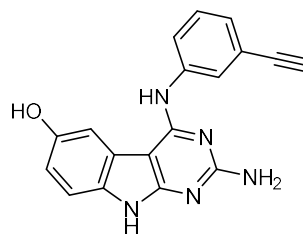
R<sub>f</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,34 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-ethynylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **58**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 315,34 g/mol

Darstellung: nach AAV 2

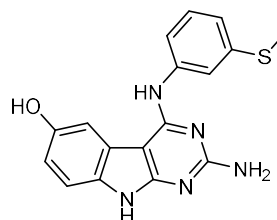


Es wurden 588 mg (2,6 mmol; 1,0 eq.) **8q** mit 338 mg (3,1 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 90 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 11,0 % entspricht.

Ausbeute:	11,0 %
Schmelzbereich:	176 – 178 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 68,56; H 4,16; N 22,21 gef.: C 68,15; H 3,85; N 22,30
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:316,8 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:317,9 [M+H] <sup>+</sup> 22 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:314,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:315,5 [M-H] <sup>-</sup> 20 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3459 m „br“ (OH st); 3337 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3286 s (C≡CH st); 3201 s „br“ (NH st); 3069 m, 3039 m (aromat. CH st); 2109 w (C≡C st); 1641 s (NH <sub>2</sub> δ); 1622 s, 1596 s, 1485 s, 1471 s (C=C st); 1574 s (NH δ); 1406 s (C=N st); 1363 m (OH δ); 1208 m (CN st); 1183 m (COH st); 794 w, 690 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,27 (s, 1H, 3'-C≡CH); 5,97 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,60 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,65 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,94 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,46 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,51 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 6,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>5'/4'</sub> = 3,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 1,3 Hz, 1H, H-6'); 7,55 - 7,58 (m, 3H, H-2' H-4' H-5'); 8,89 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,37 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 2-Amino-4-((3-(methylthio)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>59</b>
Summenformel:	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> OS
Molekulargewicht:	337,40 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



Es wurden 1237 mg (5,0 mmol; 1eq.) **8r** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Erhaltene Fraktionen enthielten eine Verunreinigung und wurden erneut säulenchromatographisch getrennt mit Ethylacetat/Methanol. Eluiert wurde mit einem Stufengradient Ethylacetat/Methanol 95:5 zu 90:10 (V/V). Es wurden 71 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,2 % entspricht.

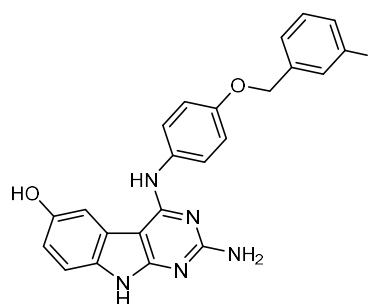
Ausbeute:	4,2 %
Schmelzbereich:	166 – 168 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 60,52; H 4,48; N 20,76 gef.: C 60,29; H 4,59; N 20,56
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:338,8 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:339,8 [M+H] <sup>+</sup> 16 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:336,7 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:337,7 [M-H] <sup>-</sup> 14 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3473 m „br“ (OH st); 3325 s „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3183 s „br“ (NH st); 3068 m, 3042 m (aromat. CH st); 2920 m, 2850 m (aliph. CH st); 1649 m



	(NH <sub>2</sub> δ); 1619 s, 1597 s, 1483 s, 1472 s (C=C st); 1576 s (NH δ); 1448 m, 1390 m (CH δ); 1404 s (C=N st); 1362 m (OH δ); 1202 m (CN st); 1170 m (COH st); 793 w, 687 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,95 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,58 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,64 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,25 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,29 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-6'); 7,33 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,8 Hz, 1H, H-2'); 7,45 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,47 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 8,86 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,34 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((4-((3-fluorobenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung:	<b>60</b>
Summenformel:	C <sub>23</sub> H <sub>18</sub> FN <sub>5</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	415,43 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



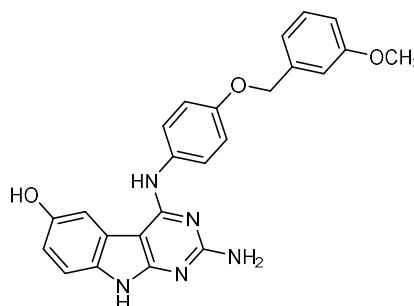
Es wurden 1627 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **9a** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 87 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,2 % entspricht.

Ausbeute:	4,2 %
Schmelzbereich:	199 – 201 °C
HPLC-Reinheit:	99,87 % (Retentionszeit: 12,27 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:416,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:417,2 [M+H] <sup>+</sup> 22 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:414,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:415,2 [M-H] <sup>-</sup> 35 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3465 m „br“ (OH st); 3339 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3194 m „br“ (NH st); 3066 m, 3049 m (aromat. CH st); 2925 m, 2852 m (aliph. CH st); 1644 s (NH <sub>2</sub> δ); 1623 s, 1592 s, 1512 s, 1489 m (C=C st); 1567 s (NH δ); 1470 m, 1385 m (CH δ); 1415 s (C=N st); 1362 w (OH δ); 1243 m, 1140 w (C-O-C st Ether); 1213 m (aromat. C-F δ); 1203 m (CN st); 1173 w (COH st)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,21 (s, 2H, CH <sub>2</sub> -(3''-FPh)); 5,90 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,62 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,83 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,15 - 7,19 (m, 1H, H-2''); 7,17 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,31 - 7,35 (m, 2H, H-4'' H-6''); 7,37 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,44 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,47 (dt, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>5'/F</sub> = 6,1 Hz, 1H, H-5''); 8,82 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)

$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 69,00 ( $\text{CH}_2$ -(3''-FPh)); 89,23 (C-4a); 106,31 (C-5); 109,46 (C-8); 110,86 (C-7); 114,55 114,77 (C-2''); 114,99 115,19 (C-4''); 115,88 (C-3' C-5'); 122,56 (C-4b); 123,94 123,97 (C-6''); 129,23 (C-2' C-6'); 129,82 (C-1'); 130,95 131,03 (C-5''); 131,59 (C-8a); 140,45 140,52 (C-1''); 152,61 (C-6); 157,43 (C-4'); 158,96 159,24 (C-4 C-9a); 161,47 163,90 (C-3''); 162,37 (C-2)
$R_f$ -Werte:	0,15 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,34 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 2-Amino-4-((4-((3-methoxybenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung:	<b>61</b>
Summenformel:	$\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_3$
Molekulargewicht:	427,46 g/mol
Darstellung:	nach AAV 2



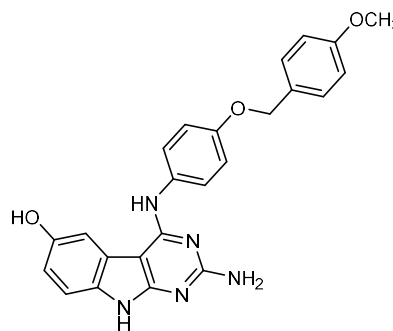
Es wurden 1687 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **9b** mit 811 mg (7,5 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 87 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,1 % entspricht.

Ausbeute:	4,1 %
Schmelzbereich:	173 – 175 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 67,44; H 4,95; N 16,38 gef.: C 67,14; H 5,17; N 16,24
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:428,2$ [M+H] $^+$ 100 %; $^{13}\text{C}:429,2$ [M+H] $^+$ 29 %
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3457 m „br“ (OH st); 3333 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3189 m „br“ (NH st); 3079 m, 3044 m (aromat. CH st); 2921 m, 2850 m (aliph. CH st); 1643 s ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1624 s, 1596 s, 1512 s, 1490 m (C=C st); 1567 s (NH $\delta$ ); 1467 m, 1383 m (CH $\delta$ ); 1414 m (C=N st); 1362 w (OH $\delta$ ); 1243 m, 1155 w (C-O-C st Ether); 1214 m (CN st); 1171 w ( <u>COH</u> st); 793 w, 691 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,76 (s, 3H, 3''-OCH $_3$ ); 5,16 (s, 2H, CH $_2$ (3''-OCH $_3$ Ph)); 5,91 (br, 2H, C-2-NH $_2$ , with D $_2$ O exchangeable); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D $_2$ O exchangeable); 6,62 (dd, $^3J_{7/8} = 8,6$ Hz $^4J_{7/5} = 2,0$ Hz, 1H, H-7); 6,83 (d, $^3J_{8/7} = 8,6$ Hz, 1H, H-8); 6,91 (dd, $^3J_{4''/5''} = 7,8$ Hz $^4J_{4''/6''} = 2,1$ Hz, 1H, H-4''); 7,04 (s, 1H, H-2''); 7,05 (d, $^3J_{6''/5''} = 7,3$ Hz, 1H, H-6''); 7,16 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,9$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,32 (t, $^3J_{5''/4''\text{ bzw. }6''} = 7,8$ Hz, 1H, H-5''); 7,35 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,9$ Hz, H-2' H-6'); 7,44 (d, $^4J_{5/7} = 2,0$ Hz, 1H, H-5); 8,81 (br, 1H, OH, with D $_2$ O exchangeable); 11,95 (br, 1H, C-8a-NH, with D $_2$ O exchangeable)
$R_f$ -Werte:	0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,31 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((4-((4-methoxybenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **62**Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 427,46 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1350 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **9c** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 87 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,9 % entspricht.

Ausbeute: 4,9 %

Schmelzbereich: 252 – 254 °C

Elementaranalyse: ber.: C 67,44; H 4,95; N 16,38

gef.: C 67,13; H 4,75; N 15,98

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:428,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:429,2 [M+H]<sup>+</sup> 27 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:426,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:427,3 [M-H]<sup>-</sup> 28 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3456 m „br“ (OH st); 3337 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3188 m „br“ (NH st); 3072 m, 3045 m (aromat. CH st); 2927 m, 2851 m (aliph. CH st); 1645 m (NH<sub>2</sub> δ); 1622 s, 1595 s, 1513 s (C=C st); 1566 m (NH δ); 1467 m, 1380 m (CH δ); 1413 s (C=N st); 1363 w (OH δ); 1241 m, 1152 w (C-O-C st Ether); 1210 m (CN st); 1173 w (C=O st)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,75 (s, 3H, 4''-OCH<sub>3</sub>); 5,09 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-OCH<sub>3</sub>Ph)); 5,90 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,54 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,62 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,82 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 6,96 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,14 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,34 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,41 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,44 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,81 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 55,56 (4''-OCH<sub>3</sub>); 69,60 (CH<sub>2</sub>(4''-OCH<sub>3</sub>Ph)); 89,22 (C-4a); 106,30 (C-5); 109,46 (C-8); 110,86 (C-7); 114,32 (C-3'' C-5''); 115,871 (C-3' C-5'); 122,54 (C-4b); 129,17 (C-2' C-6'); 129,32 (C-1''); 129,52 (C-1'); 129,94 (C-2'' C-6''); 131,64 (C-8a); 152,59 (C-6); 157,70 (C-4'); 158,93 159,25 (C-4 C-9a); 159,49 (C-4''); 162,34 (C-2)

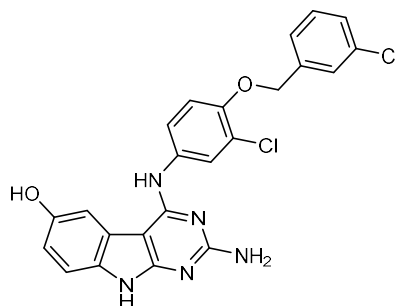
R<sub>F</sub>-Werte: 0,16 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,31 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-chloro-4-((3-chlorobenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **63**Summenformel:  $C_{23}H_{17}Cl_2N_5O_2$ 

Molekulargewicht: 466,32 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1505 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **9d** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 107 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 5,8 % entspricht.

Ausbeute: 5,8 %

Schmelzbereich: 174 – 176 °C

Elementaranalyse: ber.: C 59,24; H 3,67; N 15,02

gef.: C 59,03; H 3,76; N 14,99

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:466,1 [M+H]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}C:467,2 [M+H]^+ 25\%$ ;  ${}^{37}Cl:468,2 [M+H]^+ 75\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:464,1 [M-H]^- 100\%$ ;  ${}^{13}C:465,1 [M-H]^- 22\%$ ;  ${}^{37}Cl:466,1 [M-H]^- 66\%$ 

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3454 m „br“ (OH st); 3337 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3195 m „br“ (NH st); 3072 m, 3047 m (aromat. CH st); 2925 m, 2853 m (aliph. CH st); 1642 s (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1626 s, 1593 s, 1501 s, 1475 m (C=C st); 1567 s (NH  $\delta$ ); 1457 m, 1377 m (CH  $\delta$ ); 1415 m (C=N st); 1336 w (OH  $\delta$ ); 1265 m, 1154 w (C-O-C st Ether); 1208 m (CN st); 1183 w (COH st); 1060 w (aromat. C-Cl  $\delta$ )

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,31 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(3'-ClPh)); 5,96 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,58 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 6,87 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 7,34 - 7,49 (m, 6H, H-5 H-5' H-6' H-4'' H-5'' H-6''); 7,58 (s, 2H, H-2' H-2''); 8,86 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,91 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,17 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,38 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

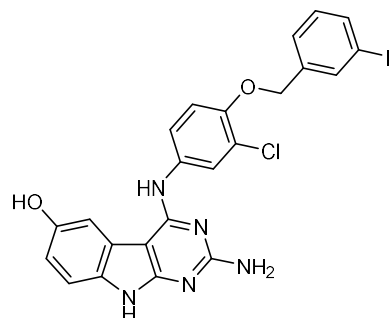
**2-Amino-4-((3-chloro-4-((3-fluorobenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung: **64**

Summenformel:  $C_{23}H_{17}ClFN_5O_2$

Molekulargewicht: 449,87 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1439 mg (4,0 mmol; 1,0 eq.) **9e** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 96 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 5,3 % entspricht.

Ausbeute: 5,3 %

Schmelzbereich: 217 – 219 °C

HPLC-Reinheit: 99,62 % (Retentionszeit: 12,39 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = ^{12}C: 450,1 [M+H]^+ 100\%$ ;  $^{13}C: 451,1 [M+H]^+ 31\%$ ;  $^{37}Cl: 452,1 [M+H]^+ 33\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = ^{12}C: 448,1 [M-H]^- 100\%$ ;  $^{13}C: 449,1 [M-H]^- 28\%$ ;  $^{37}Cl: 450,1 [M-H]^- 40\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3488 m „br“ (OH st); 3333 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3188 m „br“ (NH st); 3070 m, 3050 m (aromat. CH st); 2925 m, 2853 m (aliph. CH st); 1645 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1618 s, 1591 s, 1502 s, 1474 m (C=C st); 1566 s (NH  $\delta$ ); 1451 m, 1381 w (CH  $\delta$ ); 1416 m (C=N st); 1334 w (OH  $\delta$ ); 1266 m, 1140 w (C-O-C st Ether); 1217 w (aromat. C-F  $\delta$ ); 1202 m (CN st); 1183 w (COH st); 1059 w (aromat. C-Cl  $\delta$ )

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,32 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 5,96 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,58 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 6,87 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,19 (dt, <sup>3</sup>J<sub>4''/Fbzw.5''</sub> = 9,0 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/6''</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-4''); 7,32 - 7,35 (m, 1H, H-2''); 7,35 (d, <sup>3</sup>J<sub>5'/6'</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-5'); 7,38 (d, <sup>3</sup>J<sub>6''/5''</sub> = 7,1 Hz, 1H, H-6''); 7,41 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-6'); 7,45 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,49 (dt, <sup>3</sup>J<sub>5''/4''bzw.6''</sub> = 8,1 Hz <sup>4</sup>J<sub>5''/F</sub> = 6,4 Hz, 1H, H-5''); 7,57 (d, <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> = 2,2 Hz, H-2'); 8,86 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,17 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
0,37 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

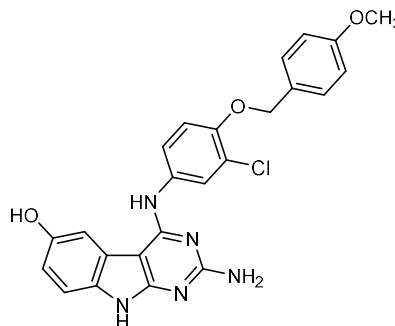
**2-Amino-4-((3-chloro-4-((4-methoxybenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**

Verbindung: **65**

Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 461,91 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1859 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **9f** mit 811 mg (7,5 mmol; 1,5 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 96 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 4,8 % entspricht.

Ausbeute: 4,8 %

Schmelzbereich: 141 – 143 °C

Elementaranalyse: ber.: C 62,41; H 4,36; N 15,16  
gef.: C 62,25; H 4,34; N 14,99

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:462,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:463,1 [M+H]<sup>+</sup> 27 % <sup>37</sup>Cl:464,1 [M+H]<sup>+</sup> 30 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:460,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:461,2 [M-H]<sup>-</sup> 28 % <sup>37</sup>Cl:462,2 [M-H]<sup>-</sup> 32 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3474 m „br“ (OH st); 3340 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3196 m „br“ (NH st); 3073 m, 3039 m (aromat. CH st); 2931 m, 2836 m (aliph. CH st); 1642 s (NH<sub>2</sub> δ); 1613 s, 1590 s, 1513 s, 1501 s (C=C st); 1567 s (NH δ); 1465 m, 1381 m (CH δ); 1416 s (C=N st); 1335 w (OH δ); 1246 m, 1153 w (C-O-C st Ether); 1208 m (CN st); 1174 m (COH st); 1058 w (aromat. C-Cl δ)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,76 (s, 3H, 4''-OCH<sub>3</sub>); 5,21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-OCH<sub>3</sub>Ph)); 5,95 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,57 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,63 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 6,86 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,5 Hz, 1H, H-8); 6,97 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,4 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,38 - 7,40 (m, 2H, H-5' H-6'); 7,43 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,4 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,44 (s, 1H, H-5); 7,53 (s, 1H, H-2'); 8,85 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,18 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
0,37 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 5.1.2.5.3. Synthese 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole mit alternativer 2-Substitution

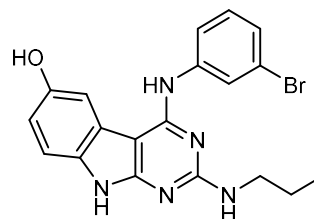
#### 4-((3-Bromophenyl)amino)-2-(propylamino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: 66

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>BrN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 412,29 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 806 mg (2,5 mmol; 1,0 eq.) **13a** mit 324 mg (3,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 92,5:7,5 (V/V) verwendet. Es wurden 60 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 5,8 % entspricht.

Ausbeute: 5,8 %

Schmelzbereich: 202 – 204 °C

Elementaranalyse: ber.: C 55,35; H 4,40; N 16,99

gef.: C 55,06; H 4,52; N 16,66

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:412,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:415,2 [M+H]<sup>+</sup> 23 % <sup>79</sup>Br:414,2 [M+H]<sup>+</sup> 87 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:819,3 [2M-H]<sup>-</sup> 75 % <sup>13</sup>C:820,4 [2M-H]<sup>-</sup> 20 %; <sup>79</sup>Br:821,4 [2M-H]<sup>-</sup> 100%

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3466 m „br“ (OH st); 3348 m „br“ (NH st); 3068 m, 3047 m (aromat. CH st); 2960 s, 2927 s, 2872 s (aliph. CH st); 1635 s, 1603 s, 1511 m, 1480 s (C=C st); 1567 s (NH δ); 1464 m, 1380 m (CH δ); 1415 m (C=N st); 1342 m (OH δ); 1206 m (CN st); 1168 m (CQH st); 1069 w (aromat. C-Br δ)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,85 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 3H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,51 (sex, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,15 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 6,50 (t br, <sup>3</sup>J<sub>NH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,7 Hz, 1H, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,61 (br, 1H, C-4-NH with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,65 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,05 (br, 1H, H-8); 7,45 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 7,48 - 7,60 (m, 3H, H-2' H-4' H-5'); 7,80 (br, 1H, H-6'); 8,90 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 12,01 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 23,02 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 43,20 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 89,29 (C-4a); 106,45 (C-5); 109,72 (C-8); 110,84 (C-7); 116,08 (C-2'); 121,96 (C-6'); 123,27 (C-4b); 126,65 (C-4'); 129,81 (C-3'); 131,39 (C-8a); 138,33 (C-5'); 150,17 (C-1'); 153,05 (C-6); 158,78 158,79 (C-4 C-9a); 161,41 (C-2)

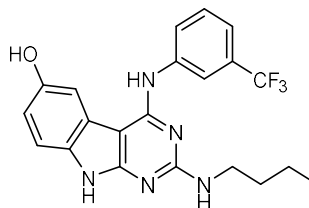
R<sub>F</sub>-Werte: 0,26 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,69 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**2-(Butylamino)-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **67**Summenformel:  $C_{21}H_{20}F_3N_5O$ 

Molekulargewicht: 415,42 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 642 mg (2,0 mmol; 1,0 eq.) **13b** mit 255 mg (2,4 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 92,5:7,5 (V/V) verwendet. Es wurden 80 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 9,8 % entspricht.

Ausbeute: 9,8 %

Schmelzbereich: 110 – 112 °C

HPLC-Reinheit: 98,95 % (Retentionszeit: 12,21 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C: 416,4 [M+H]^+ 100\% 829,5 [2M+H]^+ 27\% {}^{13}C: 417,4 [M+H]^+ 23\% 830,6 [2M+H]^+ 13\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C: 414,5 [M-H]^- 70\% 827,6 [2M-H]^- 100\% {}^{13}C: 415,5 [M-H]^- 16\% 828,7 [2M-H]^- 50\%$ IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3465 m „br“ (OH st); 3381 m „br“ (NH st); 3073 m, 3043 m (aromat. CH st); 2959 s, 2931 s, 2873 s (aliph. CH st); 1637 s, 1594 s, 1538 s, 1497 s (C=C st); 1576 s (NH  $\delta$ ); 1454 s, 1379 m (CH  $\delta$ ); 1407 s (C=N st); 1340 m (OH  $\delta$ ); 1322 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1207 m (CN st); 1169 m (COH st); 793 w, 697 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat) ${}^1H$ -NMR: 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 0,83 (t,  ${}^3J_{CH_3/CH_2} = 7,3$  Hz, 3H,  $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 1,26 (sex,  ${}^3J_{CH_2/CH_2bzw.CH_3} = 7,3$  Hz, 2H,  $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 1,45 (qui,  ${}^3J_{CH_2/CH_2bzw.CH_2} = 7,3$  Hz, 2H,  $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 3,18 (m, 2H,  $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 6,48 (br, 1H,  $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ , with  $D_2O$  exchangeable); 6,65 (br, 1H, C-4-NH, with  $D_2O$  exchangeable); 6,67 (dd,  ${}^3J_{7/8} = 8,5$  Hz  ${}^4J_{7/5} = 2,1$  Hz, 1H, H-7); 7,10 (br, 1H, H-8); 7,47 (d,  ${}^4J_{5/7} = 2,1$  Hz, 1H, H-5); 7,73 (d,  ${}^3J_{4'/5'} = 7,8$  Hz, 1H, H-4'); 7,78 (t,  ${}^3J_{5'/4'bzw.6'} = 7,9$  Hz, 1H, H-5'); 7,89 (d,  ${}^3J_{6'/5'} = 7,6$  Hz, 1H, H-6'); 7,98 (br, 1H, H-2'); 8,94 (br, 1H, OH, with  $D_2O$  exchangeable); 11,92 (br, 1H, C-8a-NH, with  $D_2O$  exchangeable) ${}^{13}C$ -NMR: 100 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 14,14 ( $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 20,09 ( $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 26,78 ( $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 40,87 ( $NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ ); 89,34 (C-4a); 106,53 (C-5); 109,70 (C-8); 110,92 (C-7); 116,08 (C-2'); 123,03 (C-4'); 123,39 (C-4b); 123,76 ( $CF_3$ ); 125,74 (C-6'); 128,45 (C-5'); 130,45 (C-3'); 130,82 (C-8a); 137,52 (C-1'); 153,18 (C-6); 158,51 158,67 (C-4 C-9a); 161,23 (C-2) $R_f$ -Werte: 0,26 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

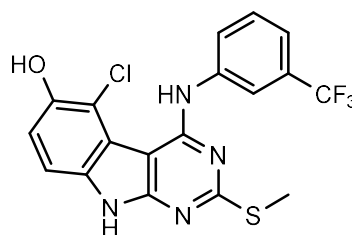
0,70 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)



**5-Chloro-2-(methylthio)-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **68**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>4</sub>OS

Molekulargewicht: 424,83 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 901 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **18a** mit 389 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Ethylacetat als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 90:10 zu 85:15 (V/V) verwendet. Es wurden 92 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 7,2 % entspricht.

Ausbeute: 7,2 %

Schmelzbereich: 210 – 212 °C

HPLC-Reinheit: 99,08 % (Retentionszeit: 13,37 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:425,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \% {}^{13}\text{C}:426,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 22 \% {}^{37}\text{Cl}:427,2 [\text{M}+\text{H}]^+ 40 \%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:423,2 [\text{M}-\text{H}]^- 100 \% {}^{13}\text{C}:424,2 [\text{M}-\text{H}]^- 17 \% {}^{37}\text{Cl}:425,3 [\text{M}-\text{H}]^- 35 \%$ 

IR: KBr [v in cm<sup>-1</sup>]: 3484 m „br“ (OH st); 3375 m „br“, 3302 m „br“ (NH st); 3084 m, 3054 m (aromat. CH st); 2956 w, 2924 m, 2852 m (aliph. CH st); 1618 m, 1596 w, 1509 w, 1499 m (C=C st); 1556 s (NH δ); 1463 m, 1442 m (CH δ); 1415 w (C=N st); 1361 m (OH δ); 1322 s (aliph. C-F δ); 1222 m (CN st); 1166 m (CQH st); 797 w, 695 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,36 (s, 3H, SCH<sub>3</sub>) 7,04 (d, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-7); 7,18 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 7,81 - 7,91 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 8,00 (s, 1H, H-2'); 9,98 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,94 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 13,53 (SCH<sub>3</sub>); 92,31 (C-4a); 110,01 (C-8); 110,97 (C-7); 114,58 (C-5); 122,91 (C-2'); 124,95 (CF<sub>3</sub>); 125,62 (C-4'); 130,32 (C-6'); 130,64 (C-5') 131,06 (C-3'); 131,56 131,69 (C-4b C-8a); 136,12 (C-1'); 149,45 (C-6); 156,34 157,56 (C-4 C-9a); 168,08 (C-2)

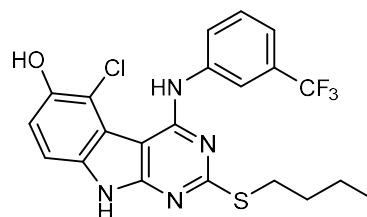
R<sub>f</sub>-Werte: 0,22 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

0,35 Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V)

**2-(Butylthio)-5-chloro-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **69**Summenformel: C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>4</sub>OS

Molekulargewicht: 466,91 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 2000 mg (5,8 mmol; 1,0 eq.) **18b** mit 758 mg (7,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 373 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 13,7 % entspricht.

Ausbeute: 13,7 %

Schmelzbereich: 177 – 178 °C

HPLC-Reinheit: 98,75 % (Retentionszeit: 11,69 min)

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:467,1 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:468,2 [M+H]<sup>+</sup> 23 % <sup>37</sup>Cl:468,2 [M+H]<sup>+</sup> 36 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:465,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:466,1 [M-H]<sup>-</sup> 20 % <sup>37</sup>Cl:467,1 [M-H]<sup>-</sup> 32 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3481 s „br“ (OH st); 3374 s „br“ (NH st); 3074 m, 3029 m (aromat. CH st); 2960 s, 2930 s, 2874 s (aliph. CH st); 1619 m, 1597 w, 1510 w, 1498 s (C=C st); 1554 s (NH δ); 1468 m, 1440 m (CH δ); 1417 w (C=N st); 1361 s (OH δ); 1322 s (aliph. C-F δ); 1226 m (CN st); 1168 m (COH st); 794 w, 699 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,75 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,4 Hz, 3H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,25 (sex, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,51 (m, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2,92 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 7,03 (d, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-7); 7,14 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,80 - 7,89 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,97 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'bzw.6'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-2'); 9,96 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,93 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 13,75 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 21,81 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 29,90 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 31,87 (SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 92,31 (C-4a); 109,95 (C-8); 110,94 (C-7); 114,55 (C-5); 122,89 (C-2'); 125,04 (CF<sub>3</sub>); 125,60 (C-4'); 130,40 (C-6'); 130,72 (C-5') 131,06 (C-3'); 131,68 131,90 (C-4b C-8a); 136,14 (C-1'); 149,40 (C-6); 156,42 157,62 (C-4 C-9a); 167,84 (C-2)

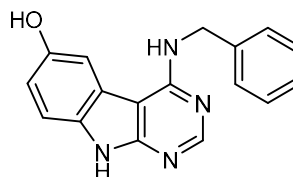
R<sub>f</sub>-Werte: 0,32 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

0,44 Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V)

**4-(Benzylamino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **70**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 290,33 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 601 mg (3,0 mmol; 1,0 eq.) **21a** mit 389 mg (3,6 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 70 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 8,1 % entspricht.

Ausbeute: 8,1 %

Schmelzbereich: &gt; 320 °C

Elementaranalyse: ber.: C 70,33; H 4,86; N 19,30

gef.: C 69,92; H 4,93; N 19,04

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:291,3 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:292,3 [M+H]<sup>+</sup> 20 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:289,3 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:290,3 [M-H]<sup>-</sup> 19 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3452 m „br“ (OH st); 3240 m „br“ (NH st); 3078 m, 3043 m (aromat. CH st); 2916 m, 2849 m (aliph. CH st); 1612 s, 1596 m, 1512 m, 1495 s (C=C st); 1460 m (CH δ); 1409 w (C=N st); 1359 w (OH δ); 1216 m (CN st); 1171 m (COH st)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,50 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/NH</sub> = 6,1 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 6,09 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,69 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,83 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 7,25 (t, <sup>3</sup>J<sub>4'/3'bzw.5'</sub> = 7,3 Hz, 1H, H-4'); 7,32 - 7,39 (m, 4H, H-2' H-3' H-5' H-6'); 7,92 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 8,08 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 9,45 (s, 1H, H-2); 9,60 (br, 1H, C-8a-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

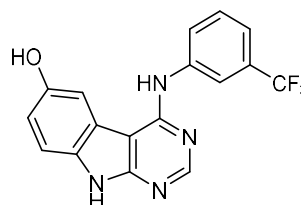
R<sub>f</sub>-Werte: 0,21 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,13 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**4-((3-(Trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol**Verbindung: **71**Summenformel: C<sub>17</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O

Molekulargewicht: 344,30 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 870 mg (3,4 mmol; 1,0 eq.) **21b** mit 445 mg (4,1 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Erhaltene Fraktionen enthielten eine Verunreinigung und wurden erneut säulenchromatographisch getrennt mit Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) als Eluent. Es wurden 24 mg grünelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 2,0 % entspricht.

Ausbeute:	2,0 %
Schmelzbereich:	213 – 215 °C
HPLC-Reinheit:	98,76 % (Retentionszeit: 12,45 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:345,4 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:346,5 [M+H] <sup>+</sup> 18 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:343,4 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:344,5 [M-H] <sup>-</sup> 20 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3446 m „br“ (OH st); 3236 m „br“ (NH st); 3098 m, 3033 m (aromat. CH st); 1603 s, 1585 m, 1537 w, 1494 m (C=C st); 1418 m (C=N st); 1363 m (OH $\delta$ ); 1332 s (aliph. C-F $\delta$ ); 1230 m (CN st); 1190 m (C-OH st); 789 w, 696 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [ $\delta$ in ppm]: 6,61 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,72 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,91 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 7,29 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,6 Hz, 1H, H-4'); 7,54 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4' bzw. 6'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 7,71 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-6'); 7,97 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4' bzw. 6'</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-2'); 7,99 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 9,48 (s, 1H, H-2); 9,65 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,22 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,28 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

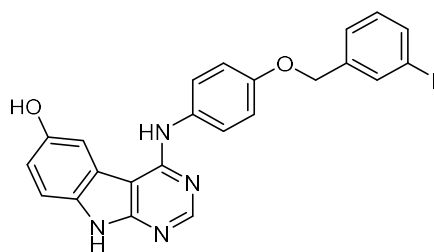
#### 4-((4-((3-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol

Verbindung: **72**

Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 400,41 g/mol

Darstellung: nach AAV 2



Es wurden 1550 mg (5,0 mmol; 1,0 eq.) **21c** mit 649 mg (6,0 mmol; 1,2 eq.) Benzochinon nach AAV 2 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Erhaltene Fraktionen enthielten eine Verunreinigung und wurden erneut säulenchromatographisch getrennt mit Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) als Eluent. Es wurden 41 mg grünelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 2,0 % entspricht.

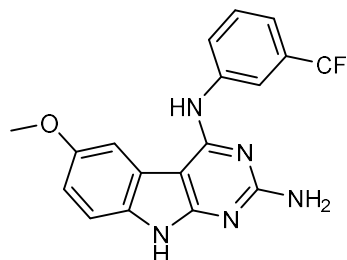
Ausbeute:	2,0 %
Schmelzbereich:	190 – 192 °C
HPLC-Reinheit:	98,44 % (Retentionszeit: 13,02 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:401,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:402,2 [M+H] <sup>+</sup> 26 %

MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:399,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:400,2 [M-H] <sup>-</sup> 20 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3460 w „br“ (OH st); 3228 m „br“ (NH st); 3064 m, 3046 m (aromat. CH st); 2920 m, 2850 m (aliph. CH st); 1607 s, 1592 s, 1506 s, 1492 m (C=C st); 1469 m, 1380 w (CH δ); 1424 m (C=N st); 1349 w (OH δ); 1254 m, 1156 w (C-O-C st Ether); 1223 m (aromat. C-F δ); 1197 w (COH st)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,11 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> (3''-FPh)); 6,32 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,65 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 6,84 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-5); 7,02 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,14 (t, <sup>3</sup> J <sub>4''/Fbzw.5''</sub> = 8,2 Hz, 1H, H-4''); 7,25 - 7,30 (m, 2H, H-2'' H-6''); 7,32 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,6 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,41 - 7,45 (m, 1H, H-5''); 7,91 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 9,04 (br, 1H, OH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 9,37 (br, 1H, C-8a-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 9,45 (s, 1H, H-2)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 69,08 (CH <sub>2</sub> (3''-FPh)); 83,49 (C-4a); 102,68 (C-5); 109,33 (C-8); 112,00 (C-7); 114,51 114,73 (C-2''); 114,85 115,06 (C-4''); 115,83 (C-3' C-5'); 120,94 (C-4b); 123,03 (C-2' C-6'); 123,91 123,93 (C-6''); 130,84 130,92 (C-5''); 133,84 (C-8a); 140,62 140,69 (C-1''); 140,84 (C-1'); 147,61 (C-2); 151,17 (C-6); 153,72 154,45 (C-4 C-9a); 156,79 (C-4'); 161,44 163,86 (C-3'')
R <sub>F</sub> -Werte:	0,24 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,16 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

#### 5.1.2.5.4. Synthese 6-alkoxysubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

##### 6-Methoxy-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin

Verbindung:	<b>73</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	373,34 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7



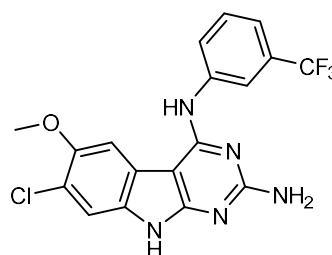
Es wurden 180 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 71 mg bzw. 31 µl (0,5 mmol; 1,0 eq.) Iodmethan nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 78 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 41,8 % entspricht.

Ausbeute:	41,8 %
Schmelzbereich:	105 – 108 °C
HPLC-Reinheit:	98,96 % (Retentionszeit: 11,21 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:374,5 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:375,5 [M+H] <sup>+</sup> 16 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:372,6 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:373,6 [M-H] <sup>-</sup> 18 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3325 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st); 3074 m, 3047 m (aromat. CH st); 2932 m, 2835 w (aliph. CH st); 1649 m (NH <sub>2</sub> δ); 1622 s,

	1588 s, 1498 m, 1479 m (C=C st); 1569 s (NH $\delta$ ); 1459 m, 1388 w (CH $\delta$ ); 1402 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F $\delta$ ); 1225 w (CN st); 1206 m, 1127 m (C-O-C st Ether); 793 w, 698 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,82 (s, 3H, 6-OCH <sub>3</sub> ); 6,02 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,76 (dd, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz $^4J_{7/5} = 2,4$ Hz, 1H, H-7); 6,86 (br, 1H, C-4-NH), with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,04 (d, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 1H, H-8); 7,70 (d, $^4J_{5/7} = 2,4$ Hz, 1H, H-5); 7,78 - 7,89 (m, 4H, H-2' H-4' H-5' H-6')
R <sub>F</sub> -Werte:	0,15 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,35 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

### 7-Chloro-6-methoxy-*N*<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indole-2,4-diamin

Verbindung:	<b>74</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	407,78 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7



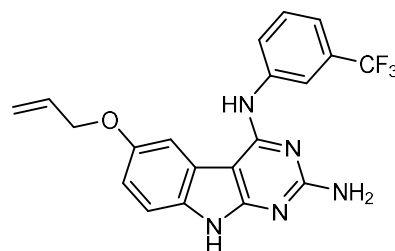
Es wurden 197 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 71 mg bzw. 31  $\mu\text{l}$  (0,5 mmol; 1,0 eq.) Iodmethan nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 50 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 24,5 % entspricht.

Ausbeute:	24,5 %
Schmelzbereich:	86 – 88 °C
HPLC-Reinheit:	99,25 % (Retentionszeit: 11,39 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:408,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:409,3 [M+H] <sup>+</sup> 17 % <sup>37</sup> Cl:410,2 [M+H] <sup>+</sup> 30 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:406,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:407,5 [M-H] <sup>-</sup> 19 % <sup>37</sup> Cl:408,5 [M-H] <sup>-</sup> 32 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3328 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3190 m „br“ (NH st); 3078 m, 3044 m (aromat. CH st); 2931 m, 2836 w (aliph. CH st); 1642 m (NH <sub>2</sub> $\delta$ ); 1625 s, 1589 s, 1499 m, 1476 m (C=C st); 1565 s (NH $\delta$ ); 1460 m, 1390 w (CH $\delta$ ); 1401 m (C=N st); 1337 m (aliph. C-F $\delta$ ); 1222 w (CN st); 1208 m, 1126 m (C-O-C st Ether); 792 w, 699 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,93 (s, 3H, 6-OCH <sub>3</sub> ); 6,09 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,99 (br, 1H, C-4-NH), with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,09 (s, 1H, H-8); 7,78 - 7,89 (m, 4H, H-2' H-4' H-5' H-6'); 7,84 (s, 1H, H-5)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,08 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,32 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**6-(Allyloxy)-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin**Verbindung: **75**Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 399,38 g/mol

Darstellung: nach AAV 7



Es wurden 119 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 40 mg bzw. 29 µl (0,3 mmol; 1,0 eq.) Allylbromid nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 64 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 48,5 % entspricht.

Ausbeute: 48,5 %

Schmelzbereich: 78 – 80 °C

HPLC-Reinheit: 98,68 % (Retentionszeit: 11,51 min)

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:400,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:401,2 [M+H]<sup>+</sup> 22 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:398,1 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:399,1 [M-H]<sup>-</sup> 20 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3323 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3187 m „br“ (NH st); 3089 m, 3054 m (aromat. CH st); 2926 s, 2859 (aliph. CH st); 1646 m (NH<sub>2</sub> δ); 1622 s, 1588 s, 1498 m, 1478 m (C=C st); 1570 s (NH δ); 1465 m, 1389 w (CH δ); 1424 m (CH<sub>2</sub>C=C δ); 1404 s (C=N st); 1339 m (aliph. C-F δ); 1218 w (CN st); 1202 m, 1128 m (C-O-C st Ether); 793 w, 700 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

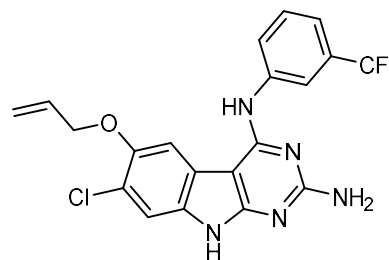
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, Aceton-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,65 (td, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH</sub> = 5,3 Hz <sup>4</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 1,5 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>O); 5,25 (qd, <sup>3</sup>J<sub>H/CH</sub> = 10,6 Hz <sup>2</sup>bzw.<sup>4</sup>J<sub>H/CHbz<sub>w</sub>.CH<sub>2</sub></sub> = 1,5 Hz, 1H, (Z)HCH=CHCH<sub>2</sub>O); 5,45 (qd, <sup>3</sup>J<sub>H/CH</sub> = 17,3 Hz <sup>2</sup>bzw.<sup>4</sup>J<sub>H/CHbz<sub>w</sub>.CH<sub>2</sub></sub> = 1,7 Hz, 1H, (E)HCH=CHCH<sub>2</sub>O); 5,60 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,12 (tdd, <sup>3</sup>J<sub>CH/E-CH</sub> = 17,3 Hz <sup>3</sup>J<sub>CH/Z-CH</sub> = 10,5 Hz <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,2 Hz, 1H, CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>O); 6,40 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,88 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,23 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 7,64 (d, <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 7,79 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-4'); 7,85 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'bz<sub>w</sub>.6'</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-5'); 7,92 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-6'); 7,97 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'bz<sub>w</sub>.6'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-2')

R<sub>f</sub>-Werte: 0,26 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V)

0,42 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**6-(Allyloxy)-7-chloro-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin**

Verbindung:	<b>76</b>
Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	433,82 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7



Es wurden 130 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 40 mg bzw. 29 µl (0,3 mmol; 1,0 eq.) Allylbromid nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 41 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 28,8 % entspricht.

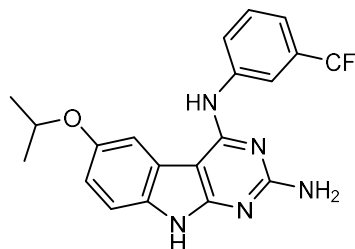
Ausbeute:	28,8 %
Schmelzbereich:	106 – 108 °C
HPLC-Reinheit:	99,47 % (Retentionszeit: 11,78 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:434,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:435,1 [M+H] <sup>+</sup> 20 % <sup>37</sup> Cl:436,1 [M+H] <sup>+</sup> 38 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:432,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:433,1 [M-H] <sup>-</sup> 18 % <sup>37</sup> Cl:434,1 [M-H] <sup>-</sup> 32 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3324 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st); 3087 m, 3051 m (aromat. CH st); 2925 m, 2858 w (aliph. CH st); 1647 m (NH <sub>2</sub> δ); 1620 s, 1587 s, 1498 m, 1476 m (C=C st); 1569 s (NH δ); 1438 m, 1387 w (CH δ); 1423 m (CH <sub>2</sub> C=C δ); 1400 m (C=N st); 1332 m (aliph. C-F δ); 1224 w (CN st); 1198 m, 1128 m (C-O-C st Ether); 794 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, Aceton-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,74 (td, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH</sub> = 5,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 1,5 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> O); 5,27 (qd, <sup>3</sup> J <sub>H/CH</sub> = 10,6 Hz <sup>2</sup> bzw. <sup>4</sup> J <sub>H/CH</sub> bzw.CH <sub>2</sub> = 1,6 Hz, 1H, (Z)HCH=CHCH <sub>2</sub> O); 5,51 (qd, <sup>3</sup> J <sub>H/CH</sub> = 17,3 Hz <sup>2</sup> bzw. <sup>4</sup> J <sub>H/CH</sub> bzw.CH <sub>2</sub> = 1,6 Hz, 1H, (E)HCH=CHCH <sub>2</sub> O); 5,70 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,15 (tdd, <sup>3</sup> J <sub>CH/E-CH</sub> = 17,2 Hz <sup>3</sup> J <sub>CH/Z-CH</sub> = 10,4 Hz <sup>3</sup> J <sub>CH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,1 Hz, 1H, CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> O); 6,53 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,31 (s, 1H, H-8); 7,81 (s, 1H, H-5); 7,83 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,87 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw.6' = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 7,93 (td, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> bzw.4' = 1,7 Hz, 1H, H-6'); 7,99 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw.6' = 1,7 Hz, 1H, H-2')
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 70,37 (CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> O); 89,60 (C-4a); 105,34 (C-5); 110,64 (C-8); 116,50 (C-7); 117,92 (CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> O); 121,42 (C-6'); 122,24 (C-4b); 123,21 (CF <sub>3</sub> ); 123,99 (C-4'); 124,27 (C-2'); 130,44 (C-8a); 131,07 (C-3'); 131,67 (C-5'); 133,71 (CH <sub>2</sub> =CHCH <sub>2</sub> O); 136,90 (C-1'); 149,84 (C-6); 159,30 159,33 (C-4 C-9a); 162,25 (C-2)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,17 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)



**6-(Isopropoxy)-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin**Verbindung: **77**Summenformel: C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 401,39 g/mol

Darstellung: nach AAV 7



Es wurden 165 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 57 mg bzw. 43 µl (0,5 mmol; 1,0 eq.) 2-Brompropan nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 52 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 27,9 % entspricht.

Ausbeute: 27,9 %

Schmelzbereich: 69 – 70 °C

HPLC-Reinheit: 98,49 % (Retentionszeit: 11,43 min)

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:402,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:403,2 [M+H]<sup>+</sup> 19 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:400,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup>C:401,2 [M-H]<sup>-</sup> 21 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3325 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st); 3078 m, 3047 m (aromat. CH st); 2972 s, 2925 s, 2855 m (aliph. CH st); 1642 m (NH<sub>2</sub> δ); 1622 s, 1587 s, 1498 m, 1475 s (C=C st); 1569 s (NH δ); 1465 s, 1451 s, 1384 w (CH δ); 1404 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F δ); 1215 w (CN st); 1200 m, 1129 m (C-O-C st Ether); 793 w, 699 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, Aceton-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,31 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,1 Hz, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHO); 4,69 (sep, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,1 Hz, 1H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHO); 5,65 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,45 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,85 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-7); 7,23 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,9 Hz, 1H, H-8); 7,61 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-5); 7,79 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-4'); 7,85 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 7,93 (td, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> bzw. <sup>4'</sup> = 1,4 Hz, 1H, H-6'); 7,98 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,5 Hz, 1H, H-2')

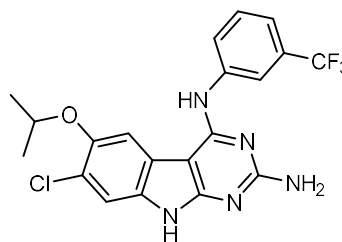
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 21,60 (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHO); 70,40 (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHO); 89,86 (C-4a); 106,99 (C-5); 109,70 (C-8); 112,65 (C-7); 122,78 (C-6'); 122,84 (C-4b); 123,24 (CF<sub>3</sub>); 123,52 (C-4'); 123,95 (C-2'); 130,23 (C-8a); 130,93 (C-3'); 131,66 (C-5'); 137,41 (C-1'); 153,85 (C-6); 158,83 159,01 (C-4 C-9a); 162,01 (C-2)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,30 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V)

0,41 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**7-Chloro-6-isopropoxy-*N*<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indole-2,4-diamin**

Verbindung:	<b>78</b>
Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	435,84 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7

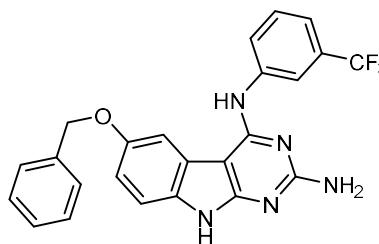


Es wurden 181 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 57 mg bzw. 43 µl (0,5 mmol; 1,0 eq.) 2-Brompropan nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 28 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 14,0 % entspricht.

Ausbeute:	14,0 %
Schmelzbereich:	74 – 76 °C
HPLC-Reinheit:	98,88 % (Retentionszeit: 11,72 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:436,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:437,2 [M+H] <sup>+</sup> 22 %; <sup>37</sup> Cl:438,1 [M+H] <sup>+</sup> 32 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:434,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:435,1 [M-H] <sup>-</sup> 20 %; <sup>37</sup> Cl:436,1 [M-H] <sup>-</sup> 34 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3327 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3189 m „br“ (NH st); 3076 m, 3047 m (aromat. CH st); 2978 m, 2925 s, 2855 m (aliph. CH st); 1662 m (NH <sub>2</sub> δ); 1621 s, 1587 s, 1498 m, 1475 m (C=C st); 1571 s (NH δ); 1446 s, 1384 m (CH δ); 1400 s (C=N st); 1332 m (aliph. C-F δ); 1222 w (CN st); 1198 m, 1130 s (C-O-C st Ether); 794 w, 698 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, Aceton-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,36 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH</sub> = 6,2 Hz, 6H, (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHO); 4,75 (sep, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH<sub>3</sub></sub> = 6,2 Hz, 1H, (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHO); 5,80 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,62 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,29 (s, 1H, H-8); 7,83 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4'); 7,84 (s, 1H, H-5); 7,88 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 7,93 (td, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> bzw. <sup>4'</sup> = 1,6 Hz, 1H, H-6'); 7,99 (t, <sup>4</sup> J <sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,6 Hz, 1H, H-2')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,22 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,39 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**6-(Benzyloxy)-*N*<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indole-2,4-diamin**

Verbindung:	<b>79</b>
Summenformel:	C <sub>24</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	449,44 g/mol



Darstellung: nach AAV 7

Es wurden 165 mg **47a/b** (Verhältnis  $\approx$  1:1; 0,22 mmol) mit 79 mg bzw. 55  $\mu$ l (0,5 mmol) Benzylbromid nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Die vereinten Fraktionen enthielten sowohl Produkt **78** als auch Produkt **79**. Diese wurden nachgehend säulenchromatographisch getrennt unter Verwendung von Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) als Eluent. Es wurden 40 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 40,5 % entspricht.

Ausbeute: 40,5 %  
 Schmelzbereich: 217 – 219 °C  
 HPLC-Reinheit: 99,38 % (Retentionszeit: 12,14 min)  
 MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:450,3$  [M+H]<sup>+</sup> 100 %;  ${}^{13}\text{C}:451,3$  [M+H]<sup>+</sup> 26 %  
 MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:448,2$  [M-H]<sup>-</sup> 100 %;  ${}^{13}\text{C}:449,2$  [M-H]<sup>-</sup> 23 %  
 IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3319 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3182 m „br“ (NH st); 3068 m, 3033 m (aromat. CH st); 2924 m, 2854 w (aliph. CH st); 1651 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1621 s, 1587 s, 1498 m, 1479 m (C=C st); 1568 s (NH  $\delta$ ); 1449 s, 1382 m (CH  $\delta$ ); 1403 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1215 m (CN st); 1197 m, 1127 m (C-O-C st Ether); 793 w, 697 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)  
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 5,17 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph); 6,02 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,83 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-7); 6,85 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,05 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 7,31 (tt, <sup>3</sup>J<sub>4''/3'' bzw. 5''</sub> = 7,3 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/2'' bzw. 6''</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-4''); 7,39 (t, <sup>3</sup>J<sub>3''/2'' bzw. 4''</sub> und <sup>3</sup>J<sub>5''/4'' bzw. 6''</sub> = 7,4 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,48 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''/3''</sub> und <sup>3</sup>J<sub>6''/5''</sub> = 7,4 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,78 - 7,87 (m, 5H, H-5 H-2' H-4' H-5' H-6')  
 R<sub>F</sub>-Werte: 0,31 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V)  
 0,42 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

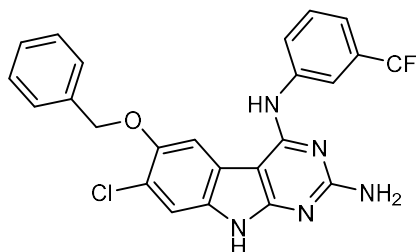
**6-(Benzyloxy)-7-chloro-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin**

Verbindung: **80**

Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>17</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 483,88 g/mol

Darstellung: nach AAV 7



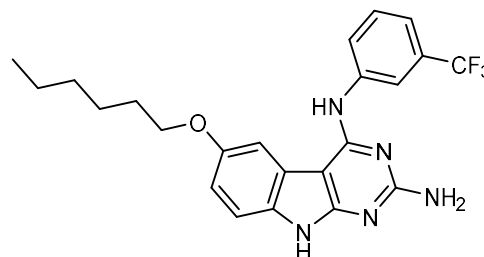
Es wurden 165 mg **47a/b** (Verhältnis  $\approx$  1:1; 0,22 mmol) mit 79 mg bzw. 55  $\mu$ l (0,5 mmol) Benzylbromid nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 7 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Die vereinten Fraktionen enthielten sowohl Produkt **78** als auch Produkt **79**. Diese wurden nachgehend

säulenchromatographisch getrennt unter Verwendung von Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) als Eluent. Es wurde 27 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 25,4 % entspricht.

Ausbeute:	25,4 %
Schmelzbereich:	96 – 98 °C
HPLC-Reinheit:	98,96 % (Retentionszeit: 12,46 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:484,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:485,2 [M+H] <sup>+</sup> 24 % <sup>37</sup> Cl:486,2 [M+H] <sup>+</sup> 38 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:482,1 [M-H] <sup>-</sup> 100 %; <sup>13</sup> C:483,1 [M-H] <sup>-</sup> 22 % <sup>37</sup> Cl:484,2 [M-H] <sup>-</sup> 32 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3325 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3187 m „br“ (NH st); 3067 m, 3034 m (aromat. CH st); 2925 m, 2854 m (aliph. CH st); 1636 m (NH <sub>2</sub> δ); 1620 s, 1587 s, 1498 m, 1476 m (C=C st); 1569 s (NH δ); 1437 m, 1383 m (CH δ); 1401 m (C=N st); 1334 m (aliph. C-F δ); 1221 m (CN st); 1196 m, 1128 m (C-O-C st Ether); 794 w, 696 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, Aceton-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,30 (s, 2H, OCH <sub>2</sub> Ph); 5,66 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,47 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,33 (s, 1H, H-8); 7,34 (tt, <sup>3</sup> J <sub>4''/3''</sub> bzw. 5'' = 7,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>4''/2''</sub> bzw. 6'' = 2,0 Hz, 1H, H-4''); 7,42 (t, <sup>3</sup> J <sub>3''/2''</sub> bzw. 4'' und <sup>3</sup> J <sub>5''/4''</sub> bzw. 6'' = 7,5 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,58 (d, <sup>3</sup> J <sub>2''/3''</sub> und <sup>3</sup> J <sub>6''/5''</sub> = 7,3 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,83 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-4'); 7,88 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. 6' = 7,8 Hz, 1H, H-5'); 7,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-6'); 7,95 (s, 1H, H-5); 7,99 (s, 1H, H-2')
R <sub>F</sub> -Werte:	0,21 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,40 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

### 6-(Hexyloxy)-N<sup>4</sup>-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin

Verbindung:	<b>81</b>
Summenformel:	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	443,47 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7



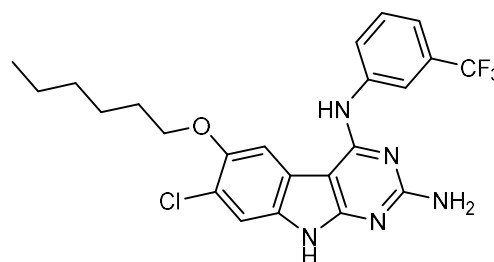
Es wurden 197 mg **47a/b** (Verhältnis ≈ 1:1; 0,26 mmol) mit 83 mg bzw. 70 µl (0,5 mmol) Bromhexan nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 5 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Die vereinten Fraktionen enthielten sowohl Produkt **81** als auch Produkt **82**. Diese wurden nachgehend säulenchromatographisch getrennt unter Verwendung von Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) als Eluent. Es wurde 46 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 39,9 % entspricht.

Ausbeute:	39,9%
Schmelzbereich:	123 – 127 °C
HPLC-Reinheit:	99,03 % (Retentionszeit: 12,22 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:444,6 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:445,7 [M+H] <sup>+</sup> 22 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:442,9 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:443,9 [M-H] <sup>-</sup> 16 %

IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3323 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3183 m „br“ (NH st); 3083 m, 3042 m (aromat. CH st); 2957 m, 2930 m, 2862 w (aliph. CH st); 1642 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1623 s, 1590 s, 1496 m, 1481 m (C=C st); 1565 s (NH $\delta$ ); 1439 s, 1383 w (CH $\delta$ ); 1403 m (C=N st); 1336 m (aliph. C-F $\delta$ ); 1222 w (CN st); 1201 m, 1129 m (C-O-C st Ether); 792 w, 696 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 0,88 (t, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,1$ Hz, 3H, ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ )); 1,28 - 1,35 (m, 4H, ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ )); 1,47 (qui, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2\text{bzw.}\text{CH}_2} = 7,2$ Hz, 2H, ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ )); 1,76 (qui, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2\text{bzw.}\text{CH}_2} = 7,2$ Hz, 2H, ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ )); 4,03 (t, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 2H, ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ )); 5,99 (br, 2H, C-2- $\text{NH}_2$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 6,74 (dd, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz $^4J_{7/5} = 2,4$ Hz, 1H, H-7); 6,82 (br, 1H, C-4- $\text{NH}$ , with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 7,03 (d, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 1H, H-8); 7,79 - 7,85 (m, 4H, H-5 H-4' H-5' H-6'); 7,88 (s, 1H, H-2')
$R_f$ -Werte:	0,37 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,44 Chloroform/Methanol 80:20 (V/V)

**7-Chloro-6-(hexyloxy)- $N^4$ -(3-(trifluoromethyl)phenyl)-9H-pyrimido[4,5-b]indole-2,4-diamin**

Verbindung:	<b>82</b>
Summenformel:	$\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}$
Molekulargewicht:	477,92 g/mol
Darstellung:	nach AAV 7



Es wurden 197 mg **47a/b** (Verhältnis  $\approx$  1:1; 0,26 mmol) mit 83 mg bzw. 70  $\mu\text{l}$  (0,5 mmol) Bromhexan nach AAV 7 umgesetzt. Die Dünnschichtchromatographie indizierte ein Reaktionsende nach 5 h. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Die vereinten Fraktionen enthielten sowohl Produkt **81** als auch Produkt **82**. Diese wurden nachgehend säulenchromatographisch getrennt unter Verwendung von Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) als Eluent. Es wurde 29 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 23,5 % entspricht.

Ausbeute:	23,3 %
Schmelzbereich:	87 – 89 °C
HPLC-Reinheit:	99,73 % (Retentionszeit: 12,53 min)
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:478,8$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 100 % $^{13}\text{C}:479,7$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 23 % $^{37}\text{Cl}:480,6$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 32 %
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}:476,8$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 100 % $^{13}\text{C}:477,9$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 20 % $^{37}\text{Cl}:478,9$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 30 %
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3319 m „br“ ( $\text{NH}_2$ st); 3185 m „br“ (NH st); 3083 m, 3047 m (aromat. CH st); 2955 m, 2931 m, 2859 w (aliph. CH st); 1645 m ( $\text{NH}_2$ $\delta$ ); 1621 s, 1588 s, 1498 m, 1479 m (C=C st); 1568 s (NH $\delta$ ); 1439 s, 1381 w (CH $\delta$ ); 1401 m (C=N st); 1333 m (aliph. C-F $\delta$ ); 1224 w (CN st); 1199 m, 1130 m (C-O-C st Ether); 794 w, 697 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,87 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz, 3H, (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O)); 1,29 - 1,36 (m, 4H, (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O)); 1,47 (qui, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz, 2H, (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O)); 1,75 (qui, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O)); 4,14 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,9 Hz, 2H, (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O)); 6,08 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,96 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 7,08 (s, 1H, H-8); 7,79 - 7,85 (m, 4H, H-5 H-4' H-5' H-6'); 7,89 (s, 1H, H-2')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,32 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,43 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

### 5.1.2.5.5. Synthese 6-carboxylsubstituierter 9H-Pyrimido[4,5-b]indol-6-ole

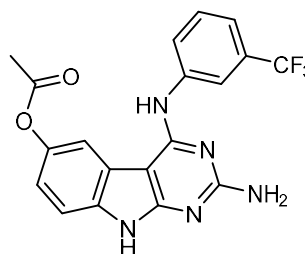
#### 2-Amino-4-((3-trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl-acetat

Verbindung: **83**

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>14</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 401,35 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



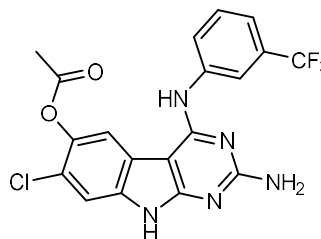
Es wurden 230 mg (0,6 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 50 mg bzw. 46 µl (0,6 mmol; 1,0 eq.) Acetylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 34 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 13,1 % entspricht.

Ausbeute:	13,1 %
Schmelzbereich:	211 – 213 °C
HPLC-Reinheit:	99,51 % (Retentionszeit: 10,45 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:402,8 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:404,1 [M+H] <sup>+</sup> 22 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:400,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:401,5 [M-H] <sup>-</sup> 20 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3327 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st); 3077 m, 3050 m (aromat. CH st); 2925 m, 2854 w (aliph. CH st) 1743 (C=O st); 1645 m (NH <sub>2</sub> δ); 1620 s, 1586 s, 1498 m, 1476 m (C=C st); 1569 s (NH δ); 1451 m, 1369 m (CH δ); 1402 m (C=N st); 1339 m (aliph. C-F δ); 1226 m (CN st); 1208 m, 1166 m (COOR st); 794 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,28 (s, 3H, CH <sub>3</sub> C(=O)O); 6,11 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,84 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,89 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,10 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,81 - 7,89 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,91 (s, 1H, H-2'); 7,94 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,21 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,34 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl-acetat**Verbindung: **84**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 435,79 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 252 mg (0,6 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 50 mg bzw. 46 µl (0,6 mmol; 1,0 eq.) Acetylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 35 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 12,7 % entspricht.

Ausbeute: 12,7 %

Schmelzbereich: 204 – 206 °C

HPLC-Reinheit: 99,04 % (Retentionszeit: 10,86 min)

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:436,6 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:437,6 [M+H]<sup>+</sup> 22 % <sup>37</sup>Cl:438,6 [M+H]<sup>+</sup> 32 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:434,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:435,4 [M-H]<sup>-</sup> 20 % <sup>37</sup>Cl:436,4 [M-H]<sup>-</sup> 36 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3327 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3187 m „br“ (NH st); 3088 m, 3047 m (aromat. CH st); 2925 m, 2854 w (aliph. CH st) 1750 (C=O st); 1643 m (NH<sub>2</sub> δ); 1622 s, 1588 s, 1498 m, 1477 w (C=C st); 1571 s (NH δ); 1448 m, 1370 m (CH δ); 1401 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F δ); 1222 m (CN st); 1210 m, 1175 m (COOR st); 794 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,35 (s, 3H, CH<sub>3</sub>C(=O)O); 6,20 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,92 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,16 (s, 1H, H-8); 7,81 - 7,89 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,93 (s, 1H, H-2'); 8,11 (s, 1H, H-5)

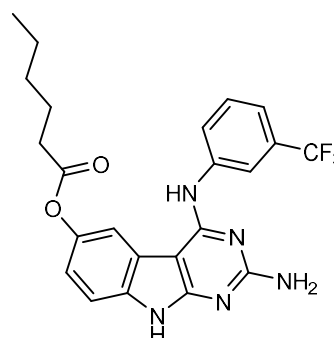
R<sub>f</sub>-Werte: 0,19 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V)

0,33 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl-hexanoat**Verbindung: **85**Summenformel: C<sub>23</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 457,46 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



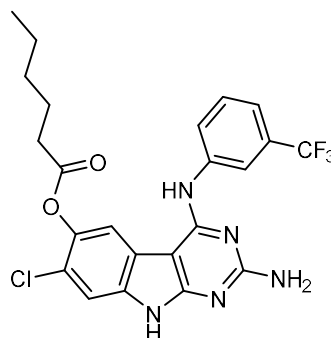
Es wurden 230 mg (0,6 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 86 mg bzw. 89 µl (0,6 mmol; 1,0 eq.) Hexanoylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol

98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 35 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 11,9 % entspricht.

Ausbeute:	11,9 %
Schmelzbereich:	204 – 206 °C
HPLC-Reinheit:	99,66 % (Retentionszeit: 11,56 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:458,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:459,5 [M+H] <sup>+</sup> 36 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:456,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:457,6 [M-H] <sup>-</sup> 32 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3326 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3182 m „br“ (NH st); 3076 m, 3053 m (aromat. CH st); 2925 s, 2855 m (aliph. CH st) 1738 (C=O st); 1646 m (NH <sub>2</sub> δ); 1621 s, 1587 s, 1498 m, 1476 m (C=C st); 1569 s (NH δ); 1451 m, 1388 w (CH δ); 1403 m (C=N st); 1339 m (aliph. C-F δ); 1214 w, 1167 s (COOR st); 794 w, 699 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,84 (tt, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 3,4 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C(=O)O); 1,24 (m, 4H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C(=O)O); 1,46 (qui, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>2</sub></sub> = 7,4 Hz, 2H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C(=O)O); 2,57 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,5 Hz, 2H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> C(=O)O); 6,10 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,84 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,86 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,10 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,8 Hz, 1H, H-8); 7,81 - 7,89 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,90 (s, 1H, H-2'); 7,92 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,45 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,41 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

### 2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl-hexanoat

Verbindung:	<b>86</b>
Summenformel:	C <sub>23</sub> H <sub>21</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	491,90 g/mol
Darstellung:	nach AAV 6



Es wurden 252 mg (0,6 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 86 mg bzw. 89 µl (0,6 mmol; 1,0 eq.) Hexanoylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 38 mg grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 12,2 % entspricht.

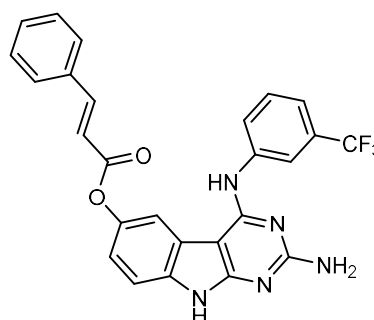
Ausbeute:	12,2 %
Schmelzbereich:	194 – 196 °C
HPLC-Reinheit:	98,78 % (Retentionszeit: 11,69 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:493,5 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:494,4 [M+H] <sup>+</sup> 20 % <sup>37</sup> Cl:495,3 [M+H] <sup>+</sup> 33 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:490,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:491,5 [M-H] <sup>-</sup> 24 % <sup>37</sup> Cl:492,5 [M-H] <sup>-</sup> 30 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3327 m „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3185 m „br“ (NH st); 3078 m, 3048 m (aromat. CH st); 2926 m, 2855 m (aliph. CH st) 1745 (C=O st); 1642 m (NH <sub>2</sub> δ);



	1622 s, 1587 s, 1498 m, 1474 m (C=C st); 1568 s (NH $\delta$ ); 1446 m, 1380 w (CH $\delta$ ); 1400 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F $\delta$ ); 1218 w, 1168 m (COOR st); 793 w, 697 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 0,89 (tt, $^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,3$ Hz $^4J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 1,6$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}$ ); 1,36 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}$ ); 1,68 (qui, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2\text{bz.w. CH}_2} = 7,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}$ ); 2,63 (t, $^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_2} = 7,5$ Hz, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{O}$ ); 6,20 (br, 2H, C-2-NH $_2$ , with D $_2$ O exchangeable); 6,93 (br, 1H, C-4-NH, with D $_2$ O exchangeable); 7,15 (s, 1H, H-8); 7,81 - 7,89 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,93 (s, 1H, H-2'); 8,09 (s, 1H, H-5)
R $_f$ -Werte:	0,38 Chloroform/Pyridin 75:25 (V/V) 0,41 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-  
9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(phenyl)acrylat**

Verbindung:	<b>87</b>
Summenformel:	C $_{26}$ H $_{18}$ F $_3$ N $_5$ O $_2$
Molekulargewicht:	489,46 g/mol
Darstellung:	nach AAV 6



Es wurden 90 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 62 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (*E*)-3-Phenylacryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 48 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 39,6 % entspricht.

Ausbeute:	39,6 %
Schmelzbereich:	246 – 249 °C
HPLC-Reinheit:	99,45 % (Retentionszeit: 11,88 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = $^{12}\text{C}$ :490,3 [M+H] $^+$ 100 % $^{13}\text{C}$ :491,4 [M+H] $^+$ 35 %
MS (ESI-negativ):	m/z = $^{12}\text{C}$ :488,4 [M-H] $^-$ 100 % $^{13}\text{C}$ :489,4 [M-H] $^-$ 30 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm $^{-1}$ ]: 3310 w „br“ (NH $_2$ st); 3174 w „br“ (NH st); 3063 m, 3033 m (aromat. CH st); 3015 w ( <i>trans</i> CH=CH st) 1711 m (C=O st); 1669 w ( <i>trans</i> C=C st); 1635 m (NH $_2$ $\delta$ ); 1616 s, 1591 s, 1496 w, 1484 m (C=C st); 1581 s (NH $\delta$ ); 1449 m, 1381 w (CH $\delta$ ); 1405 m (C=N st); 1333 m (aliph. C-F $\delta$ ); 1203 w, 1162 m (COOR st); 792 w, 698 w (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 6,10 (br, 2H, C-2-NH $_2$ , with D $_2$ O exchangeable); 6,84 (br, 1H, C-4-NH, with D $_2$ O exchangeable); 6,90 (d, $^3J_{\text{CH}/\text{CH}} = 16,0$ Hz, 1H, (Ph)CH=CH); 6,91 (dd, $^3J_{7/8} = 8,8$ Hz $^4J_{7/5} = 2,2$ Hz, 1H, H-7); 7,12 (d, $^3J_{8/7} = 8,8$ Hz, 1H, H-8); 7,44 - 7,47 (m, 3H, H-3'' H-4'' H-5''); 7,79 - 7,81 (m, 2H, H-2'' H-6''); 7,82 - 7,90 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,85 (d, $^3J_{\text{CH}/\text{CH}} = 16,0$ Hz, (Ph)CH=CH); 7,93 (s, 1H, H-2'); 7,95 (d, $^4J_{5/7} = 2,2$ Hz, 1H, H-5)
R $_f$ -Werte:	0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V) 0,30 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

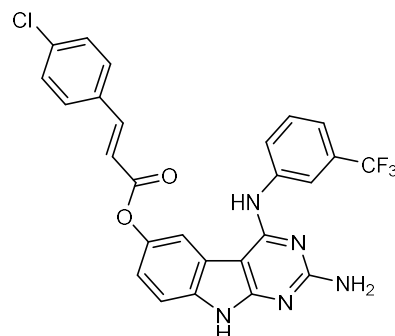
**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-  
9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-chlorophenyl)acrylat**

Verbindung: **88**

Summenformel:  $C_{26}H_{17}ClF_3N_5O_2$

Molekulargewicht: 523,90 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 90 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 74 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (*E*)-3-(4-Chlorophenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 65 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 49,2 % entspricht.

Ausbeute: 49,2 %

Schmelzbereich: 252 – 254 °C

HPLC-Reinheit: 98,17 % (Retentionszeit: 11,92 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:524,6 [M+H]^+ 56 \% {}^{13}C:525,4 [M+H]^+ 100 \% {}^{37}Cl:527,1 [M+H]^+ 92 \%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:522,5 [M-H]^- 100 \% {}^{13}C:523,5 [M-H]^- 28 \% {}^{37}Cl:524,5 [M-H]^- 36 \%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3329 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3163 w „br“ (NH st); 3070 m, 3034 m (aromat. CH st); 3012 w (*trans* CH=CH st) 1715 m (C=O st); 1655 w (*trans* C=C st); 1632 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1614 s, 1591 s, 1499 m, 1490 m (C=C st); 1574 s (NH  $\delta$ ); 1450 m, 1389 w (CH  $\delta$ ); 1405 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1201 w, 1172 m (COOR st); 818 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat); 794 w, 699 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,10 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,84 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,94 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 6,95 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, (4''-ClPh)CH=CH); 7,12 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,4 Hz, 1H, H-8); 7,50 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5''/2''-6''</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,81 - 7,91 (m, 6H, H-2' H-4' H-5' H-6' H-2'' H-6''); 7,87 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, (4''-ClPh)CH=CH); 8,02 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 89,17 (C-4a); 109,48 (C-5); 113,08 (C-8); 116,46 (C-7); 118,75 (4''-ClPh)C=C); 122,62 (C-4b); 122,93 (C-2'); 124,78 (CF<sub>3</sub>); 125,64 (C-4'); 129,50 (C-3'' C-5''); 130,52 (C-6'); 130,79 (C-2'' C-6''); 131,23 (C-5'); 132,27 (C-8a); 133,37 (C-1''); 134,65 (C-3'); 135,81 (C-4''); 137,13 (C-1') 145,18 (C-6); 145,85 (4''-ClPh)C=C); 158,98 159,66 (C-4 C-9a); 162,81 (C-2); 165,99 (O=C-O)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,31 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

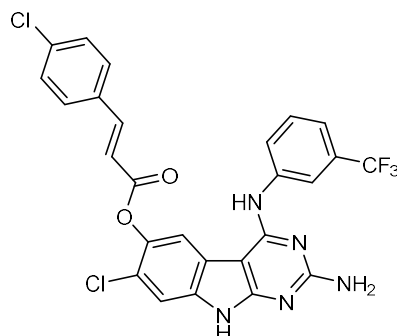
**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-chlorophenyl)acrylat**

Verbindung: **89**

Summenformel:  $C_{26}H_{16}Cl_2F_3N_5O_2$

Molekulargewicht: 558,34 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 98 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 74 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (*E*)-3-(4-Chlorophenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 35 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 25,2 % entspricht.

Ausbeute: 25,2 %

Schmelzbereich: 222 – 224 °C

HPLC-Reinheit: 99,06 % (Retentionszeit: 14,35 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:558,7 [M+H]^+ 100\% {}^{13}C:559,6 [M+H]^+ 32\% {}^{37}Cl:560,6 [M+H]^+ 78\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:556,4 [M-H]^- 100\% {}^{13}C:557,4 [M-H]^- 31\% {}^{37}Cl:558,4 [M-H]^- 68\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3329 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3173 w „br“ (NH st); 3073 m, 3025 m (aromat. CH st); 3012 w (*trans* CH=CH st) 1709 m (C=O st); 1653 w (*trans* C=C st); 1633 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1615 s, 1585 s, 1498 m, 1491 m (C=C st); 1567 s (NH  $\delta$ ); 1454 m, 1371 w (CH  $\delta$ ); 1400 m (C=N st); 1338 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1214 w (CN st); 1201 w, 1156 m (COOR st); 821 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat); 794 w, 698 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,20 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,92 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,02 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 15,7 Hz, 1H, (4''-ClPh)CH=CH); 7,18 (s, 1H, H-8); 7,52 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,3 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,81 - 7,90 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,88 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,3 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,93 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 15,7 Hz, 1H, (4''-ClPh)CH=CH); 7,94 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'bzw.6'</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-2'); 8,19 (s, 1H, H-5)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 88,72 (C-4a); 109,88 (C-5); 114,59 (C-8); 117,81 ((4''-ClPh)C=C); 119,93 (C-7); 121,64 (C-4b); 122,90 (C-2'); 125,14 (CF<sub>3</sub>); 125,61 (C-4'); 129,52 (C-3'' C-5''); 130,63 (C-6'); 130,95 (C-2'' C-6''); 131,37 (C-5'); 132,42 (C-8a); 133,22 (C-1''); 135,34 (C-3'); 136,04 (C-4''); 136,64 (C-1') 141,56 (C-6); 146,13 ((4''-ClPh)C=C); 158,89 160,14 (C-4 C-9a); 162,03 (C-2); 165,10 (O=C-O)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,29 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

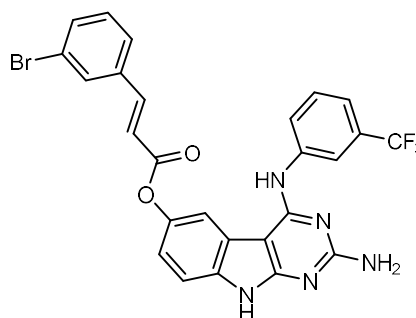
**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-  
9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(3-bromophenyl)acrylat**

Verbindung: **90**

Summenformel:  $C_{26}H_{17}BrF_3N_5O_2$

Molekulargewicht: 568,35 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 90 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 88 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (E)-3-(3-Bromophenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 33 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 23,2 % entspricht.

Ausbeute: 23,2 %

Schmelzbereich: 241 – 243 °C

HPLC-Reinheit: 100,00 % (Retentionszeit: 14,09 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:568,7 [M+H]^+ 45\% {}^{13}C:569,7 [M+H]^+ 29\% {}^{79}Br:571,0 [M+H]^+ 100\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:566,6 [M-H]^- 100\% {}^{13}C:567,6 [M-H]^- 28\% {}^{79}Br:568,6 [M-H]^- 95\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3327 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3173 m „br“ (NH st); 3079 m, 3033 m (aromat. CH st); 3013 w (*trans* CH=CH st) 1710 m (C=O st); 1657 w (*trans* C=C st); 1637 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1622 s, 1591 s, 1498 m, 1478 m (C=C st); 1571 s (NH  $\delta$ ); 1451 m, 1382 w (CH  $\delta$ ); 1402 m (C=N st); 1340 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1214 w (CN st); 1198 m, 1167 s (COOR st); 792 w, 698 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,12 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,85 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,97 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-7); 7,03 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, (3''-BrPh)CH=CH); 7,14 (d, <sup>3</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,41 (t, <sup>3</sup>J<sub>5''/4'' bzw. 6''</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-5''); 7,65 (ddd, <sup>3</sup>J<sub>4''/5''</sub> = 7,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/6''</sub> = 1,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/2''</sub> = 0,9 Hz, 1H, H-4''); 7,83 - 7,91 (m, 4H, H-4' H-5' H-6' H-6''); 7,86 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, (3''-BrPh)CH=CH); 7,93 (s, 1H, H-2'); 8,04 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-5); 8,08 (t, <sup>4</sup>J<sub>2''/4'' bzw. 6''</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-2'')

R<sub>f</sub>-Werte: 0,25 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,33 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

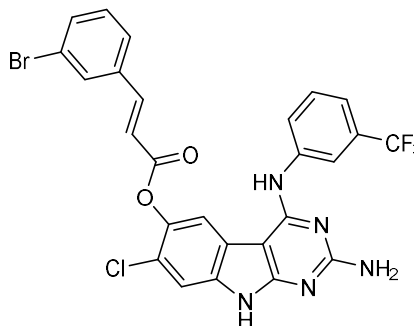
**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(3-bromophenyl)acrylat**

Verbindung: **91**

Summenformel:  $C_{26}H_{16}BrClF_3N_5O_2$

Molekulargewicht: 602,80 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 98 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 88 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (E)-3-(3-Bromophenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 20 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 13,6 % entspricht.

Ausbeute: 13,6 %

Schmelzbereich: 231 – 233 °C

HPLC-Reinheit: 98,70 % (Retentionszeit: 14,50 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:602,8 [M+H]^+ 72 \% {}^{13}C:603,8 [M+H]^+ 26 \% {}^{79}Br:604,7 [M+H]^+ 100 \%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:600,5 [M-H]^- 76 \% {}^{13}C:601,5 [M-H]^- 28 \% {}^{79}Br:602,5 [M-H]^- 100 \%$

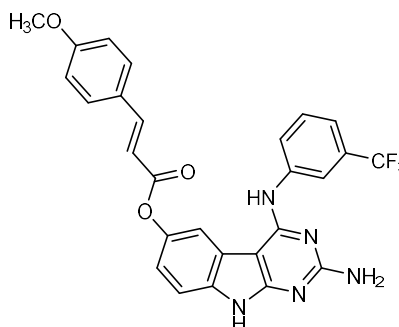
IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3329 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3150 m „br“ (NH st); 3077 m, 3035 m (aromat. CH st); 3012 w (*trans* CH=CH st) 1711 m (C=O st); 1655 w (*trans* C=C st); 1637 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1615 s, 1586 s, 1498 m, 1476 w (C=C st); 1565 m (NH  $\delta$ ); 1453 m, 1370 w (CH  $\delta$ ); 1400 m (C=N st); 1337 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1216 w (CN st); 1198 w, 1169 m (COOR st); 794 w, 698 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,21 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,93 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,10 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, (3''-BrPh)CH=CH); 7,20 (s, 1H, H-8); 7,42 (t, <sup>3</sup>J<sub>5''/4'' bzw. 6''</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-5''); 7,66 (d, <sup>3</sup>J<sub>4''/5''</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-4''); 7,82 - 7,90 (m, 4H, H-4' H-5' H-6' H-6''); 7,93 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, (3''-BrPh)CH=CH); 7,95 (s, 1H, H-2'); 8,12 (t, <sup>4</sup>J<sub>2''/4'' bzw. 6''</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-2''); 8,21 (s, 1H, H-5)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,25 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,31 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-  
9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-methoxyphenyl)acrylat**

Verbindung:	<b>92</b>
Summenformel:	C <sub>27</sub> H <sub>20</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>
Molekulargewicht:	519,48 g/mol
Darstellung:	nach AAV 6



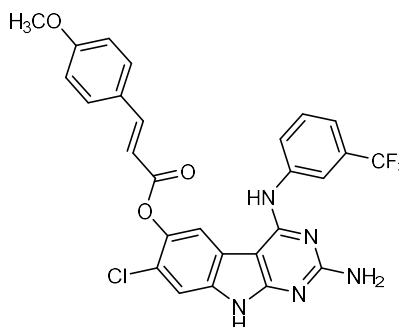
Es wurden 90 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 59 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) (*E*)-3-(4-Methoxyphenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 68 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 52,8 % entspricht.

Ausbeute:	52,8 %
Schmelzbereich:	235 – 237 °C
HPLC-Reinheit:	98,56 % (Retentionszeit: 11,56 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:520,8 [M+H] <sup>+</sup> 84 % <sup>13</sup> C:521,5 [M+H] <sup>+</sup> 100 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3328 w „br“ (NH <sub>2</sub> st); 3166 m „br“ (NH st); 3077 m, 3041 m (aromat. CH st); 3008 w ( <i>trans</i> CH=CH st) 1711 s (C=O st); 1653 m ( <i>trans</i> C=C st); 1631 m (NH <sub>2</sub> δ); 1613 s, 1587 s, 1499 m, 1481 m (C=C st); 1576 s (NH δ); 1450 m, 1371 w (CH δ); 1404 m (C=N st); 1341 s (aliph. C-F δ); 1235 m, 1156 s (C-O-C st Ether); 1212 w (CN st); 1202 w, 1173 s (COOR st); 828 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 793 w, 699 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,81 (s, 3H, 4''-OCH <sub>3</sub> ); 6,11 (br, 2H, C-2-NH <sub>2</sub> , with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,77 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH</sub> = 15,9 Hz, 1H, (4''-OCH <sub>3</sub> Ph)CH=CH); 6,85 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 6,95 (dd, <sup>3</sup> J <sub>7/8</sub> = 8,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>7/5</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 7,01 (d, <sup>3</sup> J <sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,13 (d, <sup>3</sup> J <sub>8/7</sub> = 8,7 Hz, 1H, H-8); 7,77 (d, <sup>3</sup> J <sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,82 (d, <sup>3</sup> J <sub>CH/CH</sub> = 15,7 Hz, 1H, (4''-OCH <sub>3</sub> Ph)CH=CH); 7,83 - 7,85 (m, 2H, H-4' H-5'); 7,88 - 7,90 (m, 1H, H-6'); 7,92 (s, 1H, H-2'); 8,02 (d, <sup>4</sup> J <sub>5/7</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-5)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 55,84 (OCH <sub>3</sub> ); 89,18 (C-4a); 109,44 (C-5); 113,17 ((4''-OCH <sub>3</sub> Ph)C=C); 114,93 (C-3'' C-5''); 115,09 (C-8); 116,58 (C-7); 122,60 (C-4b); 122,93 (C-2'); 124,74 (CF <sub>3</sub> ); 125,64 (C-4'); 127,04 (C-1''); 130,51 (C-6'); 130,92 (C-2'' C-6''); 131,23 (C-5'); 132,27 (C-8a); 134,56 (C-3'); 137,14 (C-1'); 145,99 (C-6); 146,42 ((4''-OCH <sub>3</sub> Ph)C=C); 158,96 159,63 (C-4 C-9a); 161,90 (C-4''); 162,77 (C-2); 166,38 (O=C-O)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V) 0,31 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-methoxyphenyl)acrylat**Verbindung: **93**Summenformel:  $C_{27}H_{19}ClF_3N_5O_3$ 

Molekulargewicht: 553,93 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 98 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 71 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (*E*)-3-(4-Methoxyphenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 70 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 50,0 % entspricht.

Ausbeute: 50,0 %

Schmelzbereich: 244 – 246 °C

HPLC-Reinheit: 99,38 % (Retentionszeit: 13,77 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:554,7 [M+H]^+ 100\% {}^{13}C:555,6 [M+H]^+ 54\% {}^{37}Cl:557,7 [M+H]^+ 17\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:552,4 [M-H]^- 100\% {}^{13}C:554,4 [M-H]^- 34\% {}^{37}Cl:555,5 [M-H]^- 8\%$ 

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3328 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3170 w „br“ (NH st); 3075 m, 3043 m (aromat. CH st); 3013 w (*trans* CH=CH st) 1713 m (C=O st); 1653 w (*trans* C=C st); 1631 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1612 s, 1582 s, 1500 m, 1478 w (C=C st); 1567 m (NH  $\delta$ ); 1456 m, 1373 w (CH  $\delta$ ); 1400 m (C=N st); 1339 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1259 m, 1153 m (C-O-C st Ether); 1213 w (CN st); 1204 w, 1172 m (COOR st); 825 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat); 795 w, 701 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 3,81 (s, 3H, 4''-OCH<sub>3</sub>); 6,20 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,83 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 15,8 Hz, 1H, (4''-OCH<sub>3</sub>Ph)CH=CH); 6,92 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,01 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,19 (s, 1H, H-8); 7,81 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,84 - 7,89 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,88 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 15,8 Hz, 1H, (4''-OCH<sub>3</sub>Ph)CH=CH); 7,95 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 1,7 Hz, 1H, H-2'); 8,19 (s, 1H, H-5)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 55,86 (OCH<sub>3</sub>); 88,72 (C-4a); 109,84 (C-5); 114,14 ((4''-OCH<sub>3</sub>Ph)C=C); 114,71 (C-8); 114,96 (C-3'' C-5''); 120,08 (C-7); 121,61 (C-4b); 122,90 (C-2'); 125,15 (CF<sub>3</sub>); 125,61 (C-4'); 126,90 (C-1''); 130,62 (C-6'); 131,13 (C-2'' C-6''); 131,37 (C-5'); 132,41 (C-8a); 135,26 (C-3'); 136,67 (C-1') 141,72 (C-6); 147,32 ((4''-OCH<sub>3</sub>Ph)C=C); 158,89 160,12 (C-4 C-9a); 162,07 (C-4''); 163,01 (C-2); 165,48 (O=C-O)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

0,29 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

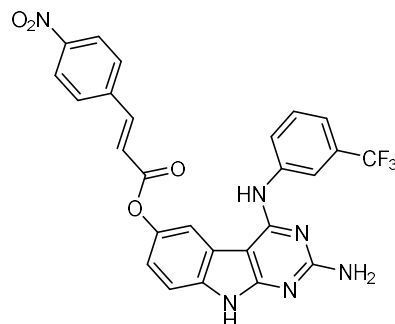
**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-  
9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-nitrophenyl)acrylat**

Verbindung: **94**

Summenformel:  $C_{26}H_{17}F_3N_6O_4$

Molekulargewicht: 534,46 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 90 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47a** mit 64 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) (*E*)-3-(4-Nitrophenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 97,5:2,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 47 mg gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 35,2 % entspricht.

Ausbeute: 35,2 %

Schmelzbereich: 234 – 236 °C

HPLC-Reinheit: 98,86 % (Retentionszeit: 13,96 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:535,1 [M+H]^+ 100\% {}^{13}C:536,2 [M+H]^+ 27\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3335 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3170 w „br“ (NH st); 3075 m, 3039 m (aromat. CH st); 3010 w (*trans* CH=CH st) 1717 m (C=O st); 1666 m (*trans* C=C st); 1635 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1617 s, 1585 s, 1523 m, 1497 m (C=C st); 1573 s (NH  $\delta$ ); 1458 s, 1378 w (CH  $\delta$ ); 1396 m (C=N st); 1341 s (aliph. C-F  $\delta$ ); 1213 w (CN st); 1204 w, 1166 s (COOR st); 793 w, 699 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,12 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,86 (br, 1H, C-4-NH), 6,98 (dd, <sup>3</sup>J<sub>7/8</sub> = 8,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>7/5</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-7); 7,14 (d, <sup>4</sup>J<sub>8/7</sub> = 8,6 Hz, 1H, H-8); 7,17 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, ((4''-NO<sub>2</sub>Ph)CH=CH); with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,83 - 7,91 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,93 (s, 1H, H-2'); 8,01 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 16,1 Hz, 1H, ((4''-NO<sub>2</sub>Ph)CH=CH); 8,05 (d, <sup>4</sup>J<sub>5/7</sub> = 2,1 Hz, 1H, H-5); 8,12 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 8,28 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3'' H-5'')

R<sub>f</sub>-Werte: 0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,29 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)



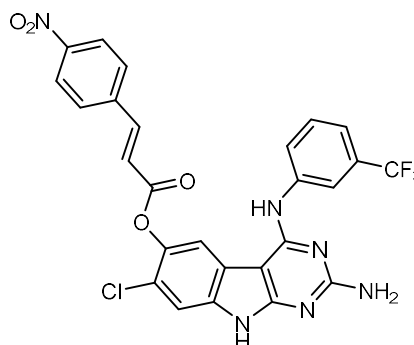
**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-nitrophenyl)acrylat**

Verbindung: **95**

Summenformel:  $C_{26}H_{16}ClF_3N_6O_4$

Molekulargewicht: 568,90 g/mol

Darstellung: nach AAV 6



Es wurden 98 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **47b** mit 76 mg (0,4 mmol; 1,5 eq.) (E)-3-(4-Nitrophenyl)acryloylchlorid nach AAV 6 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 97,5:2,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 45 mg gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 31,6 % entspricht.

Ausbeute: 31,6 %

Schmelzbereich: 239 – 242 °C

HPLC-Reinheit: 99,24 % (Retentionszeit: 14,02 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:569,6 [M+H]^+ 100\% {}^{13}C:570,6 [M+H]^+ 23\% {}^{37}Cl:571,5 [M+H]^+ 36\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:567,4 [M-H]^- 100\% {}^{13}C:568,3 [M-H]^- 32\% {}^{37}Cl:569,4 [M-H]^- 44\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3340 w „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3167 w „br“ (NH st); 3072 m, 3036 m (aromat. CH st); 3012 w (*trans* CH=CH st) 1740 w (C=O st); 1664 w (*trans* C=C st); 1639 m (NH<sub>2</sub>  $\delta$ ); 1623 s, 1588 s, 1516 m, 1496 w (C=C st); 1567 s (NH  $\delta$ ); 1465 m, 1376 w (CH  $\delta$ ); 1403 m (C=N st); 1339 m (aliph. C-F  $\delta$ ); 1222 w (CN st); 1204 w, 1167 m (COOR st); 794 w, 696 w (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,21 (br, 2H, C-2-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 6,93 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,21 (s, 1H, H-8); 7,24 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 15,9 Hz, 1H, (4''-NO<sub>2</sub>Ph)CH=CH); 7,83 - 7,92 (m, 3H, H-4' H-5' H-6'); 7,95 (s, 1H, H-2'); 8,08 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH</sub> = 15,9 Hz, 1H, (4''-NO<sub>2</sub>Ph)CH=CH); 8,15 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 8,23 (s, 1H, H-5); 8,29 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3'' H-5'')

R<sub>f</sub>-Werte: 0,24 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,27 Chloroform/Pyridin 80:20 (V/V)

## 5.1.2.6. Synthese analoger Bicyclen

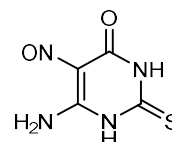
### 5.1.2.6.1. Synthese 6-anilino-/6-anilino-9-alkylsubstituierter 9H-Purin-6-amine

#### 6-Amino-5-nitroso-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on

Verbindung: **96**

Summenformel: C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S

Molekulargewicht: 172,16 g/mol



Darstellung: Einzelvorschrift

Es wurden 4,65 g (32,5 mmol; 1,0 eq.) **15** vorgelegt und in 120,0 ml 1M wässriger Salzsäure suspendiert. Unter Rühren und Kühlung auf 0 °C wurde anschließend 2,36 g (34,2 mmol; 1,1 eq.) NaNO<sub>2</sub>, gelöst in 30,0 ml Wasser, zugetropft. Die Suspension verfärbte sich karminrot und wurde für weitere 7 h bei 0 °C gerührt. Danach wurde der unlösliche Rückstand abfiltriert und mit je 30,0 ml Wasser und Ethanol nachgewaschen. Der verbliebene rote Feststoff wurde über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 4,88 g roter Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 87,2 % entspricht.

Ausbeute: 87,2 %

Schmelzbereich: > 320 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:173,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:174,2 [M+H]<sup>+</sup> 6 %

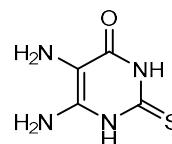
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 7,69 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,23 (br, 1H, N-1-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 12,55 (br, 1H, N-3-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

#### 5,6-Diamino-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4(1H)-on

Verbindung: **97**

Summenformel: C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>OS

Molekulargewicht: 158,18 g/mol



Darstellung: Einzelvorschrift

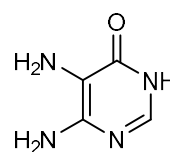
Es wurden 4,88 g (28,4 mmol; 1,0 eq.) **96** vorgelegt und in 116,0 ml gesättigter wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung suspendiert. Unter Rühren und Kühlung auf 0 °C wurde anschließend 13,00 g (74,7 mmol; 2,6 eq.) Natriumdithionit portionsweise zugesetzt. Es kam zu starker Gasentwicklung. Die Suspension verfärbte sich dabei von karminrot nach beige und wurde für weitere 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Beendigung der Umsetzung wurde der Reaktionsansatz mit Eisessig auf einen pH von 4 - 5 angesäuert. Danach wurde der unlösliche Rückstand abfiltriert und mit je 30,0 ml Wasser und

Ethanol nachgewaschen. Der verbliebene beige Feststoff wurde über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 2,89 g beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 64,4 % entspricht.

Ausbeute: 64,4 %  
 Schmelzbereich: > 320 °C  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:159,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:160,2 [M+H]<sup>+</sup> 5 %  
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,64 (br, 6H, N-1-H N-3-H C-5-NH<sub>2</sub> C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

### 5,6-Diaminopyrimidin-4(3H)-on

Verbindung: **98**  
 Summenformel: C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O  
 Molekulargewicht: 126,12 g/mol  
 Darstellung: Einzelschrift

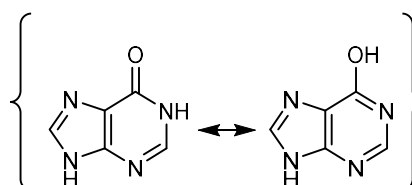


Es wurden 2,88 g (18,3 mmol; 1,0 eq.) **97** vorgelegt und in 77,0 ml 5%iger wässriger NH<sub>3</sub>-Lösung gelöst. Unter Rühren wurde anschließend 9,6 ml einer 50%igen Aufschlämmung von Raney-Nickel in Wasser zugesetzt. Der Reaktionsansatz wurde nachgehend für 1,5 h zum Rückfluss erhitzt und danach heiß über ein Celite®-Pad filtriert. Der Filtrückstand wurde mit 60,0 ml kochendem Wasser nachgewaschen. Das gesammelte Filtrat wurde im Vakuum zur Trockene eingengt. Der verbliebene weiß-gelbliche Feststoff wurde über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 2,30 g leicht gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 99,8 % entspricht.

Ausbeute: 99,8 %  
 Schmelzbereich: 238 – 240 °C  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:127,4 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:128,3 [M+H]<sup>+</sup> 4 %  
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,67 (br, 2H, C-5-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 5,55 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable), 7,40 (s, 1H, H-2); 11,58 (br, 1H, N-3-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

### 1,9-Dihydro-6H-purin-6-on/9H-Purin-6-ol

Verbindung: **99**  
 Summenformel: C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>4</sub>O  
 Molekulargewicht: 136,11 g/mol  
 Darstellung: Einzelschrift



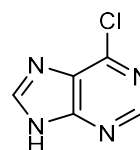
Es wurden 2,55 g (20,2 mmol; 1,0 eq.) **98** vorgelegt und in wenig Wasser suspendiert. Unter Rühren wurde anschließend 1,09 g bzw. 0,92 ml 85%ige Ameisensäure (20,2 mmol; 1,0 eq.) und 1,99 g bzw.

1,08 ml 98%ige Schwefelsäure (19,9 mmol; 1,0 eq.) zugetropft. Der Reaktionsansatz wurde nachgehend 16 h bei 130 °C gerührt und verfärbte sich zu einer braunen Lösung. Nach Abkühlen wurde dem Reaktionsgemisch 3,2 ml Wasser zugesetzt, um dieses flüssig zu halten. Bei nachfolgender Neutralisation mit 25%iger wässriger NH<sub>3</sub>-Lösung kam es zur Bildung eines braunen Präzipitats. Nach Kühlung des Reaktionsansatzes auf 0 °C wurde das Präzipitat abfiltriert und mit jeweils zweimal 12,8 ml Wasser, Ethanol und Aceton nachgewaschen. Der verbliebene beige Feststoff wurde über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 1,39 g beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 50,5 % entspricht.

Ausbeute:	50,5 %
Schmelzbereich:	> 320 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:136,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:137,2 [M+H] <sup>+</sup> 6 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3134 m „br“ (NH st); 3079 m, 3047 m (aromat. CH st); 2805 m „br“ (OH st); 1663 s (NH δ); 1645 m (C=O st); 1610 m, 1514 m, 1467 m (C=C st); 1578 m (NH δ); 1419 m (C=N st); 1347 m (OH δ); 1135 m (C-OH st)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 7,96 (s, 1H, H-4); 8,10 (br, 1H, H-8); 12,62 (br, 2H, 5-N-H 9-N-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)

### 6-Chloro-9H-purin

Verbindung:	<b>100</b>
Summenformel:	C <sub>5</sub> H <sub>3</sub> ClN <sub>4</sub>
Molekulargewicht:	154,56 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



Es wurden unter Kühlung auf 0 °C 16,80 g bzw. 10,00 ml POCl<sub>3</sub> (109,6 mmol; 18,6 eq.) vorgelegt und mit 1,73 g bzw. 1,80 ml *N,N*-Dimethylanilin (14,3 mmol; 2,4 eq.) versetzt. Anschließend wurden 800 mg (5,9 mmol; 1,0 eq.) **99** zugegeben. Der Reaktionsansatz wurde für 0,5 h zum Rückfluss erhitzt und verfärbte sich langsam zu einer braunen Lösung. Der Überschuss an POCl<sub>3</sub> wurde im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand konnte unter Kühlung auf 0 °C in 7,00 ml 25%iger wässriger NH<sub>3</sub>-Lösung gelöst werden, um danach als *dry-load* für die Säulenchromatographie präpariert zu werden. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 90:10 zu 80:20 (V/V) verwendet. Es wurden 477 mg grau-grüner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 52,4 % entspricht.

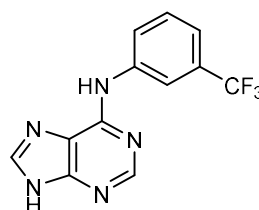
Ausbeute:	52,4 %
Schmelzbereich:	174 – 176 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:156,0 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:157,1 [M+H] <sup>+</sup> 6 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:153,6 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>37</sup> Cl:155,4 [M-H] <sup>-</sup> 17 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3165 m „br“ (NH st); 3063 s, 3008 s (aromat. CH st); 1661 m (NH δ); 1618 w, 1603 m, 1489 m, 1476 w (C=C st); 1570 s (NH δ); 1424 m (C=N st)

<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 8,66 (s, 1H, H-8); 8,72 (s, 1H, H-4); 12,61 (br, 1H, N-9-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 129,22 (C-1); 146,41 (C-8); 147,61 (C-2); 151,38 (C-4); 154,36 (C-6)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,37 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,46 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101a**Summenformel: C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>F<sub>3</sub>N<sub>5</sub>

Molekulargewicht: 279,23 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



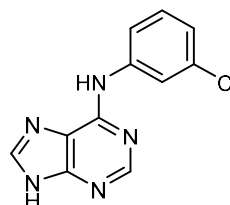
Es wurden 209 mg (1,4 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 1088 mg (6,8 mmol; 5,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 174 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 46,1 % entspricht.

Ausbeute:	46,1 %
Schmelzbereich:	238 – 240 °C
HPLC-Reinheit:	98,36 % (Retentionszeit: 9,35 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:280,6 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:281,9 [M+H] <sup>+</sup> 17 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:278,6 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:278,5 [M-H] <sup>-</sup> 15 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3319 m, 3159 m (NH st); 3082 m, 3045 m (aromat. CH st); 1647 m (NH δ); 1620 m, 1590 s, 1488 s, 1477 m (C=C st); 1557 m (NH δ); 1404 m (C=N st); 1337 s (aliph. C-F δ); 1232 m (CN st); 791 m, 696 m (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 7,34 (d, <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-4'); 7,55 (t, <sup>3</sup> J <sub>5'/4'</sub> bzw. <sup>6'</sup> = 7,9 Hz, 1H, H-5'); 8,26 (d, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 6,7 Hz, 1H, H-6'); 8,33 (s, 1H, H-8); 8,45 (s, 1H, H-4); 8,50 (s, 1H, H-2'); 10,14 (br, 1H, C-6-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 13,25 (br, 1H, N-9-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 116,71 (C-4'); 118,75 (C-2'); 120,12 (C-1); 123,67 (C-6'); 124,18 (CF <sub>3</sub> ); 125,84 (C-5'); 129,93 (C-3'); 140,85 (C-8); 141,28 (C-1'); 151,16 151,99 152,12 (C-2 C-4 C-6)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,41 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,44 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(3-Chlorophenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101b**Summenformel:  $C_{11}H_8ClN_5$ 

Molekulargewicht: 245,67 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 209 mg (1,4 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 861 mg (6,8 mmol; 5,0 eq.) 3-Chloroanilin nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 95:5 zu 90:10 (V/V) verwendet. Es wurden 166 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 50,0 % entspricht.

Ausbeute: 50,0 %

Schmelzbereich: 264 – 266 °C

Elementaranalyse: ber.: C 53,78; H 3,28; N 28,51

gef.: C 53,31; H 3,42; N 28,37

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:246,5 [M+H]^+ 100\% {}^{13}C:247,5 [M+H]^+ 18\% {}^{37}Cl:248,5 [M+H]^+ 42\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:244,5 [M-H]^- 100\% {}^{13}C:245,5 [M-H]^- 12\% {}^{37}Cl:246,5 [M-H]^- 29\%$ 

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3348 m „br“, 3121 m „br“ (NH st); 3070 m, 3040 m (aromat. CH st); 1646 m (NH  $\delta$ ); 1619 s, 1593 s, 1526 m, 1476 m (C=C st); 1570 s (NH  $\delta$ ); 1408 m (C=N st); 1232 m (CN st); 1077 m (aromat. C-Cl  $\delta$ ); 794 m, 693 m (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

$^1H$ -NMR: 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 7,04 (d,  ${}^3J_{4'/5'} = 7,9$  Hz, 1H, H-4'); 7,32 (t,  ${}^3J_{5'/4'bzw.6'} = 7,9$  Hz, 1H, H-5'); 7,91 (d,  ${}^3J_{6'/5'} = 7,9$  Hz, 1H, H-6'); 8,24 (t,  ${}^4J_{2'/4'bzw.6'} = 2,0$  Hz, 1H, H-2'); 8,30 (s, 1H, H-8); 8,42 (s, 1H, H-4); 9,98 (br, 1H, C-6-NH), with  $D_2O$  exchangeable); 13,22 (br, 1H, N-9-H, with  $D_2O$  exchangeable)

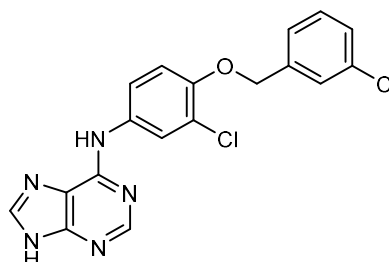
R<sub>F</sub>-Werte: 0,42 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,43 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(3-Chloro-4-((3-chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101c**Summenformel:  $C_{18}H_{13}Cl_2N_5O$ 

Molekulargewicht: 386,24 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



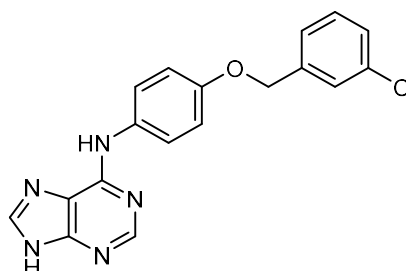
Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 402 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **3b** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent

aufgereinigt. Der erhaltene braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 89 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 46,0 % entspricht.

Ausbeute:	46,0 %
Schmelzbereich:	290 – 292 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 55,98; H 3,39; N 18,13 gef.: C 56,02; H 3,33; N 18,11
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:387,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:388,2 [M+H] <sup>+</sup> 22 % <sup>37</sup> Cl:389,4 [M+H] <sup>+</sup> 72 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,55 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (3''-ClPh)); 7,05 (d, <sup>3</sup> J <sub>5'/6'</sub> = 8,9 Hz, 1H, H-5'); 7,12 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,5 Hz, 1H, H-6'); 7,18 (td, <sup>3</sup> J <sub>4''/5''</sub> = 7,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>4''/2'' bzw. 6''</sub> = 1,8 Hz, 1H, H-4''); 7,24 - 7,30 (m, 3H, H-2'' H-5'' H-6''); 7,42 (d, <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> = 2,5 Hz, 1H, H-2'); 8,02 (s, 1H, H-8); 8,18 (s, 1H, H-4); 9,47 (br, 1H, C-6-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 13,00 (br, 1H, N-9-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,30 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,44 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

#### N-(4-((3-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin

Verbindung:	<b>101d</b>
Summenformel:	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	351,79 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



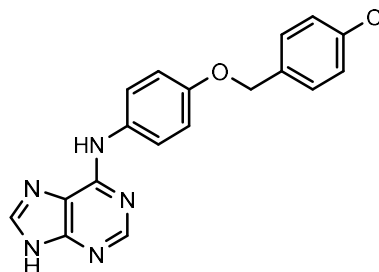
Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 351 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2c** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 72 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 40,6 % entspricht.

Ausbeute:	40,6 %
Schmelzbereich:	306 – 308 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 61,46; H 4,01; N 19,91 gef.: C 60,89; H 4,00; N 19,56
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:352,5 [M+H] <sup>+</sup> 72 % <sup>13</sup> C:353,6 [M+H] <sup>+</sup> 24 % <sup>37</sup> Cl: 355,0 [M+H] <sup>+</sup> 100%
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:350,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:351,5 [M-H] <sup>-</sup> 18 % <sup>37</sup> Cl:352,5 [M-H] <sup>-</sup> 30%
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3170 m „br“ (NH st); 3060 m, 3014 m (aromat. CH st); 2924 m, 2873 m (aliph. CH st); 1614 w, 1593 s, 1514 m, 1497 m (C=C st); 1572 s (NH δ); 1464 m, 1379 w (CH δ); 1416 m (C=N st); 1264 m, 1164 m (C-O-C st Ether); 1236 m (CN st); 1078 w (aromat. C-Cl δ); 827 m (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 793 m, 703 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,60 (s, 2H, $\text{CH}_2(3''\text{-CIPh})$ ); 6,68 (d, $^3J_{3\text{'-}5\text{'}/2\text{'-}6\text{'}} = 8,2$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,96 (d, $^3J_{2\text{'-}6\text{'}/3\text{'-}5\text{'}} = 8,2$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,20 (td, $^3J_{4\text{'}/5\text{'}} = 7,1$ Hz $^4J_{4\text{'}/2\text{'}}$ bzw. $6\text{'}} = 1,7$ Hz 1H, H-4'); 7,23 - 7,29 (m, 3H, H-2'' H-5'' H-6''); 8,03 (s, 1H, H-8); 8,18 (s, 1H, H-4); 9,38 (br, 1H, C-6-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 13,02 (br, 1H, N-9-H, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 54,46 ( $\text{CH}_2(3''\text{-CIPh})$ ); 115,86 (C-3' C-5'); 119,38 (C-1); 126,83 (C-6''); 127,31 (C-2''); 127,87 (C-4''); 129,23 (C-2' C-6'); 130,57 (C-5''); 133,28 (C-3''); 135,38 (C-1'); 139,25 (C-8); 141,74 (C-1''); 152,06 (C-2); 152,30 (C-6); 154,53 (C-4'); 156,16 (C-4)
$R_f$ -Werte:	0,28 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,42 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**

Verbindung:	<b>101e</b>
Summenformel:	$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClN}_5\text{O}$
Molekulargewicht:	351,79 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 155 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 701 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2h** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene rot-braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 129 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 36,5 % entspricht.

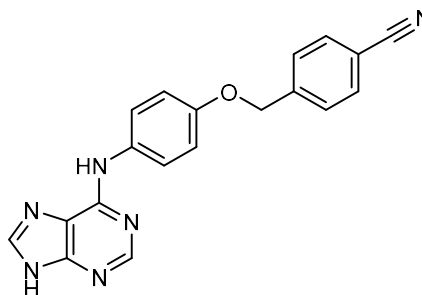
Ausbeute:	36,5 %
Schmelzbereich:	282 – 283 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 61,46; H 4,01; N 19,91 gef.: C 61,25; H 4,17; N 19,79
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}:352,7$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 38 % 725,3 [ $2\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 100% $^{13}\text{C}:353,7$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 24 % 726,2 [ $2\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 40 % $^{37}\text{Cl}:354,8$ [ $\text{M}+\text{H}$ ] $^+$ 40 % 727,2 [ $2\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ 70 %
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}:350,4$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 100 % 701,0 [ $2\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 16% $^{13}\text{C}:351,3$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 17 % 702,0 [ $2\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 6 % $^{37}\text{Cl}:352,3$ [ $\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 30% 703,0 [ $2\text{M}-\text{H}$ ] $^-$ 10%
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3194 m „br“ (NH st); 3067 m, 3010 m (aromat. CH st); 2925 m, 2848 m (aliph. CH st); 1612 w, 1592 m, 1513 s, 1496 s (C=C st); 1574 s (NH $\delta$ ); 1464 m, 1374 w (CH $\delta$ ); 1405 m (C=N st); 1264 m, 1165 m (C-O-C st Ether); 1234 m (CN st); 1092 m (aromat. C-Cl $\delta$ ); 828 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,58 (s, 2H, $\text{CH}_2(4''\text{-CIPh})$ ); 6,67 (d, $^3J_{3\text{'-}5\text{'}/2\text{'-}6\text{'}} = 8,6$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,95 (d, $^3J_{2\text{'-}6\text{'}/3\text{'-}5\text{'}} = 8,6$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,23 - 7,31 (m, 4H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6''); 8,02 (s, 1H, H-8); 8,17 (s, 1H, H-4); 9,37 (br, 1H, C-6-NH, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 13,00 (br, 1H, N-9-H, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)



$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 54,33 ( $\text{CH}_2(4''\text{-CIPh})$ ); 115,82 (C-3' C-5'); 119,33 (C-1); 128,60 (C-3'' C-5''); 129,30 (C-2' C-6'); 130,03 (C-2'' C-6''); 131,85 (C-4''); 135,37 (C-1'); 138,09 (C-1''); 139,14 (C-8); 152,03 (C-2); 152,25 (C-6); 154,52 (C-4'); 156,13 (C-4)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,28 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,40 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**4-((4-((9H-Purin-6-yl)amino)phenoxy)methyl)benzonitril**

Verbindung:	<b>101f</b>
Summenformel:	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}$
Molekulargewicht:	342,36 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 673 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2i** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene rot-braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 94 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 27,5 % entspricht.

Ausbeute:	27,5 %
Schmelzbereich:	250 – 252 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 66,66; H 4,12; N 24,55 gef.: C 66,95; H 4,26; N 24,31
MS (ESI-positiv):	m/z = $^{12}\text{C}$ :343,8 [M+H] <sup>+</sup> 20 % 707,3 [2M+Na] <sup>+</sup> 100% $^{13}\text{C}$ :344,9 [M+H] <sup>+</sup> 6 % 708,3 [2M+Na] <sup>+</sup> 38 %
MS (ESI-negativ):	m/z = $^{12}\text{C}$ :341,4 [M-H] <sup>-</sup> 100 % 683,0 [2M-H] <sup>-</sup> 16% $^{13}\text{C}$ :342,3 [M-H] <sup>-</sup> 20 % 684,1 [2M-H] <sup>-</sup> 6 %
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3194 m „br“ (NH st); 3065 s, 3008 m (aromat. CH st); 2927 m, 2869 m (aliph. CH st); 2232 m (C≡N st); 1612 w, 1592 s, 1514 m. 1494 m (C=C st); 1573 s (NH $\delta$ ); 1463 s, 1374 w (CH $\delta$ ); 1412 m (C=N st); 1265 m, 1161 w (C-O-C st Ether); 1235 m (CN st); 828 m, 819 m (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,65 (s, 2H, $\text{CH}_2(4''\text{-CNPh})$ ); 6,67 (d, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,6$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,00 (d, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,6$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,44 (d, $^3J_{2'-6''/3''-5''} = 8,6$ Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,70 (d, $^3J_{3''-5''/2''-6''} = 8,6$ Hz, 2H, H-3'' H-5''); 8,02 (s, 1H, H-8); 8,19 (s, 1H, H-4); 9,40 (br, 1H, C-6-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 13,01 (br, 1H, N-9-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 54,92 ( $\text{CH}_2(4''\text{-CNPh})$ ); 115,92 (C-3' C-5'); 116,11 (4''-C≡N); 119,28 (C-1); 128,93 (C-2'' C-6''); 129,17 (C-2' C-6'); 132,64 (C-3'' C-5''); 135,40 (C-1'); 139,34 (C-8); 145,12 (C-1''); 152,05 (C-2); 152,33 (C-6); 154,51 (C-4'); 156,24 (C-4)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,28 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)  
0,38 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

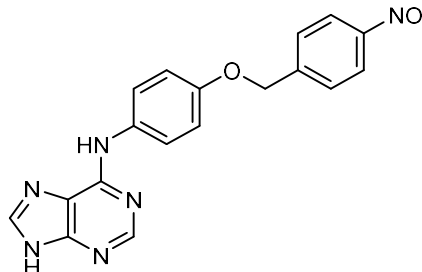
**N-(4-((4-Nitrobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**

Verbindung: **101g**

Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 362,35 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 155 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 733 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2j** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene gelb-braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 188 mg gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 51,8 % entspricht.

Ausbeute: 51,8 %

Schmelzbereich: 277 – 279 °C

Elementaranalyse: ber.: C 59,67; H 3,89; N 23,19

gef.: C 59,53; H 3,99; N 22,94

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:363,6 [M+H]<sup>+</sup> 52 % 747,1 [2M+Na]<sup>+</sup> 100% <sup>13</sup>C:364,2 [M+H]<sup>+</sup> 18 %  
748,2 [2M+Na]<sup>+</sup> 38 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:361,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 % 723,0 [2M-H]<sup>-</sup> 12 % <sup>13</sup>C:362,4 [M-H]<sup>-</sup> 20 %  
724,0 [2M-H]<sup>-</sup> 5 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3192 m „br“ (NH st); 3056 m, 3012 m (aromat. CH st); 2922 m, 2859 m (aliph. CH st); 1608 m, 1592 s, 1513 s, 1496 s (C=C st); 1578 s (NH δ); 1464 s, 1379 w (CH δ); 1411 m (C=N st); 1344 s (NO<sub>2</sub> δ); 1265 m, 1167 m (C-O-C st Ether); 1236 m (CN st); 828 m (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-NO<sub>2</sub>Ph)); 6,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,03 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6''/3'-5''</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,53 (d, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 8,12 (d, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 8,8 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 8,03 (s, 1H, H-8); 8,19 (s, 1H, H-4); 9,40 (br, 1H, C-6-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 13,03 (br, 1H, N-9-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 54,80 (CH<sub>2</sub>(4''-NO<sub>2</sub>Ph)); 115,91 (C-3' C-5'); 119,44 (C-1); 123,88 (C-3'' C-5''); 129,10 (C-2'' C-6''); 129,23 (C-2' C-6'); 135,41 (C-1'); 139,38 (C-8); 146,94 (C-1''); 147,36 (C-4''); 152,06 (C-2); 152,35 (C-6); 154,51 (C-4'); 156,24 (C-4)

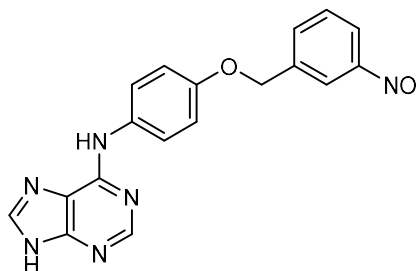
R<sub>f</sub>-Werte: 0,29 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,41 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(4-((3-Nitrobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101h**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 362,35 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 155 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 733 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2d** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene gelb-braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 42 mg gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 11,7 % entspricht.

Ausbeute: 11,7 %

Schmelzbereich: 308 – 309 °C

Elementaranalyse: ber.: C 59,67; H 3,89; N 23,19

gef.: C 59,31; H 3,87; N 22,91

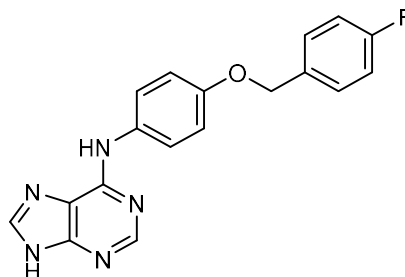
MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:363,8 [M+H]<sup>+</sup> 24 % 747,2 [2M+Na]<sup>+</sup> 100% <sup>13</sup>C:364,8 [M+H]<sup>+</sup> 6 %  
748,2 [2M+Na]<sup>+</sup> 40 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:361,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 % 723,0 [2M-H]<sup>-</sup> 12 % <sup>13</sup>C:362,4 [M-H]<sup>-</sup> 20 %  
724,0 [2M-H]<sup>-</sup> 5 %IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3154 m „br“ (NH st); 3071 m, 3008 m (aromat. CH st); 2926 m, 2851 m (aliph. CH st); 1612 w, 1598 m, 1513 s, 1496 m (C=C st); 1576 s (NH δ); 1464 m, 1377 w (CH δ); 1414 m (C=N st); 1345 s (NO<sub>2</sub> δ); 1264 m, 1166 w (C-O-C st Ether); 1232 m (CN st); 829 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 793 w, 694 m (CH δ 1,3-disubst. Aromat)<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,71 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(3''-NO<sub>2</sub>Ph)); 6,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,00 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,7 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,55 (t, <sup>3</sup>J<sub>5''/4''bzw.6''</sub> = 8,1 Hz, 1H, H-5''); 7,70 (d, <sup>3</sup>J<sub>6''/5''</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-6''); 8,04 (s, 1H, H-8); 8,07 (dd, <sup>3</sup>J<sub>4''/5''</sub> = 8,3 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/6''</sub> = 1,5 Hz, 1H, H-4''); 8,11 (t, <sup>4</sup>J<sub>2''/4''bzw.6''</sub> = 1,5 Hz, 1H, H-2''); 8,21 (s, 1H, H-4); 9,40 (br, 1H, C-6-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 13,05 (br, 1H, N-9-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 54,38 (CH<sub>2</sub> (3''-NO<sub>2</sub>Ph)); 115,94 (C-3' C-5'); 119,42 (C-1); 122,40 (C-4''); 122,70 (C-2''); 129,29 (C-2' C-6'); 130,25 (C-5''); 134,91 (C-6''); 135,23 (C-1'); 139,41 (C-8); 141,51 (C-1''); 148,18 (C-3''); 152,07 (C-2); 152,35 (C-6); 154,51 (C-4'); 156,25 (C-4)R<sub>f</sub>-Werte: 0,29 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,41 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(4-((4-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101i**Summenformel:  $C_{18}H_{14}FN_5O$ 

Molekulargewicht: 335,34 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 155 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 652 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2g** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 72 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 21,4 % entspricht.

Ausbeute: 21,4 %

Schmelzbereich: 300 – 302 °C

HPLC-Reinheit: 98,88 % (Retentionszeit: 8,23 min)

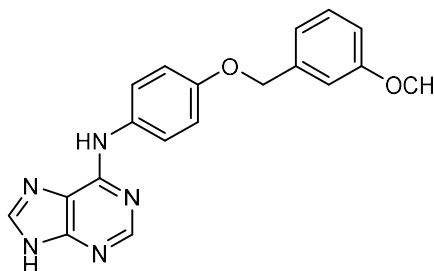
MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:336,7 [M+H]^+ 24 \% 693,2 [2M+Na]^+ 100\% {}^{13}C:337,7 [M+H]^+ 7 \% 694,2 [2M+Na]^+ 38 \%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:334,4 [M-H]^- 100 \% 669,0 [2M-H]^- 12 \% {}^{13}C:335,4 [M-H]^- 19 \% 670,0 [2M-H]^- 4 \%$ IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 3150 m „br“ (NH st); 3067 m, 3011 m (aromat. CH st); 2927 m, 2872 m (aliph. CH st); 1612 w, 1593 m, 1513 m, 1496 s (C=C st); 1568 s (NH  $\delta$ ); 1465 m, 1376 w (CH  $\delta$ ); 1413 m (C=N st); 1266 m, 1165 w (C-O-C st Ether); 1233 m (CN st); 1219 s (aromat. C-F  $\delta$ ); 837 w, 822 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat) ${}^1H$ -NMR: 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 5,56 (s, 2H,  $CH_2(4''-FPh)$ ); 6,67 (d,  ${}^3J_{3'-5'}/2'-6' = 8,8$  Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,93 (d,  ${}^3J_{2'-6'}/3'-5' = 8,8$  Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,05 (tt,  ${}^3J_{3''}/2''$  bzw.  $F$  und  ${}^3J_{5''}/F$  bzw.  $6'' = 8,9$  Hz  ${}^4J_{3''}/5''$  und  ${}^4J_{5''}/3'' = 2,3$  Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,25 (dd,  ${}^3J_{2''-6''}/3''-5'' = 8,9$  Hz  ${}^4J_{2''}/F$  und  ${}^4J_{6''}/F = 5,6$  Hz, 2H, H-2'' H-6''); 8,02 (s, 1H, H-8); 8,18 (s, 1H, H-4); 9,38 (br, 1H, C-6-NH, with  $D_2O$  exchangeable); 12,99 (br, 1H, N-9-H, with  $D_2O$  exchangeable) ${}^{13}C$ -NMR: 100 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 54,20 ( $CH_2(4''-FPh)$ ); 115,28 115,49 (C-3'' C-5''); 115,82 (C-3' C-5'); 119,33 (C-1); 129,38 (C-2' C-6'); 130,16 130,24 (C-2'' C-6''); 135,16 135,19 (C-1''); 135,36 (C-1'); 139,10 (C-8); 152,06 (C-2); 152,26 (C-6); 154,54 (C-4'); 156,16 (C-4); 160,44 162,85 (C-4') $R_f$ -Werte: 0,27 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,41 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(4-((3-Methoxybenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101j**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 347,38 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 344 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2a** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 120 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 69,1 % entspricht.

Ausbeute: 69,1 %

Schmelzbereich: 300 – 302 °C

Elementaranalyse: ber.: C 65,69; H 4,93; N 20,16

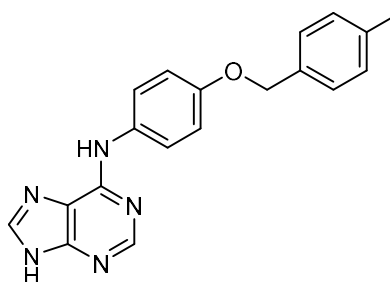
gef.: C 65,61; H 4,90; N 20,23

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:348,8 [M+H]<sup>+</sup> 58 % 717,4 [2M+Na]<sup>+</sup> 100% <sup>13</sup>C:349,9 [M+H]<sup>+</sup> 14 %  
718,4 [2M+Na]<sup>+</sup> 52 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:346,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 % 693,1 [2M-H]<sup>-</sup> 7 % <sup>13</sup>C:347,4 [M-H]<sup>-</sup> 21 %IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3137 m „br“ (NH st); 3063 m, 3004 m (aromat. CH st); 2965 m, 2919 m, 2869 m (aliph. CH st); 1612 w, 1593 m, 1513 m, 1498 m (C=C st); 1571 s (NH δ); 1457 m, 1373 w (CH δ); 1415 m (C=N st); 1258 m, 1162 m (C-O-C st Ether); 1235 m (CN st); 828 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 792 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 3,63 (s, 3H, 3''-OCH<sub>3</sub>); 5,57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(3''-OCH<sub>3</sub>Ph)); 6,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,75 (dd, <sup>3</sup>J<sub>4''/5''</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/6''</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-4''); 6,77 (t, <sup>4</sup>J<sub>2''/4''bzw.6''</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-2''); 6,79 (d, <sup>3</sup>J<sub>6''/5''</sub> = 7,7 Hz, 1H, H-6''); 6,97 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,5 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,15 (t, <sup>3</sup>J<sub>5''/4''bzw.6''</sub> = 7,7 Hz, 1H, H-5''); 8,02 (s, 1H, H-8); 8,18 (s, 1H, H-4); 9,37 (br, 1H, C-6-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 12,99 (br, 1H, N-9-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 54,89 (CH<sub>2</sub>(3''-OCH<sub>3</sub>Ph)); 55,29 (3''-OCH<sub>3</sub>); 112,42 (C-4''); 113,90 (C-2''); 115,78 (C-3' C-5'); 119,37 (C-1); 120,28 (C-6''); 129,20 (C-2' C-6'); 129,71 (C-5''); 135,62 (C-1'); 139,06 (C-8); 140,68 (C-1''); 152,04 (C-2); 152,25 (C-6); 154,62 (C-4'); 156,07 (C-4); 159,56 (C-3')R<sub>f</sub>-Werte: 0,28 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,38 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(4-((4-Methylbenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**

Verbindung:	<b>101k</b>
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	331,38 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



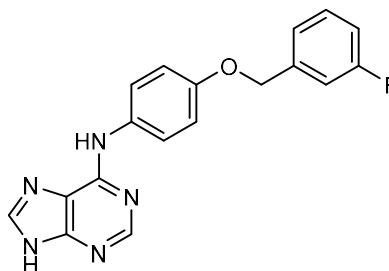
Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 320 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2e** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 58 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 35,2 % entspricht.

Ausbeute:	35,2 %
Schmelzbereich:	284 – 286 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 68,87; H 5,17; N 21,13 gef.: C 68,65; H 5,13; N 21,30
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:332,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 % 685,1 [2M+Na] <sup>+</sup> 8 % <sup>13</sup> C:333,3 [M+H] <sup>+</sup> 22 % 686,1 [2M+Na] <sup>+</sup> 5 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:330,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 % 661,1 [2M-H] <sup>-</sup> 8 % <sup>13</sup> C:331,4 [M-H] <sup>-</sup> 22 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3145 m „br“ (NH st); 3066 m, 3004 m (aromat. CH st); 2963 m, 2924 m, 2870 m (aliph. CH st); 1612 w, 1592 m, 1512 s, 1495 s (C=C st); 1575 s (NH δ); 1466 m, 1373 w (CH δ); 1413 m (C=N st); 1262 m, 1162 m (C-O-C st Ether); 1231 m (CN st); 828 w, 811 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 2,21 (s, 3H, 4''-CH <sub>3</sub> ); 5,55 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-CH <sub>3</sub> Ph)); 6,66 (d, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,3 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,3 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,03 (d, <sup>3</sup> J <sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 7,9 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,09 (d, <sup>3</sup> J <sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 7,9 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 8,01 (s, 1H, H-8); 8,16 (s, 1H, H-4); 9,34 (br, 1H, C-6-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 12,97 (br, 1H, N-9-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 21,10 (4''-CH <sub>3</sub> ); 54,67 (CH <sub>2</sub> (4''-CH <sub>3</sub> Ph)); 115,77 (C-3' C-5'); 119,31 (C-1); 128,13 (C-2'' C-6''); 129,20 (C-3'' C-5''); 129,29 (C-2' C-6'); 135,58 (C-1'); 135,94 (C-1''); 136,26 (C-4''); 138,93 (C-8); 152,04 (C-2); 152,23 (C-6); 154,61 (C-4'); 156,06 (C-4)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,27 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V) 0,39 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**N-(4-((3-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin**Verbindung: **101I**Summenformel: C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 335,34 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **100** mit 326 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2b** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 92,5:7,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Der erhaltene braune Feststoff wurde mit wenig kaltem Methanol und Aceton nachgewaschen. Es wurden 50 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 30,0 % entspricht.

Ausbeute: 30,0 %

Schmelzbereich: 295 – 297 °C

HPLC-Reinheit: 99,17 % (Retentionszeit: 8,36 min)

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:336,5 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:337,4 [M+H]<sup>+</sup> 20 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:334,7 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:335,6 [M-H]<sup>-</sup> 21 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3147 m „br“ (NH st); 3068 m, 3012 m (aromat. CH st); 2925 m, 2871 m (aliph. CH st); 1613 m, 1594 m, 1513 s, 1495 s (C=C st); 1570 s (NH δ); 1465 m, 1375 w (CH δ); 1413 m (C=N st); 1260 m, 1165 m (C-O-C st Ether); 1249 m (aromat. C-F δ); 1233 m (CN st); 828 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 793 m, 697 m (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 6,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,4 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,98 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,4 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,00 - 7,03 (m, 1H, H-4''); 7,04 (t, <sup>4</sup>J<sub>2''/4''bzW.6''</sub> = 2,2 Hz, 1H, H-2''); 7,07 (d, <sup>3</sup>J<sub>6''/5''</sub> = 7,7 Hz, 1H, H-6''); 7,28 (dt, <sup>3</sup>J<sub>5''/4''bzW.6''</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup>J<sub>5''/F</sub> = 6,0 Hz, 1H, H-5''); 8,02 (s, 1H, H-8); 8,19 (s, 1H, H-4); 9,39 (br, 1H, C-6-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 13,00 (br, 1H, N-9-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 54,50 (CH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 114,00 114,21 (C-2''); 114,63 114,85 (C-4''); 115,90 (C-3' C-5'); 119,44 (C-1); 124,15 124,17 (C-6''); 129,21 (C-2' C-6'); 130,55 130,64 (C-5''); 135,39 (C-1'); 139,21 (C-8); 141,78 142,14 (C-1''); 152,05 (C-2); 152,39 (C-6); 154,58 (C-4'); 156,20 (C-4); 161,32 163,74 (C-3'')

R<sub>f</sub>-Werte: 0,28 Chloroform/Methanol 90:10 (V/V)

0,41 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

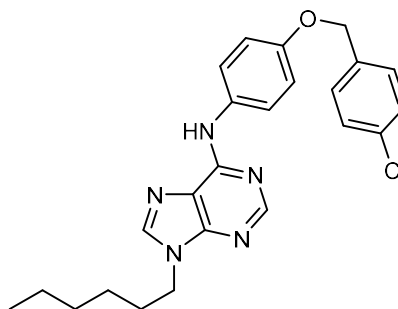
**N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9-hexyl-9H-purin-6-amin**

Verbindung: **102a**

Summenformel: C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 435,96 g/mol

Darstellung: nach AAV 10



Es wurden 176 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **101e** mit 99 mg bzw. 84  $\mu$ l (0,6 mmol; 1,2 eq.) Bromhexan nach AAV 10 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 97,5:2,5 (V/V) als Eluent aufgereinigt und nachgehend in einer Heptan-Ethylacetat-Mischung 80:20 (V/V) umkristallisiert. Es wurden 27 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 12,4 % entspricht.

Ausbeute: 12,4 %

Schmelzbereich: 143 – 144 °C

Elementaranalyse: ber.: C 66,12; H 6,01; N 16,06  
gef.: C 66,03; H 5,94; N 16,22

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:436,8 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:437,9 [M+H]<sup>+</sup> 40 % <sup>37</sup>Cl:439,0 [M+H]<sup>+</sup> 80 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:434,5 [M-H]<sup>-</sup> 100% <sup>13</sup>C:435,4 [M-H]<sup>-</sup> 26% <sup>37</sup>Cl:436,4 [M-H]<sup>-</sup> 34 %

IR: KBr [v in cm<sup>-1</sup>]: 3179 m „br“ (NH st); 3064 m, 3024 m (aromat. CH st); 2952 m, 2927 m, 2855 m (aliph. CH st); 1610 w, 1595 m, 1512 m, 1490 w (C=C st); 1575 s (NH  $\delta$ ); 1470 m, 1377 w (CH  $\delta$ ); 1407 w (C=N st); 1264 m, 1164 w (C-O-C st Ether); 1226 m (CN st); 1091 m (aromat. C-Cl  $\delta$ ); 836 w (CH  $\delta$  1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 0,82 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,0 Hz, 3H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>); 1,19 - 1,26 (m, 6H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>); 1,77 (qui, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>); 4,12 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>); 5,56 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-ClPh)); 6,67 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,94 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6''/3'-5'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,24 (d, <sup>3</sup>J<sub>2'-6''/3'-5'</sub> = 6,7 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,29 (d, <sup>3</sup>J<sub>3'-5''/2''-6''</sub> = 6,7 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 8,09 (s, 1H, H-8); 8,20 (s, 1H, H-4); 9,39 (br, 1H, C-6-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 14,27 (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>N); 22,37 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>N); 26,12 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N); 29,68 (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N); 31,08 (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N); 43,38 (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>N); 54,33 (CH<sub>2</sub>(4''-ClPh)); 115,85 (C-3' C-5'); 119,60 (C-1); 128,63 (C-3'' C-5''); 129,32 (C-2' C-6'); 130,06 (C-2'' C-6''); 131,90 (C-4''); 135,26 (C-1'); 137,98 (C-1''); 141,06 (C-8); 151,45 (C-2); 151,94 (C-6); 154,58 (C-4'); 156,22 (C-4)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,06 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)  
0,48 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,57 Ethylacetat



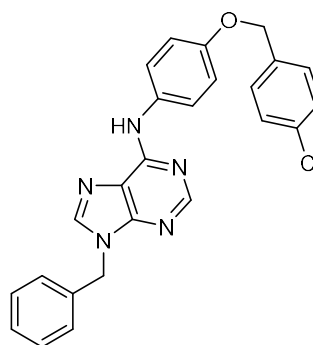
**9-Benzyl-N-(4-((4-chlorobenzyl)oxy)phenyl)- 9H-purin-6-amin**

Verbindung: **102b**

Summenformel: C<sub>25</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>5</sub>O

Molekulargewicht: 441,92 g/mol

Darstellung: nach AAV 10



Es wurden 176 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **101e** mit 103 mg bzw. 71 µl (0,6 mmol; 1,2 eq.) Benzylbromid nach AAV 10 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt und nachgehend in einer Heptan-Ethylacetat-Mischung 80:20 (V/V) umkristallisiert. Es wurden 54 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 24,4 % entspricht.

Ausbeute: 24,4 %

Schmelzbereich: 214 – 215 °C

Elementaranalyse: ber.: C 67,95; H 4,56; N 15,85  
gef.: C 67,62; H 4,52; N 15,92

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:442,6 [M+H]<sup>+</sup> 50 % <sup>13</sup>C:443,4 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>37</sup>Cl:445,5 [M+H]<sup>+</sup> 84 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:440,4 [M-H]<sup>-</sup> 100% <sup>13</sup>C: 441,4 [M-H]<sup>-</sup> 28% <sup>37</sup>Cl:442,3 [M-H]<sup>-</sup> 34 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3172 m „br“ (NH st); 3066 m, 3031 m (aromat. CH st); 2928 m, 2853 m (aliph. CH st); 1610 w, 1594 m, 1512 m, 1491 m (C=C st); 1575 s (NH δ); 1470 m, 1386 w (CH δ); 1407 m (C=N st); 1265 m, 1164 w (C-O-C st Ether); 1228 m (CN st); 1090 m (aromat. C-Cl δ); 837 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 5,36 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>Ph); 5,55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-ClPh)); 6,67 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,2 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>5'/3'</sub> = 2,4 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,94 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,2 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,4 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,23 -7,32 (m, 9H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6'' NCH<sub>2</sub>Ph); 8,21 (s, 1H, H-4); 8,23 (s, 1H, H-8); 9,40 (br, 1H, C-6-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 46,68 (NCH<sub>2</sub>Ph); 54,37 (CH<sub>2</sub>(4''-ClPh)); 115,88 (C-3' C-5'); 119,56 (C-1); 128,10 (C-2''' C-6'''); 128,20 (C-4'''); 128,64 (C-3'' C-5''); 129,11 (C-3''' C-5'''); 129,33 (C-2' C-6'); 130,08 (C-2'' C-6''); 131,92 135,19 (C-1' C-4''); 137,40 (C-1'''); 137,88 (C-1''); 140,98 (C-8); 151,37 (C-2); 152,23 (C-6); 154,64 (C-4'); 156,28 (C-4)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,06 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)  
0,46 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)  
0,56 Ethylacetat

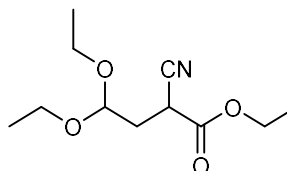
### 5.1.2.6.2. Synthese 4-anilino-/4-anilino-7-alkylsubstituierter 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine

#### Ethyl-2-cyano-4,4-diethoxybutanoat

Verbindung: **103**

Summenformel:  $C_{11}H_{19}NO_4$

Molekulargewicht: 229,28 g/mol



Darstellung: Einzelschrift

In einem ausgeheizten Zweihalskolben wurden vorgelegt: 4,52 g wasserfreies  $K_2CO_3$  (32,6 mmol; 1,0 eq.) und 0,33 g NaI (2,2 mmol; 0,1 eq.). Anschließend wurden 17,45 g bzw. 16,50 ml (154,2 mmol; 4,6 eq.) Ethylcyanoacetat zugesetzt. Unter Argonatmosphäre wurde dem Reaktionsgemisch danach 6,61 g bzw. 5,20 ml (33,5 mmol; 1,0 eq.) Bromoacetaldehyd-diethylacetal langsam zugetropft. Anschließend wurde der Reaktionsansatz 4,5 h bei 145 °C erhitzt. Dabei verfärbte sich die Lösung von gelb nach braun. Nach Abkühlen des Rohprodukts und Zusatz von 60,0 ml Wasser wurde dreimal mit je 60,0 ml Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $NaSO_4$  getrocknet und im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das verbliebene gelbe Öl wurde säulenchromatographisch mit *n*-Hexan/Ethylacetat 90:10 (V/V) als Eluent getrennt. Die Detektion der Trennung erfolgte dünnschichtchromatographisch mit  $KMnO_4$ -Tauchreagenz. Es wurden 6,66 g farbloses Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 86,7 % entspricht.

Ausbeute: 86,7 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:252,6 [M+Na]^+ 100\%$ ;  ${}^{13}C:253,5 [M+Na]^+ 12\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}C:228,8 [M-H]^- 100\%$ ;  ${}^{13}C:230,1 [M-H]^- 16\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $cm^{-1}$ ]: 2978 m, 2932 w, 2901 w (aliph. CH st); 2251 w ( $C\equiv N$  st); 1745 s ( $C=O$  st); 1445 w, 1372 m (CH  $\delta$ ); 1124 m (C-O-C st Ether)

${}^1H$ -NMR: 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 1,10 (t,  ${}^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$  Hz, 6H,  $CH(OCH_2CH_3)_2$ ); 1,21 (t,  ${}^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$  Hz, 3H,  $C(=O)OCH_2CH_3$ ); 2,10 (t,  ${}^3J_{CH_2/CH_2}$  bzw.  $CH = 6,1$  Hz, 2H,  $CHCH_2CHCN$ ); 3,45 (m, 2H,  $CH(OCH_2CH_3)$ ); 3,58 (m, 2H,  $CH(OCH_2CH_3)$ ); 4,11 (t,  ${}^3J_{CH/CH_2} = 6,4$  Hz, 1H,  $CHCH_2CHCN$ ); 4,15 (qua,  ${}^3J_{CH_2/CH_3} = 7,2$  Hz, 2H,  $C(=O)OCH_2CH_3$ ); 4,59 (t,  ${}^3J_{CH/CH_2} = 5,7$  Hz, 1H,  $CHCH_2CHCN$ )

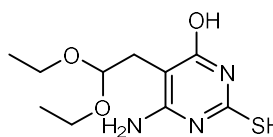
$R_f$ -Werte:

0,68	<i>n</i> -Heptan/Ethylacetat 50:50 (V/V)	
0,44	<i>n</i> -Heptan/Ethylacetat 75:25 (V/V)	
0,56	<i>n</i> -Heptan/Ethylacetat 50:50 (V/V)	Nebenprodukt
0,31	<i>n</i> -Heptan/Ethylacetat 75:25 (V/V)	Nebenprodukt

**6-Amino-5-(2,2-diethoxyethyl)-2-mercaptopyrimidin-4-ol**Verbindung: **104**Summenformel: C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

Molekulargewicht: 259,32 g/mol

Darstellung: Einzelschrift



Unter Kühlung auf 0 °C und Rühren wurde zunächst eine NaOCH<sub>3</sub>-Lösung präpariert. Dazu wurden 521 mg (22,7 mmol; 1,1 eq.) Natrium in 17,20 ml trockenem Methanol gelöst. Anschließend wurden 4,72 g (20,6 mmol; 1,0 eq.) **103** zugesetzt. Dabei verfärbte sich die Lösung gelb. Danach wurden 1,73 g (22,7 mmol; 1,1 eq.) Thioharnstoff hinzugegeben und der Reaktionsansatz über 12 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde der Rückstand in 60,0 ml Wasser gelöst und mit dreimal je 60,0 ml Diethylether extrahiert. Durch Neutralisation der wässrigen Phase mit Eisessig kam es zur Bildung eines Präzipitats, welches über Filtration und Trocknung über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> gewonnen wurde. Es wurden 4,12 g beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 77,1 % entspricht.

Ausbeute: 77,1 %

Schmelzbereich: &gt; 320 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:282,2 [M+Na]<sup>+</sup> 38 % 541,0 [2M+Na]<sup>+</sup> 100 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:258,4 [M-H]<sup>-</sup> 74 % 517,0 [2M-H]<sup>-</sup> 100 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3408 m „br“ (OH st); 3335 m „br“ (NH<sub>2</sub> st); 3212 m „br“ (NH st); 2973 m, 2908 m (aliph. CH st); 1635 s (NH<sub>2</sub> δ); 1551 s (NH δ); 1431 m; 1375 m (CH δ); 1303 w (OH δ); 1213 m (CN st); 1134 m (C-O-C st Ether); 1047 m (C-OH st)

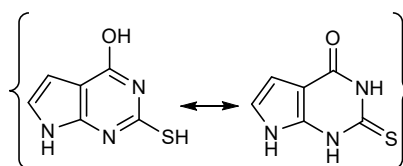
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,05 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,1 Hz, 6H, CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 2,42 (d, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH</sub> = 5,6 Hz, 2H, CHCH<sub>2</sub>Pyr); 3,39 (qua, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,0 Hz, 2H, CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)); 3,57 (qua, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,1 Hz, 2H, CH(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)); 4,48 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH/CH<sub>2</sub></sub> = 5,7 Hz, 1H, CHCH<sub>2</sub>Pyr); 6,03 (br, 2H, C-6-NH<sub>2</sub>, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,40 (br, 1H, OH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,70 (br, 1H, SH, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,46 Ethylacetat

0,61 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V)

**2-Mercapto-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ol**Verbindung: **105**Summenformel: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>OS

Molekulargewicht: 167,19 g/mol



Darstellung: Einzelschrift

Es wurden 3,85 g (14,9 mmol; 1,0 eq.) **104** vorgelegt und anschließend 44,6 ml einer 0,2 M wässrigen Salzsäure zugesetzt. Der Reaktionsansatz wurde für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Die gelb-orangene Suspension verfärbte sich über den Reaktionsverlauf grau. Nach Filtration des grauen Feststoffs wurde dieser mit Wasser und Ether nachgewaschen und anschließend über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 2,48 g weiß-grauer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 99,9 % entspricht.

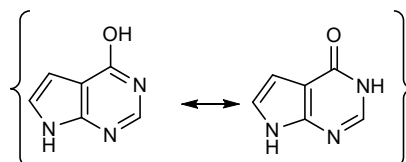
Ausbeute: 99,9 %  
 Schmelzbereich: > 320 °C  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:168,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:169,1 [M+H]<sup>+</sup> 10 %  
 MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:166,3 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:167,3 [M-H]<sup>-</sup> 8 %  
 IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3339 s „br“ (OH st); 3309 s „br“ (NH st); 3099 s, 3033 s (aromat. CH st); 1666 s (C=O st); 1615 m, 1592 s, 1503 m, 1484 m (C=C st); 1581 s (NH δ); 1304 m (OH δ); 1210 s (CN st); 1134 s (C=S st)  
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,31 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-5); 6,69 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-6); 11,20 (br, 1H, N-3-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,81 (br, 1H, N-7-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 13,14 (br, 1H, N-1-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)  
 R<sub>f</sub>-Werte: 0,28 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V)  
 0,45 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

### 7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-ol

Verbindung: **106**

Summenformel: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O

Molekulargewicht: 135,13 g/mol



Darstellung: Einzelschrift

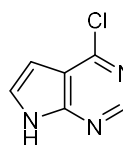
Es wurden 7,15 g (42,8 mmol; 1,0 eq.) **105** in 48,0 ml Wasser unter Rühren suspendiert und auf 50 °C erhitzt. Anschließend wurden 19,1 ml einer 25%igen wässrigen NH<sub>3</sub>-Lösung hinzugegeben, welches zur Lösung des Feststoffs führte. Danach wurden portionsweise 35,80 ml einer 50%igen Aufschlämmung von Raney-Nickel in Wasser zugesetzt. Dabei verfärbte sich der Reaktionsansatz schwarz. Nachgehend wurde die Mischung 7 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend heiß über ein Celite®-Pad filtriert. Der Filtrückstand wurde mit kochendem Wasser nachgewaschen. Das gesammelte Filtrat wurde im Vakuum zur Trockene eingengt. Es wurden 3,07 g leicht grünlicher Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 53,1 % entspricht.

Ausbeute: 53,1 %  
 Schmelzbereich: 317 – 319 °C  
 MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:158,0 [M+Na]<sup>+</sup> 100 %  
 MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:134,4 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:135,4 [M-H]<sup>-</sup> 8 %

IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3317 m „br“ (OH st); 3182 s „br“ (NH st); 3085 m, 3054 m (aromat. CH st); 1646 m (C=O st); 1625 m, 1590 s, 1515 m, 1495 m (C=C st); 1580 (NH $\delta$ ); 1416 w (C=N st); 1332 s (OH $\delta$ ); 1227 w (CN st)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 6,41 (d, $^3J_{5/6} = 3,2$ Hz, 1H, H-5); 7,00 (d, $^3J_{6/5} = 3,2$ Hz, 1H, H-6); 7,80 (s, 1H, H-2); 11,73 (br, 1H, N-3-H, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable); 11,81 (br, 1H, N-7-H, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
$R_f$ -Werte:	0,26 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,36 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

**4-Chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin**

Verbindung:	<b>107</b>
Summenformel:	$\text{C}_6\text{H}_4\text{ClN}_3$
Molekulargewicht:	153,57 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



Es wurden 2,00 g (14,8 mmol; 1,0 eq.) **106** vorgelegt und anschließend unter Kühlung auf 0 °C 33,60 g bzw. 20,00 ml (219,1 mmol; 14,8 eq.)  $\text{POCl}_3$  zugesetzt. Die Mischung wurde für 5h zum Rückfluss erhitzt und nach Abkühlen das überschüssige  $\text{POCl}_3$  im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde mit 20%iger wässriger  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lösung neutralisiert und dreimal mit je 250,0 ml Diethylether extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und anschließend im Vakuum von Lösungsmittel befreit. Es wurden 968 mg grünlicher Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 42,6 % entspricht.

Ausbeute:	42,6 %
Schmelzbereich:	189 – 190 °C
MS (ESI-positiv):	$m/z = ^{12}\text{C}$ : 154,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 20 %
MS (ESI-negativ):	$m/z = ^{12}\text{C}$ : 152,4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 100 % $^{13}\text{C}$ : 153,35 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 6 % $^{37}\text{Cl}$ : 154,4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 36%
IR:	KBr [ $\nu$ in $\text{cm}^{-1}$ ]: 3193 m „br“ (NH st); 3066 s, 3044 s (aromat. CH st); 1626 w, 1598 s, 1513 m, 1493 m (C=C st); 1570 m (NH $\delta$ ); 1407 m (C=N st); 1065 w (aromat. C-Cl $\delta$ )
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 6,59 (d, $^3J_{5/6} = 3,5$ Hz, 1H, H-5); 7,67 (d, $^3J_{6/5} = 3,5$ Hz, 1H, H-6); 8,57 (s, 1H, H-2); 12,54 (br, 1H, N-7-H, with $\text{D}_2\text{O}$ exchangeable)
$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ : [ $\delta$ in ppm]: 99,02 (C-5); 116,74 (C-4a); 128,43 (C-6); 150,51 (C4); 150,06 (C-2); 151,93 ppm (C-7a)
$R_f$ -Werte:	0,60 Ethylacetat/Methanol 95:5 (V/V) 0,62 Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V)

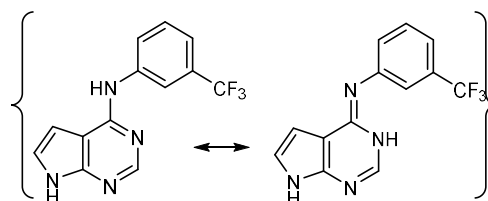
***N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin**  
**(*Z*)-*N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-3,7-dihydro-4*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-imin**

Verbindung: **108a**

Summenformel: C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>F<sub>3</sub>N<sub>4</sub>

Molekulargewicht: 278,24 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 483 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 95:5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 261 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 93,8 % entspricht.

Ausbeute: 93,8 %

Schmelzbereich: 142 – 144 °C

HPLC-Reinheit: 98,59 % (Retentionszeit: 9,56 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}: 279,3 [\text{M}+\text{H}]^+ 100\% {}^{13}\text{C}: 280,4 [\text{M}+\text{H}]^+ 15\%$

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}: 277,4 [\text{M}-\text{H}]^- 100\% {}^{13}\text{C}: 278,4 [\text{M}-\text{H}]^- 12\%$

IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3384 m „br“ (NH st); 3097 s, 3068 m (aromat. CH st); 1653 m (NH  $\delta$ ); 1618 w, 1590 s, 1510 m, 1495 m (C=C st); 1557 s (NH  $\delta$ ); 1419 m (C=N st); 1129 s (aromat. C-F  $\delta$ ); 796 m, 693 m (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: Verhältnis nach NMR bei 27°C in DMSO-*d*<sub>6</sub>: 4:6

*N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin:

500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,80 (dd, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 3,3 Hz <sup>4</sup>J<sub>5/NH</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-5); 7,19 (br, 1H, C-4-NH); 7,27 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 3,3 Hz <sup>3</sup>J<sub>6/NH</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-6); 7,31 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 7,7 Hz, 1H, H-6'); 7,55 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'bz.w.6'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 8,22 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,4 Hz, 1H, H-4'); 8,33 (s, 1H, H-2); 8,37 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'bz.w.6'</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-2'); 9,57 (br, 1H, N-7-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

(*Z*)-*N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-3,7-dihydro-4*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-*imin*:

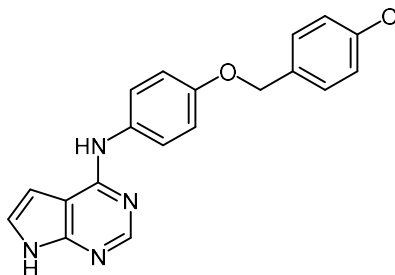
500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub> [ $\delta$  in ppm]: 6,81 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 3,7 Hz, 1H, H-5); 7,19 (br, 1H; N-1-H/N-3-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 7,68 (d, <sup>3</sup>J<sub>6'/5'</sub> = 7,9 Hz, 1H, H-6'); 7,71 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 3,7 Hz, 1H, H-6); 7,75 (t, <sup>3</sup>J<sub>5'/4'bz.w.6'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-5'); 8,15 (s, 1H, H-2); 8,18 (d, <sup>3</sup>J<sub>4'/5'</sub> = 8,0 Hz, 1H, H-4'); 8,33 (t, <sup>4</sup>J<sub>2'/4'bz.w.6'</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-2'); 11,82 (br, 1H, N-7-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,34 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**Verbindung: **108b**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>4</sub>O

Molekulargewicht: 350,81 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 701 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2h** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 98:2 zu 95:5 (V/V) verwendet. Es wurden 237 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 67,6 % entspricht.

Ausbeute: 67,6 %

Schmelzbereich: 265 – 267 °C

Elementaranalyse: ber.: C 65,05; H 4,31; N 15,97

gef.: C 64,84; H 4,39; N 15,69

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:351,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:352,2 [M+H]<sup>+</sup> 24 % <sup>37</sup>Cl:353,2 [M+H]<sup>+</sup> 40 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:349,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:350,2 [M-H]<sup>-</sup> 17 % <sup>37</sup>Cl:351,2 [M-H]<sup>-</sup> 30 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3186 m „br“ (NH st); 3100 m, 3060 m (aromat. CH st); 2923 m, 2855 m (aliph. CH st); 1613 w, 1588 m, 1512 s, 1490 m (C=C st); 1568 s (NH δ); 1441 m, 1382 w (CH δ); 1408 m (C=N st); 1285 s (CN st); 1229 m, 1170 m (C-O-C st Ether); 1091 m (aromat. C-Cl δ); 826 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

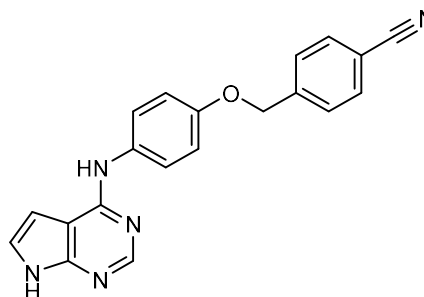
<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,54 (dd, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 4,0 Hz <sup>4</sup>J<sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-5); 5,21 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-ClPh)); 6,77 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,83 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 3,5 Hz <sup>4</sup>J<sub>6/NH</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-6); 7,00 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,27 - 7,34 (m, 4H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6''); 8,21 (s, 1H, H-2); 9,65 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,52 (br, 1H, N-7-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 53,22 (CH<sub>2</sub>(4''-ClPh)); 101,09 (C-5); 102,96 (C-4a); 116,40 (C-3' C-5'); 121,17 (C-6); 128,61 (C-3'' C-5''); 130,24 (C-2'' C-6''); 130,61 (C-2' C-6'); 131,81 (C-4''); 135,25 (C-1'); 138,10 (C-1''); 151,20 (C-2); 151,94 (C-4'); 156,63 (C-7a); 157,25 (C-4)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,34 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

## 4-((4-((7H-Pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino)phenoxy)methyl)benzonnitril

Verbindung:	<b>108c</b>
Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O
Molekulargewicht:	341,37 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 673 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2i** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol als Eluent aufgereinigt. Dabei wurde ein Stufengradient von 98:2 zu 95:5 (V/V) verwendet. Es wurden 220 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 64,4 % entspricht.

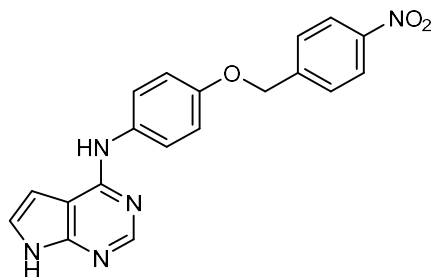
Ausbeute:	64,4 %
Schmelzbereich:	138 – 140 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 70,37; H 4,43; N 20,52 gef.: C 70,14; H 4,34; N 20,32
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:342,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:343,3 [M+H] <sup>+</sup> 23 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:340,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:341,2 [M-H] <sup>-</sup> 19 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3187 m „br“ (NH st); 3093 m, 3056 m (aromat. CH st); 2924 m, 2853 m (aliph. CH st); 2241 m (C≡N st); 1608 w, 1595 m, 1513 s, 1477 s (C=C st); 1559 s (NH δ); 1445 m, 1379 w (CH δ); 1404 m (C=N st); 1289 m (CN st); 1223 m, 1173 m (C-O-C st Ether); 840 w, 817 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,56 (dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-5); 5,30 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-CNPh)); 6,77 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,86 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,4 Hz, 1H, H-6); 7,05 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,48 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>2''/6''</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6''/2''</sub> = 1,9 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 7,72 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>3''/5''</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5''/3''</sub> = 1,9 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 8,20 (s, 0,5H, H-2); 8,29 (s, 0,5H, H-2); 9,67 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,56 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 53,89 (CH <sub>2</sub> (4''-CNPh)); 101,05 (C-5); 103,01 (C-4a); 110,01 (C-4''); 116,45 (C-3' C-5'); 119,33 (4''-C≡N); 121,35 (C-6); 129,09 (C-2'' C-6''); 130,51 (C-2' C-6'); 132,62 (C-3'' C-5''); 135,29 (C-1'); 145,15 (C-1''); 151,17 (C-2); 151,97 (C-4'); 156,59 (C-7a); 157,31 (C-4)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,33 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)



**N-(4-((4-Nitrobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**Verbindung: **108d**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 361,36 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 366 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2j** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Durch unvollständige Trennung kam es zu Ausbeuteeinbußen. Es wurden 26 mg brauner Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 14,6 % entspricht.

Ausbeute: 14,6 %

Schmelzbereich: 223 – 225 °C

Elementaranalyse: ber.: C 63,15; H 4,18; N 19,38

gef.: C 63,58; H 4,25; N 19,14

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:362,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:363,3 [M+H]<sup>+</sup> 20 %MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:360,2 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:361,3 [M-H]<sup>-</sup> 18 %

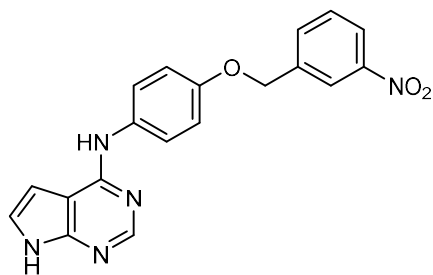
IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3181 m „br“ (NH st); 3097 m, 3056 m (aromat. CH st); 2922 m, 2852 m (aliph. CH st); 1607 w, 1586 m, 1510 s, 1474 s (C=C st); 1571 m (NO<sub>2</sub> st); 1442 m, 1381 w (CH δ); 1415 m (C=N st); 1341 s (NO<sub>2</sub> δ); 1285 m (CN st); 1229 m, 1169 m (C-O-C st Ether); 826 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz, Methanol-d<sub>4</sub> [δ in ppm]: 4,77 (d, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 3,6 Hz, 1H, H-5); 5,41 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(4''-NO<sub>2</sub>Ph)); 6,79 (d, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 3,6 Hz, 1H, H-6); 6,82 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 7,06 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,58 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2''-6''/3''-5''</sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>2''/6''</sub> und <sup>4</sup>J<sub>6''/2''</sub> = 2,0 Hz, 2H, H-2'' H-6''); 8,16 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3''-5''/2''-6''</sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>3''/5''</sub> und <sup>4</sup>J<sub>5''/3''</sub> = 2,0 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 8,23 (s, 1H, H-2); 9,65 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,54 (br, 1H, N-7-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,33 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)**N-(4-((3-Nitrobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**Verbindung: **108e**Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>

Molekulargewicht: 361,36 g/mol

Darstellung: nach AAV 1

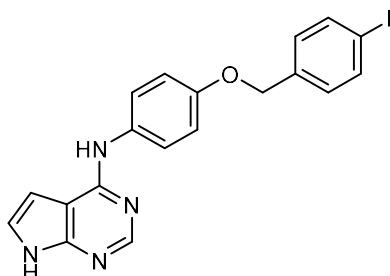


Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 366 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2d** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 103 mg beige-gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 57,0 % entspricht.

Ausbeute:	57,0 %
Schmelzbereich:	218 – 220 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 63,15; H 4,18; N 19,38 gef.: C 62,97; H 4,24; N 19,21
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:362,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:363,3 [M+H] <sup>+</sup> 18 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:360,2 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:361,2 [M-H] <sup>-</sup> 16 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3179 m „br“ (NH st); 3082 m, 3055 m (aromat. CH st); 2925 m, 2852 m (aliph. CH st); 1610 w, 1586 m, 1510 s, 1469 s (C=C st); 1566 s (NO <sub>2</sub> st); 1437 s, 1377 w (CH δ); 1407 m (C=N st); 1342 s (NO <sub>2</sub> δ); 1283 m (CN st); 1227 m, 1166 m (C-O-C st Ether); 795 w, 696 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,56 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,4 Hz, 1H, H-5); 5,35 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (3''-NO <sub>2</sub> Ph)); 6,77 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,1 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,86 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,4 Hz, 1H, H-6); 7,03 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,1 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,57 (t, <sup>3</sup> J <sub>5''/4''bzw.6''</sub> = 7,8 Hz, 1H, H-5''); 7,74 (td, <sup>3</sup> J <sub>6''/5''</sub> = 7,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>6''/2''bzw.4''</sub> = 1,4 Hz, 1H, H-6''); 8,07 (ddd, <sup>3</sup> J <sub>4''/5''</sub> = 7,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>4''/6''</sub> = 2,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>4''/2''</sub> = 1,1 Hz, 1H, H-4''); 8,14 (t, <sup>4</sup> J <sub>2''/4''bzw.6''</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-2''); 8,23 (s, 1H, H-2); 9,72 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,58 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 53,37 (CH <sub>2</sub> (3''-NO <sub>2</sub> Ph)); 101,04 (C-5); 103,03 (C-4a); 116,52 (C-3' C-5'); 121,40 (C-6); 122,34 (C-4''); 122,86 (C-2''); 130,21 (C-5''); 130,58 (C-2' C-6'); 135,05 135,06 (C-1' C-6''); 141,53 (C-1''); 148,20 (C-3''); 151,18 (C-2); 151,97 (C-4'); 156,60 (C-7a); 157,46 (C-4)
R <sub>F</sub> -Werte:	0,33 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

#### **N-(4-((4-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**

Verbindung:	<b>108f</b>
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> FN <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	334,35 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



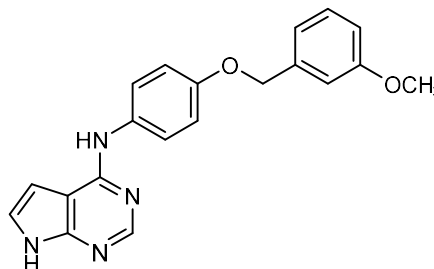
Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 652 mg (3,0 mmol; 3,0 eq.) **2g** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 161 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 48,2 % entspricht.

Ausbeute:	48,2 %
-----------	--------

Schmelzbereich:	250 – 252 °C
HPLC-Reinheit:	98,42 % (Retentionszeit: 8,90 min)
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C: 335,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C: 336,2 [M+H] <sup>+</sup> 18 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C: 333,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C: 334,3 [M-H] <sup>-</sup> 15 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3181 m „br“ (NH st); 3086 m, 3055 m (aromat. CH st); 2924 m, 2853 m (aliph. CH st); 1609 w, 1583 m, 1508 s, 1474 s (C=C st); 1565 s (NH δ); 1441 m, 1376 w (CH δ); 1414 m (C=N st); 1280 m (CN st); 1222 m, 1169 m (C-O-C st Ether); 1211 m (aromat. C-F δ); 822 m (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,56 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-5); 5,21 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-FPh)); 6,76 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,3 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,81 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-6); 6,96 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,06 (tt, <sup>3</sup> J <sub>3''-5''/2''bzw.F-Fbzw.6''</sub> = 8,9 Hz <sup>4</sup> J <sub>3''/5''</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5''/3''</sub> = 3,0 Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,30 (m, 2H, H-2'' H-6''); 8,22 (s, 1H, H-2); 9,67 (br, 1H, C-6-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,46 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 53,07 (CH <sub>2</sub> (4''-FPh)); 101,11 (C-5); 102,96 (C-4a); 115,25 115,46 (C-3'' C-5''); 116,41 (C-3' C-5'); 121,10 (C-6); 130,34 130,42 (C-2'' C-6''); 130,60 (C-2' C-6'); 135,10 (C-1'); 135,18 135,21 (C-1''); 151,20 (C-2); 151,91 (C-4'); 156,66 (C-7a); 157,39 (C-4); 160,43 162,84 (C-4')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,33 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**N-(4-((3-Methoxybenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**

Verbindung:	<b>108g</b>
Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
Molekulargewicht:	346,39 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



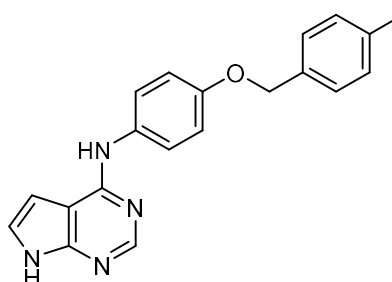
Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 344 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2a** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 56 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 32,6 % entspricht.

Ausbeute:	32,6 %
Schmelzbereich:	222 – 224 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 69,35; H 5,24; N 16,17 gef.: C 69,03; H 5,31; N 16,31
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:347,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:348,3 [M+H] <sup>+</sup> 25 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:345,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:346,3 [M-H] <sup>-</sup> 22 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3150 m „br“ (NH st); 3097 m, 3056 m (aromat. CH st); 2965 m, 2923 m, 2853 m (aliph. CH st); 1610 w, 1600 m, 1513 m, 1489 m (C=C st); 1568 s (NH δ); 1463 s, 1387 w (CH δ); 1416 m (C=N st); 1284 m (CN st);

	1231 m, 1178 w, 1155 m (C-O-C st Ether); 825 m (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat); 791 m, 693 m (CH $\delta$ 1,3-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 3,66 (s, 3H, 3''-OCH <sub>3</sub> ); 4,54 (dd, $^3J_{5/6} = 3,5$ Hz $^4J_{5/\text{NH}} = 2,0$ Hz, 1H, H-5); 5,20 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (3''-OCH <sub>3</sub> )); 6,76 (m, 3H, H-3' H-5' H-4''); 6,83 (m, 3H, H-6; H-2'' H-6''); 7,00 (dd, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 6,5$ Hz $^4J_{2'/6'}$ und $^4J_{6'/2'}$ = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,17 (t, $^3J_{5''/4''\text{bz}w.6''} = 7,9$ Hz, 1H, H-5''); 8,21 (s, 1H, H-2); 9,63 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,51 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
$^{13}\text{C-NMR}$ :	100 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 53,83 (CH <sub>2</sub> (3''-OCH <sub>3</sub> Ph)); 55,31 (3''-OCH <sub>3</sub> ); 101,14 (C-5); 102,96 (C-4a); 112,47 (C-4''); 114,01 (C-2''); 116,33 (C-3' C-5'); 120,48 (C-6''); 121,08 (C-6); 129,68 (C-5''); 130,53 (C-2' C-6'); 135,49 (C-1'); 140,69 (C-1''); 151,22 (C-2); 151,94 (C-4'); 156,73 (C-7a); 157,16 (C-4); 159,58 (C-3'')
R <sub>f</sub> -Werte:	0,33 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**N-(4-((4-Methylbenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**

Verbindung:	<b>108h</b>
Summenformel:	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	330,39 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



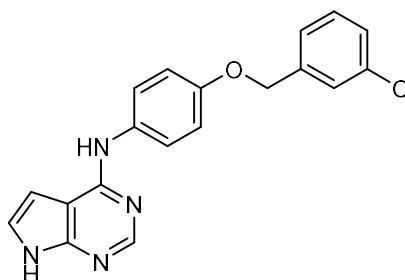
Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 320 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2e** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 64 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 38,6 % entspricht.

Ausbeute:	38,6 %
Schmelzbereich:	271 – 273 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 72,71; H 5,49; N 16,96 gef.: C 72,28; H 5,53; N 16,64
MS (ESI-positiv):	m/z = $^{12}\text{C}$ :331,3 [M+H] <sup>+</sup> 100 % $^{13}\text{C}$ :332,2 [M+H] <sup>+</sup> 26 %
MS (ESI-negativ):	m/z = $^{12}\text{C}$ :329,3 [M-H] <sup>-</sup> 100 % $^{13}\text{C}$ :330,3 [M-H] <sup>-</sup> 24 %
IR:	KBr [ $\nu$ in cm <sup>-1</sup> ]: 3178 m „br“ (NH st); 3097 m, 3050 m (aromat. CH st); 2952 m, 2922 m, 2854 m (aliph. CH st); 1610 w, 1581 m, 1510 s, 1472 s (C=C st); 1563 s (NH $\delta$ ); 1450 m, 1377 m (CH $\delta$ ); 1410 m (C=N st); 1275 m (CN st); 1225 m, 1168 m (C-O-C st Ether); 822 w, 811 w (CH $\delta$ 1,4-disubst. Aromat)
$^1\text{H-NMR}$ :	500 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 2,23 (s, 3H, 4''-CH <sub>3</sub> ); 4,52 (dd, $^3J_{5/6} = 3,6$ Hz $^4J_{5/\text{NH}} = 1,9$ Hz, 1H, H-5); 5,18 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-CH <sub>3</sub> Ph)); 6,75 (dd, $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 6,6$ Hz $^4J_{3'/5'}$ und $^4J_{5'/3'} = 2,1$ Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,81 (dd, $^3J_{6/5} = 3,7$ Hz $^4J_{6/\text{NH}} = 2,0$ Hz, 1H, H-6); 6,97 (dd, $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 6,6$ Hz $^4J_{2'/6'}$ und $^4J_{6'/2'} = 2,1$ Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,05 (d, $^3J_{3''-5''/2''-6''} = 7,8$ Hz, 2H, H-3'' H-5''); 7,14 (d, $^3J_{2''-6''/3''-5''} = 7,8$ Hz,

	2H, H-2'' H-6''); 8,21 (s, 1H, H-2); 9,63 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,49 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 21,13 (4''-CH <sub>3</sub> ); 53,54 (CH <sub>2</sub> (4''-CH <sub>3</sub> Ph)); 101,15 (C-5); 102,92 (C-4a); 116,31 (C-3' C-5'); 120,97 (C-6); 128,33 (C-2'' C-6''); 129,19 (C-3'' C-5''); 130,62 (C-2' C-6'); 135,43 (C-1'); 135,94 (C-1''); 136,21 (C-4''); 151,24 (C-2); 151,91 (C-4'); 156,73 (C-7a); 157,14 (C-4)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,33 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**N-(4-((3-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**

Verbindung:	<b>108i</b>
Summenformel:	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	350,81 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 351 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2c** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 49 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 28,0 % entspricht.

Ausbeute:	28,0 %
Schmelzbereich:	226 – 228 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 65,05; H 4,31; N 15,97 gef.: C 64,71; H 4,41; N 15,72
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:351,6 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:352,6 [M+H] <sup>+</sup> 24 % <sup>37</sup> Cl:353,4 [M+H] <sup>+</sup> 34 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:349,5 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:349,4 [M-H] <sup>-</sup> 22 % <sup>37</sup> Cl:351,5 [M-H] <sup>-</sup> 32 %
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3188 m „br“ (NH st); 3074 m, 3051 m (aromat. CH st); 2924 m, 2858 m (aliph. CH st); 1609 w, 1591 m, 1510 m, 1474 s (C=C st); 1568 s (NH δ); 1440 m, 1377 w (CH δ); 1415 m (C=N st); 1277 m (CN st); 1229 m, 1165 m (C-O-C st Ether); 1097 w (aromat. C-Cl δ); 830 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 794 w, 699 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,56 (dd, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,3 Hz <sup>4</sup> J <sub>5/NH</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-5); 5,21 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (3''-ClPh)); 6,78 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,3 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,85 (dd, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,3 Hz <sup>3</sup> J <sub>6/NH</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-6); 7,01 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,3 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,23 (td, <sup>3</sup> J <sub>4''/5''</sub> = 7,1 Hz <sup>4</sup> J <sub>4''/2'' bzw. 6''</sub> = 1,7 Hz, 1H, H-4''); 7,26 (td, <sup>3</sup> J <sub>6''/5''</sub> = 7,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>6''/2'' bzw. 4''</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-6''); 7,29 (t, <sup>3</sup> J <sub>5''/4'' bzw. 6''</sub> = 7,3 Hz, 1H, H-5''); 7,32 (t, <sup>4</sup> J <sub>2''/4'' bzw. 6''</sub> = 2,0 Hz, 1H, H-2''); 8,21 (s, 1H, H-2); 9,65 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable); 11,54 (br, 1H, N-7-H, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
<sup>13</sup> C-NMR:	100 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 53,43 (CH <sub>2</sub> (3''-ClPh)); 101,08 (C-5); 102,99 (C-4a); 116,44 (C-3' C-5'); 121,27 (C-6); 126,99 (C-4''); 127,28 (C-6''); 128,06 (C-2''); 130,55 (C-2' C-6' C-5''); 133,27 (C-3''); 135,25 (C-1'); 141,74 (C-1''); 151,18 (C-2); 151,92 (C-4'); 156,62 (C-7a); 157,28 (C-4)

R<sub>F</sub>-Werte: 0,34 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

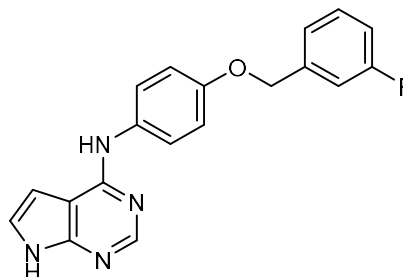
**N-(4-((3-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin**

Verbindung: **108j**

Summenformel: C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>4</sub>O

Molekulargewicht: 334,35 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 77 mg (0,5 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 326 mg (1,5 mmol; 3,0 eq.) **2b** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Methanol 98:2 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 50 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 30,0 % entspricht.

Ausbeute: 30,0 %

Schmelzbereich: 252 – 254 °C

HPLC-Reinheit: 98,81 % (Retentionszeit: 8,97 min)

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:335,7 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:336,8 [M+H]<sup>+</sup> 24 %

MS (ESI-negativ): m/z = <sup>12</sup>C:333,5 [M-H]<sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup>C:334,5 [M-H]<sup>-</sup> 20 %

IR: KBr [ν in cm<sup>-1</sup>]: 3183 m „br“ (NH st); 3083 m, 3060 m (aromat. CH st); 2918 m, 2855 m (aliph. CH st); 1612 w, 1588 m, 1513 s, 1483 m (C=C st); 1567 s (NH δ); 1447 m, 1378 m (CH δ); 1408 m (C=N st); 1283 s (CN st); 1225 m, 1164 m (C-O-C st Ether); 1214 m (aromat. C-F δ); 829 m (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 794 w, 697 w (CH δ 1,3-disubst. Aromat)

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,54 (dd, <sup>3</sup>J<sub>5/6</sub> = 3,3 Hz <sup>4</sup>J<sub>5/NH</sub> = 1,9 Hz, 1H, H-5); 5,22 (s, 2H, CH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 6,76 (dd, <sup>3</sup>J<sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>5'/3'</sub> = 2,3 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,83 (dd, <sup>3</sup>J<sub>6/5</sub> = 3,3 Hz <sup>3</sup>J<sub>6/NH</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-6); 7,00 (dd, <sup>3</sup>J<sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup>J<sub>6'/2'</sub> = 2,3 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,02 (m, 1H, H-2''); 7,06 (tt, <sup>3</sup>J<sub>4''/Fbzw.5''</sub> = 10,1 Hz <sup>4</sup>J<sub>4''/2''bzw.6''</sub> = 2,3 Hz, 1H, H-4''); 7,10 (d, <sup>3</sup>J<sub>6''/5''</sub> = 7,7 Hz, 1H, H-6''); 7,29 (dt, <sup>3</sup>J<sub>5''/4''bzw.6''</sub> = 7,9 Hz <sup>4</sup>J<sub>5''/F</sub> = 6,2 Hz, 1H, H-5''); 8,20 (s, 1H, H-2); 9,64 (br, 1H, C-4-NH, with D<sub>2</sub>O exchangeable); 11,53 (br, 1H, N-7-H, with D<sub>2</sub>O exchangeable)

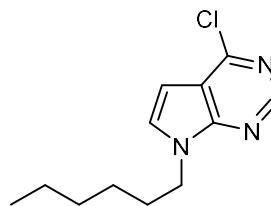
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 53,50 (CH<sub>2</sub>(3''-FPh)); 101,09 (C-5); 103,00 (C-4a); 113,95 114,16 (C-2''); 114,77 114,98 (C-4''); 116,41 (C-3' C-5'); 121,22 (C-6); 124,30 124,33 (C-6''); 130,55 130,61 (C-2' C-6' C-5''); 135,33 (C-1'); 142,13 142,20 (C-1''); 151,20 (C-2); 151,95 (C-4'); 156,65 (C-7a); 157,25 (C-4); 161,33 163,75 (C-3'')

R<sub>F</sub>-Werte: 0,35 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**4-Chloro-7-hexyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin**Verbindung: **109a**Summenformel:  $C_{12}H_{16}ClN_3$ 

Molekulargewicht: 237,73 g/mol

Darstellung: Einzelschrift



Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 391 mg (1,2 mmol; 1,2 eq.)  $Cs_2CO_3$  versetzt. Anschließend wurde dem Reaktionsansatz 1,5 ml DMF zugesetzt. Unter Argonatmosphäre und Rühren wurde nachgehend 198 mg bzw. 170  $\mu$ l (1,2 mmol; 1,2 eq.) Bromhexan zugetropft und die Reaktion weitere 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde über Zusatz von 25,0 ml Wasser und anschließende Neutralisation mit Eisessig beendet. Die entstandene wässrige Phase wurde dreimal mit je 50,0 ml  $CHCl_3$  extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit je 50,0 ml Wasser, 10%iger wässriger LiCl-Lösung und Brinelösung gewaschen und anschließend über  $MgSO_4$  getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das ölige Rohprodukt säulenchromatographisch mit Chloroform/Cyclohexan 90:10 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 90 mg farbloses Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 38,0 % entspricht.

Ausbeute: 38,0 %

Schmelzbereich: -

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}C:238,6 [M+H]^+ 100\% {}^{13}C:239,6 [M+H]^+ 12\% {}^{37}Cl:239,6 [M+H]^+ 30\%$ 

${}^1H$ -NMR: 400 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 0,79 (t,  ${}^3J_{CH_3/CH_2} = 7,1$  Hz, 3H,  $N(CH_2)_5CH_3$ ); 1,15 - 1,25 (m, 6H,  $NCH_2CH_2(CH_2)_3CH_3$ ); 1,78 (qui,  ${}^3J_{CH_2/CH_2}$  bzw.  $CH_2 = 7,1$  Hz, 2H,  $NCH_2CH_2(CH_2)_3CH_3$ ); 4,25 (t,  ${}^3J_{CH_2/CH_2} = 7,1$  Hz, 2H,  $NCH_2(CH_2)_4CH_3$ ); 6,62 (d,  ${}^3J_{5/6} = 3,6$  Hz, 1H, H-5); 7,77 (d,  ${}^3J_{6/5} = 3,6$  Hz, 1H, H-6); 8,61 (s, 1H, H-2)

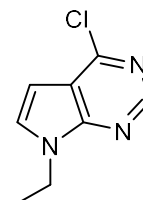
 $R_f$ -Werte: 0,47 Cyclohexan/Chloroform 90:10 (V/V)

0,86 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**4-Chloro-7-ethyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin**Verbindung: **109b**Summenformel:  $C_8H_8ClN_3$ 

Molekulargewicht: 181,62 g/mol

Darstellung: nach AAV 10

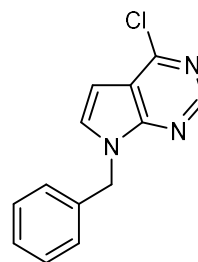


Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 131 mg bzw. 90  $\mu$ l (1,2 mmol; 1,2eq.) Bromethan nach AAV 10 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Heptan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 154 mg farbloses Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 85,0 % entspricht.

Ausbeute:	85,0 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:182,5 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \% {}^{13}\text{C}:183,5 [\text{M}+\text{H}]^+ 10 \% {}^{37}\text{Cl}:184,4 [\text{M}+\text{H}]^+ 30 \%$
${}^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 1,38 (t, ${}^3J_{\text{CH}_3/\text{CH}_2} = 7,3$ Hz, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ); 4,29 (qua, ${}^3J_{\text{CH}_2/\text{CH}_3} = 7,3$ Hz, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_3$ ); 6,63 (d, ${}^3J_{5/6} = 3,6$ Hz, 1H, H-5); 7,79 (d, ${}^3J_{6/5} = 3,6$ Hz, 1H, H-6); 8,61 (s, 1H, H-2)
$R_f$ -Werte:	0,53 Heptan/Ethylacetat 60:40 (V/V) 0,56 Chloroform/Ethylacetat 75:25 (V/V)

**7-Benzyl-4-chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin**

Verbindung:	<b>109c</b>
Summenformel:	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClN}_3$
Molekulargewicht:	243,69 g/mol
Darstellung:	nach AAV 10

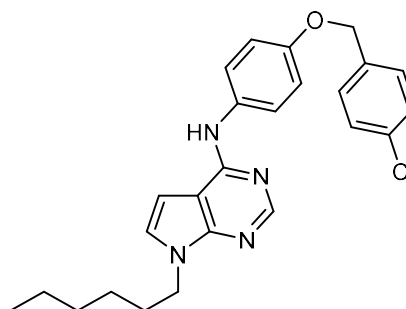


Es wurden 154 mg (1,0 mmol; 1,0 eq.) **107** mit 205 mg bzw. 140  $\mu\text{l}$  (1,2 mmol; 1,2eq.) Benzylbromid nach AAV 10 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Heptan/Ethylacetat 80:20 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 157 mg farbloses Öl gewonnen, welches einer Ausbeute von 64,4 % entspricht.

Ausbeute:	64,4 %
Schmelzbereich:	-
MS (ESI-positiv):	$m/z = {}^{12}\text{C}:244,6 [\text{M}+\text{H}]^+ 100 \% {}^{13}\text{C}:245,5 [\text{M}+\text{H}]^+ 14 \% {}^{37}\text{Cl}:246,5 [\text{M}+\text{H}]^+ 40 \%$
${}^1\text{H-NMR}$ :	400 MHz, DMSO- $d_6$ [ $\delta$ in ppm]: 5,49 (s, 2H, $\text{NCH}_2\text{Ph}$ ); 6,67 (d, ${}^3J_{5/6} = 3,8$ Hz, 1H, H-5); 7,23 - 7,32 (m, 5H, $\text{NCH}_2\text{Ph}$ ); 7,83 (d, ${}^3J_{6/5} = 3,8$ Hz, 1H, H-6); 8,64 (s, 1H, H-2)
$R_f$ -Werte:	0,44 Cyclohexan/Chloroform 90:10 (V/V) 0,84 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

**N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-7-hexyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin**

Verbindung:	<b>110a</b>
Summenformel:	$\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClN}_4\text{O}$
Molekulargewicht:	434,97 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



Es wurden 79 mg (0,3 mmol; 1,0 eq.) **109a** mit 234 mg (1,0 mmol; 3,0 eq.) **2h** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Ethylacetat 80:20 (V/V) als Eluent

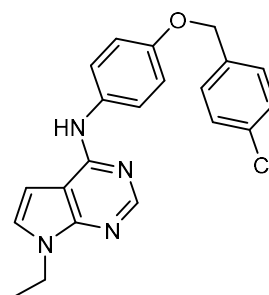


aufgereinigt. Es wurden 32 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 22,1 % entspricht.

Ausbeute:	22,1 %
Schmelzbereich:	159 – 160 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 69,03; H 6,26; N 12,88 gef.: C 68,99; H 6,31; N 12,77
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:435,8 [M+H] <sup>+</sup> 44 % <sup>13</sup> C:436,6 [M+H] <sup>+</sup> 74 % <sup>37</sup> Cl:438,1 [M+H] <sup>+</sup> 100 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:433,7 [M-H] <sup>-</sup> 100% <sup>13</sup> C:434,6 [M-H] <sup>-</sup> 26 % <sup>37</sup> Cl:435,6 [M-H] <sup>-</sup> 33%
IR:	KBr [ν in cm <sup>-1</sup> ]: 3120 w „br“ (NH st); 3065 m, 3040 m (aromat. CH st); 2949 s, 2927 s, 2865 m (aliph. CH st); 1608 w, 1589 m, 1512 m, 1489 m (C=C st); 1568 s (NH δ); 1465 s, 1376 m (CH δ); 1402 m (C=N st); 1279 s (CN st); 1228 m, 1160 m (C-O-C st Ether); 1088 m (aromat. C-Cl δ); 823 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 0,80 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 6,9 Hz, 3H, N(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,14 - 1,23 (m, 6H, NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> ); 1,66 (qui, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub>bzw.CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz, 2H, NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,04 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,2 Hz, 2H, NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,53 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,6 Hz, 1H, H-5); 5,21 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-ClPh)); 6,76 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,93 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,6 Hz, 1H, H-6); 6,99 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,28 - 7,32 (m, 4H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6''); 8,25 (s, 1H, H-2); 9,68 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,34 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V) 0,63 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

#### N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-7-ethyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

Verbindung:	<b>110b</b>
Summenformel:	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	378,86 g/mol
Darstellung:	nach AAV 1



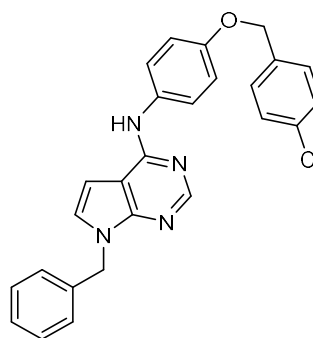
Es wurden 155 mg (0,9 mmol; 1,0 eq.) **109b** mit 598 mg (2,6 mmol; 3,0 eq.) **2h** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Chloroform/Ethylacetat 95:5 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Das ölige Produkt wurde aus kaltem Methanol auskristallisiert. Es wurden 80 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 24,7 % entspricht.

Ausbeute:	24,7 %
Schmelzbereich:	175 – 176 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 66,58; H 5,06; N 14,79 gef.: C 66,19; H 5,10; N 14,99
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:379,4 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:380,4 [M+H] <sup>+</sup> 24 % <sup>37</sup> Cl:381,4 [M+H] <sup>+</sup> 34 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:377,5 [M-H] <sup>-</sup> 100% <sup>13</sup> C: 378,5 [M-H] <sup>-</sup> 22% <sup>37</sup> Cl:379,4 [M-H] <sup>-</sup> 33%

IR:	KBr [v in cm <sup>-1</sup> ]: 3114 w „br“ (NH st); 3061 m, 3049 m (aromat. CH st); 2964 s, 2925 s, 2872 m (aliph. CH st); 1606 w, 1588 m, 1508 s, 1490 m (C=C st); 1565 s (NH δ); 1467 s, 1374 m (CH δ); 1403 m (C=N st); 1287 m (CN st); 1242 m, 1161 m (C-O-C st Ether); 1091 m (aromat. C-Cl δ); 822 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,26 (t, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,3 Hz, 3H, NCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,09 (qua, <sup>3</sup> J <sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,3 Hz, 2H, NCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> ); 4,53 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-5); 5,21 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-ClPh)); 6,76 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,95 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/5</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-6); 6,99 (dd, <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>2'/6'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-2' H-6'); 7,28 - 7,32 (m, 4H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6''); 8,25 (s, 1H, H-2); 9,68 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)
R <sub>f</sub> -Werte:	0,17 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V) 0,49 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

### 7-Benzyl-N-(4-((4-chlorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin

Verbindung:	<b>110c</b>
Summenformel:	C <sub>26</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>4</sub> O
Molekulargewicht:	440,93 g/mol
Darstellung:	nach AAV 11



Es wurden 146 mg (0,6 mmol; 1,0 eq.) **109c** mit 421 mg (1,8 mmol; 3,0 eq.) **2h** nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Heptan/Ethylacetat 70:30 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Das ölige Produkt wurde aus kaltem Methanol auskristallisiert. Es wurden 29 mg weißer Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 11,0 % entspricht.

Ausbeute:	11,0 %
Schmelzbereich:	221 – 222 °C
Elementaranalyse:	ber.: C 70,82; H 4,80; N 12,71 gef.: C 70,54; H 4,82; N 12,59
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:441,8 [M+H] <sup>+</sup> 74% <sup>13</sup> C: 442,8 [M+H] <sup>+</sup> 58 % <sup>37</sup> Cl:444,0 [M+H] <sup>+</sup> 100 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:439,6 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:440,5 [M-H] <sup>-</sup> 28 % <sup>37</sup> Cl:441,5 [M-H] <sup>-</sup> 36 %
IR:	KBr [v in cm <sup>-1</sup> ]: 3128 w „br“ (NH st); 3087 m, 3047 m (aromat. CH st); 2987 m, 2918 m, 2874 w (aliph. CH st); 1607 w, 1589 m, 1509 s, 1488 m (C=C st); 1564 s (NH δ); 1451 m, 1374 m (CH δ); 1402 m (C=N st); 1284 m (CN st); 1234 m, 1160 m (C-O-C st Ether); 1089 m (aromat. C-Cl δ); 826 w (CH δ 1,4-disubst. Aromat); 739 w, 697 w (CH δ monosubst. Aromat)
<sup>1</sup> H-NMR:	400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 4,56 (d, <sup>3</sup> J <sub>5/6</sub> = 3,5 Hz, 1H, H-5); 5,22 (s, 2H, CH <sub>2</sub> (4''-ClPh)); 5,29 (s, 2H, NCH <sub>2</sub> Ph); 6,76 (dd, <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 6,7 Hz <sup>4</sup> J <sub>3'/5'</sub> und <sup>4</sup> J <sub>5'/3'</sub> = 2,2 Hz, 2H, H-3' H-5'); 6,99 - 7,02 (m, 3H, H-6 H-2' H-6'); 7,17 - 7,26 (m, 5H, NCH <sub>2</sub> Ph); 7,28 - 7,32 (m, 4H, H-2'' H-3'' H-5'' H-6''); 8,28 (s, 1H, H-2); 9,69 (br, 1H, C-4-NH, with D <sub>2</sub> O exchangeable)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,29 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)  
0,61 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

### 5.1.2.6.3. Synthese *N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin

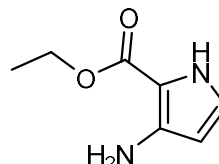
#### Ethyl-3-amino-1*H*-pyrrol-2-carboxylat

Verbindung: **111**

Summenformel: C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molekulargewicht: 154,17 g/mol

Darstellung: Einzelschrift



Es wurden 2,00 g Isooxazol (29,0 mmol; 1,0 eq.) in 8,0 ml trockenem Ethanol gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 15,20 ml einer 2M ethanolischen NaOEt-Lösung zugetropft (30,4 mmol; 1,1 eq.) Dabei wurde die Reaktionstemperatur durch ständige Kühlung unter 8 °C gehalten und für weitere 0,5 h unter Kühlung gerührt. Danach wurden 0,58 g bzw. 0,55 ml Essigsäure (9,7 mmol; 0,3 eq.), 1,64 g Natriumacetat (20,0 mmol; 0,7 eq.) und 4,10 g Diethylaminomaleat-hydrochlorid (19,3 mmol; 0,7 eq.) zugesetzt und für 2 d bei Raumtemperatur gerührt. Nachgehend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 100,0 ml Wasser aufgenommen. Nach Extraktion der wässrigen Phase mit 100,0 ml CHCl<sub>3</sub> wurde die organische Phase über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, über ein Celite<sup>®</sup>-Pad filtriert und abschließend vom Lösungsmittel im Vakuum befreit. Das resultierende Öl wurde in 40,00 ml einer 0,5 M ethanolischen NaOEt-Lösung (20,0 mmol; 0,7 eq.) aufgenommen und für weitere 3 d bei Raumtemperatur gerührt. Zur Beendigung der Reaktion wurde mit 1,30 g bzw. 1,20 ml Essigsäure (21,0 mmol; 0,7 eq.) neutralisiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde der verbliebene Rückstand in 150,0 ml Chloroform gelöst und mit zweimal je 50,0 ml wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase über MgSO<sub>4</sub> und Filtration über ein Celite<sup>®</sup>-Pad konnte das organische Lösungsmittel im Vakuum entfernt werden. Es verblieben 1,17 g gelbes Öl mit ausreichender Reinheit für die weitere Umsetzung, welches einer Ausbeute von 39,3 % entspricht. Für die Charakterisierung wurde die Verbindung in das entsprechende Hydrochlorid umgesetzt.

Ausbeute: 39,3 %

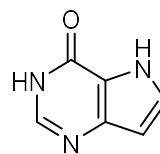
Schmelzbereich: 196 – 198 °C

MS (ESI-positiv): m/z = <sup>12</sup>C:155,2 [M+H]<sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup>C:156,2 [M+H]<sup>+</sup> 9 %

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub> [δ in ppm]: 1,31 (t, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub></sub> = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 4,24 (qua, <sup>3</sup>J<sub>CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub></sub> = 7,0 Hz, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O); 6,34 (t, <sup>3</sup>J<sub>4/5</sub> = 2,6 Hz, 1H, H-4); 7,01 (t, <sup>3</sup>J<sub>5/4</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-5)

**3,5-Dihydro-4H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on**

Verbindung:	<b>112</b>
Summenformel:	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O
Molekulargewicht:	135,13 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift

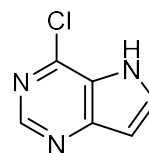


Es wurden 1,11 g **111** (7,20 mmol; 1,0 eq.) in 10,2 ml trockenem Ethanol gelöst. Anschließend wurde 1,12 g Formamidinacetat (10,8 mmol; 1,5 eq.) zugesetzt und der Reaktionsansatz für 16 h zum Rückfluss erhitzt. Durch Kühlung des Ansatzes auf 0 °C kam es zur Bildung eines Präzipitats, welches über Filtration gewonnen und mit Ethanol nachgewaschen wurde. Nach Umkristallisation in Wasser und anschließender Trocknung über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> wurden 539 mg eines beigen Feststoffs gewonnen, welches einer Ausbeute von 55,4 % entspricht.

Ausbeute:	55,4 %
Schmelzbereich:	259 – 261 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:136,2 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:137,2 [M+H] <sup>+</sup> 8 %
MS (ESI-negativ):	m/z = <sup>12</sup> C:134,4 [M-H] <sup>-</sup> 100 % <sup>13</sup> C:135,3 [M-H] <sup>-</sup> 6 %
<sup>1</sup> H-NMR:	500 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> [δ in ppm]: 6,36 (d, <sup>3</sup> J <sub>7/6</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-7); 7,36 (d, <sup>3</sup> J <sub>6/7</sub> = 3,0 Hz, 1H, H-6); 7,77 (s, 1H, H-2)

**4-Chloro-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin**

Verbindung:	<b>113</b>
Summenformel:	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> ClN <sub>3</sub>
Molekulargewicht:	153,57 g/mol
Darstellung:	Einzelvorschrift



Es wurden 410 mg **112** (3,0 mmol; 1,0 eq.) unter Kühlung auf 0 °C mit 3,36 g bzw. 2,00 ml POCl<sub>3</sub> (21,9 mmol; 7,2 eq.) versetzt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz 1 h zum Rückfluss erhitzt. Unter vorsichtiger Zugabe von Eis und Kühlung auf 0 °C wurde der Überschuss an POCl<sub>3</sub> abreagiert und nachgehend mit 25%iger wässriger NH<sub>3</sub>-Lösung ein pH von 7 - 8 eingestellt. Das dabei entstandene Präzipitat wurde abfiltriert, mit Wasser und CHCl<sub>3</sub> nachgewaschen und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Es wurden 131 mg gelber Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 28,1 % entspricht.

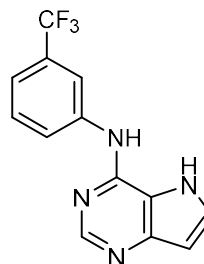
Ausbeute:	28,1 %
Schmelzbereich:	192 – 194 °C
MS (ESI-positiv):	m/z = <sup>12</sup> C:154,6 [M+H] <sup>+</sup> 100 % <sup>13</sup> C:155,6 [M+H] <sup>+</sup> 5 % <sup>37</sup> Cl:156,6 [M+H] <sup>+</sup> 18 %

MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:152,5 [\text{M-H}]^- 100\% {}^{13}\text{C}:153,5 [\text{M-H}]^- 6\% {}^{37}\text{Cl}:154,5 [\text{M-H}]^- 20\%$   
 ${}^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 6,74 (d,  ${}^3J_{7/6} = 3,0$  Hz, 1H, H-7); 7,99 (d,  ${}^3J_{6/7} = 3,0$  Hz, 1H, H-6); 8,63 (s, 1H, H-2); 12,45 (br, 1H, N-5-H, with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable)

***N*-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-amin**Verbindung: **114**Summenformel:  $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{F}_3\text{N}_4$ 

Molekulargewicht: 278,24 g/mol

Darstellung: nach AAV 1



Es wurden 135 mg (0,9 mmol; 1,0 eq.) **113** mit 709 mg (5,0 mmol; 5,6 eq.) 3-(Trifluoromethyl)anilin nach AAV 1 umgesetzt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Ethylacetat/Methanol 90:10 (V/V) als Eluent aufgereinigt. Es wurden 144 mg beiger Feststoff gewonnen, welches einer Ausbeute von 58,6 % entspricht.

Ausbeute: 58,6 %

Schmelzbereich: 305 – 306 °C

HPLC-Reinheit: 99,83 % (Retentionszeit: 8,56 min)

MS (ESI-positiv):  $m/z = {}^{12}\text{C}:279,3 [\text{M+H}]^+ 100\% {}^{13}\text{C}:280,3 [\text{M+H}]^+ 16\%$ MS (ESI-negativ):  $m/z = {}^{12}\text{C}:277,4 [\text{M-H}]^- 100\% {}^{13}\text{C}: 278,4 [\text{M-H}]^- 15\%$ 

IR: KBr [ $\nu$  in  $\text{cm}^{-1}$ ]: 3324 m „br“, 3244 m „br“ (NH st); 3086 s, 3059 m (aromat. CH st); 1647 s (NH  $\delta$ ); 1611 m, 1601 m, 1490 s, 1480 s (C=C st); 1568 w (NH  $\delta$ ); 1410 m (C=N st); 1331 s (aliph. C-F  $\delta$ ); 1279 m (CN st); 789 m, 694 m (CH  $\delta$  1,3-disubst. Aromat)

${}^1\text{H-NMR}$ : 500 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 6,51 (dd,  ${}^3J_{7/6} = 2,9$  Hz  ${}^4J_{7/\text{NH}} = 1,8$  Hz, 1H, H-7); 7,35 (d,  ${}^3J_{4'/5'} = 7,8$  Hz, 1H, H-4'); 7,60 (t,  ${}^3J_{5'/4'\text{ bzw. }6'} = 8,2$  Hz, 1H, H-5'); 7,71 (t,  ${}^3J_{6'/\text{NH bzw. }7} = 2,9$  Hz, 1H, H-6); 8,05 (d,  ${}^3J_{6'/5'} = 8,2$  Hz, 1H, H-6'); 8,38 (t,  ${}^4J_{2'/4'\text{ bzw. }6'} = 2,0$  Hz, 1H, H-2'); 8,41 (s, 1H, H-2); 9,53 (br, 1H, C-4-NH, with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable); 11,10 (br, 1H, N-5-H, with  $\text{D}_2\text{O}$  exchangeable)

${}^{13}\text{C-NMR}$ : 100 MHz, DMSO- $d_6$  [ $\delta$  in ppm]: 102,28 (C-7); 114,45 (C-4a); 115,42 115,46 (C-4'); 118,45 118,48 (C-2'); 122,99 (C-6'); 123,63 ( $\text{CF}_3$ ); 125,80 (C-6); 129,81 (C-5'); 130,41 (C-3'); 141,47 (C-1'); 146,56 (C-2); 148,68 (C-7a); 149,78 (C-4)

R<sub>f</sub>-Werte: 0,02 Chloroform/Ethylacetat 90:10 (V/V)

0,17 Ethylacetat

0,22 Chloroform/Methanol 95:5 (V/V)

## 5.2. Biochemische Untersuchungen

### 5.2.1. <sup>33</sup>PanQinase-Assay der ProQinase GmbH

Die Bestimmung der IC<sub>50</sub>-Werte für verschiedene RTKs wurde im automatisierten <sup>33</sup>PanQinase<sup>®</sup>-Verfahren durch die Firma ProQinase GmbH (Freiburg im Breisgau) durchgeführt. Die entsprechenden Kinasen wurden aus humanen cDNAs über Sf9-Insektenzellen oder *E. coli* exprimiert und enthielten als Fusionsproteine zusätzlich entweder GST- oder His-Tag-Affinitätsmarker. Dementsprechend erfolgte die Aufreinigung über GST-Affinitätschromatographie oder immobilisierte Metallionen-Affinitätschromatographie. Die Reinheit der Proteine wurde durch SDS-PAGE mit Coomassie-Färbung geprüft und die Identität über Massenspektrometrie bestätigt.

Die Prüfsubstanzen wurden durch die ProQinase GmbH mit DMSO in 10 mM Stammlösungen überführt und entsprechend einer semi-logarithmischen Verdünnungsreihe bis zu einer Konzentration von 0,3 µM in 100 % DMSO verdünnt. Zusätzlich wurden auf der Mikrotiterplatte zwei Kontrollreihen mit 100 % DMSO ohne zu testende Verbindung mitgeführt. Im weiteren Prozess wurden jeweils zweimal 5 µl aus der „Verdünnungsplatte/100 % DMSO“ entnommen und auf neue Mikrotiterplatten verteilt, um dort anschließend mit 45 µl Wasser verdünnt zu werden. Es resultierten die „Substanzverdünnungsplatten/10 % DMSO“ mit einem Verbindungskonzentrationsbereich von 1 mM bis 30 nM. Für das anschließende Assay wurden 5 µl dieser Verdünnungen in die vorbereiteten Assayplatten überführt. Das Endvolumen des Assays lag bei 50 µl, sodass ein Endkonzentrationsbereich der Verbindungen von 0,1 mM bis 3 nM in 1 % DMSO resultierte. Zusätzlich bestand das Assay aus 20 µl Pufferlösung, 5 µl ATP-Lösung in Wasser und 20 µl Substrat-Enzym-Lösung. Detaillierter bestanden die Assays also aus: 70 mM HEPES-NaOH pH 7.5, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 3 mM MnCl<sub>2</sub>, 3 µM Natriumorthovanadat, 1.2 mM DTT, 50 µg/ml PEG<sub>20000</sub> und 15 µM ATP ([γ-<sup>33</sup>P]-ATP). Die Menge an RTK und Substrat variiert je nach Assay und ist in folgender Tabelle aufgeführt.

Zusammenfassung von Kinase-, ATP- und Substratkonzentrationen der verschiedenen <sup>33</sup>PanQinase-Assays

Kinase	Kinasekonz. [ng/50µl]	Kinasekonz. [nM]	ATP-Konz. [µM]	Substrat	Substratkonz. [µg/50µl]
EGFR wt	20	4,4	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125
VEGFR2	25	5,7	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125
IGF-1R	10	2,6	15,0	poly(Glu,Tyr)4:1	0,125
PDGFRβ	20	4,5	15,0	Poly(Ala,Glu,Lys,Tyr)6:2:5:1	0,125

Bei den Assays handelt es sich um radiometrische Bestimmungen basierend auf dem radioaktiven Phosphorisotop <sup>33</sup>P bzw. entsprechend radioaktiv markierten [γ-<sup>33</sup>P]-ATP. Die Assays wurden 60 Minuten bei 30 °C inkubiert und anschließend die Reaktionen durch Zusatz von 50 µl 2%iger wässriger H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (V/V) gestoppt. Nach Entfernung der nicht gebundenen Bestandteile wurden die Mikrotiterplatten jeweils zweimal mit 200 µl 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen und die Aufnahme von <sup>33</sup>P<sub>i</sub> in das Substrat mithilfe eines Mikroplatten-Szintillationszählers (*Mikrobeta*, Wallac) gemessen. Alle Assays wurden an einem BeckmanCoulter/SAGIAN-Automatiksystem durchgeführt. Die prozentuale Restaktivität der Proteinkinase ergibt sich aus dem Quotienten der Messung mit

Inhibitor und der Messung ohne Zusatz eines Inhibitors (*high control*). Von beiden Werten wird zuvor die unspezifisch gebundene Reststrahlung abgezogen (*low control*). Der entsprechende Wert wurde durch Messung ohne Kinase und Substrat erhalten. Aus den Messwerten für verschiedene Inhibitorkonzentrationen wurde mit der Software *Quattro Workflow V3.1.0 (Quattro Research GmbH, München, Deutschland)* der zugehörige  $IC_{50}$ -Wert ermittelt. Die Überführung der  $IC_{50}$ -Werte in Affinitätskonstanten  $K_i$  erfolgte rechnerisch nach der Gleichung:  $IC_{50} = 0,5 [E_{total}] + K_i * (1 + [S]/K_m)$ . ( $K_m$  ATP-EGFR = 1,3  $\mu$ M;  $K_m$  ATP-VEGFR2 = 3,361  $\mu$ M;  $K_m$  ATP-IGF-1R = 2,523  $\mu$ M;  $K_m$  ATP-PDGFR $\beta$  = 0,989  $\mu$ M)

### 5.2.2. NCI-60 cell-line-panel (One-Dose- und Five-Dose-Screening)

Entsprechend Literaturangaben<sup>350</sup> wurden im standardisierten Testverfahren zunächst die humanen Tumorzelllinien in RPMI-1640-Medium, welches 5 % fetales Rinderserum und 2 mM L-Glutamin enthält, kultiviert. Je nach Wachstumsgeschwindigkeit der Zelllinie wurden dazu etwa 5000 - 40000 Zellen mit 100  $\mu$ l Medium in Vertiefungen einer 96-Well-Mikrotiterplatte eingebracht und anschließend bei 37 °C, 100 % relativer Luftfeuchtigkeit und 5%iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre für 24 h inkubiert. Pro Zelllinie wurden 2 Mikrotiterplatten anschließend mit Trichloressigsäure (TCA) in situ fixiert und somit die Referenzproben für den Zeitpunkt der Probenzugabe ( $T_z$ ) festgelegt. Die Testsubstanzen wurden als Stammlösung zu 4 mM (*One-Dose-Screening*) bzw. 40 mM (*Five-Dose-Screening*) in DMSO präpariert. Die Stammlösung wurde im Testprozedere mit Medium, welches zusätzlich 50  $\mu$ g/ml Gentamycin enthält, auf das Doppelte der höchst beabsichtigten Assaykonzentration (20  $\mu$ M *One-Dose-Screening*, 200  $\mu$ M *Five-Dose-Screening*) verdünnt. Im Falle des *Five-Dose-Screenings* wurde daraus zusätzlich eine entsprechende Verdünnungsreihe (200  $\mu$ M bis 20 nM) erzeugt. 100  $\mu$ l der erhaltenen Substanzlösungen wurden zu den bereits vorhandenen 100  $\mu$ l Medium (mit enthaltenen Testzelllinien) in die 96-Well-Mikrotiterplatten pipettiert und somit die entgeltliche Testkonzentration erreicht. Als Wachstumskontrollen wurden an dieser Stelle auch *Wells* ohne Zusatz von Inhibitor (nur Medium mit Gentamycin) präpariert (C). Nachfolgend wurden die Testreihen unter den zuvor genannten Bedingungen für 48 h inkubiert. Die Fixierung der adhärennten Zellen erfolgte durch Zusatz von 50  $\mu$ l 50%iger TCA (m/V) und anschließender Inkubation für 60 min bei 4 °C. Die finale TCA-Konzentration betrug somit 10 %. Nachgehend wurde der Überstand verworfen, die Platten fünfmal mit Wasser gewaschen und getrocknet. Zur Färbung der vitalen Zellen wurden die *Wells* mit 100  $\mu$ l Sulforhodamin-B-Lösung 0,4 % (m/V) in 1%iger Essigsäurelösung für 10 min bei Raumtemperatur inkubiert. Ungebundener Farbstoff wurde durch fünfmaliges Waschen mit 1%iger Essigsäurelösung entfernt. Danach wurde gebundener Farbstoff durch Zusatz von 10 mM Tris-Puffer gelöst und durch einen automatischen Plattenreader bei 515 nm die Absorption vermessen. Für suspendierte Zellen wurde im Wesentlichen analog verfahren, jedoch wurde zur Fixierung 50  $\mu$ l 80%ige TCA zugesetzt, sodass eine finale TCA-Konzentration von 16 % resultierte. Aus den drei Messwerten Absorption zum Zeitpunkt der Substanzzugabe  $T_z$ , Absorption der Kontrollmessung C und Absorption nach Inkubation mit Inhibitor in der Testkonzentration  $T_i$  konnte das prozentuale Restwachstum berechnet werden.

für Messwerte  $T_i \geq T_z$  gilt:  $\frac{T_i - T_z}{C - T_z} * 100$

für Messwerte  $T_i \leq T_z$  gilt:  $\frac{T_i - T_z}{T_z} * 100$

Durch Verwendung der Messung vor Zugabe des Inhibitors und Verwendung der Kontrollmessung ohne Inhibitorzugabe konnten sowohl der Effekt einer Wachstumsinhibition als auch eine zytotoxische Wirkung mit Rückgang von Zellmaterial erfasst werden.



## Literaturverzeichnis

- <sup>1</sup> Robert Koch-Institut. Berichts zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016
- <sup>2</sup> International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase **2013**
- <sup>3</sup> Nowell, P. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* **1976**. 23–28.
- <sup>4</sup> Levine, A. J. p53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division. *Cell* **1997**. 323–331.
- <sup>5</sup> Li, J. PTEN, a Putative Protein Tyrosine Phosphatase Gene Mutated in Human Brain, Breast, and Prostate Cancer. *Science* **1997**. 1943–1947.
- <sup>6</sup> Lugo, T.; Pendergast, A.; Muller, A., et al. Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science* **1990**. 1079–1082.
- <sup>7</sup> Rini, B. I. VEGF-targeted therapy in metastatic renal cell carcinoma. *The oncologist* **2005**. 191–197.
- <sup>8</sup> Brennan, P. J.; Kumagai, T.; Berezov, A., et al. HER2/neu: mechanisms of dimerization/oligomerization. *Oncogene* **2000**. 6093–6101.
- <sup>9</sup> Cho, H.-S.; Mason, K.; Ramyar, K. X., et al. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Herceptin Fab. *Nature* **2003**. 756–760.
- <sup>10</sup> Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Kurzversion 2.0
- <sup>11</sup> Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Kurzversion 4.0
- <sup>12</sup> Chu, K. C.; Tarone, R. E.; Kessler, L. G., et al. Recent Trends in U.S. Breast Cancer Incidence, Survival, and Mortality Rates. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* **1996**. 1571–1579.
- <sup>13</sup> McGregor, S. E.; Hilsden, R. J.; Li, F. X., et al. Low uptake of colorectal cancer screening 3 yr after release of national recommendations for screening. *The American journal of gastroenterology* **2007**. 1727–1735.
- <sup>14</sup> Arnold, M.; Sierra, M. S.; Laversanne, M., et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* **2017**. 683–691.
- <sup>15</sup> Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie Zervixkarzinom, Langversion 1.0
- <sup>16</sup> Buys, S. S.; Partridge, E.; Black, A., et al. Effect of screening on ovarian cancer mortality: the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Randomized Controlled Trial. *JAMA* **2011**. 2295–2303.
- <sup>17</sup> Denoix PF. Nomenclature classification des cancers. *Bull. Inst. Nat. Hyg. (Paris)*. 743–748.
- <sup>18</sup> Meier, D. A.; Brill, D. R.; Becker, D. V., et al. Procedure guideline for therapy of thyroid disease with (131)iodine. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* **2002**. 856–861.
- <sup>19</sup> Nag, S.; Erickson, B.; Thomadsen, B., et al. The American Brachytherapy Society recommendations for high-dose-rate brachytherapy for carcinoma of the cervix. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics* **2000**. 201–211.
- <sup>20</sup> Davis, B. J.; Horwitz, E. M.; Lee, W. R., et al. American Brachytherapy Society consensus guidelines for transrectal ultrasound-guided permanent prostate brachytherapy. *Brachytherapy* **2012**. 6–19.
- <sup>21</sup> SKIPPER, H. E. PERSPECTIVES IN CANCER CHEMOTHERAPY: THERAPEUTIC DESIGN. *Cancer research* **1964**. 1295–1302.
- <sup>22</sup> Oken, M. M.; Creech, R. H.; Tormey, D. C., et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *American journal of clinical oncology* **1982**. 649–655.
- <sup>23</sup> Das Blaue Buch **2017**
- <sup>24</sup> Minotti, G.; Menna, P.; Salvatorelli, E., et al. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological reviews* **2004**. 185–229.
- <sup>25</sup> Pabla, N.; Dong, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney international* **2008**. 994–1007.
- <sup>26</sup> Hesketh, P. J.; van Belle, S.; Aapro, M., et al. Differential involvement of neurotransmitters through the time course of cisplatin-induced emesis as revealed by therapy with specific receptor antagonists. *European Journal of Cancer* **2003**. 1074–1080.
- <sup>27</sup> Lutterotti, A.; Martin, R. Getting specific. *The Lancet Neurology* **2008**. 538–547.
- <sup>28</sup> Baselga, J.; Albanell, J. Mechanism of action of anti-HER2 monoclonal antibodies. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2001**. S35-41.
- <sup>29</sup> Karaman, M. W.; Herrgard, S.; Treiber, D. K., et al. A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity. *Nature biotechnology* **2008**. 127–132.

- <sup>30</sup> Krause, D. S.; van Etten, R. A. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *The New England Journal of Medicine* **2005**. 172–187.
- <sup>31</sup> Topalian, S. L.; Drake, C. G.; Pardoll, D. M. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Current opinion in immunology* **2012**. 207–212.
- <sup>32</sup> Robert, C.; Soria, J.-C.; Spatz, A., et al. Cutaneous side-effects of kinase inhibitors and blocking antibodies. *The Lancet Oncology* **2005**. 491–500.
- <sup>33</sup> Pérez-Soler, R.; Saltz, L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2005**. 5235–5246.
- <sup>34</sup> Widakowich, C.; Castro, G. de; Azambuja, E. de, et al. Review: side effects of approved molecular targeted therapies in solid cancers. *The oncologist* **2007**. 1443–1455.
- <sup>35</sup> Naidoo, J.; Page, D. B.; Li, B. T., et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2015**. 2375–2391.
- <sup>36</sup> Greenman, C.; Stephens, P.; Smith, R., et al. Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature* **2007**. 153–158.
- <sup>37</sup> Weinstein, I. B.; Joe, A. K. Mechanisms of disease: Oncogene addiction--a rationale for molecular targeting in cancer therapy. *Nature clinical practice. Oncology* **2006**. 448–457.
- <sup>38</sup> Weinstein, I. B. Disorders in cell circuitry during multistage carcinogenesis: the role of homeostasis. *Carcinogenesis* **2000**. 857–864.
- <sup>39</sup> Weinstein, I. B. Cancer. Addiction to oncogenes--the Achilles heel of cancer. *Science (New York, N.Y.)* **2002**. 63–64.
- <sup>40</sup> Slamon Dennis J.; Leyland-Jones Brian; Shak Steven, et al. Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *The New England Journal of Medicine* **2001**. 783–792.
- <sup>41</sup> Piccart-Gebhart Martine J.; Procter Marion; Leyland-Jones Brian, et al. Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine* **2005**. 1659–1672.
- <sup>42</sup> Hughes, T. P.; Kaeda, J.; Branford, S., et al. Frequency of major molecular responses to imatinib or interferon alfa plus cytarabine in newly diagnosed chronic myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine* **2003**. 1423–1432.
- <sup>43</sup> Zhou, C.; Wu, Y.-L.; Chen, G., et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802). *The Lancet Oncology* **2011**. 735–742.
- <sup>44</sup> Tetsuya Mitsudomi; Satoshi Morita; Yasushi Yatabe, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial
- <sup>45</sup> Shepherd Frances A.; Rodrigues Pereira José; Ciuleanu Tudor, et al. Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine* **2005**. 123–132.
- <sup>46</sup> Burotto, M.; Manasanch, E. E.; Wilkerson, J., et al. Gefitinib and erlotinib in metastatic non-small cell lung cancer: a meta-analysis of toxicity and efficacy of randomized clinical trials. *The oncologist* **2015**. 400–410.
- <sup>47</sup> Kobayashi, S.; Boggon, T. J.; Dayaram, T., et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *The New England Journal of Medicine* **2005**. 786–792.
- <sup>48</sup> Miller, K.; Wang, M.; Gralow, J., et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *The New England Journal of Medicine* **2007**. 2666–2676.
- <sup>49</sup> Hurwitz Herbert; Fehrenbacher Louis; Novotny William, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer
- <sup>50</sup> Yang, J. C.; Haworth, L.; Sherry, R. M., et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *The New England Journal of Medicine* **2003**. 427–434.
- <sup>51</sup> Robert J. Motzer; Thomas E. Hutson; Piotr Tomczak, et al. Sunitinib versus Interferon Alfa in Metastatic Renal-Cell Carcinoma. *The New England Journal of Medicine* **2007**. 115–124.
- <sup>52</sup> Bergh, J.; Bondarenko, I. M.; Lichinitser, M. R., et al. First-line treatment of advanced breast cancer with sunitinib in combination with docetaxel versus docetaxel alone: results of a prospective, randomized phase III study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2012**. 921–929.
- <sup>53</sup> Crown, J. P.; Diéras, V.; Staroslawska, E., et al. Phase III trial of sunitinib in combination with capecitabine versus capecitabine monotherapy for the treatment of patients with pretreated metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 2870–2878.
- <sup>54</sup> Frantz, S. Drug discovery: playing dirty. *Nature* **2005**. 942–943.

- <sup>55</sup> Sharma, S. V.; Settleman, J. Oncogene addiction: setting the stage for molecularly targeted cancer therapy. *Genes & development* **2007**. 3214–3231.
- <sup>56</sup> Weinstein, I. B.; Joe, A. Oncogene addiction. *Cancer research* **2008**. 3077-80; discussion 3080.
- <sup>57</sup> Hanahan, D.; Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **2011**. 646–674.
- <sup>58</sup> Faivre, S.; Djelloul, S.; Raymond, E. New paradigms in anticancer therapy: targeting multiple signaling pathways with kinase inhibitors. *Seminars in oncology* **2006**. 407–420.
- <sup>59</sup> Knight, Z. A.; Lin, H.; Shokat, K. M. Targeting the cancer kinome through polypharmacology. *Nature reviews. Cancer* **2010**. 130–137.
- <sup>60</sup> Witsch, E.; Sela, M.; Yarden, Y. Roles for growth factors in cancer progression. *Physiology (Bethesda, Md.)* **2010**. 85–101.
- <sup>61</sup> Sporn, M. B.; Todaro, G. J. Autocrine secretion and malignant transformation of cells. *The New England Journal of Medicine* **1980**. 878–880.
- <sup>62</sup> Herbst Roy S.; Heymach John V.; Lippman Scott M. Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine* **2008**. 1367–1380.
- <sup>63</sup> Kalyankrishna, S.; Grandis, J. R. Epidermal growth factor receptor biology in head and neck cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2006**. 2666–2672.
- <sup>64</sup> Bhowmick, N. A.; Neilson, E. G.; Moses, H. L. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature* **2004**. 332–337.
- <sup>65</sup> Adams, J. M.; Cory, S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene* **2007**. 1324–1337.
- <sup>66</sup> Lowe, S. W.; Cepero, E.; Evan, G. Intrinsic tumour suppression. *Nature* **2004**. 307–315.
- <sup>67</sup> Yu, D.; Watanabe, H.; Shibuya, H., et al. Redundancy of radioresistant signaling pathways originating from insulin-like growth factor I receptor. *The Journal of biological chemistry* **2003**. 6702–6709.
- <sup>68</sup> Henson, E. S.; Gibson, S. B. Surviving cell death through epidermal growth factor (EGF) signal transduction pathways: implications for cancer therapy. *Cellular signalling* **2006**. 2089–2097.
- <sup>69</sup> Cotter, T. G. Apoptosis and cancer: the genesis of a research field. *Nature reviews. Cancer* **2009**. 501–507.
- <sup>70</sup> Ferrara, N.; Gerber, H.-P.; LeCouter, J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine* **2003**. 669–676.
- <sup>71</sup> Baluk, P.; Morikawa, S.; Haskell, A., et al. Abnormalities of Basement Membrane on Blood Vessels and Endothelial Sprouts in Tumors. *The American Journal of Pathology* **2003**. 1801–1815.
- <sup>72</sup> Baeriswyl, V.; Christofori, G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Seminars in cancer biology* **2009**. 329–337.
- <sup>73</sup> J. Rak; Y. Mitsushashi; L. Bayko, et al. Ras upregulates VEGF. *Cancer research* **1995**. 4575–4580.
- <sup>74</sup> Tudor, R. M.; Flook, B. E.; Voelkel, N. F. Increased gene expression for VEGF and the VEGF receptors KDR/Flk and Flt in lungs exposed to acute or to chronic hypoxia. Modulation of gene expression by nitric oxide. *The Journal of clinical investigation* **1995**. 1798–1807.
- <sup>75</sup> Balkwill, F.; Mantovani, A. Inflammation and cancer. *The Lancet* **2001**. 539–545.
- <sup>76</sup> Burke, F.; Relf, M.; Negus, R., et al. A cytokine profile of normal and malignant ovary. *Cytokine* **1996**. 578–585.
- <sup>77</sup> Pinedo, H. M.; Verheul, H. M.; D'Amato, R. J., et al. Involvement of platelets in tumour angiogenesis? *Lancet (London, England)* **1998**. 1775–1777.
- <sup>78</sup> Samani, A. A.; Yakar, S.; LeRoith, D., et al. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocrine reviews* **2007**. 20–47.
- <sup>79</sup> Luca, A. de; Carotenuto, A.; Rachiglio, A., et al. The role of the EGFR signaling in tumor microenvironment. *Journal of cellular physiology* **2008**. 559–567.
- <sup>80</sup> Gonzalez, D. M.; Medici, D. Signaling mechanisms of the epithelial-mesenchymal transition. *Science signaling* **2014**. re8.
- <sup>81</sup> Micalizzi, D. S.; Farabaugh, S. M.; Ford, H. L. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *Journal of mammary gland biology and neoplasia* **2010**. 117–134.
- <sup>82</sup> Jechlinger, M.; Sommer, A.; Moriggl, R., et al. Autocrine PDGFR signaling promotes mammary cancer metastasis. *The Journal of clinical investigation* **2006**. 1561–1570.
- <sup>83</sup> Patel, P.; West-Mays, J.; Kolb, M., et al. Platelet derived growth factor B and epithelial mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells. *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology* **2010**. 97–106.
- <sup>84</sup> Zuo, J.-H.; Zhu, W.; Li, M.-Y., et al. Activation of EGFR promotes squamous carcinoma SCC10A cell migration and invasion via inducing EMT-like phenotype change and MMP-9-mediated degradation of E-cadherin. *Journal of cellular biochemistry* **2011**. 2508–2517.

- <sup>85</sup> Kim, H.-J.; Litzenburger, B. C.; Cui, X., et al. Constitutively active type I insulin-like growth factor receptor causes transformation and xenograft growth of immortalized mammary epithelial cells and is accompanied by an epithelial-to-mesenchymal transition mediated by NF-kappaB and snail. *Molecular and cellular biology* **2007**. 3165–3175.
- <sup>86</sup> Werb, Z. ECM and Cell Surface Proteolysis: Regulating Cellular Ecology. *Cell* **1997**. 439–442.
- <sup>87</sup> Marvin T. Nieman, Ryan S. Prudoff, Keith R. Johnson, and Margaret J. Wheelock. N-Cadherin Promotes Motility in Human Breast Cancer Cells Regardless of their E-Cadherin Expression. *The Journal of Cell Biology* **1999**. 631–643.
- <sup>88</sup> Yiping Wu; Shoshana Yakar; Ling Zhao, et al. Circulating Insulin-like Growth Factor-I Levels Regulate Colon Cancer Growth and Metastasis. *Cancer research* **2002**. 1030–1035.
- <sup>89</sup> Amir Abbas Samani; Eric Chevet; Lucia Fallavollita, et al. Loss of Tumorigenicity and Metastatic Potential in Carcinoma Cells Expressing the Extracellular Domain of the Type 1 Insulin-Like Growth Factor Receptor. *Cancer research* **2004**. 3380–3385.
- <sup>90</sup> Massagué, J.; Obenauf, A. C. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature* **2016**. 298–306.
- <sup>91</sup> Petrelli, A.; Giordano, S. From single- to multi-target drugs in cancer therapy: when aspecificity becomes an advantage. *Current medicinal chemistry* **2008**. 422–432.
- <sup>92</sup> Xu, A. M.; Huang, P. H. Receptor tyrosine kinase coactivation networks in cancer. *Cancer research* **2010**. 3857–3860.
- <sup>93</sup> Niederst, M. J.; Engelman, J. A. Bypass mechanisms of resistance to receptor tyrosine kinase inhibition in lung cancer. *Science signaling* **2013**. re6.
- <sup>94</sup> Roskoski, R. ErbB/HER protein-tyrosine kinases: Structures and small molecule inhibitors. *Pharmacological research* **2014**. 42–59.
- <sup>95</sup> Ardito, F.; Giuliani, M.; Perrone, D., et al. The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review). *International journal of molecular medicine* **2017**. 271–280.
- <sup>96</sup> Rosell, R.; Carcereny, E.; Gervais, R., et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC). *The Lancet Oncology* **2012**. 239–246.
- <sup>97</sup> Mitsudomi, T.; Morita, S.; Yatabe, Y., et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405). *The Lancet Oncology* **2010**. 121–128.
- <sup>98</sup> Thatcher, N.; Chang, A.; Parikh, P., et al. Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer. *The Lancet* **2005**. 1527–1537.
- <sup>99</sup> Shepherd, F. A.; Rodrigues Pereira, J.; Ciuleanu, T., et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *The New England Journal of Medicine* **2005**. 123–132.
- <sup>100</sup> Lynch Thomas J.; Bell Daphne W.; Sordella Raffaella, et al. Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *The New England Journal of Medicine* **2004**. 2129–2139.
- <sup>101</sup> Soria, J.-C.; Mok, T. S.; Cappuzzo, F., et al. EGFR-mutated oncogene-addicted non-small cell lung cancer: current trends and future prospects. *Cancer treatment reviews* **2012**. 416–430.
- <sup>102</sup> Wu, Y.-L.; Zhou, C.; Hu, C.-P., et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6). *The Lancet Oncology* **2014**. 213–222.
- <sup>103</sup> Remon, J.; Steuer, C. E.; Ramalingam, S. S., et al. Osimertinib and other third-generation EGFR TKI in EGFR-mutant NSCLC patients. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2018**. i20-i27.
- <sup>104</sup> Engelman, J. A.; Zejnullahu, K.; Mitsudomi, T., et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science (New York, N.Y.)* **2007**. 1039–1043.
- <sup>105</sup> Carey, L. A.; Rugo, H. S.; Marcom, P. K., et al. TBCRC 001: randomized phase II study of cetuximab in combination with carboplatin in stage IV triple-negative breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2012**. 2615–2623.
- <sup>106</sup> Baselga, J.; Gómez, P.; Greil, R., et al. Randomized phase II study of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab with cisplatin versus cisplatin alone in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 2586–2592.
- <sup>107</sup> Nabholz, J. M.; Abrial, C.; Mouret-Reynier, M. A., et al. Multicentric neoadjuvant phase II study of panitumumab combined with an anthracycline/taxane-based chemotherapy in operable triple-negative breast

- cancer: identification of biologically defined signatures predicting treatment impact. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2014**. 1570–1577.
- <sup>108</sup> Schuler, M.; Awada, A.; Harter, P., et al. A phase II trial to assess efficacy and safety of afatinib in extensively pretreated patients with HER2-negative metastatic breast cancer. *Breast cancer research and treatment* **2012**. 1149–1159.
- <sup>109</sup> Finn, R. S.; Press, M. F.; Dering, J., et al. Estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), and epidermal growth factor receptor expression and benefit from lapatinib in a randomized trial of paclitaxel with lapatinib or placebo as first-line treatment in HER2-negative or unknown metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 3908–3915.
- <sup>110</sup> Cristofanilli, M.; Valero, V.; Mangalik, A., et al. Phase II, randomized trial to compare anastrozole combined with gefitinib or placebo in postmenopausal women with hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2010**. 1904–1914.
- <sup>111</sup> Johnston, S.; Pippin, J.; Pivot, X., et al. Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 5538–5546.
- <sup>112</sup> Lordick, F.; Kang, Y.-K.; Chung, H.-C., et al. Capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer (EXPAND). *The Lancet Oncology* **2013**. 490–499.
- <sup>113</sup> Waddell, T.; Chau, I.; Cunningham, D., et al. Epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine with or without panitumumab for patients with previously untreated advanced oesophagogastric cancer (REAL3). *The Lancet Oncology* **2013**. 481–489.
- <sup>114</sup> Dutton, S. J.; Ferry, D. R.; Blazeby, J. M., et al. Gefitinib for oesophageal cancer progressing after chemotherapy (COG). *The Lancet Oncology* **2014**. 894–904.
- <sup>115</sup> Bang, Y.-J. A randomized, open-label, phase III study of lapatinib in combination with weekly paclitaxel versus weekly paclitaxel alone in the second-line treatment of HER2 amplified advanced gastric cancer (AGC) in Asian population. *Journal of Clinical Oncology* **2013**. 11.
- <sup>116</sup> Hecht, J. R.; Bang, Y.-J.; Qin, S. K., et al. Lapatinib in Combination With Capecitabine Plus Oxaliplatin in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Advanced or Metastatic Gastric, Esophageal, or Gastroesophageal Adenocarcinoma: TRIO-013/LOGiC--A Randomized Phase III Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2016**. 443–451.
- <sup>117</sup> Yung-Jue Bang; Eric Van Cutsem; Andrea Feyereislova, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *The Lancet* **2010**. 687–697.
- <sup>118</sup> Onkologie, L. S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Langversion 1.1, 2014
- <sup>119</sup> Van Cutsem Eric; Köhne Claus-Henning; Hitre Erika, et al. Cetuximab and Chemotherapy as Initial Treatment for Metastatic Colorectal Cancer. *The New England Journal of Medicine* **2009**. 1408–1417.
- <sup>120</sup> Douillard, J.-Y.; Oliner, K. S.; Siena, S., et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *The New England Journal of Medicine* **2013**. 1023–1034.
- <sup>121</sup> Santoro, A.; Comandone, A.; Rimassa, L., et al. A phase II randomized multicenter trial of gefitinib plus FOLFIRI and FOLFIRI alone in patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2008**. 1888–1893.
- <sup>122</sup> Fisher, G. A.; Kuo, T.; Ramsey, M., et al. A phase II study of gefitinib, 5-fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin in previously untreated patients with metastatic colorectal cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2008**. 7074–7079.
- <sup>123</sup> Meyerhardt, J. A.; Stuart, K.; Fuchs, C. S., et al. Phase II study of FOLFOX, bevacizumab and erlotinib as first-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2007**. 1185–1189.
- <sup>124</sup> Meyerhardt, J. A.; Zhu, A. X.; Enzinger, P. C., et al. Phase II study of capecitabine, oxaliplatin, and erlotinib in previously treated patients with metastatic colorectal cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2006**. 1892–1897.
- <sup>125</sup> Tournigand, C.; Chibaudel, B.; Samson, B., et al. Bevacizumab with or without erlotinib as maintenance therapy in patients with metastatic colorectal cancer (GERCOR DREAM; OPTIMOX3). *The Lancet Oncology* **2015**. 1493–1505.

- <sup>126</sup> Hickish, T.; Cassidy, J.; Propper, D., et al. A randomised, open-label phase II trial of afatinib versus cetuximab in patients with metastatic colorectal cancer. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2014**. 3136–3144.
- <sup>127</sup> Cohen, M. H.; Chen, H.; Shord, S., et al. Approval summary: Cetuximab in combination with cisplatin or carboplatin and 5-fluorouracil for the first-line treatment of patients with recurrent locoregional or metastatic squamous cell head and neck cancer. *The oncologist* **2013**. 460–466.
- <sup>128</sup> Bonner, J. A.; Harari, P. M.; Giralt, J., et al. Cetuximab prolongs survival in patients with locoregionally advanced squamous cell carcinoma of head and neck. *Journal of Clinical Oncology* **2004**. 5507.
- <sup>129</sup> Stewart, J. S. W.; Cohen, E. E. W.; Licitra, L., et al. Phase III study of gefitinib compared with intravenous methotrexate for recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck corrected. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 1864–1871.
- <sup>130</sup> Martins, R. G.; Parvathaneni, U.; Bauman, J. E., et al. Cisplatin and radiotherapy with or without erlotinib in locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomized phase II trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 1415–1421.
- <sup>131</sup> Machiels, J.-P. H.; Haddad, R. I.; Fayette, J., et al. Afatinib versus methotrexate as second-line treatment in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck progressing on or after platinum-based therapy (LUX-Head & Neck 1). *The Lancet Oncology* **2015**. 583–594.
- <sup>132</sup> Conroy Thierry; Desseigne Françoise; Ychou Marc, et al. FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer. *The New England Journal of Medicine* **2011**. 1817–1825.
- <sup>133</sup> Moore, M. J.; Goldstein, D.; Hamm, J., et al. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2007**. 1960–1966.
- <sup>134</sup> Almoguera, C.; Shibata, D.; Forrester, K., et al. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell* **1988**. 549–554.
- <sup>135</sup> Smit, V. T.; Boot, A. J.; Smits, A. M., et al. KRAS codon 12 mutations occur very frequently in pancreatic adenocarcinomas. *Nucleic Acids Research* **1988**. 7773–7782.
- <sup>136</sup> Ko, A. H.; Bekaii-Saab, T.; van Ziffle, J., et al. A Multicenter, Open-Label Phase II Clinical Trial of Combined MEK plus EGFR Inhibition for Chemotherapy-Refractory Advanced Pancreatic Adenocarcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2016**. 61–68.
- <sup>137</sup> Prados, M. D.; Chang, S. M.; Butowski, N., et al. Phase II study of erlotinib plus temozolomide during and after radiation therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme or gliosarcoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 579–584.
- <sup>138</sup> Reardon, D. A.; Nabors, L. B.; Mason, W. P., et al. Phase I/randomized phase II study of afatinib, an irreversible ErbB family blocker, with or without protracted temozolomide in adults with recurrent glioblastoma. *Neuro-oncology* **2015**. 430–439.
- <sup>139</sup> Mellinghoff, I. K.; Wang, M. Y.; Vivanco, I., et al. Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. *The New England Journal of Medicine* **2005**. 2012–2024.
- <sup>140</sup> Ferrara, N.; Adamis, A. P. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Nature reviews. Drug discovery* **2016**. 385–403.
- <sup>141</sup> Koch, S.; Tugues, S.; Li, X., et al. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *The Biochemical journal* **2011**. 169–183.
- <sup>142</sup> Gimbrone, M. A.; Leapman, S. B.; Cotran, R. S., et al. Tumor Angiogenesis. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* **1973**. 219–228.
- <sup>143</sup> Rafii, S.; Lyden, D.; Benezra, R., et al. Vascular and haematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy? *Nature reviews. Cancer* **2002**. 826–835.
- <sup>144</sup> Kaplan, R. N.; Riba, R. D.; Zacharoulis, S., et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* **2005**. 820–827.
- <sup>145</sup> Hicklin, D. J. Promoting angiogenesis to a fault. *Nature biotechnology* **2007**. 300–302.
- <sup>146</sup> Fujio, Y.; Walsh, K. Akt mediates cytoprotection of endothelial cells by vascular endothelial growth factor in an anchorage-dependent manner. *The Journal of biological chemistry* **1999**. 16349–16354.
- <sup>147</sup> Benjamin, L. E.; Keshet, E. Conditional switching of vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in tumors: induction of endothelial cell shedding and regression of hemangioblastoma-like vessels by VEGF withdrawal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1997**. 8761–8766.
- <sup>148</sup> Bruns, C. J.; Liu, W.; Davis, D. W., et al. Vascular endothelial growth factor is an in vivo survival factor for tumor endothelium in a murine model of colorectal carcinoma liver metastases. *Cancer* **2000**. 488–499.

- <sup>149</sup> Klement, G.; Baruchel, S.; Rak, J., et al. Continuous low-dose therapy with vinblastine and VEGF receptor-2 antibody induces sustained tumor regression without overt toxicity. *The Journal of clinical investigation* **2000**. R15-24.
- <sup>150</sup> Kerbel, R. S.; Kamen, B. A. The anti-angiogenic basis of metronomic chemotherapy. *Nature reviews. Cancer* **2004**. 423–436.
- <sup>151</sup> Bertolini, F.; Shaked, Y.; Mancuso, P., et al. The multifaceted circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification. *Nature reviews. Cancer* **2006**. 835–845.
- <sup>152</sup> Murohara, T.; Horowitz, J. R.; Silver, M., et al. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation* **1998**. 99–107.
- <sup>153</sup> Yao, J. C.; Phan, A.; Hoff, P. M., et al. Targeting vascular endothelial growth factor in advanced carcinoid tumor: a random assignment phase II study of depot octreotide with bevacizumab and pegylated interferon alpha-2b. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2008**. 1316–1323.
- <sup>154</sup> Jain, R. K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science (New York, N.Y.)* **2005**. 58–62.
- <sup>155</sup> Dickson, P. V.; Hamner, J. B.; Sims, T. L., et al. Bevacizumab-induced transient remodeling of the vasculature in neuroblastoma xenografts results in improved delivery and efficacy of systemically administered chemotherapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2007**. 3942–3950.
- <sup>156</sup> Bachelder, R. E.; Crago, A.; Chung, J., et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer research* **2001**. 5736–5740.
- <sup>157</sup> Camp, E. R.; Yang, A.; Liu, W., et al. Roles of nitric oxide synthase inhibition and vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibition on vascular morphology and function in an in vivo model of pancreatic cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2006**. 2628–2633.
- <sup>158</sup> Young, M. R.; Kolesiak, K.; Wright, M. A., et al. Chemoattraction of femoral CD34+ progenitor cells by tumor-derived vascular endothelial cell growth factor. *Clinical & experimental metastasis* **1999**. 881–888.
- <sup>159</sup> Ohm, J. E.; Gabrilovich, D. I.; Sempowski, G. D., et al. VEGF inhibits T-cell development and may contribute to tumor-induced immune suppression. *Blood* **2003**. 4878–4886.
- <sup>160</sup> Fricke, I.; Mirza, N.; Dupont, J., et al. Vascular endothelial growth factor-trap overcomes defects in dendritic cell differentiation but does not improve antigen-specific immune responses. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2007**. 4840–4848.
- <sup>161</sup> Bremnes, R. M.; Camps, C.; Sirera, R. Angiogenesis in non-small cell lung cancer: the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **2006**. 143–158.
- <sup>162</sup> Seto, T.; Higashiyama, M.; Funai, H., et al. Prognostic value of expression of vascular endothelial growth factor and its flt-1 and KDR receptors in stage I non-small-cell lung cancer. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **2006**. 91–96.
- <sup>163</sup> Cohen, M. H.; Gootenberg, J.; Keegan, P., et al. FDA drug approval summary: bevacizumab (Avastin) plus Carboplatin and Paclitaxel as first-line treatment of advanced/metastatic recurrent nonsquamous non-small cell lung cancer. *The oncologist* **2007**. 713–718.
- <sup>164</sup> Patel, J. D.; Socinski, M. A.; Garon, E. B., et al. PointBreak: a randomized phase III study of pemetrexed plus carboplatin and bevacizumab followed by maintenance pemetrexed and bevacizumab versus paclitaxel plus carboplatin and bevacizumab followed by maintenance bevacizumab in patients with stage IIIB or IV nonsquamous non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 4349–4357.
- <sup>165</sup> Garon, E. B.; Ciuleanu, T.-E.; Arrieta, O., et al. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL). *The Lancet* **2014**. 665–673.
- <sup>166</sup> Schiller, J. H.; Larson, T.; Ou, S.-H. I., et al. Efficacy and safety of axitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer: results from a phase II study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 3836–3841.
- <sup>167</sup> Seto, T.; Kato, T.; Nishio, M., et al. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567). *The Lancet Oncology* **2014**. 1236–1244.

- <sup>168</sup> Natale, R. B.; Thongprasert, S.; Greco, F. A., et al. Phase III trial of vandetanib compared with erlotinib in patients with previously treated advanced non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2011**. 1059–1066.
- <sup>169</sup> Lee, J. S.; Hirsh, V.; Park, K., et al. Vandetanib Versus placebo in patients with advanced non-small-cell lung cancer after prior therapy with an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor: a randomized, double-blind phase III trial (ZEPHYR). *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2012**. 1114–1121.
- <sup>170</sup> Boer, R. H. de; Arrieta, Ó.; Yang, C.-H., et al. Vandetanib plus pemetrexed for the second-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: a randomized, double-blind phase III trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2011**. 1067–1074.
- <sup>171</sup> Herbst, R. S.; Sun, Y.; Eberhardt, W. E. E., et al. Vandetanib plus docetaxel versus docetaxel as second-line treatment for patients with advanced non-small-cell lung cancer (ZODIAC). *The Lancet Oncology* **2010**. 619–626.
- <sup>172</sup> Hurwitz, H.; Fehrenbacher, L.; Novotny, W., et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *The New England Journal of Medicine* **2004**. 2335–2342.
- <sup>173</sup> Saltz, L. B.; Clarke, S.; Díaz-Rubio, E., et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2008**. 2013–2019.
- <sup>174</sup> Tabernero, J.; Yoshino, T.; Cohn, A. L., et al. Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE). *The Lancet Oncology* **2015**. 499–508.
- <sup>175</sup> Saif, M. W. Anti-VEGF agents in metastatic colorectal cancer (mCRC): are they all alike? *Cancer management and research* **2013**. 103–115.
- <sup>176</sup> Ohtsu, A.; Shah, M. A.; van Cutsem, E., et al. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2011**. 3968–3976.
- <sup>177</sup> Shen, L.; Li, J.; Xu, J., et al. Bevacizumab plus capecitabine and cisplatin in Chinese patients with inoperable locally advanced or metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer: randomized, double-blind, phase III study (AVATAR study). *Gastric cancer : official journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association* **2015**. 168–176.
- <sup>178</sup> van Cutsem, E.; Haas, S. de; Kang, Y.-K., et al. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a biomarker evaluation from the AVAGAST randomized phase III trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2012**. 2119–2127.
- <sup>179</sup> Wilke, H.; Muro, K.; van Cutsem, E., et al. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW). *The Lancet Oncology* **2014**. 1224–1235.
- <sup>180</sup> Fuchs, C. S.; Tomasek, J.; Yong, C. J., et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD). *The Lancet* **2014**. 31–39.
- <sup>181</sup> Pavlakis, N.; Sjoquist, K. M.; Martin, A. J., et al. Regorafenib for the Treatment of Advanced Gastric Cancer (INTEGRATE): A Multinational Placebo-Controlled Phase II Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2016**. 2728–2735.
- <sup>182</sup> Li, J.; Qin, S.; Xu, J., et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Trial of Apatinib in Patients With Chemotherapy-Refractory Advanced or Metastatic Adenocarcinoma of the Stomach or Gastroesophageal Junction. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2016**. 1448–1454.
- <sup>183</sup> Zielinski, C.; Láng, I.; Inbar, M., et al. Bevacizumab plus paclitaxel versus bevacizumab plus capecitabine as first-line treatment for HER2-negative metastatic breast cancer (TURANDOT). *The Lancet Oncology* **2016**. 1230–1239.
- <sup>184</sup> Miles, D.; Cameron, D.; Bondarenko, I., et al. Bevacizumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel as first-line therapy for HER2-negative metastatic breast cancer (MERiDIAN): A double-blind placebo-controlled randomised phase III trial with prospective biomarker evaluation. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2017**. 146–155.
- <sup>185</sup> Mackey, J. R.; Ramos-Vazquez, M.; Lipatov, O., et al. Primary results of ROSE/TRIO-12, a randomized placebo-controlled phase III trial evaluating the addition of ramucirumab to first-line docetaxel chemotherapy in metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2015**. 141–148.



- <sup>186</sup> Escudier, B.; Bellmunt, J.; Négrier, S., et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa-2a in patients with metastatic renal cell carcinoma (AVOREN): final analysis of overall survival. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2010**. 2144–2150.
- <sup>187</sup> Escudier, B.; Pluzanska, A.; Koralewski, P., et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma. *The Lancet* **2007**. 2103–2111.
- <sup>188</sup> Garcia, J. A.; Hudes, G. R.; Choueiri, T. K., et al. A phase 2, single-arm study of ramucirumab in patients with metastatic renal cell carcinoma with disease progression on or intolerance to tyrosine kinase inhibitor therapy. *Cancer* **2014**. 1647–1655.
- <sup>189</sup> Motzer, R. J.; Hutson, T. E.; Tomczak, P., et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 3584–3590.
- <sup>190</sup> Escudier, B.; Eisen, T.; Stadler, W. M., et al. Sorafenib for treatment of renal cell carcinoma: Final efficacy and safety results of the phase III treatment approaches in renal cancer global evaluation trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 3312–3318.
- <sup>191</sup> Sablin, M. P.; Negrier, S.; Ravaud, A., et al. Sequential sorafenib and sunitinib for renal cell carcinoma. *The Journal of urology* **2009**. 29-34; discussion 34.
- <sup>192</sup> Choueiri, T. K.; Halabi, S.; Sanford, B. L., et al. Cabozantinib Versus Sunitinib As Initial Targeted Therapy for Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma of Poor or Intermediate Risk: The Alliance A031203 CABOSUN Trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2017**. 591–597.
- <sup>193</sup> Iacovelli, R.; Sternberg, C. N.; Porta, C., et al. Inhibition of the VEGF/VEGFR pathway improves survival in advanced kidney cancer: a systematic review and meta-analysis. *Current drug targets* **2015**. 164–170.
- <sup>194</sup> Cao, Y. Multifarious functions of PDGFs and PDGFRs in tumor growth and metastasis. *Trends in molecular medicine* **2013**. 460–473.
- <sup>195</sup> Andrae, J.; Gallini, R.; Betsholtz, C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes & development* **2008**. 1276–1312.
- <sup>196</sup> Pietras, K.; Sjöblom, T.; Rubin, K., et al. PDGF receptors as cancer drug targets. *Cancer cell* **2003**. 439–443.
- <sup>197</sup> Heinrich, M. C.; Corless, C. L.; Duensing, A., et al. PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science (New York, N.Y.)* **2003**. 708–710.
- <sup>198</sup> Clarke, I. D.; Dirks, P. B. A human brain tumor-derived PDGFR-alpha deletion mutant is transforming. *Oncogene* **2003**. 722–733.
- <sup>199</sup> Puputti, M.; Tynninen, O.; Sihto, H., et al. Amplification of KIT, PDGFRA, VEGFR2, and EGFR in gliomas. *Molecular cancer research : MCR* **2006**. 927–934.
- <sup>200</sup> Jechlinger, M.; Sommer, A.; Moriggl, R., et al. Autocrine PDGFR signaling promotes mammary cancer metastasis. *The Journal of clinical investigation* **2006**. 1561–1570.
- <sup>201</sup> Thiery, J. P.; Acloque, H.; Huang, R. Y. J., et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* **2009**. 871–890.
- <sup>202</sup> Heldin, C.-H.; Rubin, K.; Pietras, K., et al. High interstitial fluid pressure - an obstacle in cancer therapy. *Nature reviews. Cancer* **2004**. 806–813.
- <sup>203</sup> Comparison of two doses of imatinib for the treatment of unresectable or metastatic gastrointestinal stromal tumors: a meta-analysis of 1,640 patients. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2010**. 1247–1253.
- <sup>204</sup> Heinrich, M. C.; Maki, R. G.; Corless, C. L., et al. Primary and secondary kinase genotypes correlate with the biological and clinical activity of sunitinib in imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumor. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2008**. 5352–5359.
- <sup>205</sup> Gramza, A. W.; Corless, C. L.; Heinrich, M. C. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2009**. 7510–7518.
- <sup>206</sup> Wagner, A. J.; Kindler, H.; Gelderblom, H., et al. A phase II study of a human anti-PDGFRα monoclonal antibody (olaratumab, IMC-3G3) in previously treated patients with metastatic gastrointestinal stromal tumors. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2017**. 541–546.
- <sup>207</sup> Demetri, G. D.; van Oosterom, A. T.; Garrett, C. R., et al. Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib. *The Lancet* **2006**. 1329–1338.
- <sup>208</sup> Socinski, M. A.; Novello, S.; Brahmer, J. R., et al. Multicenter, phase II trial of sunitinib in previously treated, advanced non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2008**. 650–656.

- <sup>209</sup> Ping, G.; Hui-Min, W.; Wei-Min, W., et al. Sunitinib in pretreated advanced non-small-cell lung carcinoma: a primary result from Asian population. *Medical oncology (Northwood, London, England)* **2011**. 578–583.
- <sup>210</sup> Scagliotti, G. V.; Krzakowski, M.; Szczesna, A., et al. Sunitinib plus erlotinib versus placebo plus erlotinib in patients with previously treated advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2012**. 2070–2078.
- <sup>211</sup> Reck, M.; Kaiser, R.; Mellempgaard, A., et al. Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1). *The Lancet Oncology* **2014**. 143–155.
- <sup>212</sup> Hanna, N. H.; Kaiser, R.; Sullivan, R. N., et al. Nintedanib plus pemetrexed versus placebo plus pemetrexed in patients with relapsed or refractory, advanced non-small cell lung cancer (LUME-Lung 2): A randomized, double-blind, phase III trial. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **2016**. 65–73.
- <sup>213</sup> Gerber, D. E.; Swanson, P.; Lopez-Chavez, A., et al. Phase II study of olaratumab with paclitaxel/carboplatin (P/C) or P/C alone in previously untreated advanced NSCLC. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **2017**. 108–115.
- <sup>214</sup> Gerber, D. E.; Gupta, P.; Dellinger, M. T., et al. Stromal platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  (PDGFR $\alpha$ ) provides a therapeutic target independent of tumor cell PDGFR $\alpha$  expression in lung cancer xenografts. *Molecular Cancer Therapeutics* **2012**. 2473–2482.
- <sup>215</sup> Baselga, J.; Segalla, J. G. M.; Roché, H., et al. Sorafenib in combination with capecitabine: an oral regimen for patients with HER2-negative locally advanced or metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2012**. 1484–1491.
- <sup>216</sup> Moreno-Aspitia, A.; Morton, R. F.; Hillman, D. W., et al. Phase II trial of sorafenib in patients with metastatic breast cancer previously exposed to anthracyclines or taxanes: North Central Cancer Treatment Group and Mayo Clinic Trial N0336. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2009**. 11–15.
- <sup>217</sup> Barrios, C. H.; Liu, M.-C.; Lee, S. C., et al. Phase III randomized trial of sunitinib versus capecitabine in patients with previously treated HER2-negative advanced breast cancer. *Breast cancer research and treatment* **2010**. 121–131.
- <sup>218</sup> Tabernero, J.; Garcia-Carbonero, R.; Cassidy, J., et al. Sorafenib in combination with oxaliplatin, leucovorin, and fluorouracil (modified FOLFOX6) as first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the RESPECT trial. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2013**. 2541–2550.
- <sup>219</sup> Carrato, A.; Swieboda-Sadlej, A.; Staszewska-Skurczynska, M., et al. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus either sunitinib or placebo in metastatic colorectal cancer: a randomized, phase III trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 1341–1347.
- <sup>220</sup> van Cutsem, E.; Prenen, H.; D'Haens, G., et al. A phase I/II, open-label, randomised study of nintedanib plus mFOLFOX6 versus bevacizumab plus mFOLFOX6 in first-line metastatic colorectal cancer patients. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2015**. 2085–2091.
- <sup>221</sup> Boland, P. M.; Fakih, M.; Attwood, K., et al. A phase I/II study of nintedanib and capecitabine in refractory metastatic colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology* **2017**. 759.
- <sup>222</sup> van Cutsem, E.; Yoshino, T.; Lenz, H.-J., et al. gastrointestinal tumours, colorectal Nintedanib plus best supportive care (BSC) versus placebo plus BSC for the treatment of patients (pts) with colorectal cancer (CRC) refractory to standard therapies. *Annals of Oncology* **2016**
- <sup>223</sup> Lenz, H.-J.; Tabernero, J.; Yoshino, T., et al. Nintedanib (N) plus best supportive care (BSC) versus placebo plus BSC for the treatment of patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) refractory to standard therapies. *Journal of Clinical Oncology* **2017**. 671.
- <sup>224</sup> Grothey, A.; van Cutsem, E.; Sobrero, A., et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT). *The Lancet* **2013**. 303–312.
- <sup>225</sup> van Cutsem, E.; Cervantes, A.; Nordlinger, B., et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2014**. iii1-9.
- <sup>226</sup> Bruix, J.; Han, K.-H.; Gores, G., et al. Liver cancer: Approaching a personalized care. *Journal of hepatology* **2015**. S144-56.
- <sup>227</sup> Llovet, J. M.; Ricci, S.; Mazzaferro, V., et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *The New England Journal of Medicine* **2008**. 378–390.
- <sup>228</sup> Cheng, A.-L.; Kang, Y.-K.; Chen, Z., et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma. *The Lancet Oncology* **2009**. 25–34.

- <sup>229</sup> Johnson, P. J.; Qin, S.; Park, J.-W., et al. Brivanib versus sorafenib as first-line therapy in patients with unresectable, advanced hepatocellular carcinoma: results from the randomized phase III BRISK-FL study. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 3517–3524.
- <sup>230</sup> Zhu, A. X.; Park, J. O.; Ryoo, B.-Y., et al. Ramucirumab versus placebo as second-line treatment in patients with advanced hepatocellular carcinoma following first-line therapy with sorafenib (REACH). *The Lancet Oncology* **2015**. 859–870.
- <sup>231</sup> Ravi, S.; Singal, A. K. Regorafenib: an evidence-based review of its potential in patients with advanced liver cancer. *Core evidence* **2014**. 81–87.
- <sup>232</sup> Bruix, J.; Qin, S.; Merle, P., et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE). *The Lancet* **2017**. 56–66.
- <sup>233</sup> Paulsson, J.; Lindh, M. B.; Jarvius, M., et al. Prognostic but not predictive role of platelet-derived growth factor receptors in patients with recurrent glioblastoma. *International journal of cancer* **2011**. 1981–1988.
- <sup>234</sup> Wetmore, C.; Daryani, V. M.; Billups, C. A., et al. Phase II evaluation of sunitinib in the treatment of recurrent or refractory high-grade glioma or ependymoma in children: a children's Oncology Group Study ACNS1021. *Cancer medicine* **2016**. 1416–1424.
- <sup>235</sup> Lombardi, G.; Pambuku, A.; Bellu, L., et al. Effectiveness of antiangiogenic drugs in glioblastoma patients: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Critical reviews in oncology/hematology* **2017**. 94–102.
- <sup>236</sup> Mathew, P.; Thall, P. F.; Bucana, C. D., et al. Platelet-derived growth factor receptor inhibition and chemotherapy for castration-resistant prostate cancer with bone metastases. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2007**. 5816–5824.
- <sup>237</sup> Araujo, J. C.; Trudel, G. C.; Saad, F., et al. Docetaxel and dasatinib or placebo in men with metastatic castration-resistant prostate cancer (READY). *The Lancet Oncology* **2013**. 1307–1316.
- <sup>238</sup> Denduluri, S. K.; Idowu, O.; Wang, Z., et al. Insulin-like growth factor (IGF) signaling in tumorigenesis and the development of cancer drug resistance. *Genes & diseases* **2015**. 13–25.
- <sup>239</sup> Kawamoto, K.; Onodera, H.; Kondo, S., et al. Expression of Insulin-Like Growth Factor-2 Can Predict the Prognosis of Human Colorectal Cancer Patients. *Oncology* **1998**. 242–248.
- <sup>240</sup> Bergmann, U.; Funatomi, H.; Yokoyama, M., et al. Insulin-like growth factor I overexpression in human pancreatic cancer: evidence for autocrine and paracrine roles. *Cancer research* **1995**. 2007–2011.
- <sup>241</sup> Iizuka, N.; Oka, M.; Tamesa, T., et al. Imbalance in expression levels of insulin-like growth factor 2 and H19 transcripts linked to progression of hepatocellular carcinoma. *Anticancer research* **2004**. 4085–4089.
- <sup>242</sup> Fürstenberger, G.; Senn, H.-J. Insulin-like growth factors and cancer. *The Lancet Oncology* **2002**. 298–302.
- <sup>243</sup> Stattin, P. Plasma Insulin-Like Growth Factor-I, Insulin-Like Growth Factor-Binding Proteins, and Prostate Cancer Risk. *Journal of the National Cancer Institute* **2000**. 1910–1917.
- <sup>244</sup> Yu, H.; Spitz, M. R.; Mistry, J., et al. Plasma Levels of Insulin-Like Growth Factor-I and Lung Cancer Risk. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* **1999**. 151–156.
- <sup>245</sup> Barozzi, C.; Ravaioli, M.; D'Errico, A., et al. Relevance of biologic markers in colorectal carcinoma: a comparative study of a broad panel. *Cancer* **2002**. 647–657.
- <sup>246</sup> Hakam, A.; Yeatman, T. J.; Lu, L., et al. Expression of insulin-like growth factor-1 receptor in human colorectal cancer. *Human Pathology* **1999**. 1128–1133.
- <sup>247</sup> Gil-Ad, I.; Shtaf, B.; Luria, D., et al. Insulin-like-growth-factor-I (IGF-I) antagonizes apoptosis induced by serum deficiency and doxorubicin in neuronal cell culture. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society* **1999**. 458–464.
- <sup>248</sup> Robertson, J. F. R.; Ferrero, J.-M.; Bourgeois, H., et al. Ganitumab with either exemestane or fulvestrant for postmenopausal women with advanced, hormone-receptor-positive breast cancer. *The Lancet Oncology* **2013**. 228–235.
- <sup>249</sup> Fuchs, C. S.; Azevedo, S.; Okusaka, T., et al. A phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled trial of ganitumab or placebo in combination with gemcitabine as first-line therapy for metastatic adenocarcinoma of the pancreas: the GAMMA trial. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2015**. 921–927.
- <sup>250</sup> Cohn, A. L.; Taberero, J.; Maurel, J., et al. A randomized, placebo-controlled phase 2 study of ganitumab or conatumumab in combination with FOLFIRI for second-line treatment of mutant KRAS metastatic colorectal cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2013**. 1777–1785.
- <sup>251</sup> Martínez, P.; Sales Fidalgo, P. A.; Felip, E. Ganitumab for the treatment of small-cell lung cancer. *Expert opinion on investigational drugs* **2014**. 1423–1432.

- <sup>252</sup> Langer, C. J.; Novello, S.; Park, K., et al. Randomized, phase III trial of first-line figitumumab in combination with paclitaxel and carboplatin versus paclitaxel and carboplatin alone in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2014**. 2059–2066.
- <sup>253</sup> Scagliotti, G. V.; Bondarenko, I.; Blackhall, F., et al. Randomized, phase III trial of figitumumab in combination with erlotinib versus erlotinib alone in patients with nonadenocarcinoma nonsmall-cell lung cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2015**. 497–504.
- <sup>254</sup> Chen, H. X.; Sharon, E. IGF-1R as an anti-cancer target--trials and tribulations. *Chinese journal of cancer* **2013**. 242–252.
- <sup>255</sup> Leigh, N. B.; Rizvi, N. A.; Lima, L. G. de, et al. Phase 2 Study of Erlotinib in Combination With Linsitinib (OSI-906) or Placebo in Chemotherapy-Naive Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer and Activating Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. *Clinical lung cancer* **2017**. 34-42.e2.
- <sup>256</sup> Wilson, S.; Chia, S. K. IGF-1R inhibition. *The Lancet Oncology* **2013**. 182–183.
- <sup>257</sup> Jassem, J.; Langer, C. J.; Karp, D. D., et al. Randomized, open label, phase III trial of figitumumab in combination with paclitaxel and carboplatin versus paclitaxel and carboplatin in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *Journal of Clinical Oncology* **2010**. 7500.
- <sup>258</sup> Qu, X.; Wu, Z.; Dong, W., et al. Update of IGF-1 receptor inhibitor (ganitumab, dalotuzumab, cixutumumab, teprotumumab and figitumumab) effects on cancer therapy. *Oncotarget* **2017**. 29501–29518.
- <sup>259</sup> King, H.; Aleksic, T.; Haluska, P., et al. Can we unlock the potential of IGF-1R inhibition in cancer therapy? *Cancer treatment reviews* **2014**. 1096–1105.
- <sup>260</sup> Gualberto, A.; Hixon, M. L.; Pollak, M. Reply. *British Journal of Cancer* **2011**. 1467.
- <sup>261</sup> Pollak, M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update. *Nature reviews. Cancer* **2012**. 159–169.
- <sup>262</sup> Schwartz, G. K.; Tap, W. D.; Qin, L.-X., et al. Cixutumumab and temsirolimus for patients with bone and soft-tissue sarcoma: a multicentre, open-label, phase 2 trial. *The Lancet. Oncology* **2013**. 371–382.
- <sup>263</sup> Song, R. X.-D.; Chen, Y.; Zhang, Z., et al. Estrogen utilization of IGF-1-R and EGF-R to signal in breast cancer cells. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* **2010**. 219–230.
- <sup>264</sup> Buck, E.; Eyzaguirre, A.; Rosenfeld-Franklin, M., et al. Feedback mechanisms promote cooperativity for small molecule inhibitors of epidermal and insulin-like growth factor receptors. *Cancer research* **2008**. 8322–8332.
- <sup>265</sup> Vulpetti, A.; Bosotti, R. Sequence and structural analysis of kinase ATP pocket residues. *Farmaco (Societa chimica italiana : 1989)* **2004**. 759–765.
- <sup>266</sup> Wu, P.; Nielsen, T. E.; Clausen, M. H. FDA-approved small-molecule kinase inhibitors. *Trends in pharmacological sciences* **2015**. 422–439.
- <sup>267</sup> Carmi, C.; Mor, M.; Petronini, P. G., et al. Clinical perspectives for irreversible tyrosine kinase inhibitors in cancer. *Biochemical pharmacology* **2012**. 1388–1399.
- <sup>268</sup> Gazdar, A. F. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* **2009**. S24-31.
- <sup>269</sup> Huse, M.; Kuriyan, J. The conformational plasticity of protein kinases. *Cell* **2002**. 275–282.
- <sup>270</sup> Wood, E. R.; Truesdale, A. T.; McDonald, O. B., et al. A unique structure for epidermal growth factor receptor bound to GW572016 (Lapatinib): relationships among protein conformation, inhibitor off-rate, and receptor activity in tumor cells. *Cancer research* **2004**. 6652–6659.
- <sup>271</sup> Fang, Z.; Grütter, C.; Rauh, D. Strategies for the selective regulation of kinases with allosteric modulators: exploiting exclusive structural features. *ACS chemical biology* **2013**. 58–70.
- <sup>272</sup> Zhao, Z.; Wu, H.; Wang, L., et al. Exploration of type II binding mode: A privileged approach for kinase inhibitor focused drug discovery? *ACS chemical biology* **2014**. 1230–1241.
- <sup>273</sup> Park, K.; Tan, E.-H.; O'Byrne, K., et al. Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7). *The Lancet Oncology* **2016**. 577–589.
- <sup>274</sup> Longo, D. L. Tumor heterogeneity and personalized medicine. *The New England Journal of Medicine* **2012**. 956–957.
- <sup>275</sup> Kuwano, M.; Sonoda, K.; Murakami, Y., et al. Overcoming drug resistance to receptor tyrosine kinase inhibitors: Learning from lung cancer. *Pharmacology & therapeutics* **2016**. 97–110.
- <sup>276</sup> Lee, J. K.; Shin, J.-Y.; Kim, S., et al. Primary resistance to epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in patients with non-small-cell lung cancer harboring TKI-sensitive EGFR mutations: an exploratory study. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2013**. 2080–2087.

- <sup>277</sup> Juchum, M.; Günther, M.; Laufer, S. A. Fighting cancer drug resistance: Opportunities and challenges for mutation-specific EGFR inhibitors. *Drug resistance updates : reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy* **2015**. 12–28.
- <sup>278</sup> Takezawa, K.; Pirazzoli, V.; Arcila, M. E., et al. HER2 amplification: a potential mechanism of acquired resistance to EGFR inhibition in EGFR-mutant lung cancers that lack the second-site EGFR T790M mutation. *Cancer discovery* **2012**. 922–933.
- <sup>279</sup> Mazières, J.; Peters, S.; Lepage, B., et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 1997–2003.
- <sup>280</sup> Wang, D. D.; Ma, L.; Wong, M. P., et al. Contribution of EGFR and ErbB-3 Heterodimerization to the EGFR Mutation-Induced Gefitinib- and Erlotinib-Resistance in Non-Small-Cell Lung Carcinoma Treatments. *PLoS one* **2015**. e0128360.
- <sup>281</sup> Chong, C. R.; Jänne, P. A. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer. *Nature medicine* **2013**. 1389–1400.
- <sup>282</sup> Guix, M.; Faber, A. C.; Wang, S. E., et al. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in cancer cells is mediated by loss of IGF-binding proteins. *The Journal of clinical investigation* **2008**. 2609–2619.
- <sup>283</sup> Scartozzi, M.; Mandolesi, A.; Giampieri, R., et al. Insulin-like growth factor 1 expression correlates with clinical outcome in K-RAS wild type colorectal cancer patients treated with cetuximab and irinotecan. *International journal of cancer* **2010**. 1941–1947.
- <sup>284</sup> Li, F.; Zhu, T.; Cao, B., et al. Apatinib enhances antitumour activity of EGFR-TKIs in non-small cell lung cancer with EGFR-TKI resistance. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2017**. 184–192.
- <sup>285</sup> Naumov, G. N.; Nilsson, M. B.; Cascone, T., et al. Combined vascular endothelial growth factor receptor and epidermal growth factor receptor (EGFR) blockade inhibits tumor growth in xenograft models of EGFR inhibitor resistance. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2009**. 3484–3494.
- <sup>286</sup> Bardelli, A.; Corso, S.; Bertotti, A., et al. Amplification of the MET receptor drives resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer. *Cancer discovery* **2013**. 658–673.
- <sup>287</sup> Dienstmann, R.; Dosso, S. de; Felip, E., et al. Drug development to overcome resistance to EGFR inhibitors in lung and colorectal cancer. *Molecular oncology* **2012**. 15–26.
- <sup>288</sup> Pirazzoli, V.; Nebhan, C.; Song, X., et al. Acquired resistance of EGFR-mutant lung adenocarcinomas to afatinib plus cetuximab is associated with activation of mTORC1. *Cell reports* **2014**. 999–1008.
- <sup>289</sup> Sos, M. L.; Koker, M.; Weir, B. A., et al. PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR. *Cancer research* **2009**. 3256–3261.
- <sup>290</sup> Paraiso, K. H. T.; Xiang, Y.; Rebecca, V. W., et al. PTEN loss confers BRAF inhibitor resistance to melanoma cells through the suppression of BIM expression. *Cancer research* **2011**. 2750–2760.
- <sup>291</sup> Burris, H. A. Overcoming acquired resistance to anticancer therapy: focus on the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Cancer chemotherapy and pharmacology* **2013**. 829–842.
- <sup>292</sup> Massarelli, E.; Varella-Garcia, M.; Tang, X., et al. KRAS mutation is an important predictor of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2007**. 2890–2896.
- <sup>293</sup> van Cutsem, E.; Köhne, C.-H.; Láng, I., et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2011**. 2011–2019.
- <sup>294</sup> Prahallad, A.; Sun, C.; Huang, S., et al. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. *Nature* **2012**. 100–103.
- <sup>295</sup> Cell Signaling Technology **2018**
- <sup>296</sup> Davis, M. I.; Hunt, J. P.; Herrgard, S., et al. Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity. *Nature biotechnology* **2011**. 1046–1051.
- <sup>297</sup> Oelze, M.; Mahmoud, K. A.; Sippl, W., et al. Novel 4-anilino- $\alpha$ -carboline derivatives induce cell death in nonadhesive breast cancer cells through inhibition of Brk activity. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics* **2015**. 1052–1055.
- <sup>298</sup> Mahmoud, K. A.; Krug, M.; Wersig, T., et al. Discovery of 4-anilino  $\alpha$ -carbolines as novel Brk inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2014**. 1948–1951.
- <sup>299</sup> Lowinger, t.; Shimazaki, M.; Sato, H., et al. PCT Int. Appl. WO 03/037898 **2003**
- <sup>300</sup> Glushkov, R. G.; Volskova, V. A.; Magidson, O. Y. *Khim. Farm. Zh.* **1967**. 25.

- <sup>301</sup> Showalter, H. D.; Bridges, A. J.; Zhou, H., et al. Tyrosine kinase inhibitors. 16. 6,5,6-tricyclic benzothieno3, 2-dpyrimidines and pyrimido5,4-b- and -4,5-b]indoles as potent inhibitors of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Journal of medicinal chemistry* **1999**. 5464–5474.
- <sup>302</sup> Eger, K.; Lanzner, W.; Rothenhäusler, K. Synthesis of Substituted Indoles and Pyrimido[4,5-b]indoles by Dehydrogenation of Tetrahydroindoles and Tetrahydropyrimidoindoles. *Liebigs Annalen der Chemie* **1993**. 465–470.
- <sup>303</sup> Zhang, Y.-M.; Razler, T.; Jackson, P. F. Synthesis of pyrimido[4,5-b]indoles and benzo[4,5]furo[2,3-d]pyrimidines via palladium-catalyzed intramolecular arylation. *Tetrahedron Letters* **2002**. 8235–8239.
- <sup>304</sup> Kumaresan, M.; Selvakumar, K.; Sami, P. Synthesis of pyrimido [4, 5-b] indoles using heteropoly-11-molybdo-1-vanadophosphoric acid supported on montmorillonite K10 clay as catalyst. *Materials Today: Proceedings* **2017**. 12437–12447.
- <sup>305</sup> Dotzauer, B.; Troschütz, R. Synthesis of Medicinally Interesting 2,4-Diamino-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ols via Extension of the Nenitzescu Reaction. *Synlett* **2004**. 1039–1043.
- <sup>306</sup> Dotzauer, B.; Grünert, R.; Bednarski, P. J., et al. 2,4-Diamino-9H-pyrimido4,5-b]indol-5-ols: synthesis, in vitro cytotoxic activity, and QSAR investigations. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2006**. 7282–7292.
- <sup>307</sup> Borovik, V. P.; Shkurko, O. P. Synthesis of functional 2-substituted 4-phenyl-9H-pyrimido[4,5-b]indoles. *Russian Chemical Bulletin* **2002**. 2129–2133.
- <sup>308</sup> Troschütz, R.; Anders, E. Michael-Additionen von 6-Aminopyrimidin-4-onen an Enone. *Archiv der Pharmazie* **1992**. 341–348.
- <sup>309</sup> HIRAYAMA, T.; KAMADA, M.; TSURUMI, H., et al. A novel synthesis of pyrimidines. I. Cyclization of N-cyano-cyanoaceto derivatives. *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* **1976**. 26–35.
- <sup>310</sup> Dewar, J. H.; Shaw, G. 309. Purines, pyrimidines and imidazoles. Part XXI. Some uracils and isocytosines. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1965**. 1642.
- <sup>311</sup> Pan, L.; Jiang, Y.; Liu, Z., et al. Synthesis and evaluation of novel monosubstituted sulfonylurea derivatives as antituberculosis agents. *European journal of medicinal chemistry* **2012**. 18–26.
- <sup>312</sup> Barlaam, Bernard Christophe; Ducray, Richard; Kettle, Jason Grant. Diaminopyrimidine derivatives as EphB4 and EphA2 inhibitors and their preparation, pharmaceutical compositions and use in the treatment of proliferative diseases. **2009**
- <sup>313</sup> Liu, G.; Xu, J.; Park, K. C., et al. ChemInform Abstract. *ChemInform* **2011**. no-no.
- <sup>314</sup> Ouwerkerk, N.; Boom, J. v.; Lugtenburg, J., et al. Synthesis of [1',2',5',2'-13C4]-2'-Deoxy-D-adenosine by a Chemoenzymatic Strategy to Enable Labelling of Any of the 215 Carbon-13 and Nitrogen-15 Isotopomers. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**. 2356.
- <sup>315</sup> Breault, G. A.; Comita-Prevoir, J.; Eyermann, C. J., et al. Exploring 8-benzyl pteridine-6,7-diones as inhibitors of glutamate racemase (Murl) in gram-positive bacteria. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2008**. 6100–6103.
- <sup>316</sup> Nguyen, H. N.; Bregman, H.; Buchanan, J. L., et al. Discovery and optimization of aminopyrimidinones as potent and state-dependent Nav1.7 antagonists. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2012**. 1055–1060.
- <sup>317</sup> Allen, G. R.; Pidacks, C.; Weiss, M. J. The Mitomycin Antibiotics. Synthetic Studies. XIV. 1 The Nenitzescu Indole Synthesis. Formation of Isomeric Indoles and Reaction Mechanism. *Journal of the American Chemical Society* **1966**. 2536–2544.
- <sup>318</sup> Bernier, J. L.; Henichart, J. P.; Vaccher, C., et al. Condensation of p-benzoquinone with 4-cyano- and 4-nitroanilines. An extension of the Nenitzescu reaction. *The Journal of Organic Chemistry* **1980**. 1493–1496.
- <sup>319</sup> Kuckländer, U. Beobachtungen zum mechanismus der Nenitzescu-Reaktion. *Tetrahedron* **1972**. 5251–5259.
- <sup>320</sup> Teuber, H.-J.; Thaler, G. Reaktionen mit Nitrosodisulfonat, XVI. 3-Carbäthoxy-indolchinone. *Chemische Berichte* **1958**. 2253–2270.
- <sup>321</sup> Xie, Y.-S.; Vijaykumar, B.; Jang, K., et al. One-pot conversion of phenols to anilines via Smiles rearrangement. *Tetrahedron Letters* **2013**. 5151–5154.
- <sup>322</sup> Neises, B.; Steglich, W. Einfaches Verfahren zur Veresterung von Carbonsäuren. *Angewandte Chemie* **1978**. 556–557.
- <sup>323</sup> Vadola, P. A.; Sames, D. Catalytic coupling of arene C-H bonds and alkynes for the synthesis of coumarins: substrate scope and application to the development of neuroimaging agents. *The Journal of organic chemistry* **2012**. 7804–7814.
- <sup>324</sup> Burja, B.; Kočevár, M.; Polanc, S. A simple approach to pyrazol-3-ones via diazenes. *Tetrahedron* **2009**. 8690–8696.
- <sup>325</sup> Doebner, O. Ueber die der Sorbinsäure homologen, ungesättigten Säuren mit zwei Doppelbindungen. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1902**. 1136–1147.

- <sup>326</sup> Xu, Y.-Y.; Li, S.-N.; Yu, G.-J., et al. Discovery of novel 4-anilinoquinazoline derivatives as potent inhibitors of epidermal growth factor receptor with antitumor activity. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2013**. 6084–6091.
- <sup>327</sup> Li, L.; Zhao, P.; Hu, J., et al. Synthesis, in vitro and in vivo antitumor activity of scopoletin-cinnamic acid hybrids. *European journal of medicinal chemistry* **2015**. 300–307.
- <sup>328</sup> Höfle, G.; Steglich, W.; Vorbrüggen, H. 4-Dialkylaminopyridines as Highly Active Acylation Catalysts. [New synthetic method (25)]. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1978**. 569–583.
- <sup>329</sup> Ward, R. A.; Anderton, M. J.; Ashton, S., et al. Structure- and reactivity-based development of covalent inhibitors of the activating and gatekeeper mutant forms of the epidermal growth factor receptor (EGFR). *Journal of medicinal chemistry* **2013**. 7025–7048.
- <sup>330</sup> Mok, T. S.; Wu, Y.-L.; Ahn, M.-J., et al. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine* **2017**. 629–640.
- <sup>331</sup> Sequist, L. V.; Yang, J. C.-H.; Yamamoto, N., et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2013**. 3327–3334.
- <sup>332</sup> Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic Chemistry* **2013**
- <sup>333</sup> Chen, S.; Graceffa, R. F.; Boezio, A. A. Direct, Regioselective N-Alkylation of 1,3-Azoles. *Organic letters* **2016**. 16–19.
- <sup>334</sup> Toyota, A.; Katagiri, N.; Kaneko, C. The Alkylation of 2-Amino-6-chloropurine with Alcohols by Mitsunobu Reaction for a Synthesis of Carbocyclic Guanosine Analogs. *HETEROCYCLES* **1993**. 1625.
- <sup>335</sup> Harnden, M. R.; Jarvest, R. L. An improved synthesis of the antiviral acyclonucleoside 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanine. *Tetrahedron Letters* **1985**. 4265–4268.
- <sup>336</sup> Boucherle, B.; Bertrand, J.; Maurin, B., et al. A new 9-alkyladenine-cyclic methylglyoxal diadduct activates wt- and F508del-cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in vitro and in vivo. *European journal of medicinal chemistry* **2014**. 455–465.
- <sup>337</sup> Dejmek, M.; Hřebabecký, H.; Dračínský, M., et al. Synthesis of Novel Carbocyclic Nucleoside Analogues Derived from 2-(Hydroxymethyl)bicyclo[2.2.1]heptane. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* **2007**. 1523–1544.
- <sup>338</sup> Timo Heinrich, Wolfgang Staehle, Hartmut Greiner, Andree Blaukat. Neuartige Cyclobutyl-Verbindungen als Kinase-Inhibitoren **2007**
- <sup>339</sup> Becker, H. G. O.; Beckert, R. *Organikum* **2004**
- <sup>340</sup> Arcari, J. T.; Beebe, J. S.; Berliner, M. A., et al. Discovery and synthesis of novel 4-aminopyrrolopyrimidine Tie-2 kinase inhibitors for the treatment of solid tumors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2013**. 3059–3063.
- <sup>341</sup> Moreau, C.; Wagner, G. K.; Weber, K., et al. Structural determinants for N1/N7 cyclization of nicotinamide hypoxanthine 5'-dinucleotide (NHD+) derivatives by ADP-ribosyl cyclase from *aplysia californica*: Ca<sup>2+</sup>-mobilizing activity of 8-substituted cyclic inosine 5'-diphosphoribose analogues in T-lymphocytes. *Journal of medicinal chemistry* **2006**. 5162–5176.
- <sup>342</sup> Seela, F.; Xu, K.; Chittepu, P. Fluorinated Pyrrolo[2,3-d]pyrimidine Nucleosides. *Synthesis* **2006**. 2005–2012.
- <sup>343</sup> Davoll, J. 26. Pyrrolo[2,3-d]pyrimidines. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1960**. 131.
- <sup>344</sup> Kamath, V. P.; Juarez-Brambila, J. J.; Morris, C. B., et al. Development of a Practical Synthesis of a Purine Nucleoside Phosphorylase Inhibitor. *Organic Process Research & Development* **2009**. 928–932.
- <sup>345</sup> Haraguchi, K.; Horii, C.; Yoshimura, Y., et al. An access to the  $\beta$ -anomer of 4'-thio-C-ribonucleosides: hydroboration of 1-C-aryl- or 1-C-heteroaryl-4-thiofuranoid glycols and its regiochemical outcome. *The Journal of organic chemistry* **2011**. 8658–8669.
- <sup>346</sup> Biswas, S.; Batra, S. One-Step Synthesis of 2-Amino-5H-pyrimido[5,4-b]indoles, Substituted 2-(1,3,5-triazin-2-yl)-1H-indoles, and 1,3,5-Triazines from Aldehydes. *European Journal of Organic Chemistry* **2012**. 3492–3499.
- <sup>347</sup> Hassan, P.; Fergusson, D.; Grant, K. M., et al. The CRK3 protein kinase is essential for cell cycle progression of *Leishmania mexicana*. *Molecular and biochemical parasitology* **2001**. 189–198.
- <sup>348</sup> Krystof, V.; McNae, I. W.; Walkinshaw, M. D., et al. Antiproliferative activity of olomoucine II, a novel 2,6,9-trisubstituted purine cyclin-dependent kinase inhibitor. *Cellular and molecular life sciences : CMLS* **2005**. 1763–1771.
- <sup>349</sup> NCI Wiki. <https://wiki.nci.nih.gov/display/NCIDTPdata/Molecular+Target+Data>
- <sup>350</sup> NCI. [https://dtp.cancer.gov/discovery\\_development/nci-60/methodology.htm](https://dtp.cancer.gov/discovery_development/nci-60/methodology.htm)
- <sup>351</sup> Greulich, H.; Chen, T.-H.; Feng, W., et al. Oncogenic transformation by inhibitor-sensitive and -resistant EGFR mutants. *PLoS medicine* **2005**. e313.

- <sup>352</sup> Jiang, J.; Greulich, H.; Jänne, P. A., et al. Epidermal growth factor-independent transformation of Ba/F3 cells with cancer-derived epidermal growth factor receptor mutants induces gefitinib-sensitive cell cycle progression. *Cancer research* **2005**. 8968–8974.
- <sup>353</sup> Yun, C.-H.; Boggon, T. J.; Li, Y., et al. Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity. *Cancer cell* **2007**. 217–227.
- <sup>354</sup> Wang, Z.; Longo, P. A.; Tarrant, M. K., et al. Mechanistic insights into the activation of oncogenic forms of EGF receptor. *Nature structural & molecular biology* **2011**. 1388–1393.
- <sup>355</sup> Brewer, M. R.; Yun, C.-H.; Laia, D., et al. Correction for Brewer et al., Mechanism for activation of mutated epidermal growth factor receptors in lung cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2013**. 3595–3604.
- <sup>356</sup> Bailey, R.; Kris, M.; Wolf, M., et al. O-242 Gefitinib (? *Lung Cancer* **2003**. S71.
- <sup>357</sup> Dawood, S.; Broglio, K.; Buzdar, A. U., et al. Prognosis of women with metastatic breast cancer by HER2 status and trastuzumab treatment: an institutional-based review. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2010**. 92–98.
- <sup>358</sup> Reddy, K. B. Triple-negative breast cancers: an updated review on treatment options. *Current oncology (Toronto, Ont.)* **2011**. e173-9.
- <sup>359</sup> Rakha, E. A.; El-Sayed, M. E.; Green, A. R., et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* **2007**. 25–32.
- <sup>360</sup> Massarweh, S.; Schiff, R. Unraveling the mechanisms of endocrine resistance in breast cancer: new therapeutic opportunities. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2007**. 1950–1954.
- <sup>361</sup> Dua, R.; Zhang, J.; Nhonthachit, P., et al. EGFR over-expression and activation in high HER2, ER negative breast cancer cell line induces trastuzumab resistance. *Breast cancer research and treatment* **2010**. 685–697.
- <sup>362</sup> Bose, R.; Kavuri, S. M.; Searleman, A. C., et al. Activating HER2 mutations in HER2 gene amplification negative breast cancer. *Cancer discovery* **2013**. 224–237.
- <sup>363</sup> Kim, M. A.; Lee, H. S.; Lee, H. E., et al. EGFR in gastric carcinomas: prognostic significance of protein overexpression and high gene copy number. *Histopathology* **2008**. 738–746.
- <sup>364</sup> Matsubara, J.; Yamada, Y.; Hirashima, Y., et al. Impact of insulin-like growth factor type 1 receptor, epidermal growth factor receptor, and HER2 expressions on outcomes of patients with gastric cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2008**. 3022–3029.
- <sup>365</sup> Galizia, G.; Lieto, E.; Orditura, M., et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) expression is associated with a worse prognosis in gastric cancer patients undergoing curative surgery. *World journal of surgery* **2007**. 1458–1468.
- <sup>366</sup> Lee, J.; van Hummelen, P.; Go, C., et al. High-throughput mutation profiling identifies frequent somatic mutations in advanced gastric adenocarcinoma. *PLoS one* **2012**. e38892.
- <sup>367</sup> Gravalos, C.; Jimeno, A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2008**. 1523–1529.
- <sup>368</sup> Jørgensen, J. T.; Hersom, M. HER2 as a Prognostic Marker in Gastric Cancer - A Systematic Analysis of Data from the Literature. *Journal of Cancer* **2012**. 137–144.
- <sup>369</sup> Abrahao-Machado, L. F.; Scapulatempo-Neto, C. HER2 testing in gastric cancer: An update. *World journal of gastroenterology* **2016**. 4619–4625.
- <sup>370</sup> Barber, T. D.; Vogelstein, B.; Kinzler, K. W., et al. Somatic mutations of EGFR in colorectal cancers and glioblastomas. *The New England Journal of Medicine* **2004**. 2883.
- <sup>371</sup> Spano, J.-P.; Lagorce, C.; Atlan, D., et al. Impact of EGFR expression on colorectal cancer patient prognosis and survival. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2005**. 102–108.
- <sup>372</sup> Shia, J.; Klimstra, D. S.; Li, A. R., et al. Epidermal growth factor receptor expression and gene amplification in colorectal carcinoma: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridization study. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* **2005**. 1350–1356.
- <sup>373</sup> McKay, J. A.; Murray, L. J.; Curran, S., et al. Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2002**. 2258–2264.
- <sup>374</sup> Nicholson, R.; Gee, J.; Harper, M. EGFR and cancer prognosis. *European Journal of Cancer* **2001**. 9–15.
- <sup>375</sup> Therkildsen, C.; Bergmann, T. K.; Henrichsen-Schnack, T., et al. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)* **2014**. 852–864.



- <sup>376</sup> Grandis, J. R.; Tweardy, D. J. Elevated levels of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer research* **1993**. 3579–3584.
- <sup>377</sup> Bei, R.; Pompa, G.; Vitolo, D., et al. Co-localization of multiple ErbB receptors in stratified epithelium of oral squamous cell carcinoma. *The Journal of pathology* **2001**. 343–348.
- <sup>378</sup> Du, B.; Altorki, N. K.; Kopelovich, L., et al. Tobacco smoke stimulates the transcription of amphiregulin in human oral epithelial cells: evidence of a cyclic AMP-responsive element binding protein-dependent mechanism. *Cancer research* **2005**. 5982–5988.
- <sup>379</sup> Ueda, S.; Ogata, S.; Tsuda, H., et al. The correlation between cytoplasmic overexpression of epidermal growth factor receptor and tumor aggressiveness: poor prognosis in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Pancreas* **2004**. e1-8.
- <sup>380</sup> Coscia, L.; Causa, P.; Giuliani, E., et al. Pharmacological properties of new neuroleptic compounds. *Arzneimittel-Forschung* **1975**. 1436–1442.
- <sup>381</sup> Lee, J.; Jang, K.-T.; Ki, C.-S., et al. Impact of epidermal growth factor receptor (EGFR) kinase mutations, EGFR gene amplifications, and KRAS mutations on survival of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* **2007**. 1561–1569.
- <sup>382</sup> Hatanpaa, K. J.; Burma, S.; Zhao, D., et al. Epidermal Growth Factor Receptor in Glioma. *Neoplasia* **2010**. 675–684.
- <sup>383</sup> Wong, A. J.; Ruppert, J. M.; Bigner, S. H., et al. Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1992**. 2965–2969.
- <sup>384</sup> Chakravarti, A.; Chakladar, A.; Delaney, M. A., et al. The epidermal growth factor receptor pathway mediates resistance to sequential administration of radiation and chemotherapy in primary human glioblastoma cells in a RAS-dependent manner. *Cancer research* **2002**. 4307–4315.
- <sup>385</sup> Szerlip, N. J.; Pedraza, A.; Chakravarty, D., et al. Intratumoral heterogeneity of receptor tyrosine kinases EGFR and PDGFRA amplification in glioblastoma defines subpopulations with distinct growth factor response. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2012**. 3041–3046.
- <sup>386</sup> Kadota, K.; Huang, C.-L.; Liu, D., et al. The clinical significance of lymphangiogenesis and angiogenesis in non-small cell lung cancer patients. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2008**. 1057–1067.
- <sup>387</sup> Farhat, F. S.; Tfayli, A.; Fakhruddin, N., et al. Expression, prognostic and predictive impact of VEGF and bFGF in non-small cell lung cancer. *Critical reviews in oncology/hematology* **2012**. 149–160.
- <sup>388</sup> Zhan, P.; Wang, J.; Lv, X.-j., et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in patients with lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* **2009**. 1094–1103.
- <sup>389</sup> Ren, W.; Mi, D.; Yang, K., et al. The expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and its clinical significance in lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Swiss medical weekly* **2013**. w13855.
- <sup>390</sup> Chatterjee, S.; Heukamp, L. C.; Siobal, M., et al. Tumor VEGF:VEGFR2 autocrine feed-forward loop triggers angiogenesis in lung cancer. *The Journal of clinical investigation* **2013**. 1732–1740.
- <sup>391</sup> Jantus-Lewintre, E.; Sanmartín, E.; Sirera, R., et al. Combined VEGF-A and VEGFR-2 concentrations in plasma: diagnostic and prognostic implications in patients with advanced NSCLC. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **2011**. 326–331.
- <sup>392</sup> Brattström, D.; Bergqvist, M.; Hesselius, P., et al. Elevated preoperative serum levels of angiogenic cytokines correlate to larger primary tumours and poorer survival in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* **2002**. 57–63.
- <sup>393</sup> Hegde, P. S.; Jubb, A. M.; Chen, D., et al. Predictive impact of circulating vascular endothelial growth factor in four phase III trials evaluating bevacizumab. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2013**. 929–937.
- <sup>394</sup> Kilvaer, T. K.; Paulsen, E.-E.; Hald, S. M., et al. Lymphangiogenic Markers and Their Impact on Nodal Metastasis and Survival in Non-Small Cell Lung Cancer--A Structured Review with Meta-Analysis. *PLoS one* **2015**. e0132481.
- <sup>395</sup> Wang, Y.; Yao, X.; Ge, J., et al. Can vascular endothelial growth factor and microvessel density be used as prognostic biomarkers for colorectal cancer? A systematic review and meta-analysis. *TheScientificWorldJournal* **2014**. 102736.
- <sup>396</sup> Saad, R. S.; Liu, Y. L.; Nathan, G., et al. Endoglin (CD105) and vascular endothelial growth factor as prognostic markers in colorectal cancer. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* **2004**. 197–203.

- <sup>397</sup> Thiele, W.; Sleeman, J. P. Tumor-induced lymphangiogenesis: a target for cancer therapy? *Journal of biotechnology* **2006**. 224–241.
- <sup>398</sup> Cascinu, S.; Staccioli, M. P.; Gasparini, G., et al. Expression of vascular endothelial growth factor can predict event-free survival in stage II colon cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2000**. 2803–2807.
- <sup>399</sup> Vita, F. de; Orditura, M.; Lieto, E., et al. Elevated perioperative serum vascular endothelial growth factor levels in patients with colon carcinoma. *Cancer* **2004**. 270–278.
- <sup>400</sup> Ioannou, M.; Paraskeva, E.; Baxevanidou, K., et al. HIF-1 $\alpha$  in colorectal carcinoma: review of the literature. *Journal of B.U.ON. : official journal of the Balkan Union of Oncology* **2015**. 680–689.
- <sup>401</sup> Cressey, R.; Wattananupong, O.; Lertprasertsuke, N., et al. Alteration of protein expression pattern of vascular endothelial growth factor (VEGF) from soluble to cell-associated isoform during tumourigenesis. *BMC cancer* **2005**. 128.
- <sup>402</sup> Maeda, K.; Chung, Y.-s.; Ogawa, Y., et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma. *Cancer* **1996**. 858–863.
- <sup>403</sup> Fondevila, C.; Metges, J. P.; Fuster, J., et al. p53 and VEGF expression are independent predictors of tumour recurrence and survival following curative resection of gastric cancer. *British journal of cancer* **2004**. 206–215.
- <sup>404</sup> Karayiannakis, A. J.; Syrigos, K. N.; Polychronidis, A., et al. Circulating VEGF levels in the serum of gastric cancer patients: correlation with pathological variables, patient survival, and tumor surgery. *Annals of surgery* **2002**. 37–42.
- <sup>405</sup> Vidal, O.; Metges, J.-P.; Elizalde, I., et al. High preoperative serum vascular endothelial growth factor levels predict poor clinical outcome after curative resection of gastric cancer. *The British journal of surgery* **2009**. 1443–1451.
- <sup>406</sup> Chanana, P.; Pandey, A. K.; Yadav, B. S., et al. Significance of serum vascular endothelial growth factor and cancer antigen 15.3 in patients with triple negative breast cancer. *Journal of Radiotherapy in Practice* **2014**. 60–67.
- <sup>407</sup> Linderholm, B. K.; Hellborg, H.; Johansson, U., et al. Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2009**. 1639–1646.
- <sup>408</sup> Mohammed, R. A. A.; Ellis, I. O.; Mahmmod, A. M., et al. Lymphatic and blood vessels in basal and triple-negative breast cancers: characteristics and prognostic significance. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* **2011**. 774–785.
- <sup>409</sup> Liu, H.-T.; Ma, R.; Yang, Q.-F., et al. Lymphangiogenic characteristics of triple negativity in node-negative breast cancer. *International journal of surgical pathology* **2009**. 426–431.
- <sup>410</sup> Foekens, J. A.; Peters, H. A.; Grebenchtchikov, N., et al. High tumor levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to systemic therapy in advanced breast cancer. *Cancer research* **2001**. 5407–5414.
- <sup>411</sup> Bos, R.; Zhong, H.; Hanrahan, C. F., et al. Levels of Hypoxia-Inducible Factor-1 During Breast Carcinogenesis. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* **2001**. 309–314.
- <sup>412</sup> Cheng, L.; Zhang, S.; MacLennan, G. T., et al. Molecular and cytogenetic insights into the pathogenesis, classification, differential diagnosis, and prognosis of renal epithelial neoplasms. *Human Pathology* **2009**. 10–29.
- <sup>413</sup> Kaelin, W. G. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nature reviews. Cancer* **2002**. 673–682.
- <sup>414</sup> Koul, H.; Huh, J.-S.; Rove, K. O., et al. Molecular aspects of renal cell carcinoma: a review. *American journal of cancer research* **2011**. 240–254.
- <sup>415</sup> JACOBSEN, J. A.; RASMUSON, T.; GRANKVIST, K., et al. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AS PROGNOSTIC FACTOR IN RENAL CELL CARCINOMA. *Journal of Urology* **2000**. 343–347.
- <sup>416</sup> Vaupel, P.; Mayer, A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome. *Cancer metastasis reviews* **2007**. 225–239.
- <sup>417</sup> Hirota, S.; Ohashi, A.; Nishida, T., et al. Gain-of-function mutations of platelet-derived growth factor receptor  $\alpha$  gene in gastrointestinal stromal tumors. *Gastroenterology* **2003**. 660–667.
- <sup>418</sup> Wozniak, A.; Rutkowski, P.; Piskorz, A., et al. Prognostic value of KIT/PDGFR $\alpha$  mutations in gastrointestinal stromal tumours (GIST): Polish Clinical GIST Registry experience. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **2012**. 353–360.
- <sup>419</sup> Andersson, J.; Bümming, P.; Meis-Kindblom, J. M., et al. Gastrointestinal stromal tumors with KIT exon 11 deletions are associated with poor prognosis. *Gastroenterology* **2006**. 1573–1581.

- <sup>420</sup> Miettinen, M.; Sobin, L. H.; Lasota, J. Gastrointestinal stromal tumors of the stomach: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 1765 cases with long-term follow-up. *The American journal of surgical pathology* **2005**. 52–68.
- <sup>421</sup> Lasota, J.; Dansonka-Mieszkowska, A.; Sobin, L. H., et al. A great majority of GISTs with PDGFRA mutations represent gastric tumors of low or no malignant potential. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* **2004**. 874–883.
- <sup>422</sup> Heinrich, M. C.; Owzar, K.; Corless, C. L., et al. Correlation of kinase genotype and clinical outcome in the North American Intergroup Phase III Trial of imatinib mesylate for treatment of advanced gastrointestinal stromal tumor: CALGB 150105 Study by Cancer and Leukemia Group B and Southwest Oncology Group. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **2008**. 5360–5367.
- <sup>423</sup> Antoniades, H. N.; Galanopoulos, T.; Neville-Golden, J., et al. Malignant epithelial cells in primary human lung carcinomas coexpress in vivo platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF receptor mRNAs and their protein products. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1992**. 3942–3946.
- <sup>424</sup> Donnem, T.; Al-Saad, S.; Al-Shibli, K., et al. Prognostic impact of platelet-derived growth factors in non-small cell lung cancer tumor and stromal cells. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* **2008**. 963–970.
- <sup>425</sup> Tian, Y.; Chu, Q.; Chen, Y. Progress of platelet derived grow factor family in non-small cell lung cancer. *Zhongguo fei ai za zhi = Chinese journal of lung cancer* **2014**. 42–48.
- <sup>426</sup> Bhardwaj, B.; Klassen, J.; Cossette, N., et al. Localization of platelet-derived growth factor beta receptor expression in the periepithelial stroma of human breast carcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **1996**. 773–782.
- <sup>427</sup> Coltrera, M. D.; Wang, J.; Porter, P. L., et al. Expression of platelet-derived growth factor B-chain and the platelet-derived growth factor receptor beta subunit in human breast tissue and breast carcinoma. *Cancer research* **1995**. 2703–2708.
- <sup>428</sup> Carvalho, I.; Milanezi, F.; Martins, A., et al. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in breast cancer is associated with tumour progression. *Breast cancer research : BCR* **2005**. R788-95.
- <sup>429</sup> Weigel, M. T.; Dahmke, L.; Schem, C., et al. In vitro effects of imatinib mesylate on radiosensitivity and chemosensitivity of breast cancer cells. *BMC cancer* **2010**. 412.
- <sup>430</sup> Lindmark, G.; Sundberg, C.; Glimelius, B., et al. Stromal expression of platelet-derived growth factor beta-receptor and platelet-derived growth factor B-chain in colorectal cancer. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* **1993**. 682–689.
- <sup>431</sup> Wehler, T.; Frerichs, K.; Graf, C., et al. PDGFRA/ $\beta$  expression correlates with the metastatic behavior of human colorectal cancer. *Oncology Reports* **2008**
- <sup>432</sup> Steller, E. J.; Raats, D. A.; Koster, J., et al. PDGFRB Promotes Liver Metastasis Formation of Mesenchymal-Like Colorectal Tumor Cells. *Neoplasia* **2013**. 204-IN30.
- <sup>433</sup> Gotzmann, J.; Fischer, A. N. M.; Zojer, M., et al. A crucial function of PDGF in TGF-beta-mediated cancer progression of hepatocytes. *Oncogene* **2006**. 3170–3185.
- <sup>434</sup> Chu, J. S.; Ge, F. J.; Zhang, B., et al. Expression and prognostic value of VEGFR-2, PDGFR- $\beta$ , and c-Met in advanced hepatocellular carcinoma. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR* **2013**. 16.
- <sup>435</sup> Fischer, A. N. M.; Fuchs, E.; Mikula, M., et al. PDGF essentially links TGF-beta signaling to nuclear beta-catenin accumulation in hepatocellular carcinoma progression. *Oncogene* **2007**. 3395–3405.
- <sup>436</sup> Martinho, O.; Longatto-Filho, A.; Lambros, M. B. K., et al. Expression, mutation and copy number analysis of platelet-derived growth factor receptor A (PDGFRA) and its ligand PDGFA in gliomas. *British journal of cancer* **2009**. 973–982.
- <sup>437</sup> Lokker, N. A.; Sullivan, C. M.; Hollenbach, S. J., et al. Platelet-derived growth factor (PDGF) autocrine signaling regulates survival and mitogenic pathways in glioblastoma cells: evidence that the novel PDGF-C and PDGF-D ligands may play a role in the development of brain tumors. *Cancer research* **2002**. 3729–3735.
- <sup>438</sup> Hermanson, M.; Funa, K.; Hartman, M., et al. Platelet-derived growth factor and its receptors in human glioma tissue: expression of messenger RNA and protein suggests the presence of autocrine and paracrine loops. *Cancer research* **1992**. 3213–3219.
- <sup>439</sup> Guha, A.; Dashner, K.; Mc Black, P. L., et al. Expression of PDGF and PDGF receptors in human astrocytoma operation specimens supports the existence of an autocrine loop. *International Journal of Cancer* **1995**. 168–173.

- <sup>440</sup> Maxwell, M.; Naber, S. P.; Wolfe, H. J., et al. Coexpression of platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF-receptor genes by primary human astrocytomas may contribute to their development and maintenance. *The Journal of clinical investigation* **1990**. 131–140.
- <sup>441</sup> Plate, K. H.; Breier, G.; Farrell, C. L., et al. Platelet-derived growth factor receptor-beta is induced during tumor development and upregulated during tumor progression in endothelial cells in human gliomas. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* **1992**. 529–534.
- <sup>442</sup> Hesselager, G.; Uhrbom, L.; Westermarck, B., et al. Complementary effects of platelet-derived growth factor autocrine stimulation and p53 or Ink4a-Arf deletion in a mouse glioma model. *Cancer research* **2003**. 4305–4309.
- <sup>443</sup> Tchougounova, E.; Kastemar, M.; Bråsäter, D., et al. Loss of Arf causes tumor progression of PDGFB-induced oligodendroglioma. *Oncogene* **2007**. 6289–6296.
- <sup>444</sup> Calzolari, F.; Appolloni, I.; Tutucci, E., et al. Tumor Progression and Oncogene Addiction in a PDGF-B-Induced Model of Gliomagenesis. *Neoplasia* **2008**. 1373-IN10.
- <sup>445</sup> Paugh, B. S.; Zhu, X.; Qu, C., et al. Novel oncogenic PDGFRA mutations in pediatric high-grade gliomas. *Cancer research* **2013**. 6219–6229.
- <sup>446</sup> Ko, Y. J.; Small, E. J.; Kabbinar, F., et al. A multi-institutional phase ii study of SU101, a platelet-derived growth factor receptor inhibitor, for patients with hormone-refractory prostate cancer. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **2001**. 800–805.
- <sup>447</sup> Singh, D.; Febbo, P. G.; Ross, K., et al. Gene expression correlates of clinical prostate cancer behavior. *Cancer cell* **2002**. 203–209.
- <sup>448</sup> Ustach, C. V.; Huang, W.; Conley-LaComb, M. K., et al. A novel signaling axis of matriptase/PDGF-D/ $\beta$ -PDGFR in human prostate cancer. *Cancer research* **2010**. 9631–9640.
- <sup>449</sup> Kong, D.; Banerjee, S.; Ahmad, A., et al. Epithelial to mesenchymal transition is mechanistically linked with stem cell signatures in prostate cancer cells. *PloS one* **2010**. e12445.
- <sup>450</sup> Huang, W.; Fridman, Y.; Bonfil, R. D., et al. A novel function for platelet-derived growth factor D: induction of osteoclastic differentiation for intrasosseous tumor growth. *Oncogene* **2012**. 4527–4535.
- <sup>451</sup> Peled, N.; Wynes, M. W.; Ikeda, N., et al. Insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) as a biomarker for resistance to the tyrosine kinase inhibitor gefitinib in non-small cell lung cancer. *Cellular oncology (Dordrecht)* **2013**. 277–288.
- <sup>452</sup> Murakami, A.; Takahashi, F.; Nurwidya, F., et al. Hypoxia increases gefitinib-resistant lung cancer stem cells through the activation of insulin-like growth factor 1 receptor. *PloS one* **2014**. e86459.
- <sup>453</sup> Suda, K.; Mizuuchi, H.; Sato, K., et al. The insulin-like growth factor 1 receptor causes acquired resistance to erlotinib in lung cancer cells with the wild-type epidermal growth factor receptor. *International journal of cancer* **2014**. 1002–1006.
- <sup>454</sup> Vazquez-Martin, A.; Cufí, S.; Oliveras-Ferraro, C., et al. IGF-1R/epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) crosstalk suppresses the erlotinib-sensitizing effect of EGFR exon 19 deletion mutations. *Scientific reports* **2013**. 2560.
- <sup>455</sup> Zhang, Y.; Moerkens, M.; Ramaiahgari, S., et al. Elevated insulin-like growth factor 1 receptor signaling induces antiestrogen resistance through the MAPK/ERK and PI3K/Akt signaling routes. *Breast cancer research : BCR* **2011**. R52.
- <sup>456</sup> Winder, T.; Giamas, G.; Wilson, P. M., et al. Insulin-like growth factor receptor polymorphism defines clinical outcome in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated with tamoxifen. *The pharmacogenomics journal* **2014**. 28–34.
- <sup>457</sup> Lu, Y.; Zi, X.; Zhao, Y., et al. Insulin-Like Growth Factor-I Receptor Signaling and Resistance to Trastuzumab (Herceptin). *JNCI Journal of the National Cancer Institute* **2001**. 1852–1857.
- <sup>458</sup> Gallardo, A.; Lerma, E.; Escuin, D., et al. Increased signalling of EGFR and IGF1R, and deregulation of PTEN/PI3K/Akt pathway are related with trastuzumab resistance in HER2 breast carcinomas. *British journal of cancer* **2012**. 1367–1373.
- <sup>459</sup> Liu, S.; Meng, X.; Chen, H., et al. Targeting tyrosine-kinases and estrogen receptor abrogates resistance to endocrine therapy in breast cancer. *Oncotarget* **2014**. 9049–9064.
- <sup>460</sup> Wang, T.; Ge, G.; Ding, Y., et al. MiR-503 regulates cisplatin resistance of human gastric cancer cell lines by targeting IGF1R and BCL2. *Chinese medical journal* **2014**. 2357–2362.
- <sup>461</sup> Xiao, Y.; Tian, Q.; He, J., et al. MiR-503 inhibits hepatocellular carcinoma cell growth via inhibition of insulin-like growth factor 1 receptor. *OncoTargets and therapy* **2016**. 3535–3544.
- <sup>462</sup> Volkova, E.; Robinson, B. A.; Willis, J., et al. Marginal effects of glucose, insulin and insulin-like growth factor on chemotherapy response in endothelial and colorectal cancer cells. *Oncology letters* **2014**. 311–320.

- <sup>463</sup> Shen, K.; Cui, D.; Sun, L., et al. Inhibition of IGF-IR increases chemosensitivity in human colorectal cancer cells through MRP-2 promoter suppression. *Journal of cellular biochemistry* **2012**. 2086–2097.
- <sup>464</sup> Tian, X.; Hao, K.; Qin, C., et al. Insulin-like growth factor 1 receptor promotes the growth and chemoresistance of pancreatic cancer. *Digestive diseases and sciences* **2013**. 2705–2712.
- <sup>465</sup> Wei, F.; Liu, Y.; Bellail, A. C., et al. K-Ras mutation-mediated IGF-1-induced feedback ERK activation contributes to the rapalog resistance in pancreatic ductal adenocarcinomas. *Cancer letters* **2012**. 58–69.
- <sup>466</sup> Pignon, J. P.; Bourhis, J.; Domenge, C., et al. Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma. *The Lancet* **2000**. 949–955.
- <sup>467</sup> So, W. K. W.; Chan, R. J.; Chan, D. N. S., et al. Quality-of-life among head and neck cancer survivors at one year after treatment--a systematic review. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* **2012**. 2391–2408.
- <sup>468</sup> Jameson, M. J.; Beckler, A. D.; Taniguchi, L. E., et al. Activation of the insulin-like growth factor-1 receptor induces resistance to epidermal growth factor receptor antagonism in head and neck squamous carcinoma cells. *Molecular Cancer Therapeutics* **2011**. 2124–2134.
- <sup>469</sup> Chung, C. H.; Pohlmann, P. R.; Rothenberg, M. L., et al. Insulin-like growth factor-1 receptor inhibitor, AMG-479, in cetuximab-refractory head and neck squamous cell carcinoma. *Head & neck* **2011**. 1804–1808.
- <sup>470</sup> Limesand, K. H.; Chibly, A. M.; Fribley, A. Impact of targeting insulin-like growth factor signaling in head and neck cancers. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society* **2013**. 135–140.
- <sup>471</sup> Mirimanoff, R.-O. High-grade gliomas: reality and hopes. *Chinese journal of cancer* **2014**. 1–3.
- <sup>472</sup> Osuka, S.; Sampetean, O.; Shimizu, T., et al. IGF1 receptor signaling regulates adaptive radioprotection in glioma stem cells. *Stem cells (Dayton, Ohio)* **2013**. 627–640.
- <sup>473</sup> Hsieh, A.; Ellsworth, R.; Hsieh, D. Hedgehog/GLI1 regulates IGF dependent malignant behaviors in glioma stem cells. *Journal of cellular physiology* **2011**. 1118–1127.
- <sup>474</sup> Han, S.; Li, Z.; Master, L. M., et al. Exogenous IGFBP-2 promotes proliferation, invasion, and chemoresistance to temozolomide in glioma cells via the integrin  $\beta$ 1-ERK pathway. *British journal of cancer* **2014**. 1400–1409.
- <sup>475</sup> Kuramochi, T.; Kakefuda, A.; Yamada, H., et al. Synthesis and structure-activity relationships of benzyloxyphenyl derivatives as a novel class of NCX inhibitors: effects on heart failure. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2005**. 725–734.
- <sup>476</sup> Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis* **2006**
- <sup>477</sup> Urazoe, D.; Mori, H. Process for preparing 3-aminophenylacetylenes **2008**
- <sup>478</sup> Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. A convenient synthesis of acetylenes. *Tetrahedron Letters* **1975**. 4467–4470.
- <sup>479</sup> Jeong, K.-S.; Cho, Y. L.; Chang, S.-Y., et al. Assembly and Binding Properties of Osmate Ester-Bridged Binuclear Macrocycles. *The Journal of Organic Chemistry* **1999**. 9459–9466.
- <sup>480</sup> Adler, E.; Magnusson, R.; Hansen, S. E., et al. Periodate Oxidation of Phenols. I. Monoethers of Pyrocatechol and Hydroquinone. *Acta Chemica Scandinavica* **1959**. 505–519.

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, gemäß § 5 der Promotionsordnung der Naturwissenschaftlichen Fakultät I – Biowissenschaften – der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die, den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Weiterhin erkläre ich, dass ich bisher keine vergeblichen Promotionsversuche unternommen habe. Diese Dissertationsschrift wurde ausschließlich der Naturwissenschaftlichen Fakultät I der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg vorgelegt. Sie wurde an keiner anderen Einrichtung weder im In- noch Ausland zur Erlangung des Doktorgrades eingereicht.

Tim Fischer Halle (Saale), 07. Dezember 2019

## Angaben zu Person und Bildungsgang/Publikationsliste

<b>Persönliche Daten</b>	Tim Fischer Merseburger Straße 73d 06112 Halle (Saale) geb. 30. Juni 1988, Blankenburg (Harz) männlich, deutsch, ledig
<b>Werdegang</b>	
1994-1998	Grundschule „An der Teufelsmauer“, Timmenrode
1998-2000	Sekundarschule „Hans Böheim“, Wienrode
2000-2007	Gymnasium „Am Thie“, Blankenburg (Harz)
2007-2008	Grundwehrdienst 3. Logistikbataillon, Lüneburg
2008-2012	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Studium der Pharmazie, Staatsexamen
11.2012-04.2013	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Institut für Pharmazie, Pharmaziepraktikum
05.2013-10.2013	St. Georg-Apotheke, Halle (Saale) Pharmaziepraktikum
11.2013	Pharmazeutische Prüfung, Gesamtnote „sehr gut“ (1,42)
11.2013-12.2016	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg Promotion im Fachbereich Pharmazeutische Chemie
12.2013	Approbation als Apotheker
04.2015-12.2016	Salzke-Apotheke, Langenbogen
seit 01.2017	ZytoService Deutschland GmbH Leipzig (ehem. Profusio Leipzig GmbH) stellv. Leitung der Herstellung

## Publikationsliste

Fischer, T.; Krüger, T.; Najjar, A.; Totzke, F.; Schächtele, C.; Sippl, W.; Ritter, C.; Hilgeroth, A. Discovery of novel substituted benzo-anellated 4-benzylaminopyrrolopyrimidines as dual EGFR and VEGFR2 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2017**. 27. 2708-2712

Fischer, T.; Najjar, A.; Totzke, F.; Schächtele, C.; Sippl, W.; Ritter, C.; Hilgeroth, A. Discovery of novel dual inhibitors of receptor tyrosine kinases EGFR and PDGFR- $\beta$  related to anticancer drug resistance. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2017**. 33:1. 1-8

## Anhang

### Evidenzen einer therapeutischen Nutzbarkeit von EGFR-/ErbB-inhibitorischer Behandlung

Lungentumoren lassen sich klinisch in 85 % NSCLC (*squamous-cell-, large-cell- und adenocarcinomas*) und 15 % SCLC unterteilen. Onkogene Mutationen des EGF-Rezeptors sind in 10 - 40 %, je nach Population, aller Lungentumoren nachweisbar<sup>62</sup>. Die höchste Inzidenz findet man bei Frauen, Nichtrauchern und Asiaten. Die Mutationen betreffen meist die Kinasedomäne des Rezeptors bzw. die Exons 18-21 des EGFR-Gens (v.a. Exon-19-Deletion, Exon-21-Substitution). Aufgrund der Nähe zu wichtigen regulatorischen Segmenten der ATP-Bindungs tasche von EGFR (vgl. 1.5) führen diese zu Gleichgewichtsverschiebung des Rezeptoraktivierungsstatus mit Destabilisierung der inaktiven Rezeptorform und erhöhter Formierung des aktiven Zustands. Es resultiert konstitutive Aktivität auch ohne Ligandenbindung<sup>351, 352</sup>. YUN *et al.* konnte dieses sowohl für die L858R- als auch die G719S-Mutante von EGFR belegen<sup>353</sup>. Die aktivierenden Mutationen ergeben 50fach bzw. 10fach erhöhte Aktivität des Rezeptors ( $k_{cat}$ ) verglichen zum wt-Rezeptor<sup>353</sup> und erhöhtes Potenzial für asymmetrische Dimerisierungsbildung<sup>354</sup>. So beschreibt BREWER *et al.*, dass L858R als Superakzeptor für Dimerisierung mit wt EGFR und ErbB2 dient, diese hyperphosphoryliert und somit zu Erhöhung des *Downstream*-Signals führt. Die erhöhte Phosphorylierung von Substraten wie Akt und STAT-3 bewirkt verstärkte Aktivität von Wachstums- und Überlebenssignalen<sup>355</sup>. Neben den aktivierenden Mutationen kommt es in ca. 60 % aller NSCLCs zu Überexpression von EGFR und für ca. 30 % der *squamous-cell-* und 15 % der *adenocarcinomas* konnten Genamplifikationen des EGFR-Gens belegt werden<sup>62</sup>, welches nach bisherigen Ergebnissen geringe Relevanz für RTKIs hat<sup>356</sup>. Für SCLC spielen alle genannten Phänomene eine untergeordnete Rolle.

Neben den hormonabhängigen Brusttumoren stellen ErbB2-überexprimierende oder genamplifizierende Tumoren mit 20 - 30 % eine große Subpopulation dar, wobei zu erwähnen ist, dass die Abhängigkeiten sich nicht wechselseitig ausschließen. Ohne spezifische Therapie ist ErbB2-positiver Tumorstatus, aufgrund Vermittlung von Überlebens- und Wachstumssignalen, assoziiert mit schlechter Krankheitsprognose. Infolgedessen sind sowohl MAKs wie Trastuzumab und Pertuzumab als auch RTKIs wie Lapatinib inzwischen fester Bestandteil von Therapieregimen im adjuvanten wie auch metastasierendem *Setting*<sup>357</sup>. Triple negative Mammakarzinome hingegen profitieren weder von hormonsuppressiven noch von ErbB2-selektiven Therapieansätzen. EGFR ist in ca. 66 % dieser Tumoren überexprimiert und kann mit verstärkter Progression und schlechterem Patienten-Outcome assoziiert werden<sup>358, 359</sup>. Des Weiteren ist anzufügen, dass EGFR ebenfalls mit Etablierung von sowohl primärer als auch erworbener Resistenz bei hormonsuppressiven wie auch ErbB2-adressierten Therapieregimen assoziiert ist<sup>360, 361</sup>. In Bezug auf den ER scheint v.a. Rezeptorcrosstalk von Bedeutung, während innerhalb der ErbB-Familie Rezeptorheterodimerisierung als zusätzlicher Resistenzmechanismus zur Verfügung steht. Abseits von ErbB1/ErbB2-Überexpression existieren auch aktivierende Mutationen von ErbB2 in 1,6 % aller Brusttumoren<sup>362</sup>. Neben der verringerten Frequenz lässt sich auch weitere Verteilung der Mutationen über den Rezeptor feststellen, verglichen zu EGFR in Lungentumoren. Außerdem besitzen nicht alle einen onkogenen Einfluss<sup>362</sup>. Aufgrund der ligandenunabhängigen Aktivierung von HER2 kann auch Mutation im extrazellulären Bereich des Rezeptors, wie Gly309Ala, welche die Heterodimerisierung erleichtert, onkogen wirken. Im



intrazellulären Bereich sind Asp769His/Tyr- und Val777Leu-Mutationen belegt, welche den dormanten Kinasestatus destabilisieren<sup>362</sup>. Aufgrund der weiten Verteilung über den Rezeptor ist die Identifizierung aktivierender Mutationen von EGFR bei Brustkrebs deutlich aufwendiger und potenzielles Ziel für die Etablierung zukünftiger gezielter Therapien.

Magentumoren lassen sich histologisch in den intestinalen Subtyp (70 - 80 %) und den diffusen Subtyp (20 - 30 %) unterteilen. Der intestinale Subtyp dominiert geographisch in Ostasien, Osteuropa und Zentral- bzw. Südamerika. Der diffuse Subtyp ist geographisch ausgeglichen verteilt. KIM *et al.* konnte EGFR-Überexpression für 27,4 % und Genamplifikation für 5,4 % einer südostasiatischen Magenkarzinompopulation belegen, welche in kurativer Absicht durch Resektion behandelt wurden<sup>363</sup>. Im Weiteren konnte erhöhte Expression des EGF-Rezeptors multivariant mit verschlechterter Überlebensprognose assoziiert werden. So wurden lymphatische und Gewebsinvasion, Metastasen und erhöhter Tumorstatus nach TNM-Klassifikation positiv mit EGFR-Überexpression korreliert. Aufgrund der variierenden Population, welche sich auf rezidive, nicht resektierbare oder metastasierende Magenkarzinome bezieht, liegt die EGFR-Überexpressionsrate in der Studie von MATSUBARA *et al.* mit 63 % wesentlich höher<sup>364</sup>. Im weiteren Kontext konnte EGFR-Expression nach kurativen chirurgischen Eingriffen mit erhöhter Rezidivrate und verschlechterter Überlebensprognose bewertet werden<sup>365</sup>. EGFR-Mutationen scheinen bzgl. Magenkarzinomen kaum vorhanden und besitzen daher keinen onkogenen Einfluss<sup>366</sup>. ErbB2-Genamplifikation und -Überexpression kommen in beiden histologischen Subtypen vor. Dabei liegt der Anteil am jeweiligen Gesamtvorkommen bei 32 % bzw. 21 % (intestinal vs. diffus). Unabhängig davon, dass Prävalenzzahlen je nach Studie differieren, scheint HER2-Überexpression in histologisch intestinalen und gastroösophageal lokalisierten Tumoren häufiger<sup>367</sup>. Ebenso wie Häufigkeit divergieren Studiendaten zur onkogenen Relevanz einer HER2-Überexpression bei Magenkarzinomen. Jedoch legen Metadaten aus 12749 Patienten nahe, dass HER2-Überexpression als negativer prognostischer Marker bei Magenkarzinom zu bewerten ist und dass Faktoren wie Tumorprogression, Invasivität, Metastasierung und Tumorstadium damit korrelieren<sup>368, 369</sup>.

Kolorektaltumoren entstehen zu 98 % als Adenokarzinome und der prognostische Verlauf ist stark vom Diagnosestadium bzw. Ausdehnung abhängig. Untersuchungen von BARBER *et al.* auf aktivierende Mutationen v.a. bezüglich der Kinasedomäne ergaben, dass CRC kaum entsprechende Veränderungen zeigen<sup>370</sup>. Hingegen ist der EGF-Rezeptor im Bereich von 22 - 80 % der Tumoren überexprimiert<sup>371</sup> (je nach Population/Untersuchungsmethode), welches nicht auf Genamplifikation zurückzuführen ist<sup>372</sup>. Im Weiteren konnte SPANO *et al.* zeigen, dass der EGFR-Expressionsstatus mit dem Tumorgrad korreliert und am höchsten in T3-Tumoren ist. Interessanterweise beschreibt MCKAY *et al.* für gepaarte Proben von Primärtumoren und Lymphknotenmetastasen häufig verschiedene Expressionslevel von EGFR. So funktioniert EGFR für den Primärtumor bis zum Beginn der Metastasierung (T3N0M0) als onkogene Treiberkinase. Zur Etablierung von Metastasen wird jedoch ein anderes Signalsetting notwendig<sup>373</sup>. Infolgedessen ist eine Assoziation des EGF-Rezeptorstatus mit Überlebenswerten bei CRC schwierig bzw. kann für OS und Patientenprognose nicht hergestellt werden<sup>371, 373, 374</sup>. Für die Bewertung von EGFR bzw. EGFR-selektiven Therapieansätzen bei CRC zusätzlich relevant ist der Mutationsstatus von verschiedenen nachgeschalteten Signalproteinen (z.B.

K-Ras, N-Ras, B-Raf und PTEN), da die klare Assoziation von erhöhter Expression, Inhibition und Effekt verloren geht<sup>375</sup>.

Kopf- und Halstumoren sind zu 95 % durch schwammzellartige Histologie gekennzeichnet, welche wiederum bis zu 90 % EGFR-Überexpression zeigt. Da auch die Liganden, TGF $\alpha$  und EGF, überexprimiert vorliegen, ist eine Beteiligung an der Tumorigenese durch Unterhalt autokriner Schleifen wahrscheinlich. Im Weiteren lässt sich nachweisen, dass die EGFR-Expressionslevel mit fortschreitender Karzinogenese ansteigen und dieses auch im tumorumgebenden Stroma stattfindet<sup>376</sup>. Neben EGFR sind auch weitere RTKs der ErbB-Familie in HNSCC überexprimiert (ErbB2 bis 29 %, ErbB3 21 %, ErbB4 26 %), welches die Beteiligung von Heterodimerisierungsphänomenen an der Pathogenese nahelegt<sup>377</sup>. Aktivierende Mutationen, wie bei NSCLC, und Genamplifikationen des EGF-Rezeptors scheinen hingegen eine untergeordnete Rolle bei HNSCC zu spielen. Neben der autokrinen Beförderung der Signalkaskade im etablierten Tumor lässt sich zusätzlich eine durch Tabakrauch ausgelöste Erhöhung von EGFR-Liganden (z.B. Amphiregulin, TGF $\alpha$ ) feststellen<sup>378</sup>. In Konsequenz lässt sich EGFR mit erhöhter Proliferations-, Angiogenese- und Metastasierungsrate bzw. verschlechterter Überlebensrate bei HNSCC assoziieren<sup>63</sup>.

Pankreaskarzinome sind durch hohe Aggressivität und frühe Metastasierung mit besonders schlechter Prognose und mittlerem OS zwischen 5 - 8 Monaten gekennzeichnet. Bis zu 90 % der Pankreaskarzinome zeigen EGFR-Überexpression, welches sich mit gesteigerter Invasivität und verschlechterter Prognose assoziieren lässt<sup>379</sup>. Neben dem EGF-Rezeptor kann auch EGF häufig als überexprimiert nachgewiesen werden. Die Etablierung von autokrinen Schleifen liegt nahe und erklärt die nachgewiesene Assoziation mit Lymphknotenbeteiligung, Metastasenbildung und Gesamt-aggressivität<sup>380</sup>. Aktivierende Mutationen und Genamplifikation des EGF-Rezeptors sind kaum am Tumorgeschehen bei Pankreaskarzinom beteiligt. So konnte LEE *et al.* unter 66 Pankreaskarzinompatienten nur eine Mutation der Kinasedomäne des Rezeptors nachweisen und auch Häufigkeit und Ausmaß von Genamplifikation liegen deutlich unter anderen soliden Tumoren<sup>381</sup>. Die hohe Tendenz zu K-Ras Mutationen ist nachweislich therapielimitierend für einen EGFR-selektiven Therapieansatz<sup>134</sup>.

Ebenso wie Pankreaskarzinome sind Glioblastome mit äußerst schlechter Krankheitsprognose verbunden. Die mittlere Überlebenszeit liegt bei 1,5 Jahren. 40 % der Glioblastome besitzen ErbB1-Amplifikation bzw. zeigen ca. 60 % EGFR-Überexpression<sup>382</sup>. Weiterhin besitzt etwa die Hälfte der genamplifizierten Tumoren einen mutierten ErbB1-Rezeptor mit Deletion der Exons 2-7 (EGFRvIII). Dieses führt zum Verlust der Bindungsfähigkeit für Liganden und gleichzeitig zur konstitutiven onkogenen Aktivierung<sup>383</sup>. Neben verstärkter Progression und Invasivität steht EGFR-Überexpression im Zusammenhang mit Resistenz gegen Radio- und Chemotherapie<sup>384</sup>. Zusätzliche Komplexität gewinnen Glioblastome durch hohes Maß an intratumoraler Heterogenität. So beschreibt SZERLIP *et al.*, dass neben EGFR-Amplifikation v.a. PDGFR $\alpha$ - und Met-Amplifikation regelmäßig nachweisbar sind. Sowohl Coamplifizierung der RTKs innerhalb der gleichen Zellen als auch alternative Amplifizierung in Zellproben desselben Tumors sind nachweisbar. Da der Unterhalt der *Downstream*-Effektoren durch verschiedene RTKs möglich ist, erschwert dieses gezielte Therapieansätze<sup>385</sup>.

## Evidenzen einer therapeutischen Nutzbarkeit von VEGFR-inhibitorischer Behandlung

Neoangiogenese ist ein dynamischer Prozess und damit hochabhängig von Tumor-, Patienten-, und Behandlungsstatus. Aufgrund der Komplexität der beteiligten Signalnetzwerke von Tumorgewebe und -stroma erweist sich die Identifikation von Surrogatparametern als schwierig. Unzweifelhaft ist, dass Angiogenese notwendiger Teil der malignen Ausbreitung ist. So kann hohe Dichte an Mikrogefäßen bei Lungenkrebs mit Progression, Metastasierung und verschlechtertem Überleben korreliert werden<sup>386</sup>. Kann ein Tumor aufgrund seiner Lokalisation auf bestehende Vaskulatur zurückgreifen (z.B. Alveolarnetzwerk bei NSCLC), verringert sich die Abhängigkeit von der Neoangiogenese. Unabhängig davon konnte eine erhöhte VEGF-Expression bei Lungentumoren mit verschlechterter Gesamtprognose (Progression und Gesamtüberleben) assoziiert werden<sup>387, 388</sup>. Durch Nährstoffunterversorgung und Hypoxie werden HIF1 $\alpha$  und HIF2 $\alpha$  freigesetzt, welches zu initialer Erhöhung der VEGF-Konzentration führt. HIF1 $\alpha$  und HIF2 $\alpha$  konnten als unabhängige prädiktive Biomarker für verschlechterte Prognose, verstärkte Lymphknoteninvasion und erhöhten Tumorgrad bei Lungentumoren festgestellt werden<sup>389</sup>. Durch CHATTERJEE *et al.* konnte in Lungentumorgewebe die Aktivität eines autokrinen VEGFA/VEGFR2-Feedbackloops nachgewiesen werden, welcher zur Verstärkung des initialen proangiogenen Signals führt<sup>390</sup>. Unabhängig von der VEGF-Expression stellen Konzentrationen an zirkulierendem VEGF und sVEGFR2 interessante mögliche Biomarker dar, die besser verfügbar sind. Verschiedene Studien können zwischen VEGFA- und/oder sVEGFR2-Konzentration in Plasma/Serum und Gesamtüberleben einen Zusammenhang belegen<sup>391, 392</sup>. Andere Quellen wiederum dokumentieren keinen Zusammenhang. Naheliegend ist, dass sowohl Probengewinnung als auch therapeutische Maßnahmen hohen Einfluss auf die Konzentrationslevel haben und somit eine kontextbasierte Erfassung nötig wird. Post-Zulassungsstudien des MAK Bevacizumab versuchen diverse Biomarker mit der Therapieantwort zu korrelieren. Dabei konnte kein Zusammenhang zwischen zirkulierendem VEGFA und der Therapieantwort auf avastinhaltige Therapieschemen festgestellt werden<sup>393</sup>. Im Weiteren gewinnen andere Mediator-Rezeptor-Kombinationen, speziell VEGFC/D und VEGFR3, zunehmend an Interesse. Als unabhängige und pharmakologisch kaum adressierte Regulatoren der Lymphangiogenese, bieten sie sowohl ein alternatives Potenzial Tumorgrad und Metastasierung voranzutreiben als auch eine mögliche *by-pass*-Signalkaskade zur Resistenzvermittlung gegen VEGFA- und VEGFR2-selektive Therapieansätze. Eine Metaanalyse von KILVAER *et al.* ergab, dass hohe Expression von VEGFC und hohe lymphatische Mikrogefäßdichte mit verschlechterten Überlebensdaten einhergehen. Zusätzlich konnte die hohe Expression von VEGFC und VEGFR3 mit vermehrten Lymphknotenmetastasen assoziiert werden<sup>394</sup>.

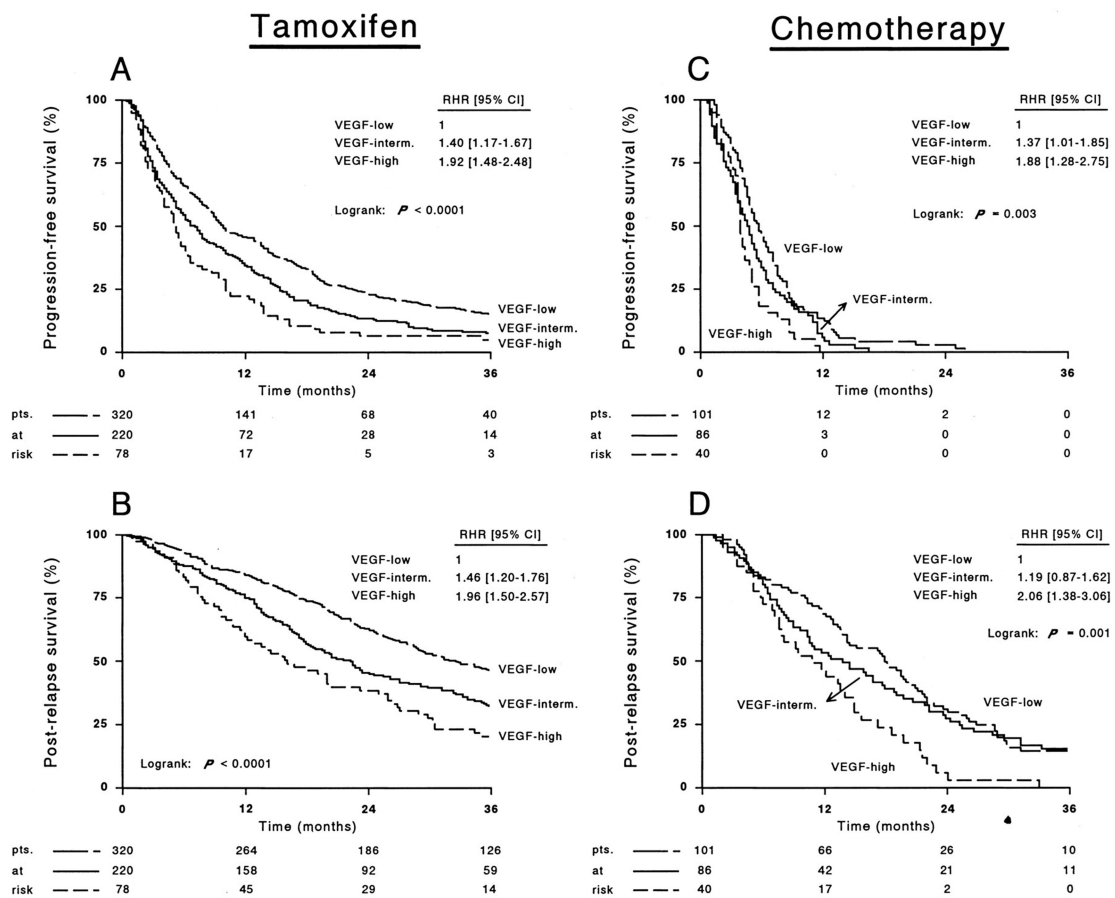
WANG *et al.* belegte in einer Metaanalyse bestehender Literaturdaten sowohl VEGF-Expression als auch Mikrogefäßdichte als negativ prognostische Indikatoren bei CRC. So resultiert hohe VEGF-Expression in jeweils ca. zweifach erhöhtem Risiko für OS und DFS. Für Fernmetastasen konnte sogar ein mehr als vierfach erhöhtes Risiko durch hohe VEGF-Expression nachgewiesen werden, welches die Bedeutung der Angiogenese im Metastasierungsprozess untermauert<sup>395</sup> bzw. zuvor innerhalb der angiolymphatischen Invasion und Progression in die Lymphknoten<sup>396</sup>. VEGFC und dessen Rezeptor VEGFR3 scheinen besonders stark mit lymphatischer Invasion assoziiert, da VEGFR3 ausschließlich auf lymphatischen Endothelzellen exprimiert wird<sup>397</sup>. Im Weiteren konnte CASCINU *et*

*al.* belegen, dass nach operativer Entfernung eines Kolonkarzinoms die postoperative Expression von VEGF im Zusammenhang mit einer Rezidivkrankung steht. Dieses liefert eine Rationale für eine adjuvante antiangiogene Therapie<sup>398</sup>. Eine mögliche Ursache für die postoperativ erhöhte VEGF-Expression liegt in unvollständiger Tumorentfernung<sup>399</sup>. Weniger deutlich, dennoch statistisch signifikant, konnte eine erhöhte Mikrogefäßdichte mit ca. 40 % erhöhtem Risiko für eine schlechtere Prognose korreliert werden<sup>395</sup>. In Analogie zum zuvor betrachteten NSCLC scheint auch beim CRC u.a. HIF1 $\alpha$  in der frühen Karzinogenese für die Vermittlung von Invasivität und Progression verantwortlich. Die Progression wird vermittelt über RTKs bzw. deren Liganden (v.a. VEGF/VEGFR) bei gleichzeitig steigender Überexpression von HIF1 $\alpha$ . Es resultiert eine verschlechterte Patientengesamtprognose<sup>400</sup>. Initiale Expressionskontrolle von HIF1 $\alpha$  erfolgt vermutlich u.a. über Hypoxie und Nährstoff-deprivation. Die Serumkonzentration von VEGF zeigt auch bei CRC keine eindeutige Tendenz als prognostische Größe, was sich u.a. mit gewebsabhängiger Verteilung (z.B. membrangebundene Isoformen, Vorkommen in Blutplättchen) erklären lässt<sup>401</sup>. Infolgedessen ließ sich für mCRC keine Korrelation zwischen zirkulierendem VEGFA und *Benefit* einer avastingestützten Therapie zeigen<sup>393</sup>.

MAEDA *et al.* beschreibt schon 1995, dass bei immunoreaktiver Färbung von VEGF an Magenkarzinomzellen v.a. die invasive Front reaktiv ist. In Erweiterung dessen lässt sich sowohl lymphatische als auch venöse Invasion mit VEGF-Expression korrelieren, da zunächst eine Vaskularisierung des Primärtumors notwendig wird, bevor der Transit von Tumorzellen in die Zirkulation wahrscheinlich wird. Weiterhin merkt MAEDA an, dass sich die VEGF-Expression auch mit Lymphknoten- und Lebermetastasen in Verbindung setzen lässt. Damit ist der prädominante Angiogenese-mediator VEGFA, bezogen auf Magenkarzinome, in jegliche Form der Ausdehnung und Verbreitung eingebunden. Darüber hinaus lässt sich die VEGF-Expression auch mit der Dichte der Mikrovaskulatur assoziieren, welches den anatomischen Beleg für die zuvor geschilderten Phänomene liefert. Nach operativer Resektion von Magentumoren kommt es statistisch signifikant häufiger zum Rezidiv bei Tumoren mit erhöhter VEGF-Expression. Im Speziellen hepatische Rezidive korrelieren mit VEGF. Für peritoneale Rezidivtumoren hingegen kann dieses nicht belegt werden<sup>402</sup>. Infolge des erhöhten Rezidivrisikos lassen sich sowohl DFS als auch OS mit VEGF-Überexpression als negativ prädiktivem Marker, trotz zuvor kurativ initiiertes Magenresektion, belegen<sup>403</sup>. Eine Evaluierung von VEGF als Biomarker für adjuvante antiangiogene Therapie scheint sinnvoll. Die Arbeiten von KARAYIANNAKIS *et al.* zeigen, dass für Magenkarzinome auch die VEGF-Serumkonzentration mit fortgeschrittenem Tumor- und Metastasierungsgrad korreliert<sup>404</sup>. Zusätzlich scheint die VEGF-Serumkonzentration auch auf die zuvor beleuchtete Rezidivproblematik nach operativer Entfernung des Primärtumors übertragbar. Die Korrelation der Serumkonzentration wirft die Frage auf, warum Gewebsexpression und Serumkonzentration bei dieser Tumoridentität bezogen auf prognostische Faktoren weitaus besser zusammenhängen<sup>405</sup>. Die AVAGAST-Studie zur Erfassung von Biomarkern unter avastinhaltiger Therapie belegt einen signifikanten Zusammenhang zwischen Plasmakonzentration von VEGFA und Effekt der antiangiogenen Therapie auf PFS und OS, welches den konsistenten Zusammenhang bei Magentumoren zusätzlich untermauert<sup>178</sup>.

Aufgrund der verschiedenartigen molekularbiologischen Rezeptorausrüstung von Brusttumoren ist die Bewertung des Einflusses der VEGF/R-Signalkaskade auf die Tumorigenese

grundsätzlich komplex. Bezogen auf tnBC, welcher durch keinen der klassischen onkogenen Rezeptoren unterhalten wird, scheint die VEGF/R-Kaskade entscheidend an der Tumorigenese beteiligt. So konnte CHANANA *et al.* sowohl erhöhte VEGF-Serumkonzentration als auch Korrelation dessen mit Tumorgröße und Krankheitsgrad bei tnBC feststellen<sup>406</sup>. Im Weiteren werden diese durch LINDERHOLM *et al.* mit verkürztem Überleben assoziiert<sup>407</sup>. Die hohe Mortalität von tnBC wird im Wesentlichen durch therapieresistente Metastasierung und daraus resultierende Organschädigung verursacht, welches u.a. durch VEGF/R ermöglicht wird. So zeigt sich die mittlere Gefäßdichte in tnBC wesentlich erhöht, verglichen zu nicht-tnBC<sup>408</sup>. Zusätzlich führt vermehrte Expression von VEGFC/D zu verstärkter Lymphangiogenese und erhöhter lymphatischer Invasion und ermöglicht somit die Ausbreitung von Tumorzellen im Körper<sup>409</sup>. Dementsprechend und aus Mangel an weiteren gezielten Alternativen ergibt sich ein Nutzen für die Implementierung antiangiogener Therapien in bestehende Standards. Im Vergleich dazu zeigen sowohl hormonabhängige als auch HER2+-Brusttumoren ein uneindeutigeres Verhältnis zu VEGF/R-selektiver Inhibition. Auch für diese Tumorsubtypen kann erhöhte VEGF-Serumkonzentration mit dem Tumorstatus korreliert werden bzw. besteht ein umgekehrt proportionales Verhältnis zwischen VEGF-Expression und OS. Weiterhin ist die VEGF-Expression nach FOEKENS *et al.* assoziiert mit der Zeit bis zum Krankheitsprogress sowohl unter Chemo- als auch unter Hormontherapie bzw. weiterführend mit dem OS nach Tumorrezidiv (vgl. Abbildung).



PFS (A, C) und Post-Rezidiv-Überleben (B, D) von Brusttumoren unter Tamoxifen- bzw. Chemotherapie in Abhängigkeit der VEGF-Expression<sup>410</sup>

Therapieresistente Tumorzellen durch erhöhte VEGF-Expression erklärt *FOEKENS* einerseits durch direkte Stimulation von Überlebenskaskaden und andererseits, bezogen auf hormonsuppressive Therapie, durch Aktivierung alternativer *by-pass*-Signalkaskaden<sup>410</sup>. Ursächlich für die steigende VEGF-Expression, ebenfalls korrelierend mit dem Tumorprogress, scheint HIF1 $\alpha$  zu sein. So beschreibt Bos *et al.* eine steigende HIF1 $\alpha$ -Konzentration mit steigendem Entdifferenzierungsgrad und merkt zusätzlich an, dass sowohl für ER als auch HER2 ein Expressionsanstieg proportional zu HIF1 $\alpha$  besteht<sup>411</sup>. Im Weiteren lässt sich auch belegen, dass Estrogenstimulation in hormonrezeptor-positiven Tumoren trotz Antiestrogen-Therapie zu erhöhter VEGF-Expression führt. Für HER2+-Tumoren wurde zusätzlich die VEGFC/VEGFR3-Achse als überexprimiert belegt und gilt damit als partielle Erklärung für die Aggressivität des Tumors durch lymphatische Invasion. Faktisch ergibt sich, dass für hormonrezeptor- und HER2-positive Brusttumoren zwar enge Verbindung zur VEGF/R-Signalkaskade besteht, aber aufgrund der wechselseitigen Beeinflussung (u.a. gemeinsame Expressionssteuerung durch HIF1 $\alpha$ , Resistenz durch *by-pass*-Funktion alternativer RTKs, ER beeinflusste Expression von VEGF/R) die Beobachtung klinischer Effekte unübersichtlich ist.

Bezogen auf antiangiogene Therapie ist das Nierenzellkarzinom eine der ersten und erfolgreichsten Tumorindikationen, welche zusätzlich der klassischen Chemotherapie jahrzehntelang unzugänglich war. Ein Großteil (60 - 80 %) aller RCC zeigt einen Verlust des van-Hippel-Lindau-Faktors oder eine Downregulation von dessen Genprodukt<sup>412</sup>, welches wiederum unter normalen Sauerstoffbedingungen innerhalb der Zelle die Ubiquitinierung bzw. den Abbau von HIF1 $\alpha$  steuert. Infolge des Verlusts des VHL-Faktors kommt es zur Stabilisierung von HIF1 $\alpha$  und damit zu Translokation dessen in den Zellkern mit anschließender Realisierung der zugehörigen Genprodukte<sup>413</sup>. Zu diesen zählen u.a. die Wachstumsfaktoren VEGF, PDGF und TGF $\alpha$  und auch deren Rezeptoren. Durch konstitutive Aktivität der Angiokinasen, v.a. VEGFR, kommt es zu Proliferation der endothelialen Zellen, Migration von Precursorzellen und Steigerung der vaskulären Permeabilität<sup>414</sup>, welches Invasivität und Progress des hochvaskulären Tumors bedingt. So konnte JACOBSEN *et al.* die Serumkonzentration von VEGFA<sub>165</sub> mit dem klinischen Tumorstatus, dem histologischen Differenzierungsgrad und dem Gesamtüberleben korrelieren<sup>415</sup>. Die VHL-bedingte Induktion von HIF1 $\alpha$  bei RCC zeigt, dass dieser als Hauptregulator der Neoangiogenese fungieren kann bzw. warum diese Tumorspezies gut auf antiangiogene Therapie reagiert. Für andere Tumorspezies wiederum stellt sich die Frage, ob Sauerstoff- und Nährstoffmangel als initiale Ursachen ebenfalls eine breite Expression entsprechender Wachstumsfaktoren und derer Rezeptoren verursachen bzw. ob eine multiple Inhibition von Angiokinasen Therapievorteile generiert<sup>416</sup>.

### **Evidenzen einer therapeutischen Nutzbarkeit von PDGFR-inhibitorischer Behandlung**

In 5 % der gastrointestinalen Stromatumoren (GIST) können aktivierende Mutationen von PDGFR $\alpha$  nachgewiesen werden, welche zu konstitutiver Aktivität ohne Ligandenbindung führen. Bekannte aktivierende Mutationen sind V561D und D842V<sup>197</sup>. Beim strukturverwandten Rezeptor c-Kit sind aktivierende Mutationen und Überexpression im gleichen Indikationsgebiet noch häufiger. Interessanterweise scheinen die aktivierenden Mutationen von PDGFR $\alpha$  und c-Kit alternativ aufzutreten<sup>417</sup>. Trotz identischer *Downstream*-Signalkaskaden resultieren unterschiedliche pathologische Eigenschaften. So können die unterschiedlichen Mutationen mit dem klinischen Verlauf, der

Lokalisation und dem Resistenzverhalten assoziiert werden<sup>418</sup>. WOZNIAK *et al.* zeigte, dass ca. 85 % aller GISTs Mutationen aufweisen. c-Kit-Mutationen in Exon 11 und 9 finden sich bei 61 % bzw. 7 % der Tumoren, wobei Exon 11-Deletionen mit aggressivem und metastasierendem Verhalten assoziiert wurden<sup>419</sup>. Hingegen konnten Exon 11-Substitutionen mit klinisch milderem Verlauf korreliert werden<sup>420</sup>. In der Studie von WOZNIAK *et al.* konnten PDGFR-Mutationen in 13 % der Fälle charakterisiert werden, wovon 91 % als Magentumoren lokalisiert wurden. Darüber hinaus zeigen PDGFR-Mutationen klinisch weniger aggressives Verhalten<sup>421</sup>. Vor allem in Zulassungsstudien zu fortgeschrittenen GISTs sind PDGFR-Mutationen daher unterrepräsentiert<sup>422</sup>.

Erhöhte Expression von PDGFR $\alpha$  konnte in verschiedenen Untersuchungen von Lungentumorgewebe nachgewiesen werden<sup>423</sup>. Hingegen kommt eine erhöhte Expression von PDGFR $\beta$  vornehmlich im umgebenden Tumorstroma vor. Zusätzlich konnte eine erhöhte Expression von PDGF-BB und PDGFR $\alpha$  in klinischen Studien mit verschlechterter Überlebensprognose bei NSCLC assoziiert werden<sup>424</sup>. Die vergleichsweise definierte Verteilung zeigt, dass bei Bewertung der regulatorischen Tumorabläufe das umgebende Stroma einbezogen werden muss. Parakrine PDGF/R-Signalkaskaden führen zur Etablierung des Tumorstromas mit günstigen Mikroumgebungsbedingungen für Migration, Invasion und Metastasierung. Im Umkehrschluss resultiert die prognostische Verschlechterung<sup>425</sup>. Ähnlich wie bei NSCLCs kommt es bei Brusttumoren zu erhöhter Expression von PDGF durch Tumorzellen und von PDGFRs im umgebenden Stroma<sup>426, 427</sup>. Eine parakrine Signalübertragung ist wahrscheinlich. Zusätzlich konnten PDGFRs überexprimiert in Brustkrebszellen nachgewiesen werden und eine Korrelation mit Invasivität und Metastasierung hergestellt werden<sup>428</sup>. Eine autokrine Tumorprogression durch PDGF steigert somit die Malignität<sup>200</sup>. Die PDGF/R-Achse lässt sich außerdem mit Resistenzphänomenen assoziieren, da z.B. die Kombination aus Radiotherapie und Imatinib in Maus-Modellen für Brustkrebs die Zellproliferation wesentlich stärker inhibiert als Bestrahlung allein<sup>429</sup>.

Bei Kolorektalkrebs werden ebenfalls Überexpression von PDGFRs auf Stromazellen und Perizyten (Tumormikroenvironment) sowie Korrelation mit verschlechterter Gesamtprognose nachgewiesen<sup>430, 431</sup>. Erhöhte Expression von PDGFR $\beta$  auf Tumorzellen in Kombination mit EMT konnte zusätzlich mit Metastasierung assoziiert werden<sup>432</sup>. Leberzellkarzinome mit EMT zeigen ebenfalls Überexpression von PDGFR $\alpha$  und PDGFR $\beta$ . Außerdem wird PDGF-A induziert, welches auf autokrine Beteiligung der Signalkaskade an Progression und Invasion von Lebertumoren hinweist<sup>433</sup>. So konnte Expression von PDGFR $\beta$  mit verschlechtertem Gesamtüberleben bei fortgeschrittenem HCC assoziiert werden<sup>434</sup>. Eine Inhibition der PDGF/R-Signalkaskade resultiert in signifikanter Verlangsamung des Tumorwachstums *in vivo*<sup>435</sup>.

Überexpression aller PDGF-Isoformen, inklusive PDGF-C und PDGF-D, und deren Rezeptoren konnte in diversen Glioblastomformen nachgewiesen werden<sup>436, 437</sup>. Während PDGFR $\alpha$  vorwiegend auf Tumorzellen überexprimiert vorliegt, konnte PDGFR $\beta$  mehrheitlich im umgebenden Tumorstroma belegt werden. Autokrine und parakrine Schleifen sind auch hier wahrscheinlich<sup>438, 439</sup>. Die Entstehung deregulierter Wachstumsschleifen ist hier in der frühen Tumorigenese anzusiedeln<sup>440, 441</sup>, benötigt oftmals weitere Mutationen, um eine Progression des Glioms zu verursachen<sup>442, 443</sup> und kann dann trotzdem Signalkaskade onkogener Abhängigkeit sein<sup>444</sup>. Als Auslöser für die Überexpression

von PDGFR $\alpha$  konnte v.a. Genamplifikation nachgewiesen werden. Auch aktivierende Mutationen für das PDGFR $\alpha$ -Gen sind belegt<sup>445</sup>.

Besonders stark scheinen Prostatakarzinome im Zusammenhang mit PDGF-vermittelten Signalkaskaden zu stehen. PDGFR $\beta$  ist in primären und metastasierenden Prostatatumorzellen überexprimiert<sup>446</sup>, ist prädiktiver Marker für Rezidive<sup>447</sup> und wird v.a. durch überexprimiertes PDGF-D unterhalten<sup>448</sup>. Die autokrine Signalkaskade steht im Zusammenhang mit EMT zu einem stammzellartigen Phänotyp, welcher wiederum invasives Wachstum und Malignität bedingt<sup>449</sup>. Weiterhin scheint PDGF-D im Zusammenhang mit der Bildung von Knochenmetastasen zu stehen<sup>450</sup>. Da über verschiedene Tumoridentitäten eine zeitlich abhängige Beteiligung der PDGF/R-Signalachse an Tumorstroma und Tumorzellen nachweisbar ist, stellt sich die Frage, wann und wie eine PDGF-inhibitorische Therapie optimal einzusetzen ist.

### **Evidenzen einer therapeutischen Nutzbarkeit von IGFR-inhibitorischer Behandlung**

Der klinische Verlauf von Lungentumoren ist u.a. geprägt von Metastasierung, Therapieresistenz und unzureichender Operabilität. Obwohl EGFR-Inhibitoren wie Erlotinib, Gefitinib und Osimertinib bei NSCLC mit aktivierenden Mutationen des EGF-Rezeptors gute Ansprechraten ergeben (vgl. 1.4.1.2), wird die Therapie häufig durch Resistenz limitiert. Die IGF/IGF-1R-Signalachse kann verschiedenartig in die Resistenzbildung eingebunden sein. In Studien von PELED *et al.* wird intrinsische Resistenz Gefitinib-resistenter Zelllinien durch Überexpression von IGF-1R gezeigt<sup>451</sup>. MURAKAMI *et al.* belegt die Existenz von Gefitinib-resistenten Stammzellen durch verstärkte IGF-1R-Aktivität<sup>452</sup>. SUDA *et al.* konnte erhöhte IGF-1R-Phosphorylierung als Resistenzmechanismus für Erlotinib-Therapie unter Ausschluss weiterer Resistenzmechanismen (sekundäre EGFR-Mutation, Verlust von PTEN und Met-Amplifikation) nachweisen und erreichte eine Resensitivierung durch einen IGF-1R-Inhibitor<sup>453</sup>. Klinische Betrachtung von NSCLC mit EGFR-aktivierenden Mutationen belegt zusätzlich, dass *Crosstalk* zwischen IGF-1R und EMT zur Resistenzentwicklung gegen RTKIs führen kann<sup>454</sup>. Die Breite der präklinischen und klinischen Untersuchungen zu Resistenz durch IGF/IGF-1R-Signale indiziert eine mannigfaltige Beteiligung, zeigt aber gleichermaßen die Limitierung von v.a. Zellmodellen aufgrund fehlender Berücksichtigung der Tumormikroumgebung.

Für Brusttumoren kann ebenfalls hohe Assoziation zwischen Therapieresistenz und der IGF-1R-Signalkaskade ermittelt werden. So kommt es bei ER+-Tumoren zur Tamoxifen-Resistenz durch *Crosstalk* zwischen IGF-1R und ER und gleichzeitiger Aktivierung der IGF-1R nachgeschalteten Signalkaskaden (MAPK/ERK und PI3K/Akt)<sup>455</sup>. Im weiteren Kontext konnte für diverse Polymorphismen von IGF-1R ein erhöhtes Risiko für Tumorprogression und Lymphknotenbeteiligung belegt werden<sup>456</sup>. Auch für HER2+-Brusttumoren konnte IGF-1R-abhängige Resistenz festgestellt werden. Überexpression von IGF-1R und EGFR wurde mit Resistenz gegen Trastuzumab korreliert<sup>457, 458</sup>. Zusätzlich konnte die Sensitivität für den HER2-Antikörper durch Downregulation von IGF-1R in Studien wieder hergestellt werden. Untersuchungen bzgl. Resistenzbildung gegen bekannte Brustkrebstargets (ER, HER2) bei gleichzeitiger Inhibition von IGF-1R belegen, dass eine breite Kinasehemmung durch z.B. Dasatinib einer selektiven Inhibition durch MAKs überlegen ist. Die Variabilität der Tumorzelle und die Beteiligung verschiedener RTKs im neoplastischen Prozess scheint ursächlich für eine zunehmend komplexe Problematik<sup>459</sup>.



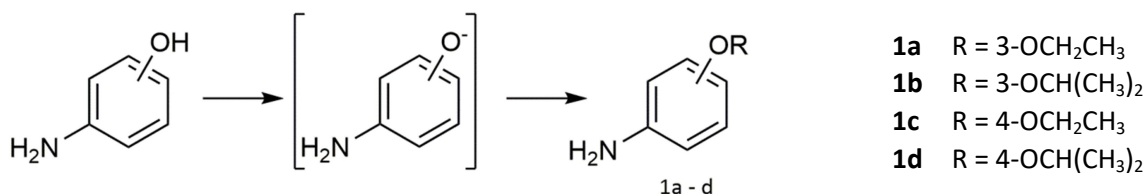
Die gastrointestinalen Tumoren bzw. deren Therapieresistenz stehen ebenfalls im engen Zusammenhang zu IGF/IGF-1R-vermittelten Signalkaskaden. So sind Magentumoren höheren Progressionsgrads aufgrund von Chemotherapeutikaresistenz mit schlechter Prognose verbunden, welches u.a. durch erhöhte Expression von IGF-1R und Bcl-2 begründet sein kann. So führt in Cisplatin-resistenten Magentumorzelllinien die verminderte Entstehung von miR-503 zu reduziertem *Silencing* der mRNA, welche für IGF-1R und Bcl-2 kodiert. Es resultieren Cisplatin-resistente Magentumoren durch gesteigerte Aktivität der Überlebenskaskaden<sup>460</sup>. Ein ähnlicher Mechanismus konnte auch für Leberkarzinome belegt werden<sup>461</sup>. Einen populationsbasierten Resistenzmechanismus zeigen die Untersuchungen von VOLKOVA *et al.*, welche den Zusammenhang zwischen erhöhter Serumkonzentration von Glukose, Insulin und IGF und schlechterem Patienten-*Outcome* für übergewichtige Darmkrebspatienten zeigen. So konnte für die Kombination aus erhöhtem IGF und tendenziell unterdosierter Chemotherapie, welche übergewichtige Patienten häufig betrifft, eine Korrelation für erhöhtes Tumorzellüberleben dokumentiert werden<sup>462</sup>. Im Weiteren scheint IGF-1R über die PI3K/Akt-Signalkaskade an der Expression von MRP-2 (einem *Multi-Drug-Efflux-Transporter*) beteiligt, sodass Modulation der IGF-1R-Aktivität Erhöhung der Wirkstoffkonzentration in Kolorektalkarzinomzellen bewirken konnte<sup>463</sup>. Für Pankreaskarzinome kann ebenfalls Therapieresistenz durch IGF-1R-Signalaktivität belegt werden. So ließ sich die Wirkung von Gemcitabin bzw. eine vorhandene Resistenz *in vitro* durch IGF-1R-*knock-down* verbessern, welches vermutlich auf Inhibition der PI3K/Akt-Signalkaskade beruht<sup>464</sup>. Weiterhin wird in Pankreastumoren Resistenz häufig über mutiertes K-Ras vermittelt, welches über *Feedback*-Aktivierung den IGF-1R/Ras/ERK-Weg moduliert und so zusätzliche Überlebenssignale erzeugt. Daraus resultierend kann K-Ras-vermittelte Resistenz gegen z.B. Everolimus potenziell durch IGF-1R-Inhibition unterbunden werden<sup>465</sup>.

Analog Beobachtungen bei Lungentumoren kann für Kopf-Hals-Tumoren ebenfalls Therapieresistenz gegen EGFR-Inhibition durch Erhöhung der IGF-1R-Signalaktivität nachgewiesen werden. Dadurch ergeben sich für postoperative adjuvante Chemotherapien oftmals schlechte RR, welche den Nutzen in Frage stellen<sup>466, 467</sup>. Bei HNSCC wird durch regulatorische Aktivierung von Akt/ERK über IGF-1R die Effektivität einer EGFR-Inhibition herabgesetzt<sup>468</sup>, lässt sich aber bei dualer Hemmung von IGF-1R und EGFR deutlich verbessern<sup>469</sup>. Auch für Histon-Deacetylase-Inhibitoren und Radiotherapie bei Kopf-Hals-Tumoren wurde Resistenzüberwindung durch IGF-1R-Inhibition festgestellt<sup>470</sup>.

Resistenz auf Strahlungs- und Chemotherapie, welche aufgrund der Lokalisation häufig die verbleibenden Optionen bei ZNS-Tumoren sind, scheint ebenfalls verbunden mit der IGF/IGF-1R-Signalachse<sup>471</sup>. Tumorstammzellen mit Überexpression von IGF und IGF-1R können aufgrund der autokrinen Aktivierung eines Akt-Überlebenssignals therapieresistent auf Strahlung reagieren. Eine Resensitivierung des Tumorgewebes unter IGF-1R-Inhibition konnte dokumentiert werden<sup>472</sup>. Für Temozolomid-resistente Gliome konnte ebenfalls ein IGF-1-abhängiger Resistenzmechanismus gefunden werden<sup>473</sup>. Interessanterweise ist IGFBP-2, welches in 80 % aller Gliome überexprimiert vorliegt, an einem IGF-unabhängigen Resistenzweg gegen Chemotherapeutika beteiligt und begünstigt zusätzlich Proliferation und Invasion<sup>474</sup>. Im Weiteren zeigt dieses aber auch, dass die IGF-Signalachse, neben der Verbindung zu weiteren RTKs, schon durch das eigene Signalnetzwerk höchst komplex ist. Eine klinische Bewertung erfordert damit umfassende Betrachtungen.

### Synthese Alkoxyaniline

Zur Verwendung als Nucleophile innerhalb der Substitutionsreaktion mit 6-Chlorpyrimidin-2,4-diamin wurden verschiedene Alkoxyaniline aus 3- und 4-Hydroxyanilin synthetisiert<sup>475</sup>. Die Veretherung erfolgte vor weiterer Umsetzung, da die Reaktion von 3- und 4-Hydroxyanilin, aufgrund der Bifunktionalität der phenolischen Alkoholgruppe und der aromatischen Aminfunktion, die Bildung von *N*-nucleophilen und *O*-nucleophilen Reaktionsprodukten ermöglicht hätte. Unter Verwendung von Kalium-*tert*-butanolat als sterisch gehinderte Base wurde die phenolische Alkoholfunktion im aprotischen Lösungsmittel DMF deprotoniert. Die resultierende Steigerung der Reaktivität als Nucleophil führte zu bevorzugter *O*-Alkylierung bei Umsetzung mit Alkylhalogeniden (vgl. Abbildung).



Synthese alkoxy-substituierter Aniline. Reagenzien und Bedingungen:

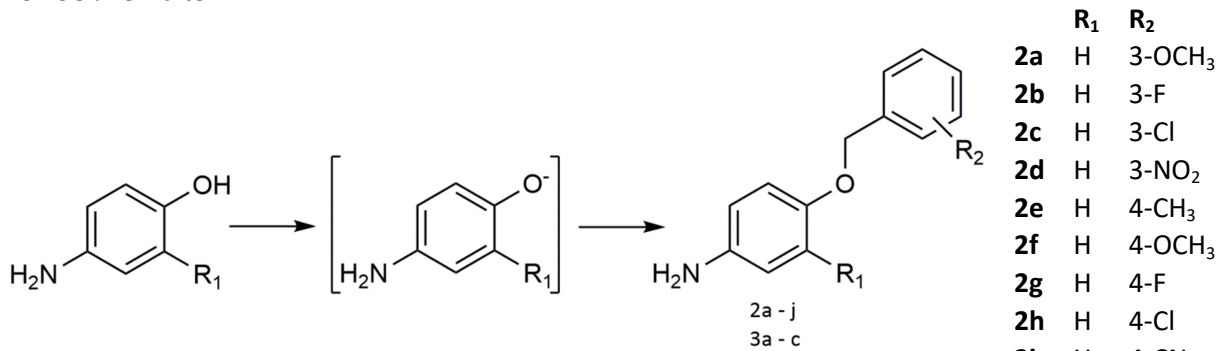
1,0 eq. Alk-Br; 1,2 eq. *t*-BuOK; DMF; r.t.; 2 - 4 h

Verwendet wurden Bromalkane, da vergleichbare Chloralkane unreaktiver sind. Die Umsetzung von verzweigten Bromalkanen war durch längere Reaktionszeiten bei Raumtemperatur gekennzeichnet. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Reinigung wurden die Produkte als gelbe Öle in Ausbeuten zwischen 80 und 88 % erhalten und als solche weiterverwendet. Die allgemeine Arbeitsvorschrift ist im Abschnitt 5.1.2.2 als AAV 3 beschrieben.

### Synthese Benzyloxyaniline

Ähnlich den zuvor beschriebenen Alkoxyanilinen mussten die substituierten Benzyloxyaniline vor ihrer Umsetzung als Substituent synthetisiert werden, da die bifunktionale Reaktivität von 4-Aminophenol bzw. 4-Amino-2-chlorphenol keinen direkten Einsatz als selektiv reagierendes Agens ermöglicht. Substituierte Benzyloxyaniline wurden als Reaktanden gewählt, um wesentliche Vergrößerung des 4-Substituenten am 2-Amino-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]indol-6-ol zu gewährleisten. Gleichmaßen mussten die gewählten Derivatisierungen ausreichende Stabilität aufweisen, um sowohl nachfolgende nucleophile Substitution als auch die Bedingungen der abschließenden NENITZESCU-Reaktion unverändert zu überstehen. Aus diesem Grund wurden substituierte Benzyloxygruppierungen verwendet, welche als übliche Schutzgruppen in ihrer Stabilität unter diversen Reaktionsbedingungen gut belegt sind<sup>476</sup>. Die Synthese der Benzyloxyaniline erfolgte, analog den Alkoxyanilinen, nach AAV 3<sup>475</sup>. Als Elektrophile wurden substituierte Benzylhalogenide verwendet und 4-Aminophenol bzw. 4-Amino-2-chlorphenol als Nucleophile (vgl. Abbildung). Aufgrund der guten Reaktivität und Bifunktionalität durfte sowohl kein Überschuss der Benzylhalogenide als auch keine Erweiterung der Reaktionszeit über 2 h stattfinden, da ansonsten vermehrte Bildung von disubstituierten Produkten stattfand. Nach Aufarbeitung und säulenchromatographischer Trennung der Reaktionsansätze wurden die Produkte als gelbe bzw.

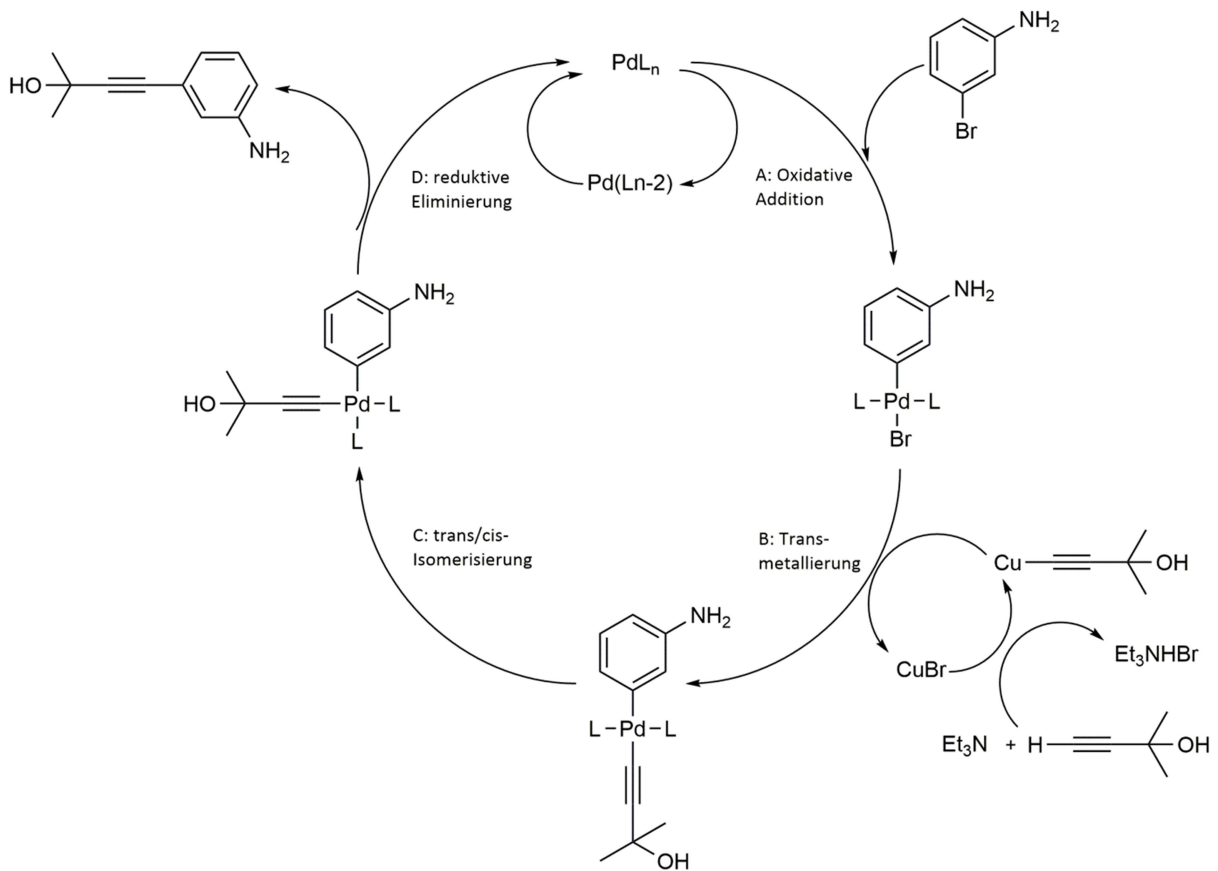
rötliche (Verwendung von 4-Aminophenol bzw. 4-Amino-2-chlorphenol) Öle in Ausbeuten von 73 - 98 % erhalten.



Synthese substituierter Benzyloxyaniline. Reagenzien und Bedingungen:  
1,0 eq. subst. Bn-Hal; 1,2 eq. *t*-BuOK; DMF; r.t.; 2 h

### Synthese Ethinylaniline

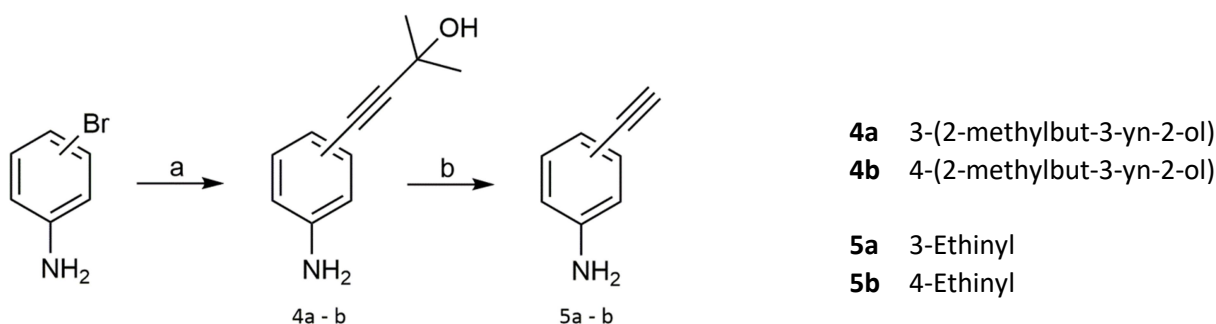
Da 3- und 4-Ethinylanilin als Substituenten der 4-Position der 2-Amino-9*H*-pyrimido[4,5-*b*]-indol-6-ole geplant waren, wurden entsprechende Reagenzien in Eigensynthese dargestellt. Für die Synthese von 3-Ethinylanilin<sup>477</sup> wurde im Sinne einer SONOGASHIRA-Kupplung<sup>478</sup> 3-Bromoanilin und 2-Methyl-3-butyn-2-ol umgesetzt (vgl. Abbildung).



Synthese ethinylsubstituierter Aniline über SONOGASHIRA-Kupplung

Das eingesetzte Triphenylphosphin bzw. auch das eingesetzte basische Lösungsmittel reduzieren in situ Palladium(II)acetat zum später katalytisch aktiven Palladium(0), welches

nachfolgend über oxidative Addition (**A**) mit 3-Bromoanilin zu einem Organometallkomplex reagiert. Andererseits wird durch katalytisch wirksames Kupfer(I)iodid und eingesetztes basisches Lösungsmittel unter Deprotonierung des endständigen aziden Ethinylprotons eine Kupferethinylverbindung gebildet. An dieser Stelle ist ersichtlich, dass aufgrund der Bifunktionalität kein Ethin eingesetzt werden konnte, sondern ein einseitig geschütztes Analog wie 2-Methyl-3-butyn-2-ol nötig war. Nachfolgend wird der ethinylartige Rest in einer Transmetallierung (**B**) auf das Palladiumorganyl übertragen. Der quadratisch angeordnete Palladiumkomplex isomerisiert dann wahrscheinlich so, dass die zu kuppelnden organischen Reste *cis*-ständig lokalisiert sind (**C**). Abschließende reduktive Eliminierung (**D**) überträgt den einseitig geschützten Ethinylsubstituenten auf das Anilin. Das beigefarbene Zwischenprodukt 4-(3-Aminophenyl)-2-methylbut-3-yn-2-ol wurde nach Aufarbeitung in einer Ausbeute von 39 % erhalten. Im Anschluss wurde unter basischen Bedingungen und Hitzeeinwirkung die Schutzgruppe des Ethinylsubstituenten entfernt. Nach Aufarbeitung konnte das reine 3-Ethinylanilin durch Vakuumdestillation als farblose Flüssigkeit in einer Ausbeute von 94 % erhalten werden.



Synthese von 3- bzw. 4-Ethinylanilin. Reagenzien und Bedingungen:  
 (a) 1,2 bzw. 2,0 eq. Methyl-3-butyn-2-ol; Pd(Ac<sub>2</sub>); Ph<sub>3</sub>P; Cu(I)I; Et<sub>3</sub>N bzw. Et<sub>2</sub>NH;  
 reflux; 7 h bzw. 2 d (b) KOH; Toluol; reflux; 3 h bzw. 9 h

Das analoge 4-Ethinylanilin wurde unter ähnlichen Reaktionsbedingungen erzeugt<sup>479</sup>, jedoch mussten sowohl geschütztes Zwischenprodukt als auch 4-Ethinylanilin säulenchromatographisch aufgereinigt werden. Eine endständige Vakuumdestillation war aufgrund mangelnder Flüchtigkeit von 4-Ethinylanilin nicht möglich. Einer schlechteren Reaktivität der 4-substituierten Ethinylsterivate wurde versucht durch verlängerte Reaktionszeiten und erhöhte Katalysatormengen entgegenzuwirken, welches nicht erfolgreich war. So resultierten für die geschützten Zwischenprodukte **4a** 39 % bzw. **4b** 20 % und für die gewünschten Aniline **5a** 94 % bzw. **5b** 56 % Ausbeute.

### <sup>1</sup>H-NMR-Untersuchungen synthetisierter Aniline und Benzyloxyaniline

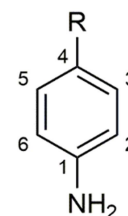
Da die eigens synthetisierten subst. Aniline bzw. Benzyloxyaniline unverändert als Substituenten für Zielverbindungen genutzt wurden, ist der explizite Strukturnachweis über <sup>1</sup>H-NMR-Spektren relevant für die spätere Strukturaufklärung der substituierten Zielstrukturen. Allen synthetisierten Anilinen gemein ist, dass ein Großteil der Protonen zur Strukturbewertung aromatisch ist und diese infolge des Ringstrom-induzierten Magnetfelds stärker entschirmt sind. Daraus resultiert eine Verschiebung der Resonanzsignale ins Tieffeld. Die Lokalisation von Ringsubstituenten wird größtenteils über die spezifischen Kopplungsmuster der aromatischen

Protonen belegt. Der Nachweis der Substituenten am Anilinring über Resonanzsignale bzw. deren Integrale und Kopplungsmuster findet v.a. im Hochfeld statt, da die Protonen dort wesentlich stärker abgeschirmt sind. Des Weiteren wird die Identität der synthetisierten Verbindungen über Daten aus Massenspektrometrie, Infrarotspektroskopie und tlw.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Messungen belegt.

Bei den eigens synthetisierten substituierten Anilinen lassen sich im Wesentlichen zwei Fälle unterscheiden und zwar *meta*- und *para*-substituierte Aniline. Die *para*-substituierten Aniline sind rotationssymmetrisch, dadurch reduziert sich die Anzahl der aromatischen Protonenresonanzsignale auf zwei, wobei jedes Signal zwei magnetisch äquivalente Protonen präsentiert und somit einen Integral von 2 erhält. So ergibt sich für H-2 und H-6 bzw. für H-3 und H-5 jeweils ein Signal. Beide Signale wiederum treten i.d.R. als Dubletts auf, da sie mit dem jeweils *ortho*-ständigen Proton, also über 3 Molekülbindungen, koppeln. Dabei ergeben sich Kopplungskonstanten im Bereich von  $^3J = 8,6 - 8,8$  Hz (vgl. Tabelle). Je nach Auflösung sind tlw. auch Fernkopplungen mit dem *meta*-ständigen Äquivalentproton, also über 4 Molekülbindungen, zu beobachten. Die Signalstruktur wird dadurch per se zu einem Doppeldublett, welches aufgrund unzureichender Auflösung z.T. als Tripletts erscheint. Im Bereich zwischen 3,50 - 5,00 ppm findet man breite Resonanzsignale mit Integralen von 2, welche durch die primäre Aminofunktion entstehen. Die Tabelle enthält vergleichend die genannten Signalstrukturen der *para*-substituierten Aniline aus Eigensynthese. Die komplette Signaldarlegung erfolgt in den Einzelcharakterisierungen der Substanzen.

Darstellung charakteristischer Daten  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren 1,4-substituierter Aniline

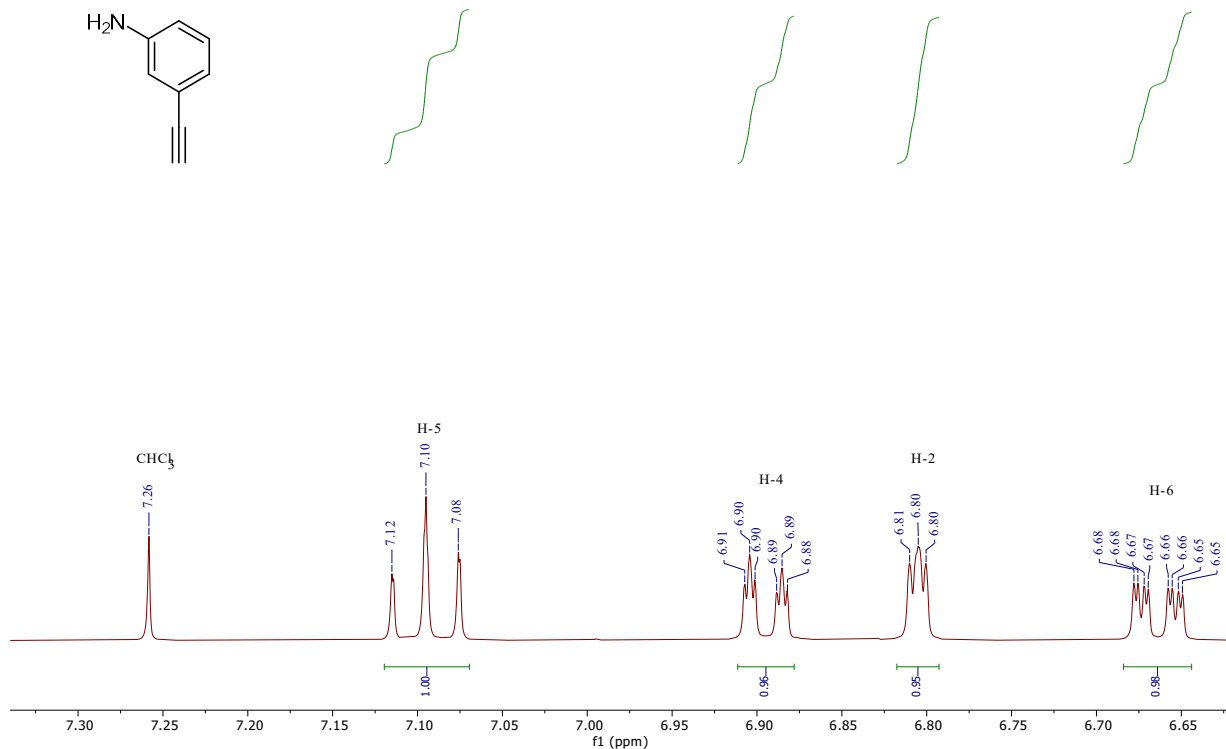
Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm		
	Pos. 1	Pos. 2/6	Pos. 3/5
<b>1c<sup>#</sup></b>	4,54 (br)	6,61 (d) $^3J_{2/3}$ bzw. $^3J_{6/5} = 8,8$ Hz	6,48 (d) $^3J_{3/2}$ bzw. $^3J_{5/6} = 8,8$ Hz
<b>1d<sup>#</sup></b>	4,52 (br)	6,59 (d) $^3J_{2/3}$ bzw. $^3J_{6/5} = 8,8$ Hz	6,45 (d) $^3J_{3/2}$ bzw. $^3J_{5/6} = 8,8$ Hz
<b>4b<sup>†</sup></b>	3,77 (br)	7,22 (d) $^3J_{2/3}$ bzw. $^3J_{6/5} = 8,6$ Hz	6,59 (d) $^3J_{3/2}$ bzw. $^3J_{5/6} = 8,6$ Hz
<b>5b<sup>†</sup></b>	3,82 (br)	7,31 (d) $^3J_{2/3}$ bzw. $^3J_{6/5} = 8,6$ Hz	6,61 (d) $^3J_{3/2}$ bzw. $^3J_{5/6} = 8,6$ Hz



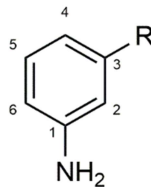
<sup>#</sup> aufgenommen in DMSO-d6; <sup>†</sup> aufgenommen in CDCl<sub>3</sub>

Die Resonanzsignale der Anilinsubstituenten für 3- bzw. 4-substituierte Verbindungen sind i.d.R. bei ähnlichen chemischen Verschiebungen zu finden, da die Lokalisation am Aromaten geringen Einfluss auf die Schirmung des Substituenten ausübt. Hingegen verändert sich die Struktur der Protonenresonanzsignale vollständig, da nun vier magnetisch unterschiedliche Protonen Signale geben (vgl. Abbildung). Bei den *meta*-substituierten Anilinen findet man Protonen in Position 2 häufig als Singulett, jedoch sind auch Fernkopplungen ( $^4J = 2,2 - 2,4$  Hz) mit H-4 und H-6 tlw. zu beobachten. Entsprechend kann sich für H-2 auch ein Tripletts ergeben oder bei komplexeren Kopplungen ein Multiplett. Je nach Auflösung der Fernkopplungen treten H-4 und H-6 im Umkehrschluss als Dubletts auf, nur koppelnd mit H-5 und Kopplungskonstanten von  $^3J = 7,6 - 8,2$  Hz, oder werden durch Fernkopplungen in Signale höherer Ordnung gespalten. Im Beispielspektrum ist H-6 durch zusätzliche Fernkopplungen mit H-2 ( $^4J = 2,5$  Hz) und H-4 ( $^4J = 1,0$  Hz) als ddd erkennbar. H-4 erscheint optisch als td durch zusätzliche Fernkopplungen mit H-2 und H-6 ( $^4J \approx 1,2$  Hz). Üblicherweise sind die beobachteten Kopplungskonstanten der Fernkopplungen im Bereich von  $^4J = 1,0 - 2,5$  Hz.

Verbindung 5a

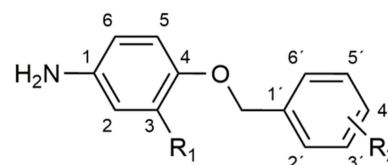
Auszug  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum Verbindung **5a** in  $\text{CDCl}_3$  (400 MHz)

H-5 tritt i.d.R. als Triplet mit Kopplungskonstanten von  $^3J = 7,6 - 8,2$  Hz auf. So ergibt sich für H-5 durch Nahkopplung mit H-4 und H-6 im Beispielspektrum ein Triplet bei 7,10 ppm mit einer Kopplungskonstante von  $^3J = 7,6$  Hz. Je nach Art des Substituenten und daraus resultierender magnetischer Veränderung, kann das Triplet symmetrisch sein oder durch ungleiche Kopplungskonstanten leicht verschoben wirken. Die Signale der *meta*-substituierten Aniline sind in der folgenden Tabelle gezeigt.

Darstellung charakteristischer Daten  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrern 1,3-substituierter Aniline

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm				
	Pos. 1	Pos. 2	Pos. 4	Pos. 5	Pos. 6
<b>1a<sup>#</sup></b>	4,97 (br)		6,10 - 6,13 (m)	6,86 (t) $^3J_{5/4-6} = 8,2$ Hz	6,04 (d) $^3J_{6/5} = 8,2$ Hz
<b>1b<sup>#</sup></b>	4,94 (br)		6,08 - 6,11 (m)	6,85 (t) $^3J_{5/4-6} = 8,2$ Hz	6,03 (ddd) $^3J_{6/5} = 8,2$ Hz $^4J_{6/2} = 2,3$ Hz $^4J_{6/4} = 1,0$ Hz
<b>4a<sup>†</sup></b>	3,64 (br)	6,74 (m)	6,82 (ddd) $^3J_{4/5} = 7,6$ Hz $^4J_{4/2} = 1,5$ Hz $^4J_{4/6} = 1,0$ Hz	7,08 (t) $^3J_{5/4-6} = 8,0$ Hz	6,63 (ddd) $^3J_{6/5} = 8,1$ Hz $^4J_{6/2} = 2,4$ Hz $^4J_{6/4} = 1,0$ Hz
<b>5a<sup>†</sup></b>	3,67 (br)	6,81 (m)	6,90 (td) $^3J_{4/5} = 7,6$ Hz $^4J_{4/2-6} = 1,2$ Hz	7,10 (t) $^3J_{5/4-6} = 7,6$ Hz	6,67 (ddd) $^3J_{6/5} = 8,0$ Hz $^4J_{6/2} = 2,5$ Hz $^4J_{6/4} = 1,0$ Hz

<sup>#</sup> aufgenommen in DMSO-d<sub>6</sub>; <sup>†</sup> aufgenommen in  $\text{CDCl}_3$



Darstellung charakteristischer Daten <sup>1</sup>H-NMR-Spektren benzyloxysubstituierter Aniline

Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm					
	Pos. 2/6	Pos. 3/5	Pos. 2'	Pos. 4'	Pos. 5'	Pos. 6'
<b>2a<sup>#</sup></b>	6,48 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,8 Hz	6,69 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,8 Hz	6,95 (m)	6,84 (dd) <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,0 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'-6'</sub> = 2,3 Hz	7,26 (t) <sup>3</sup> J <sub>5'/4'-6'</sub> = 7,9 Hz	6,95 (m)
<b>2b<sup>#</sup></b>	6,49 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,8 Hz	6,70 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,8 Hz	7,21 (m)	7,10 (dt) <sup>3</sup> J <sub>4'/5'-F</sub> = 8,5 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'-6'</sub> = 2,2 Hz	7,39 (dt) <sup>3</sup> J <sub>5'/4'-6'</sub> = 7,8 Hz <sup>4</sup> J <sub>5'/F'</sub> = 6,3 Hz	7,21 (m)
<b>2c<sup>#</sup></b>	6,48 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,8 Hz	6,69 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,8 Hz	7,24 (m)	7,18 (dd) <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 7,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'-6'</sub> = 1,3 Hz	7,31 (t) <sup>3</sup> J <sub>5'/4'-6'</sub> = 7,6 Hz	7,24 (m)
<b>2d<sup>#</sup></b>	6,49 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,9 Hz	6,70 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,9 Hz	8,18 (t) <sup>4</sup> J <sub>2'/4'-6'</sub> = 1,8 Hz	8,05 (ddd) <sup>3</sup> J <sub>4'/5'</sub> = 8,2 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/2'</sub> = 2,4 Hz <sup>4</sup> J <sub>4'/6'</sub> = 1,0 Hz	7,59 (t) <sup>3</sup> J <sub>5'/4'-6'</sub> = 7,9 Hz	7,79 (ddd) <sup>3</sup> J <sub>6'/5'</sub> = 7,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/2'</sub> = 1,6 Hz <sup>4</sup> J <sub>6'/4'</sub> = 1,0 Hz
	Pos. 2/6	Pos. 3/5	Pos. 2'/6'		Pos. 3'/5'	
<b>2e<sup>#</sup></b>	6,47 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,7 Hz	6,66 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,7 Hz	7,20 (d) <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,0 Hz		7,08 (d) <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,0 Hz	
<b>2f<sup>#</sup></b>	6,48 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,7 Hz	6,68 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,7 Hz	7,31 (d) <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,6 Hz		6,90 (d) <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,6 Hz	
<b>2g<sup>#</sup></b>	6,49 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,8 Hz	6,69 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,8 Hz	7,35 (m)		7,09 (m)	
<b>2h<sup>#</sup></b>	6,48 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,9 Hz	6,69 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,9 Hz	7,33 (m)		7,33 (m)	
<b>2i<sup>#</sup></b>	6,48 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,8 Hz	6,69 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,8 Hz	7,51 (d) <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,5 Hz		7,34 (d) <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,5 Hz	
<b>2j<sup>#</sup></b>	6,50 (d) <sup>3</sup> J <sub>2-6/3-5</sub> = 8,9 Hz	6,70 (d) <sup>3</sup> J <sub>3-5/2-6</sub> = 8,9 Hz	7,59 (d) <sup>3</sup> J <sub>2'-6'/3'-5'</sub> = 8,9 Hz		8,15 (d) <sup>3</sup> J <sub>3'-5'/2'-6'</sub> = 8,9 Hz	

<sup>#</sup> aufgenommen in DMSO-d<sub>6</sub>

Für die Benzyloxyaniline ergeben sich analog Kombinationen der bisher erläuterten Signalstrukturen. Als zusätzlicher Bezugspunkt ergibt sich ein Singulett mit Integral für 2 Protonen für die Methylenbrücke, welche beide Aromaten miteinander verbindet. Aus Übersichtlichkeitsgründen werden die Resonanzsignale der Methylen- und der Aminogruppe nicht in der Tabelle aufgeführt. Die breiten Signale der Aminofunktion treten bei 4,57 - 4,63 ppm Verschiebung auf, während das Singulett der Methylengruppe bei 4,90 - 4,98 ppm auftritt. Als weiterer Spektrenfaktor ist der Fluorsubstituent in den Verbindungen **2b**, **2g** und **3a** zu betrachten, da dieser ein magnetisches Moment besitzt und somit Kopplungsvorgänge zusätzlich beeinflusst. Der Fluorsubstituent ist tlw. zu Kopplungen über mehrere Bindungen (<sup>3</sup>J, <sup>4</sup>J) befähigt. Für die Verbindungen **2a** - **2j** ergeben sich aufgrund der Rotationssymmetrie charakteristische Signalstrukturen für H-2 bzw. H-6 und H-3 bzw.

H-5. Im Spektrum sind zwei Dubletts im Bereich von 6,47 - 6,50 ppm und 6,66 - 6,70 ppm mit Kopplungskonstanten  $^3J = 8,7 - 8,9$  Hz ersichtlich. Die Resonanzsignale der 4-(Benzyloxy)aniline sind der obigen Tabelle zu entnehmen und splitten sich in Signale für *meta*-substituierte- (Verbindungen **2a - d**) und *para*-substituierte Benzyloxyaromaten (Verbindungen **2e - h**).

Die Verbindungen **3a - 3c** mit zusätzlichen Chlorsubstituenten in Position 3 des benzyloxysubstituierten Anilins sind in der nächsten Tabelle dargestellt. Dabei verhalten sich die Resonanzsignale der Benzyloxyaromaten im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ähnlich ihren Analoga ohne zusätzlichen Chlorsubstituenten. Hingegen verändert sich die Signalstruktur des Anilins durch Einführung des Chlorsubstituenten. Durch Verlust der Rotationssymmetrie und eines Protonensignals ergeben sich drei typische Signale. H-2 erscheint im Spektrum bei 6,61 - 6,65 ppm als Dublett mit einer Kopplungskonstante von  $^4J = 2,6 - 2,7$  Hz, welche durch entsprechende Fernkopplung mit H-6 erzeugt wird. Das Proton an Position 5 des Anilins wird als Dublett mit einer Kopplungskonstante von  $^3J = 8,7 - 8,8$  Hz sichtbar, verursacht durch Kopplung mit H-6. So ergibt sich für H-6 durch Nahkopplung mit H-5 und Fernkopplung mit H-2 ein Doppeldublett bei 6,44 - 6,46 ppm.

Darstellung charakteristischer Daten  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren benzyloxysubstituierter Aniline mit 3-Chlorsubstituenten

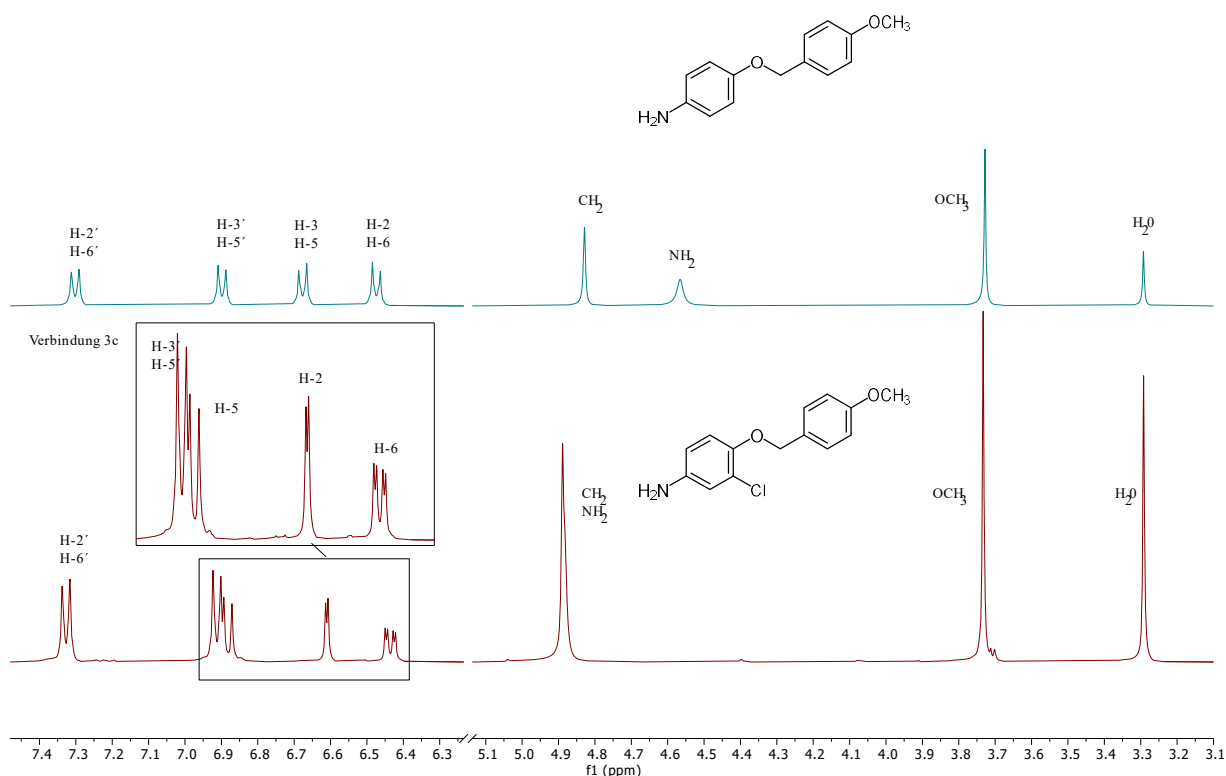
Verb.	Chemische Verschiebung $\delta$ in ppm						
	Pos. 2	Pos. 5	Pos. 6	Pos. 2'	Pos. 4'	Pos. 5'	Pos. 6'
<b>3a<sup>#</sup></b>	6,65 (d) $^4J_{2/6} = 2,7$ Hz	6,90 (d) $^3J_{5/6} = 8,8$ Hz	6,46 (dd) $^3J_{6/5} = 8,8$ Hz $^4J_{6/2} = 2,7$ Hz	7,21-7,26 (m)	7,12 (dt) $^3J_{4'/5'-F} = 8,5$ Hz $^4J_{4'/2'-6'} = 2,6$ Hz	7,40 (dt) $^3J_{5'/4'-6'} = 8,1$ Hz $^4J_{5'/F} = 6,2$ Hz	7,21-7,26 (m)
<b>3b<sup>#</sup></b>	6,63 (d) $^4J_{2/6} = 2,7$ Hz	6,89 (d) $^3J_{5/6} = 8,7$ Hz	6,45 (dd) $^3J_{6/5} = 8,7$ Hz $^4J_{6/2} = 2,7$ Hz	7,47 (t) $^4J_{2'/4'-6'} = 1,6$ Hz	7,35-7,38 (m)	7,40 (t) $^3J_{5'/4'-6'} = 7,4$ Hz	7,35-7,38 (m)
<b>3c<sup>#</sup></b>	6,61 (d) $^4J_{2/6} = 2,6$ Hz	6,88 (d) $^3J_{5/6} = 8,8$ Hz	6,44 (dd) $^3J_{6/5} = 8,8$ Hz $^4J_{6/2} = 2,6$ Hz	7,33 (d) $^3J_{2'-6'/3'-5'} = 8,6$ Hz		6,92 (d) $^3J_{3'-5'/2'-6'} = 8,6$ Hz	

<sup>#</sup> aufgenommen in DMSO-d6

Die zugehörige Abbildung zeigt zur Veranschaulichung eine Gegenüberstellung der Spektren der zwei Analogsubstanzen **2f** und **3c**. Dabei ist zu erkennen, dass die Signale für H-2' bzw. H-6' und H-3' bzw. H-5' unwesentlich verändert sind, ebenso wie das Resonanzsignal der *para*-substituierten Methoxygruppe. Hingegen verändert sich die Signalstruktur des Anilins grundlegend. Zusätzlich wird die Resonanz der Aminfunktion durch den Elektronenzug des zusätzlichen Chlorsubstituenten ins Tieffeld verschoben, während das Resonanzsignal der Methylenbrücke nur marginal beeinflusst wird. Ursächlich ist der „isolierende“ Effekt des Sauerstoffatoms und die folglich geringere Übertragung von negativ induktiven Effekten.

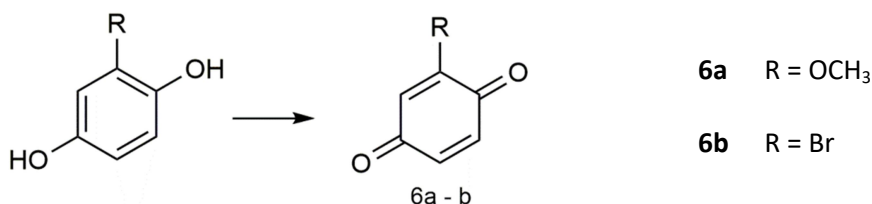


Verbindung 2f


 Auszüge  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (stacked) Verbindung **2f** (oben) und **3c** (unten) in  $\text{DMSO-d}_6$  (500 MHz)

### Synthese 2-substituierter 1,4-Benzochinone

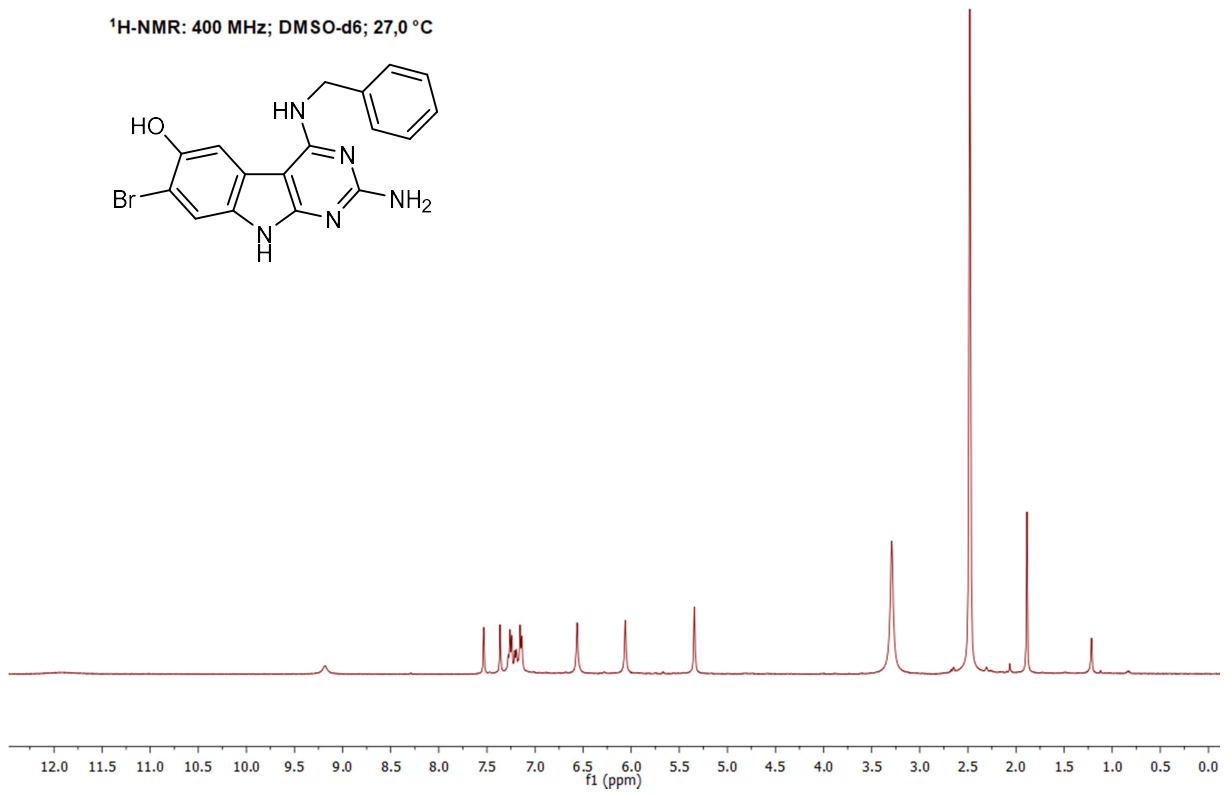
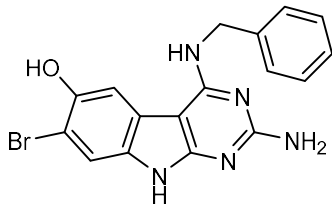
Aufgrund mangelnder kommerzieller Verfügbarkeit und chemischer Instabilität mussten die substituierten Benzochinone **6a - b** für die NENITZESCU-Reaktion in Eigensynthese dargestellt werden. Die Synthese erfolgte nach Literaturmethode<sup>480</sup> jeweils aus entsprechenden Hydrochinonen mit Natrium(*meta*)periodat als Oxidationsmittel in wässriger Lösung (vgl. Abbildung). Nach Rühren und gelegentlichem Umschütteln des Reaktionsansatzes für 1 h bei Raumtemperatur resultierte eine gelbe Lösung mit gelbem Präzipitat. Nach Extraktion mit Dichlormethan und Entfernung des organischen Lösungsmittels im Vakuum ergaben sich die Chinone als gelb-grüne Feststoffe in Ausbeuten > 98 %. Beide Produkte wurden direkt verwendet oder unter Argon bei  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  kurzzeitig gelagert.



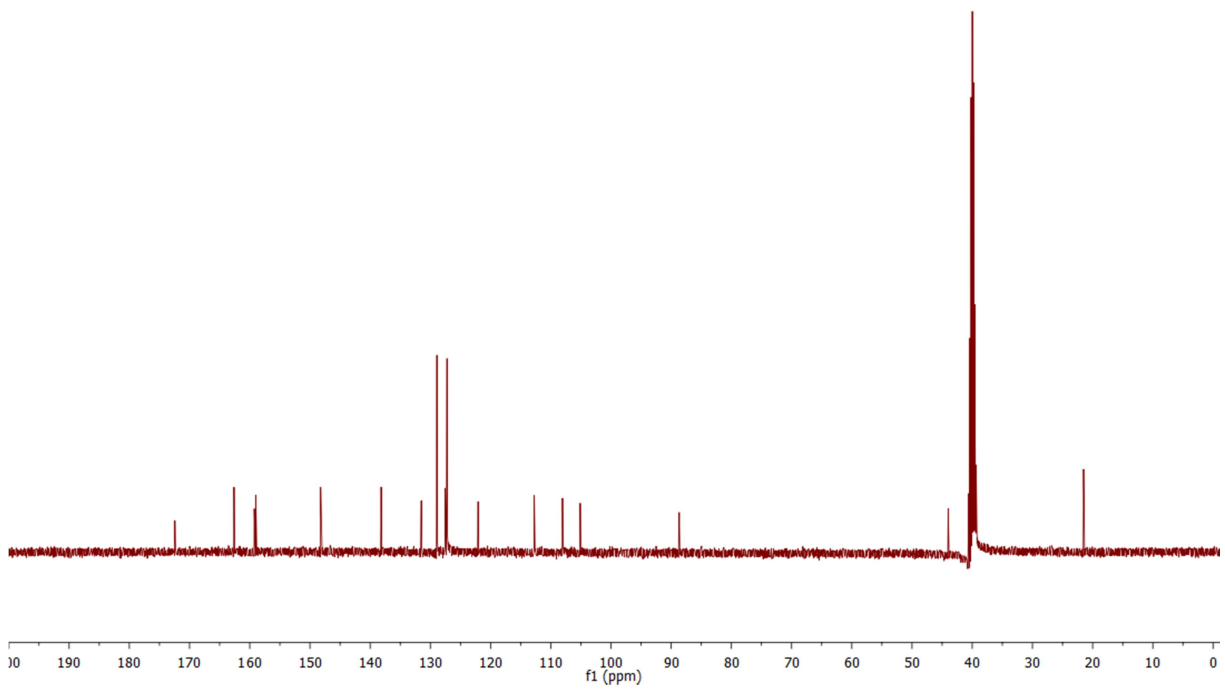
Synthese von 2-Methoxy- bzw. 2-Bromobenzochinon.  
 Reagenzien und Bedingungen: 3,3 eq.  $\text{NaIO}_4$ ; Wasser; r.t.; 1 h

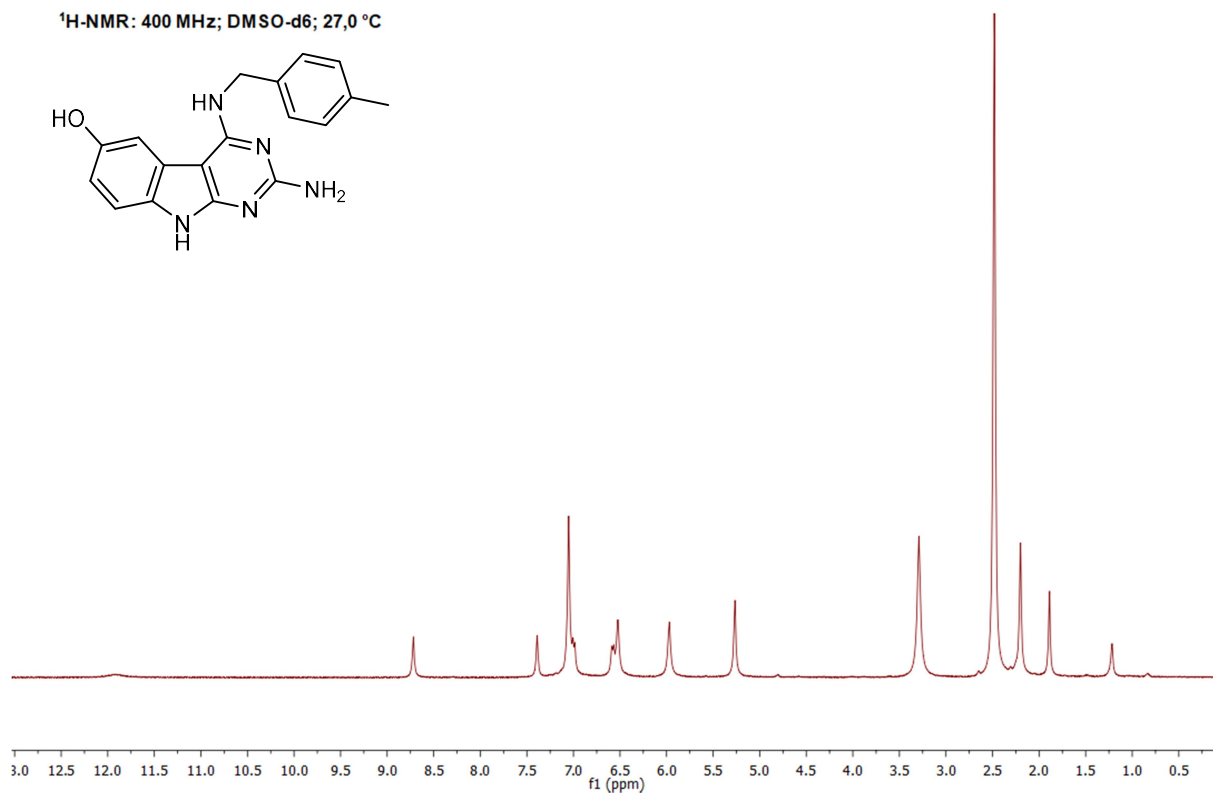
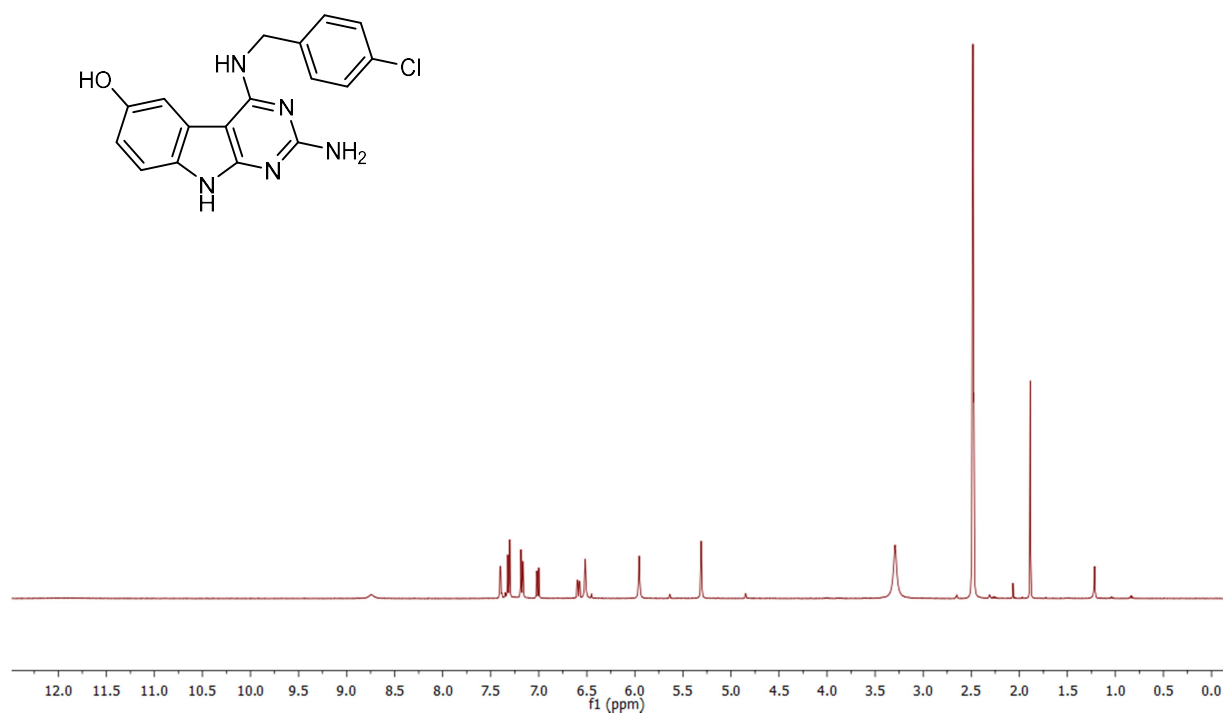
**2-Amino-4-(benzylamino)-7-bromo-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (26):**

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C



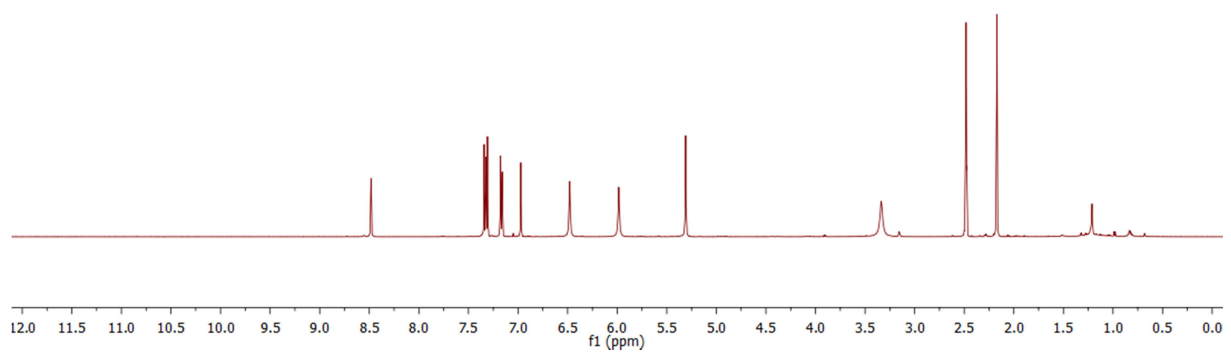
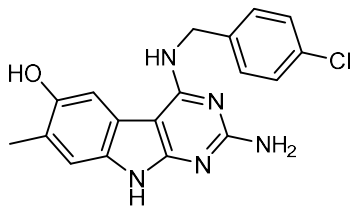
<sup>13</sup>C-NMR: 100 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C



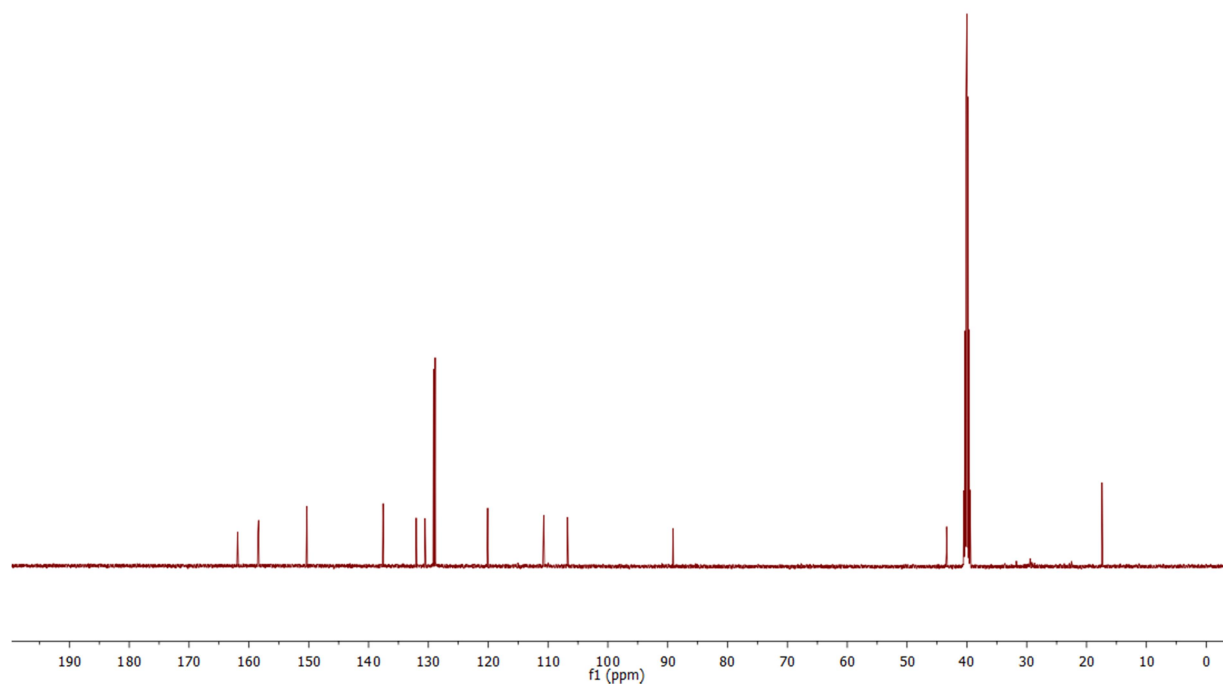
**2-Amino-4-((4-methylbenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (27):**<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C**2-Amino-4-((4-chlorobenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (29):**<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C

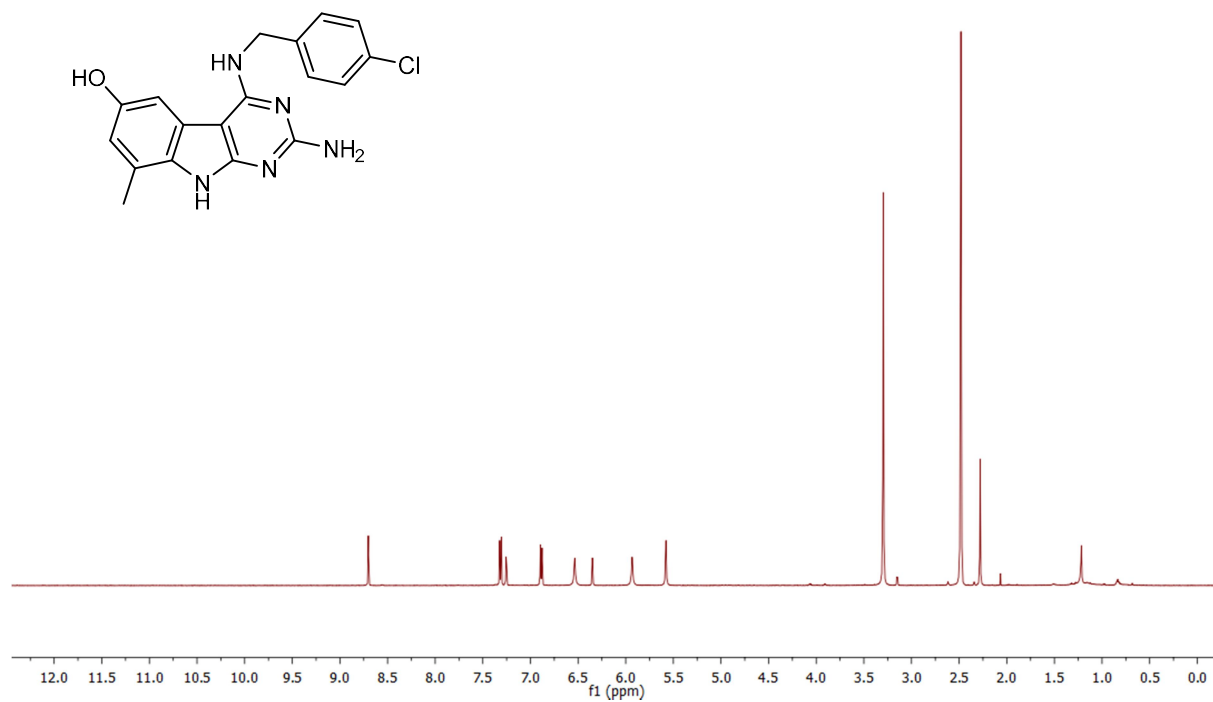
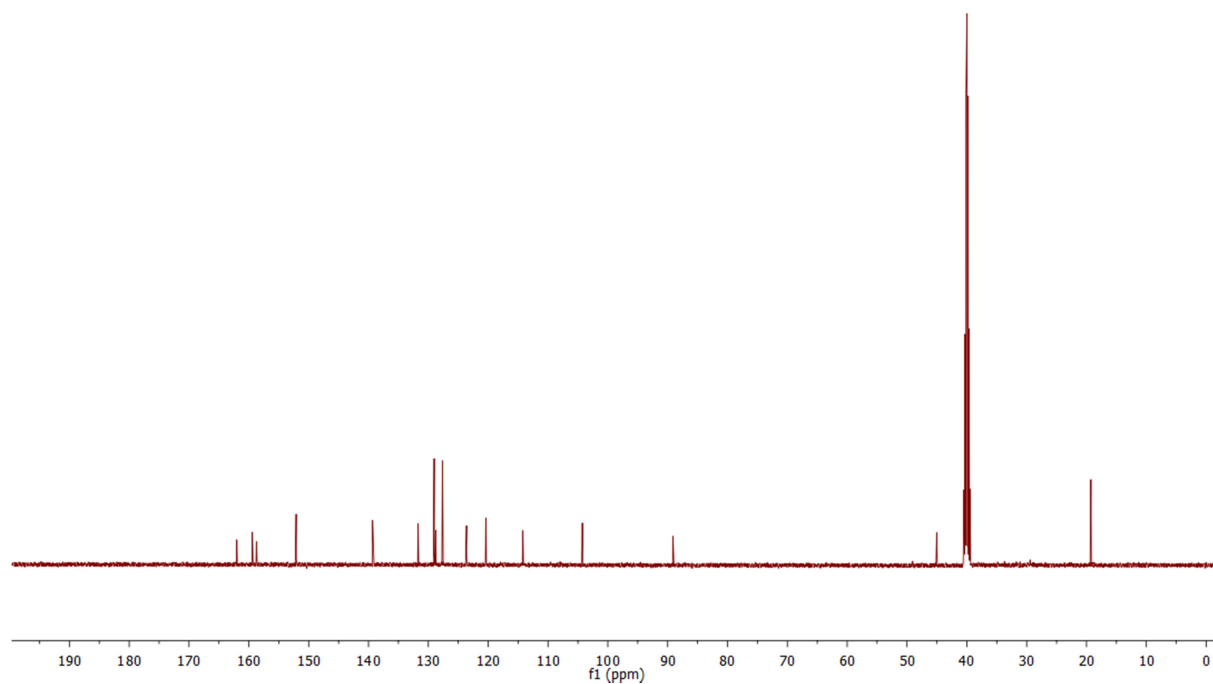
**2-Amino-4-((2-chlorobenzyl)amino)-7-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (29a):**

<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C



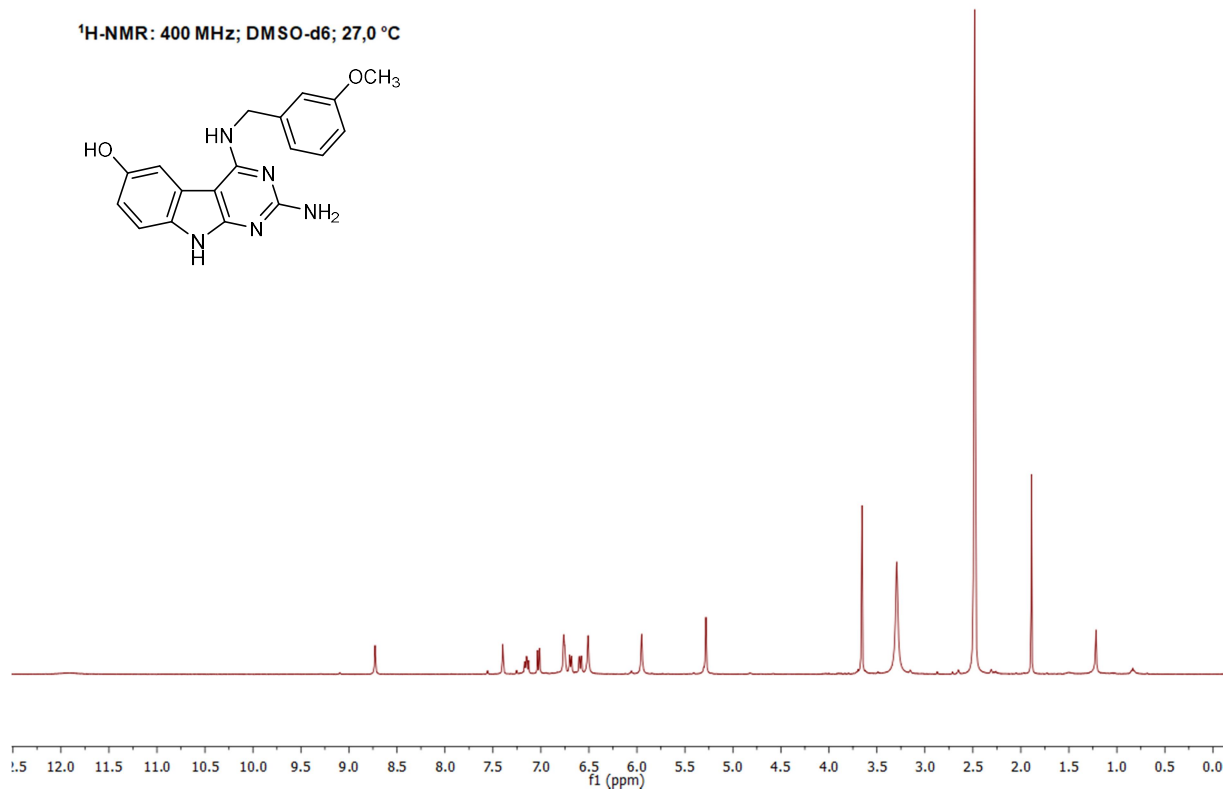
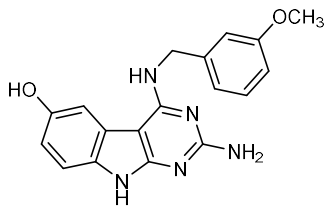
<sup>13</sup>C-NMR: 125 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C



**2-Amino-4-((4-chlorobenzyl)amino)-8-methyl-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (29b):**<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C<sup>13</sup>C-NMR: 125 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C

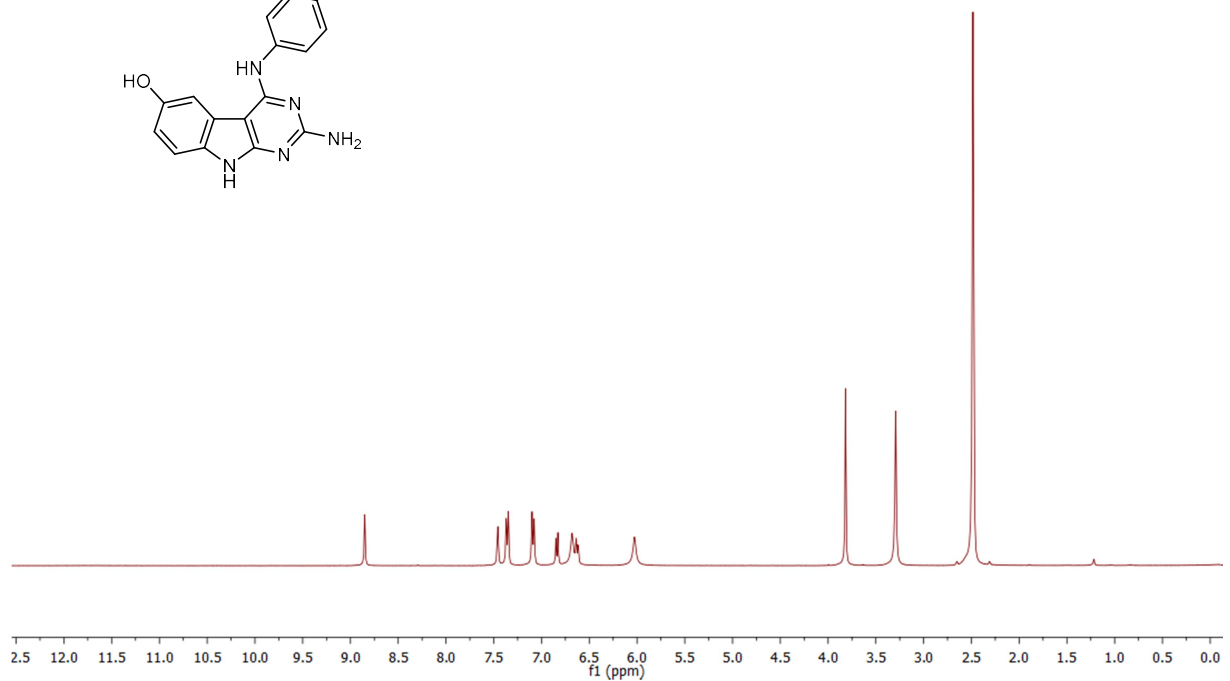
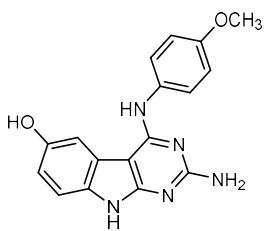
**2-Amino-4-((3-methoxybenzyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (34):**

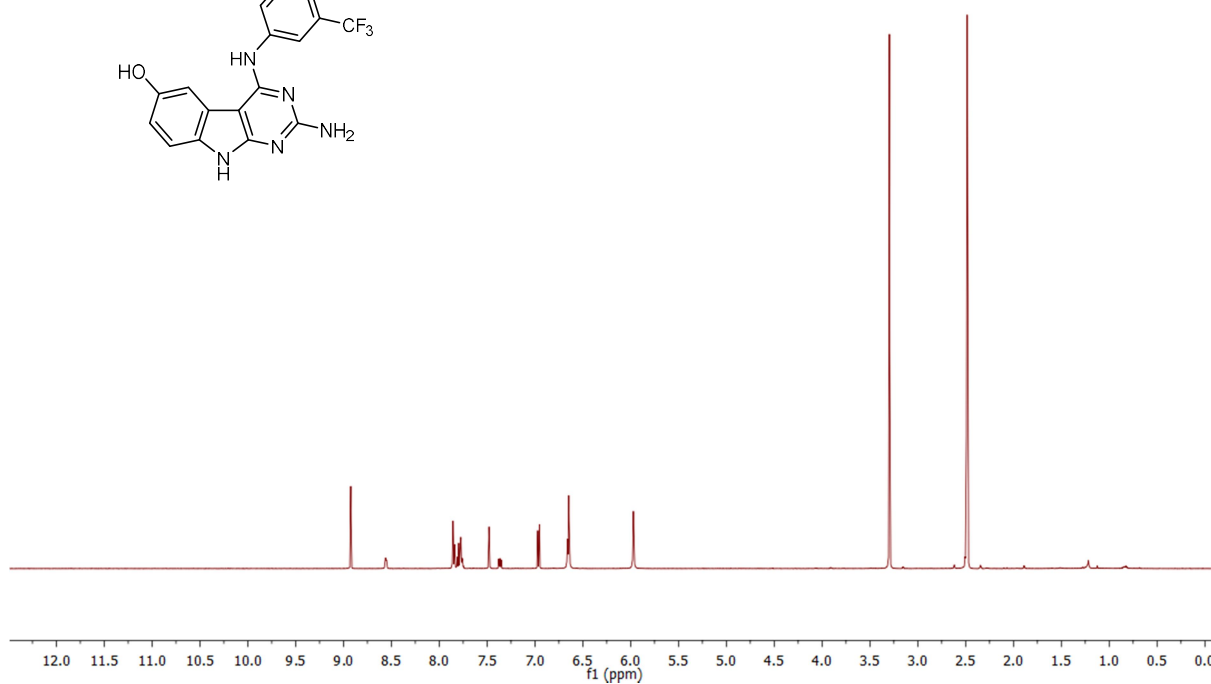
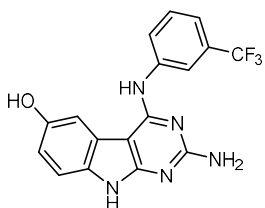
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C



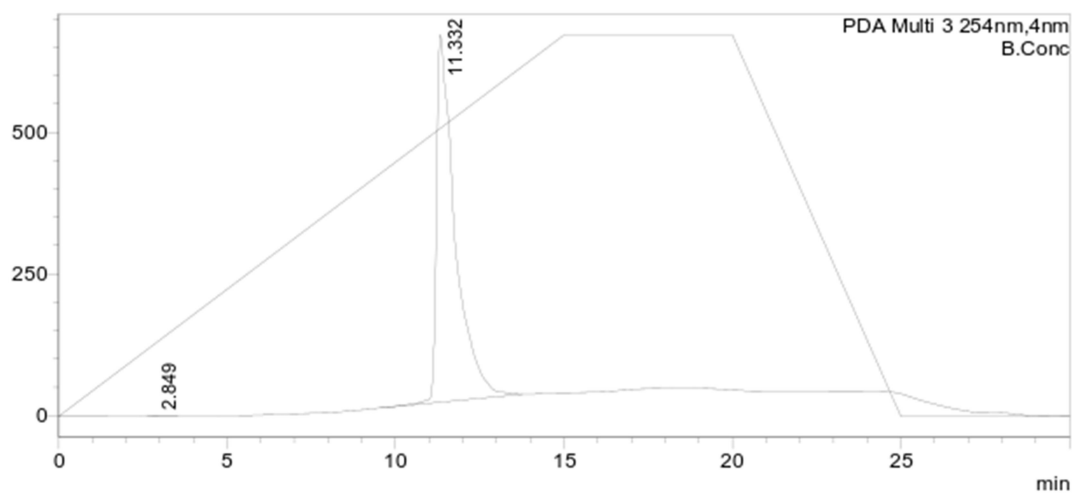
**2-Amino-4-((4-methoxyphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (44):**

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C



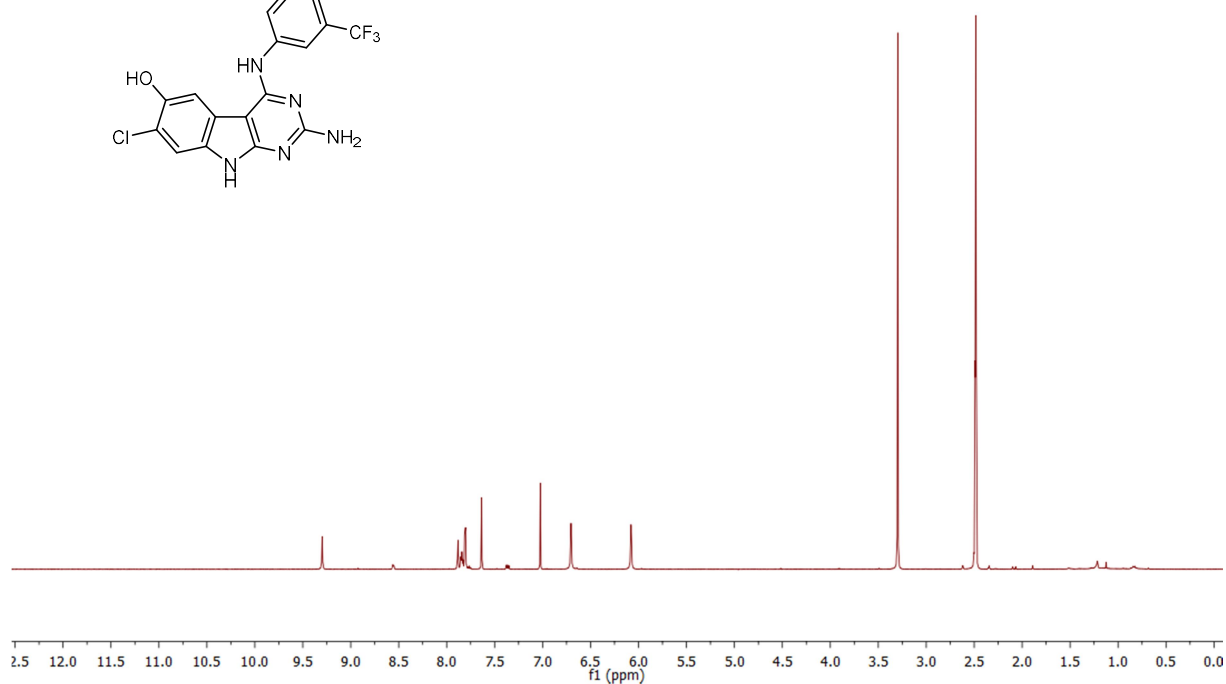
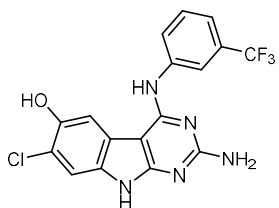
**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (47a):**<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C**<Chromatogram>**

mAU

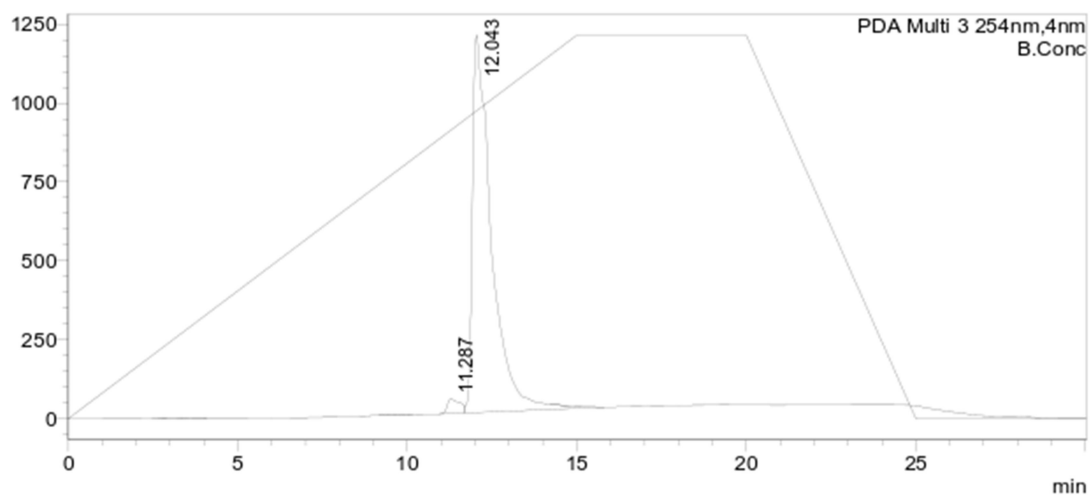
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	2.849	0.082	20337	945
2	11.332	99.918	24909829	648093
Total		100.000	24930166	649039

**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (47b):**<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C**<Chromatogram>**

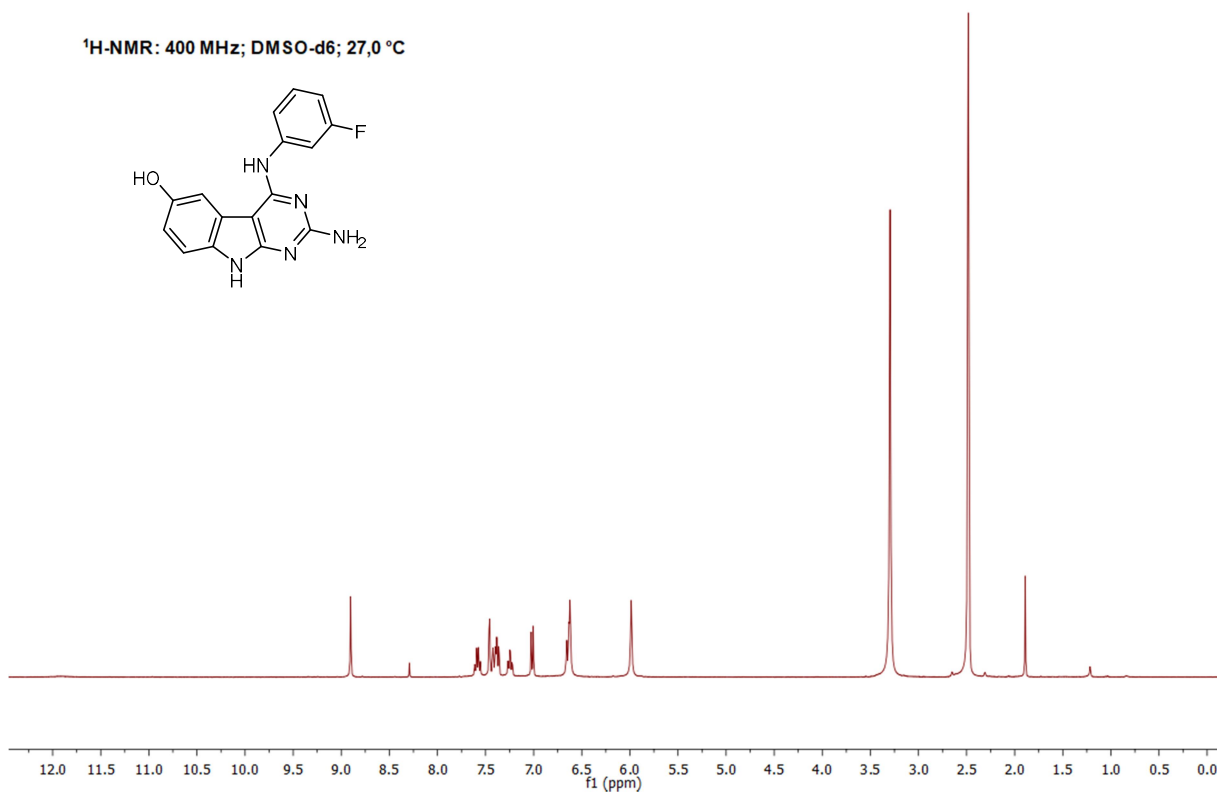
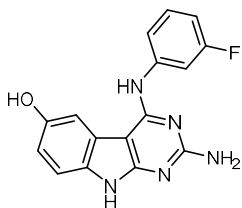
mAU

**<Peak Table>**

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	11.287	1.926	930846	36180
2	12.043	98.074	47399658	1219998
Total		100.000	48330504	1256178

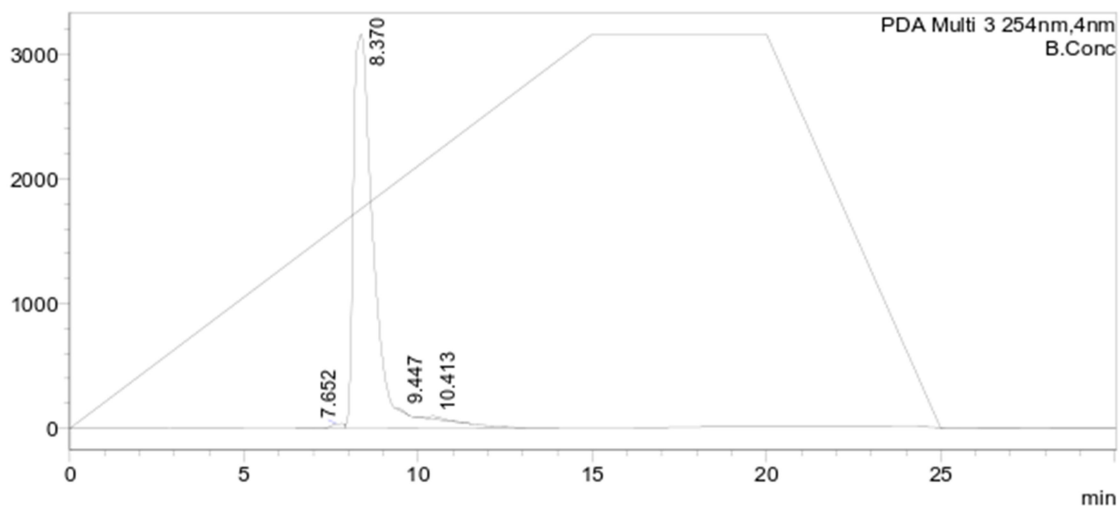


## 2-Amino-4-((3-fluorophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (48):

<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C

## &lt;Chromatogram&gt;

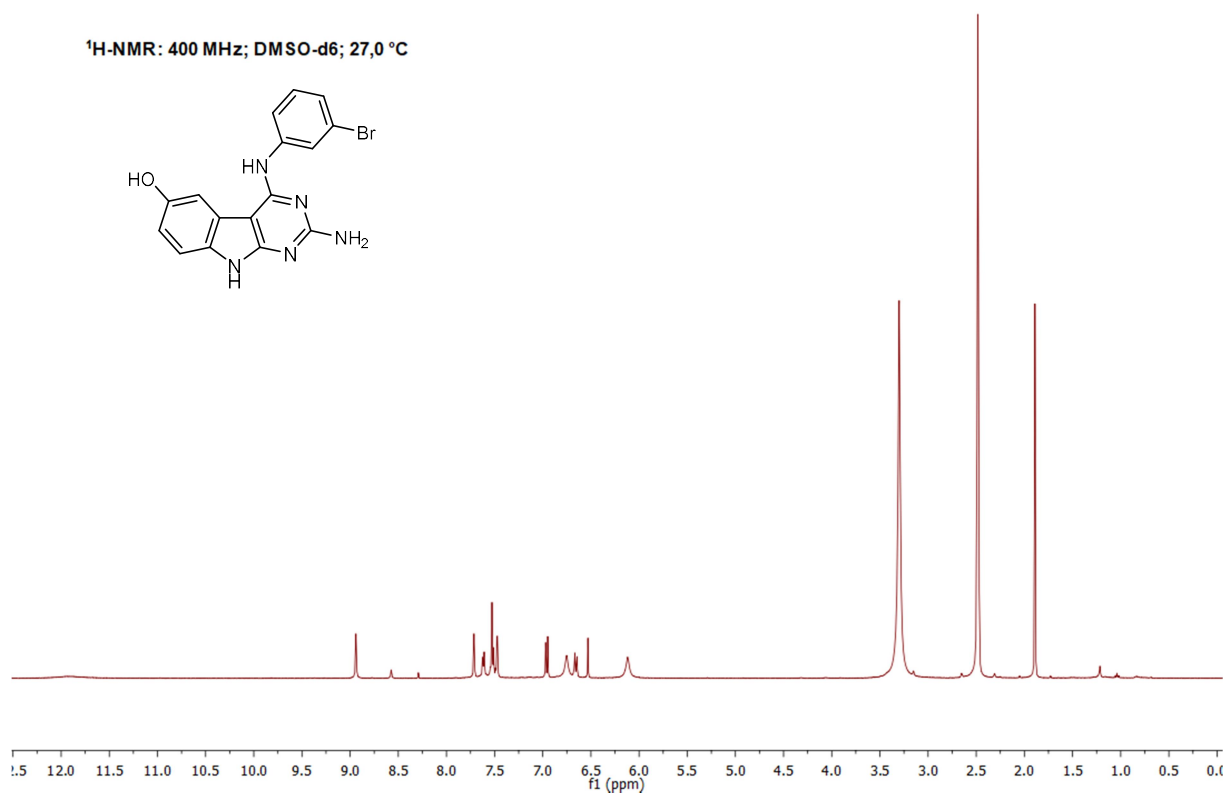
mAU



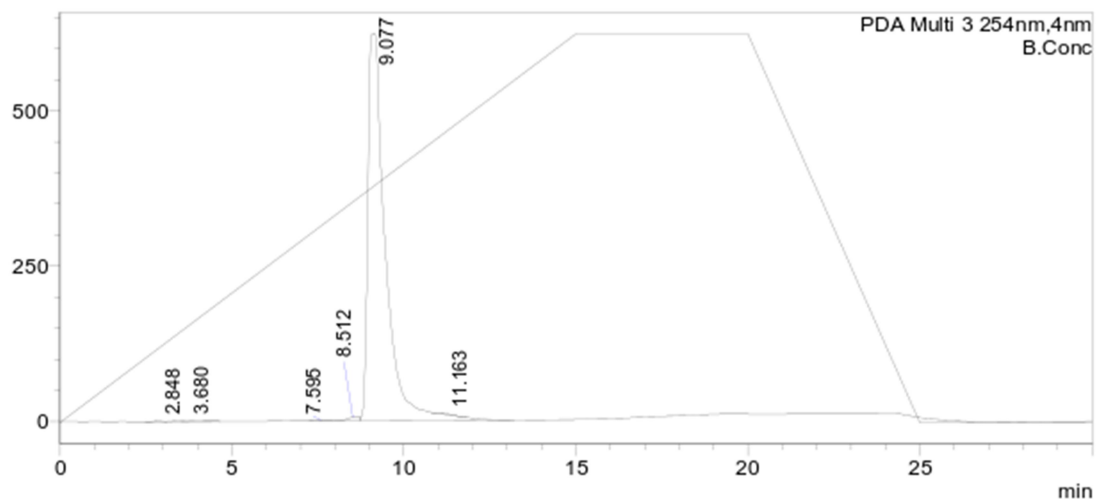
## &lt;Peak Table&gt;

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	7.652	0.697	918958	70400
2	8.370	98.570	129910070	3155818
3	9.447	0.137	180530	13795
4	10.413	0.596	785032	27281
Total		100.000	131794590	3267295

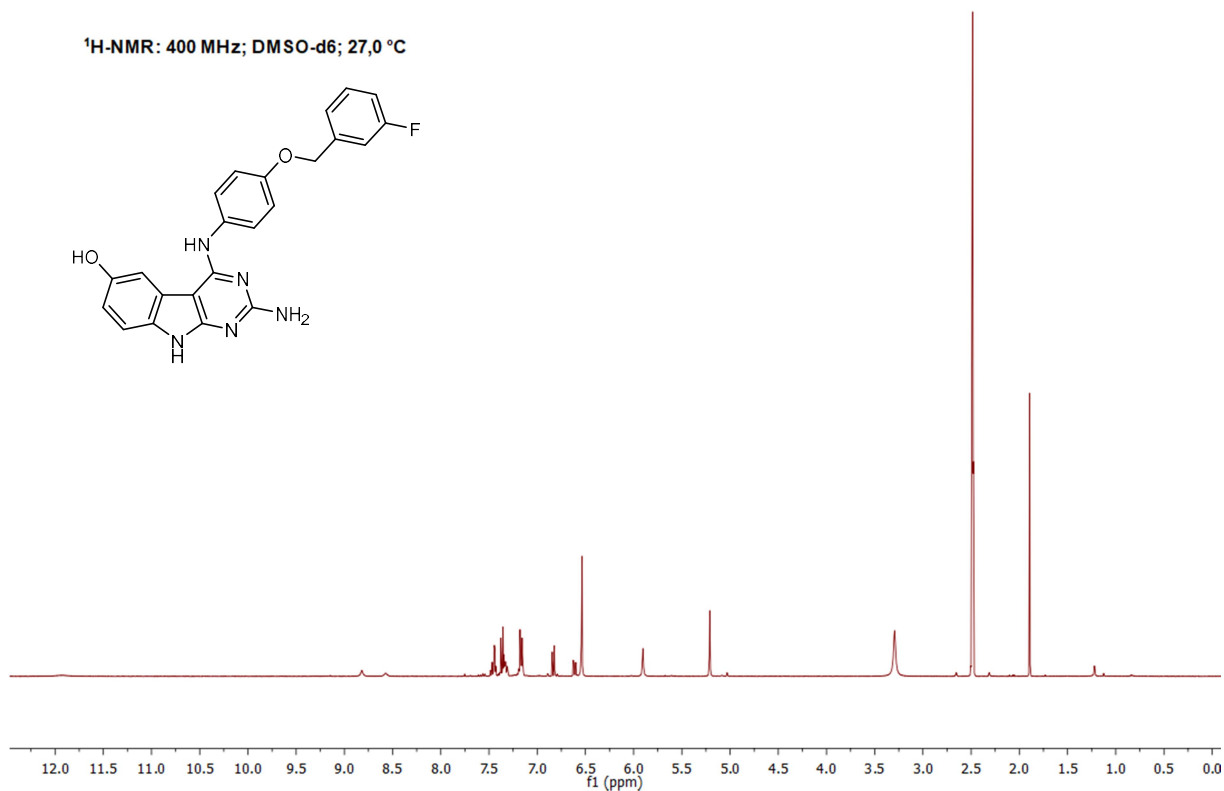
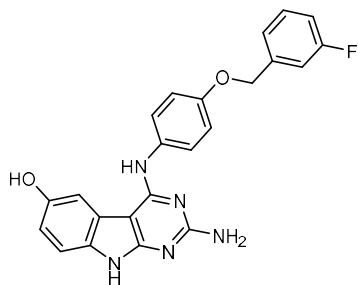
**2-Amino-4-((3-bromophenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (52):****<Chromatogram>**

mAU

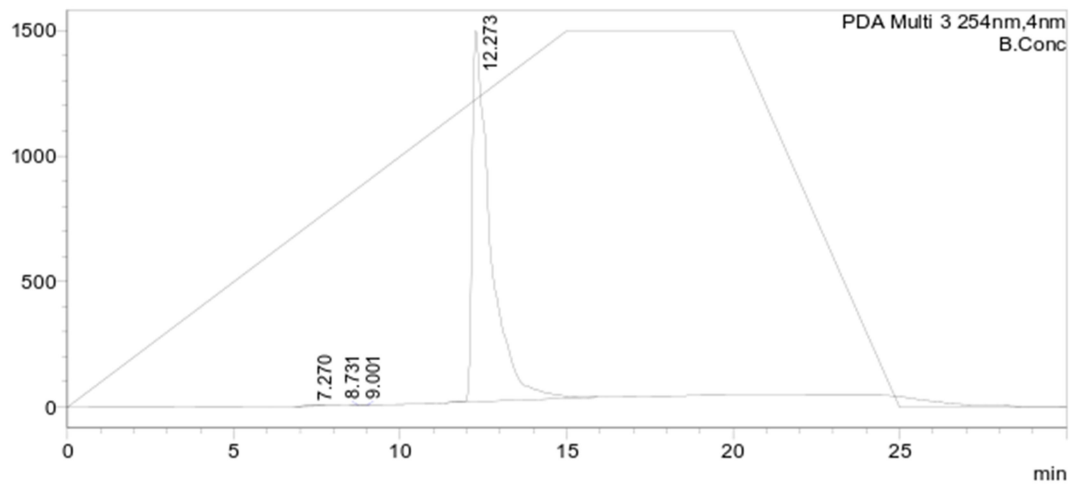
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	2.848	0.086	19452	1633
2	3.680	0.425	95901	2291
3	7.595	0.201	45335	2697
4	8.512	0.674	152258	11858
5	9.077	98.445	22220113	622952
6	11.163	0.169	38091	1846
Total		100.000	22571151	643277

**2-Amino-4-((4-((3-fluorobenzyl)oxy)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (60):**
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C

**<Chromatogram>**

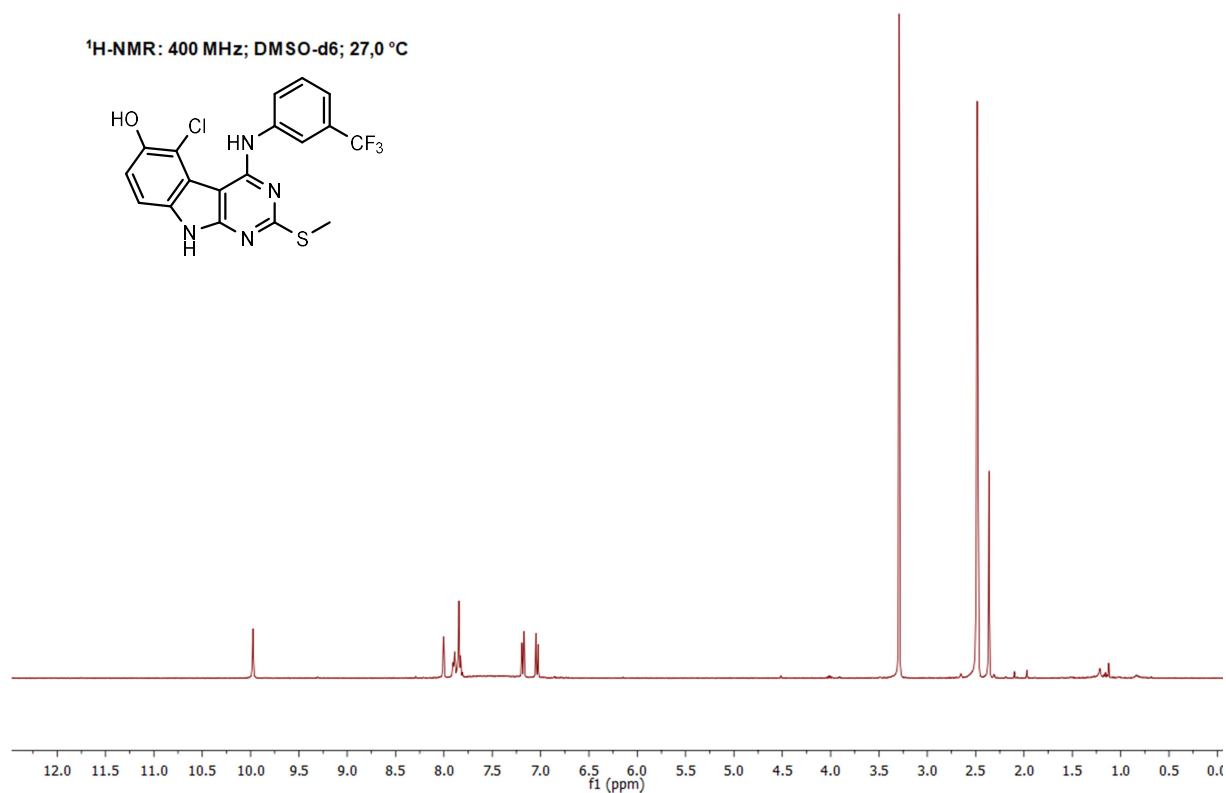
mAU


**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

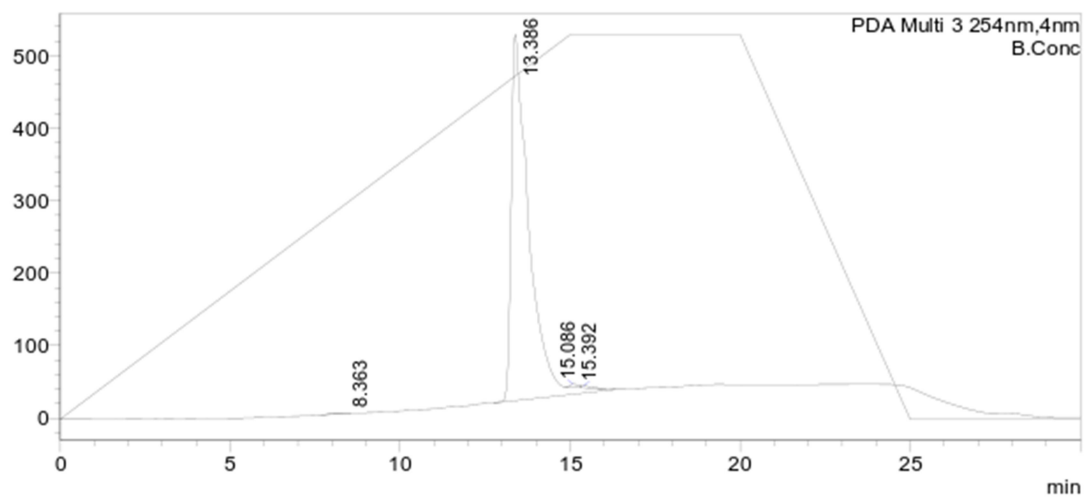
Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	7.270	0.089	50801	1751
2	8.731	0.031	17909	1279
3	9.001	0.010	5925	349
4	12.273	99.869	57024728	1476820
Total		100.000	57099364	1480199

## 5-Chloro-2-(methylthio)-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (68):



## &lt;Chromatogram&gt;

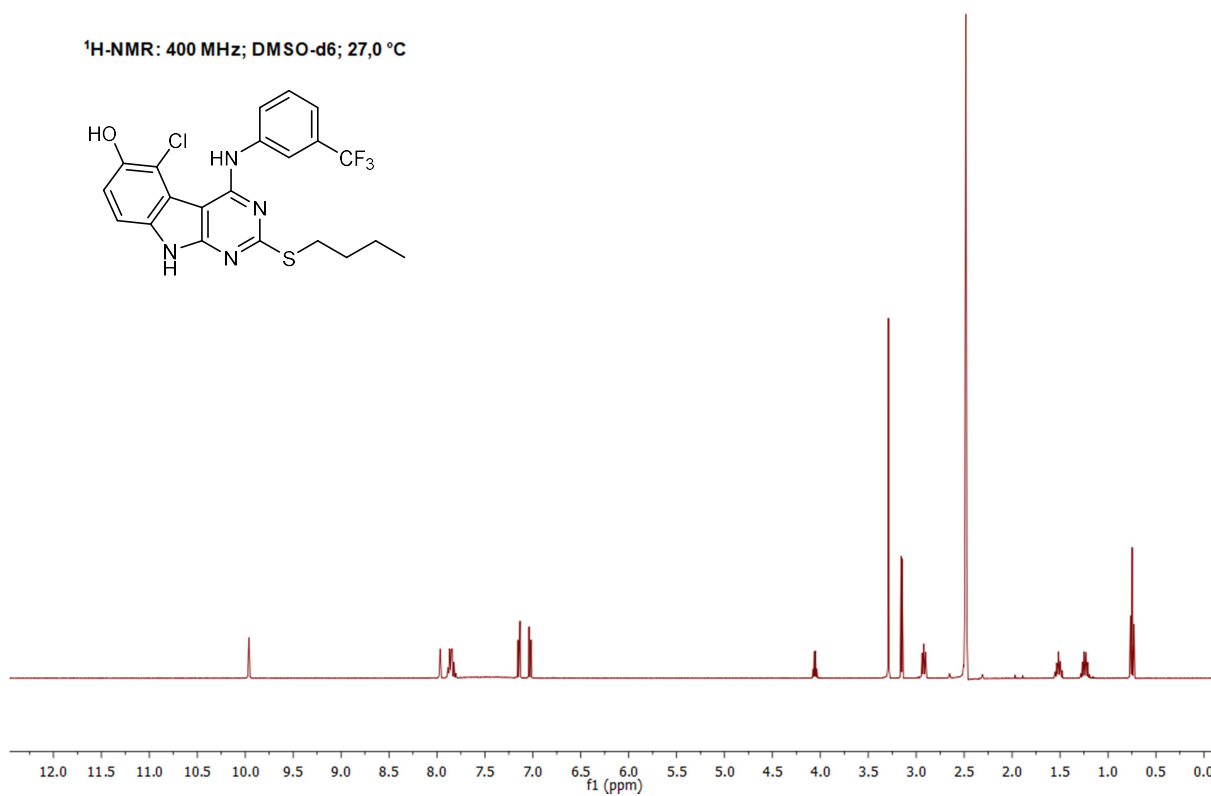
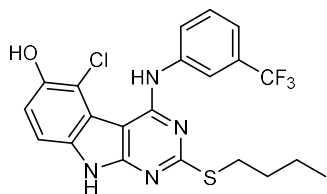
mAU



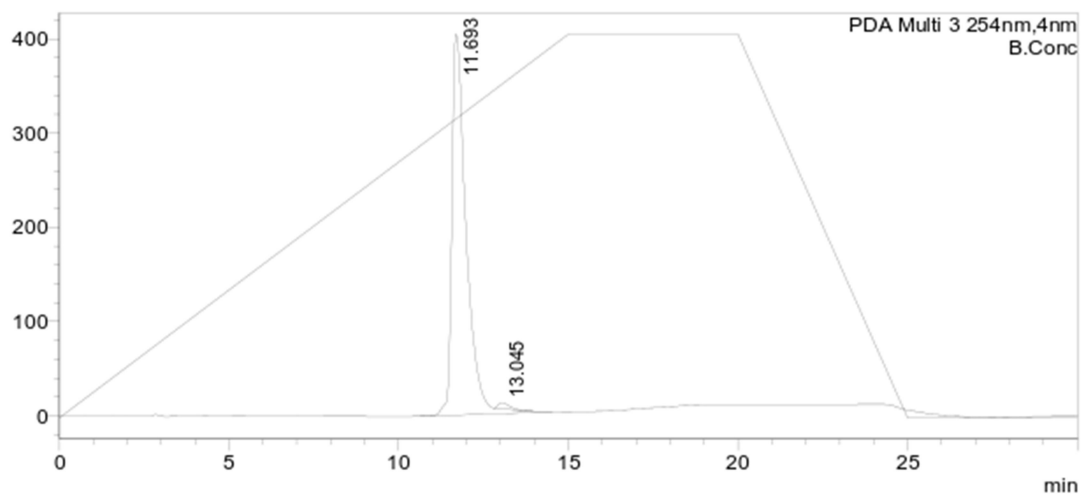
## &lt;Peak Table&gt;

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	8.363	0.133	24735	440
2	13.386	99.077	18397946	504727
3	15.086	0.398	73987	4457
4	15.392	0.392	72752	3282
Total		100.000	18569419	512907

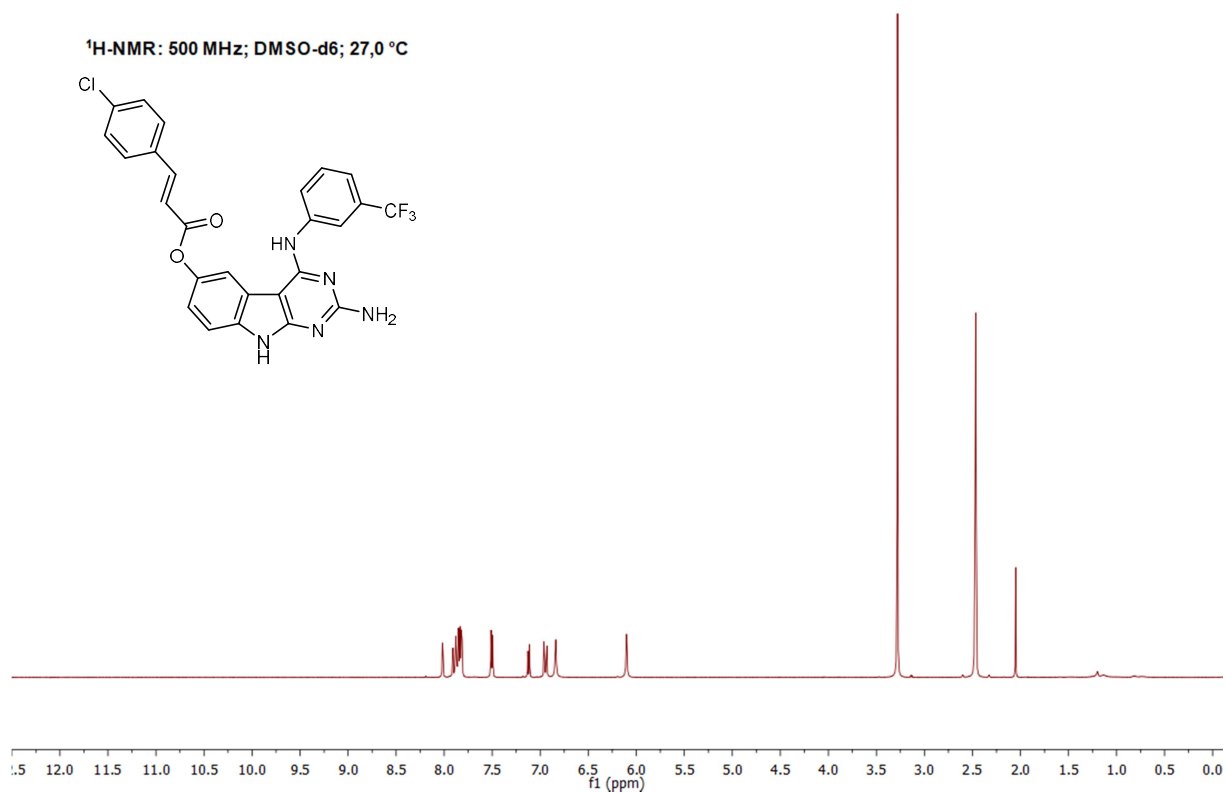
**2-(Butylthio)-5-chloro-4-((3-(trifluoromethyl)phenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-ol (69):**
<sup>1</sup>H-NMR: 400 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C

**<Chromatogram>**

mAU

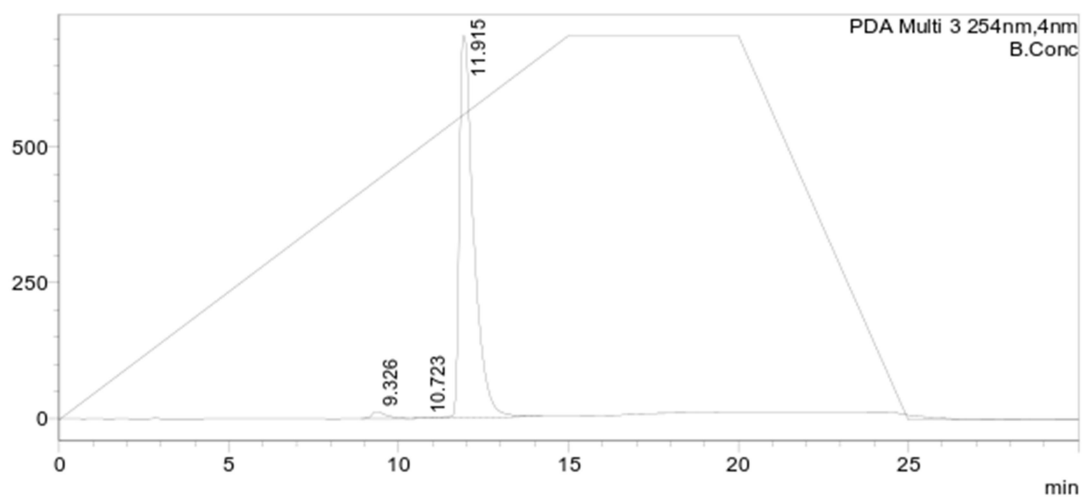

**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	11.693	98.747	11942402	404466
2	13.045	1.253	151578	6223
Total		100.000	12093980	410689

**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-chlorophenyl)acrylat (88):****<Chromatogram>**

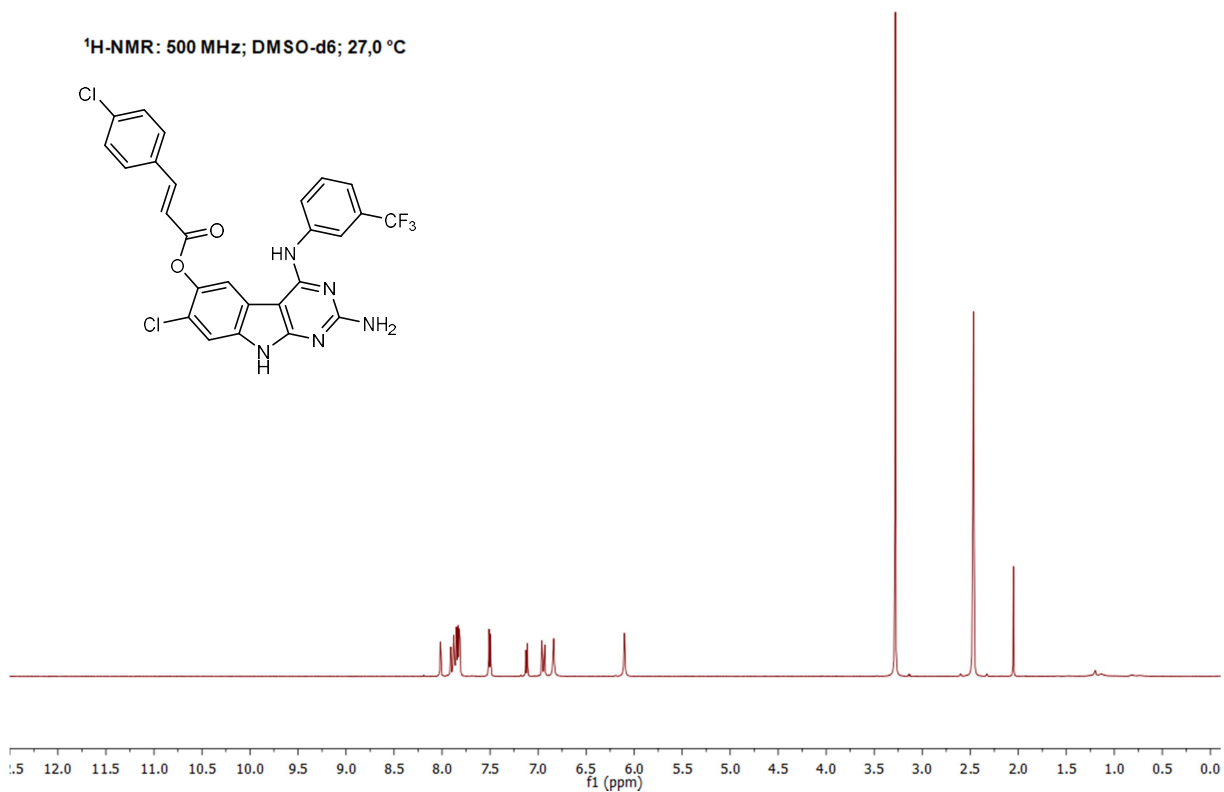
mAU

**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

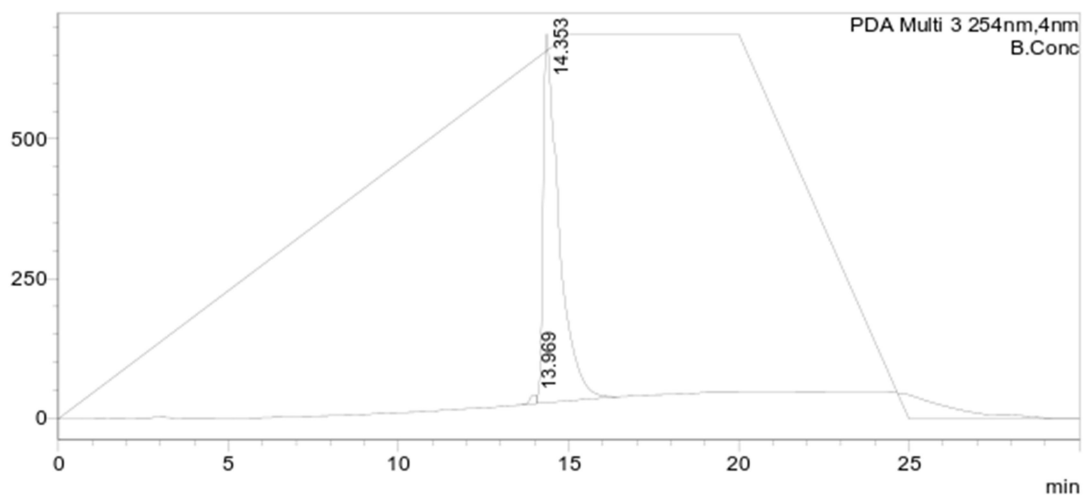
Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	9.326	1.722	363010	12000
2	10.723	0.106	22257	952
3	11.915	98.173	20698053	703974
Total		100.000	21083320	716925

**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(4-chlorophenyl)acrylate (89):**



**<Chromatogram>**

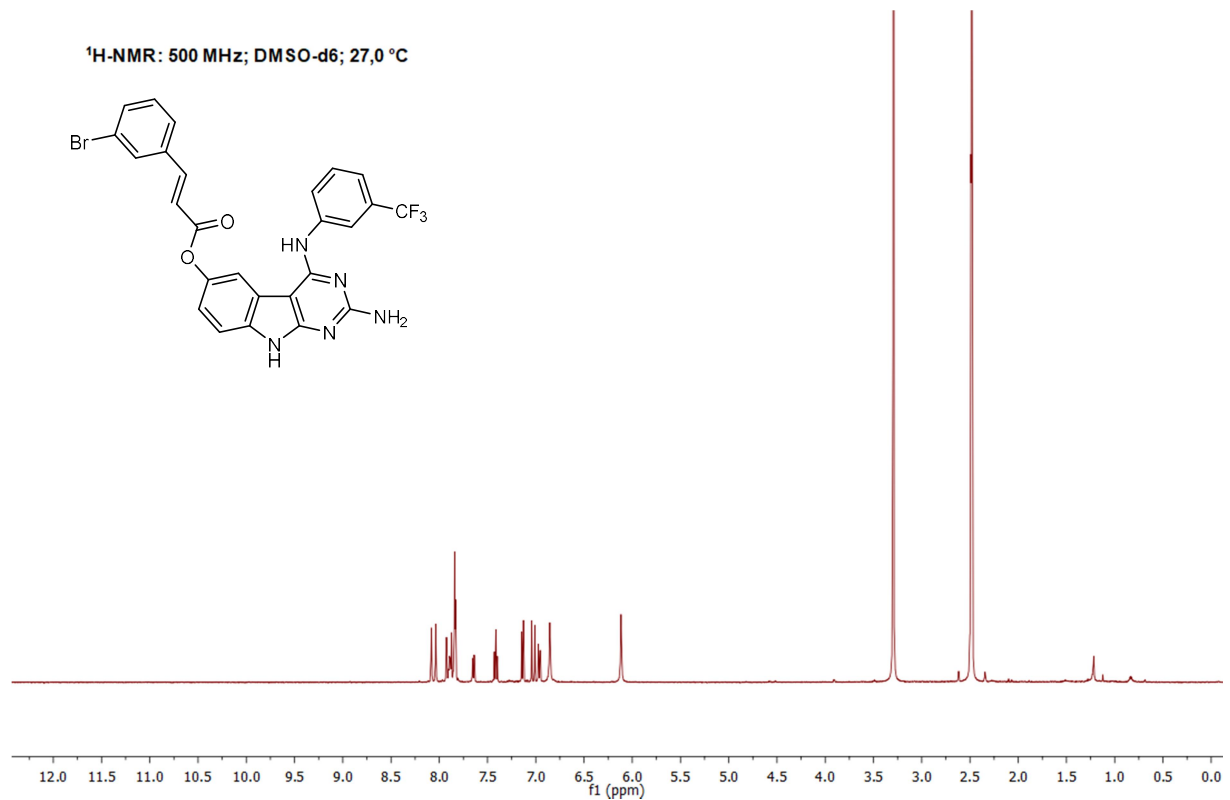
mAU



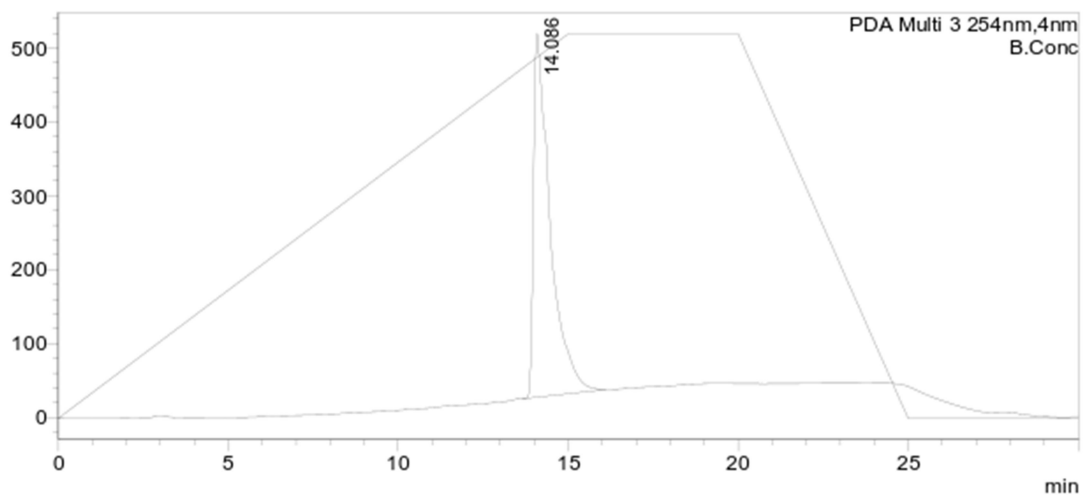
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	13.969	0.943	204054	15748
2	14.353	99.057	21441566	659856
Total		100.000	21645620	675604

**2-Amino-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(3-bromophenyl)acrylat (90):****<Chromatogram>**

mAU

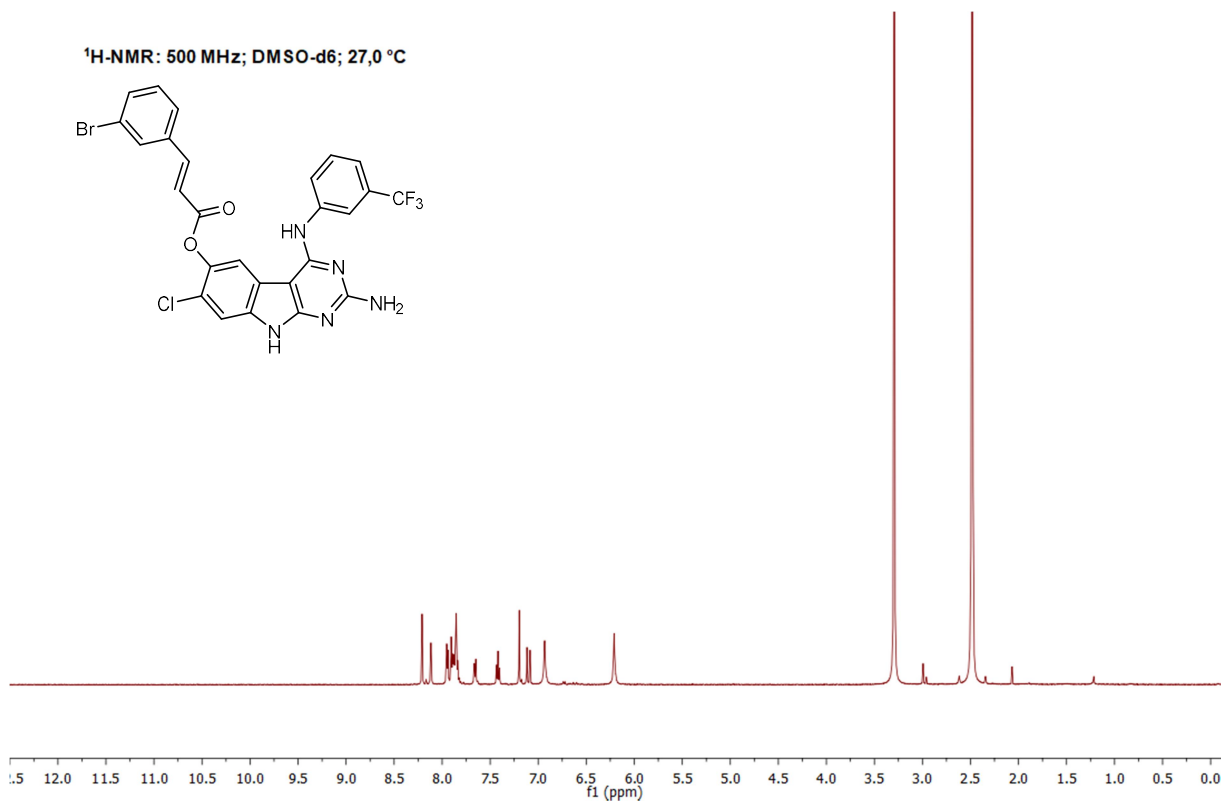
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	14.086	100.000	16787321	491269
Total		100.000	16787321	491269

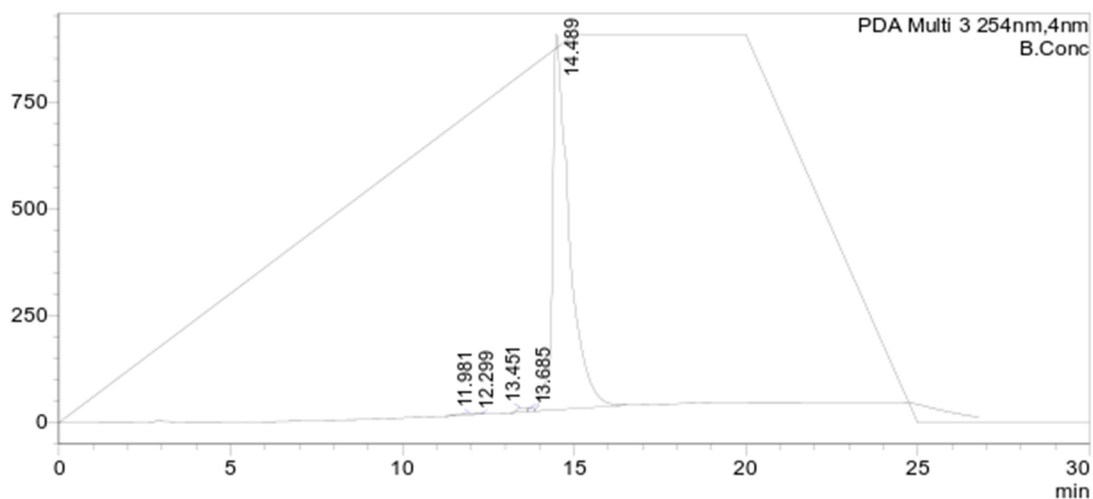


**2-Amino-7-chloro-4-((3-trifluoromethylphenyl)amino)-9H-pyrimido[4,5-b]indol-6-yl(E)-3-(3-bromophenyl)acrylat (91):**



**<Chromatogram>**

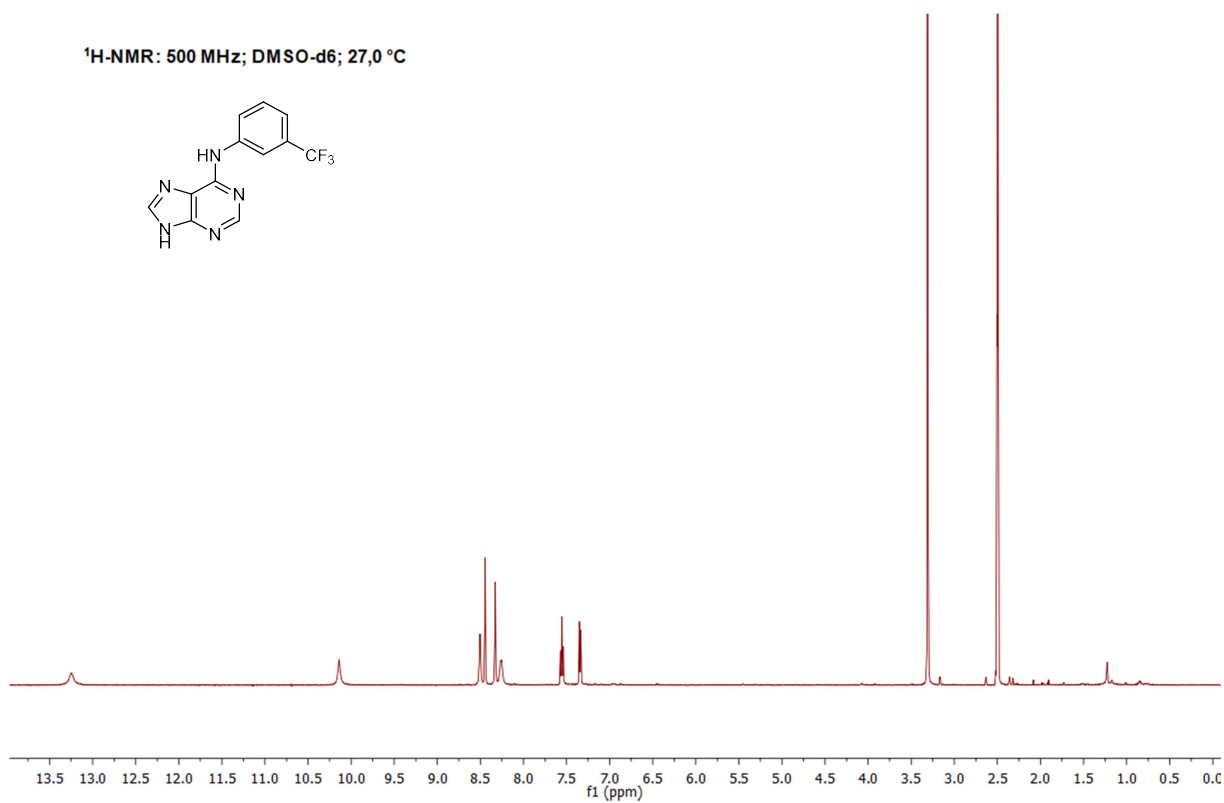
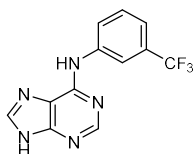
mAU



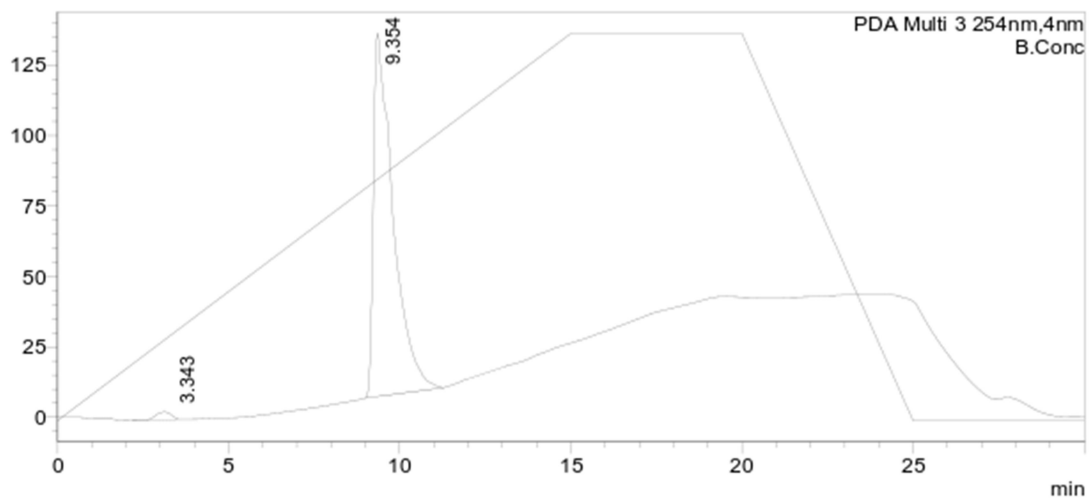
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	11.981	0.362	108643	2654
2	12.299	0.022	6690	676
3	13.451	0.639	191787	10426
4	13.685	0.281	84296	7829
5	14.489	98.696	29633698	942145
Total		100.000	30025114	963730

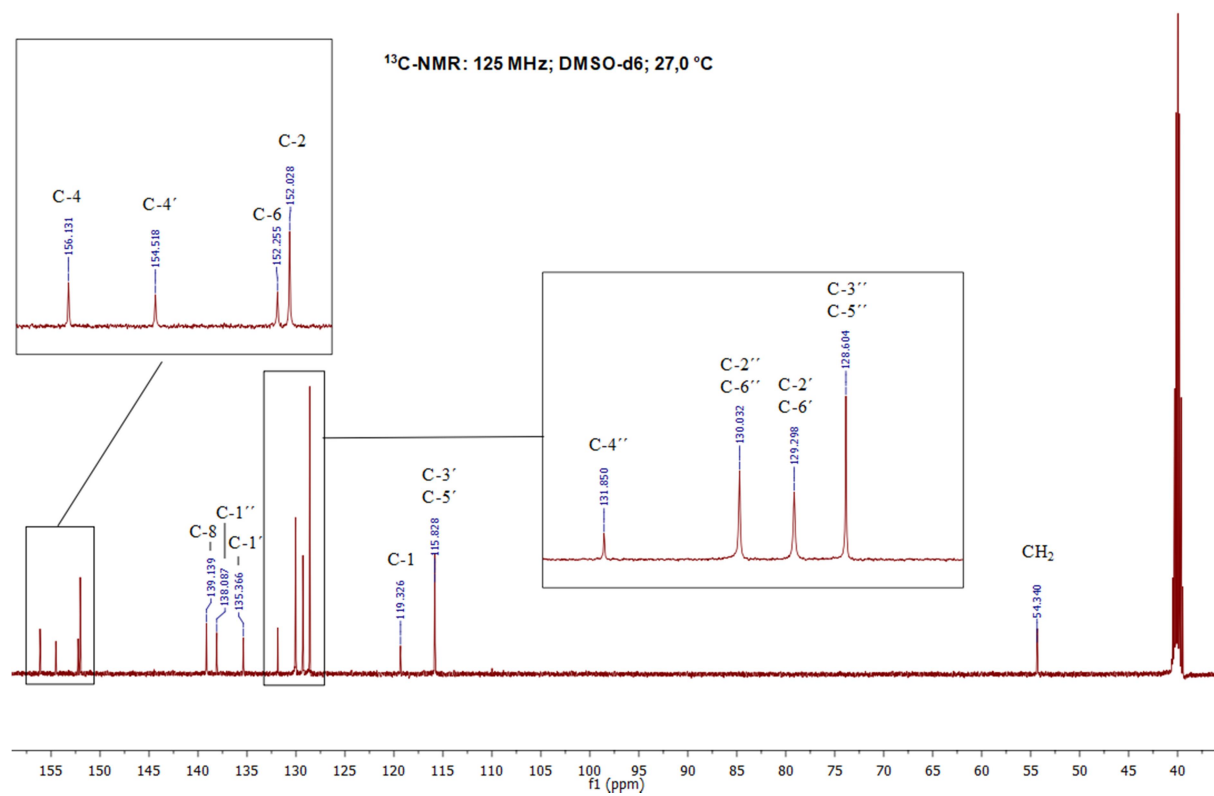
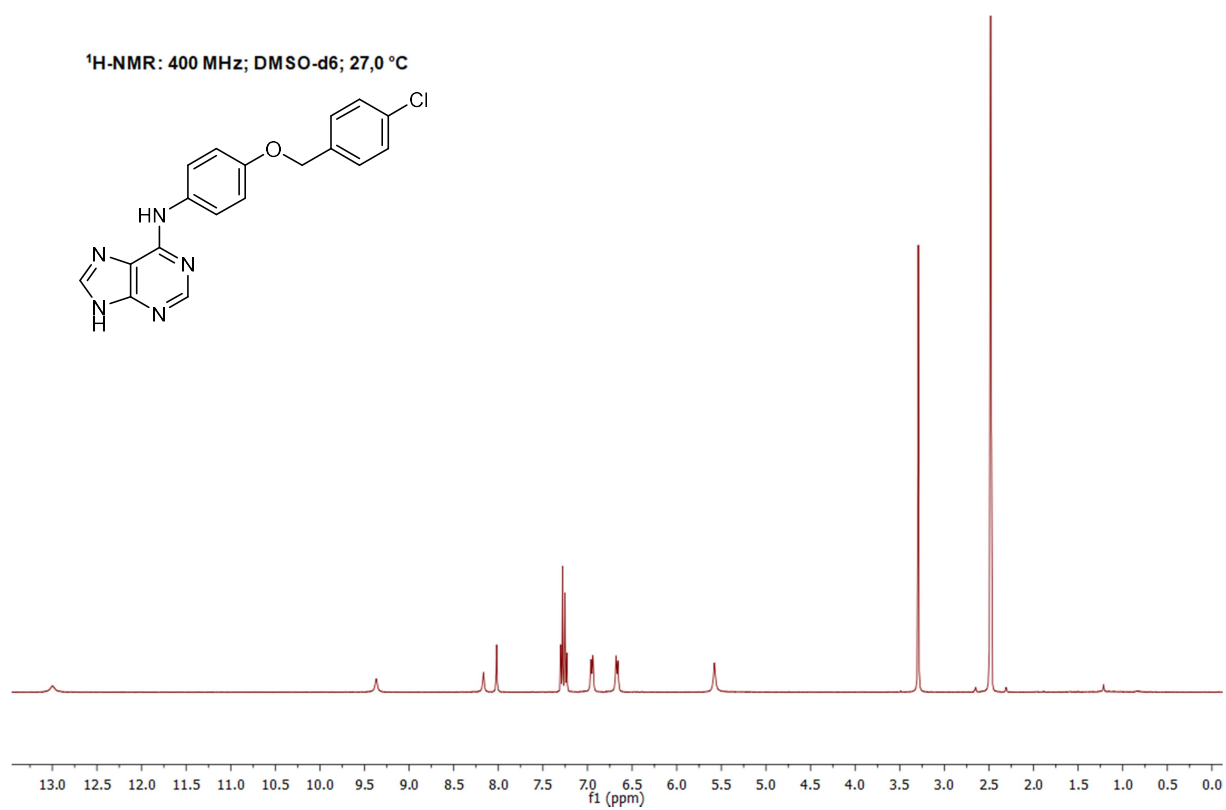
**N-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-9H-purin-6-amin (101a):**<sup>1</sup>H-NMR: 500 MHz; DMSO-d<sub>6</sub>; 27,0 °C**<Chromatogram>**

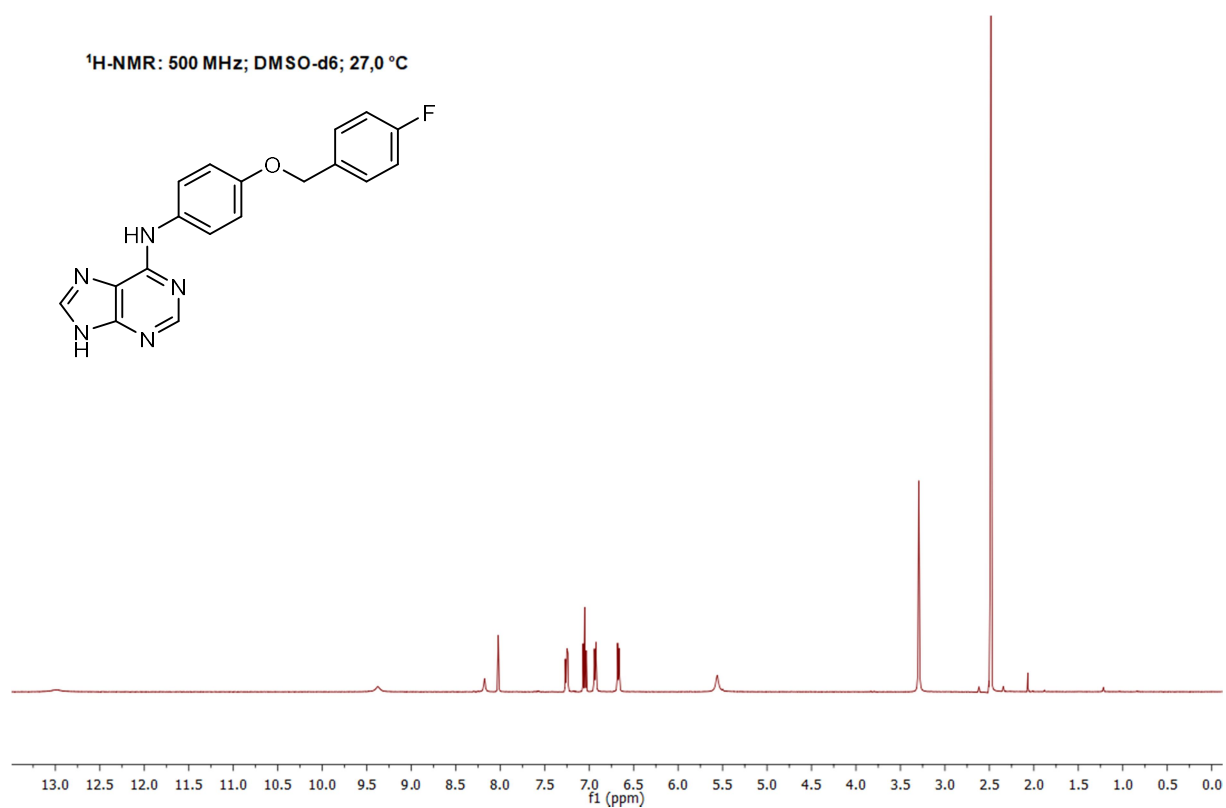
mAU

**<Peak Table>**

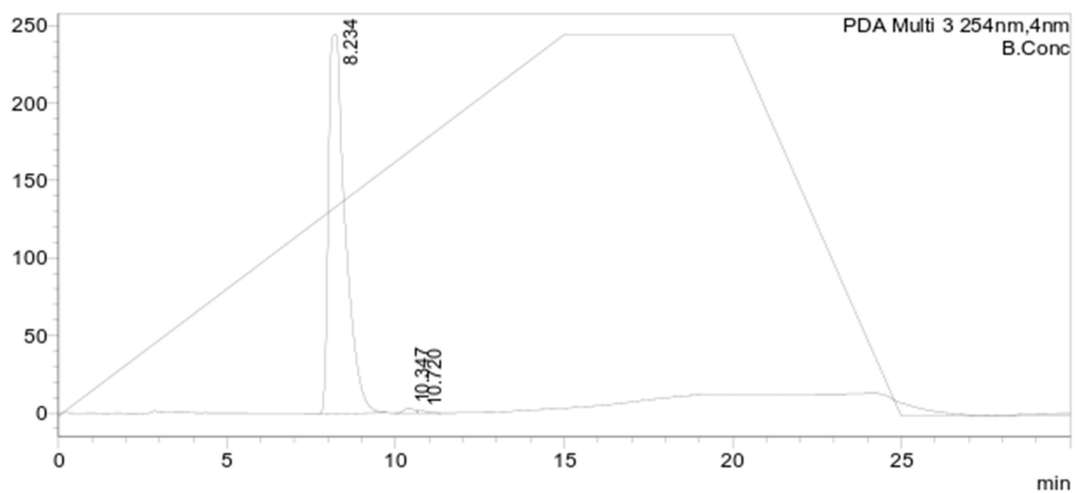
PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	3.343	1.639	85804	2429
2	9.354	98.361	5149363	129586
Total		100.000	5235167	132015

***N*-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9*H*-purin-6-amin (101e):**

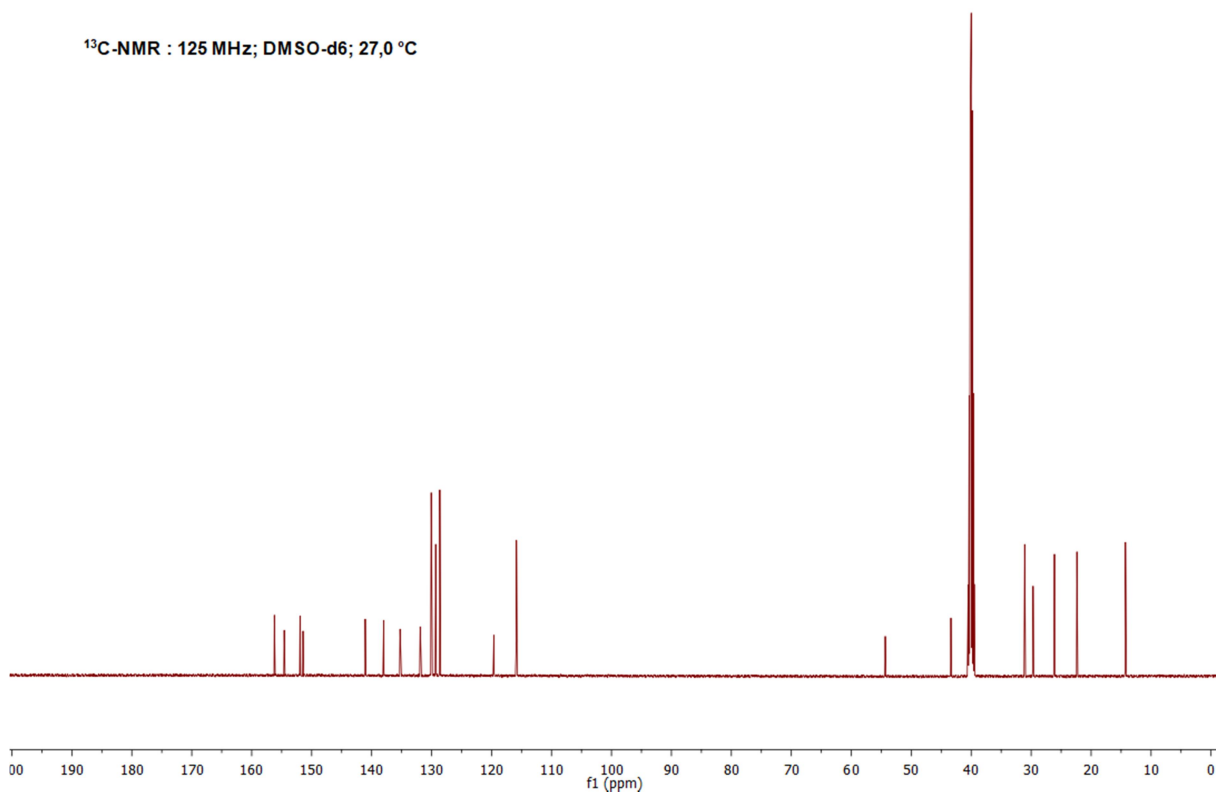
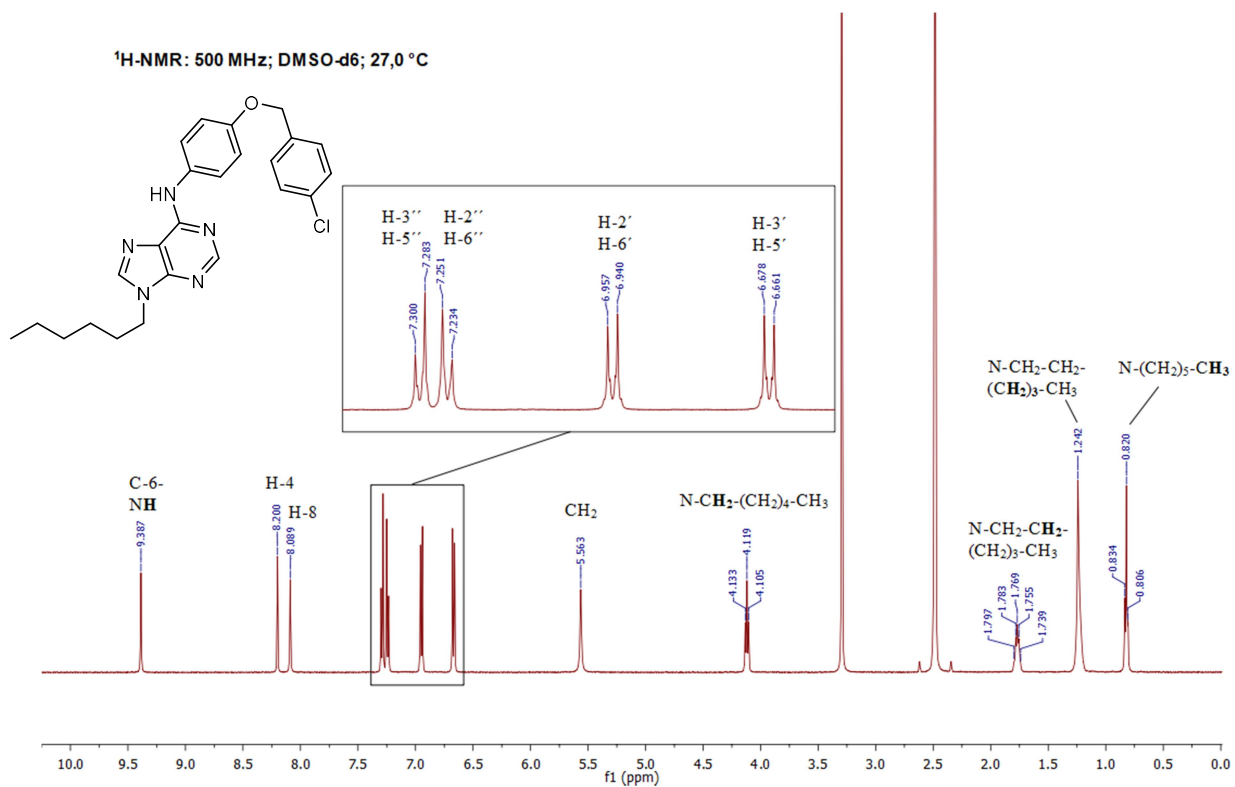
**N-(4-((4-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-9H-purin-6-amin (101i):****<Chromatogram>**

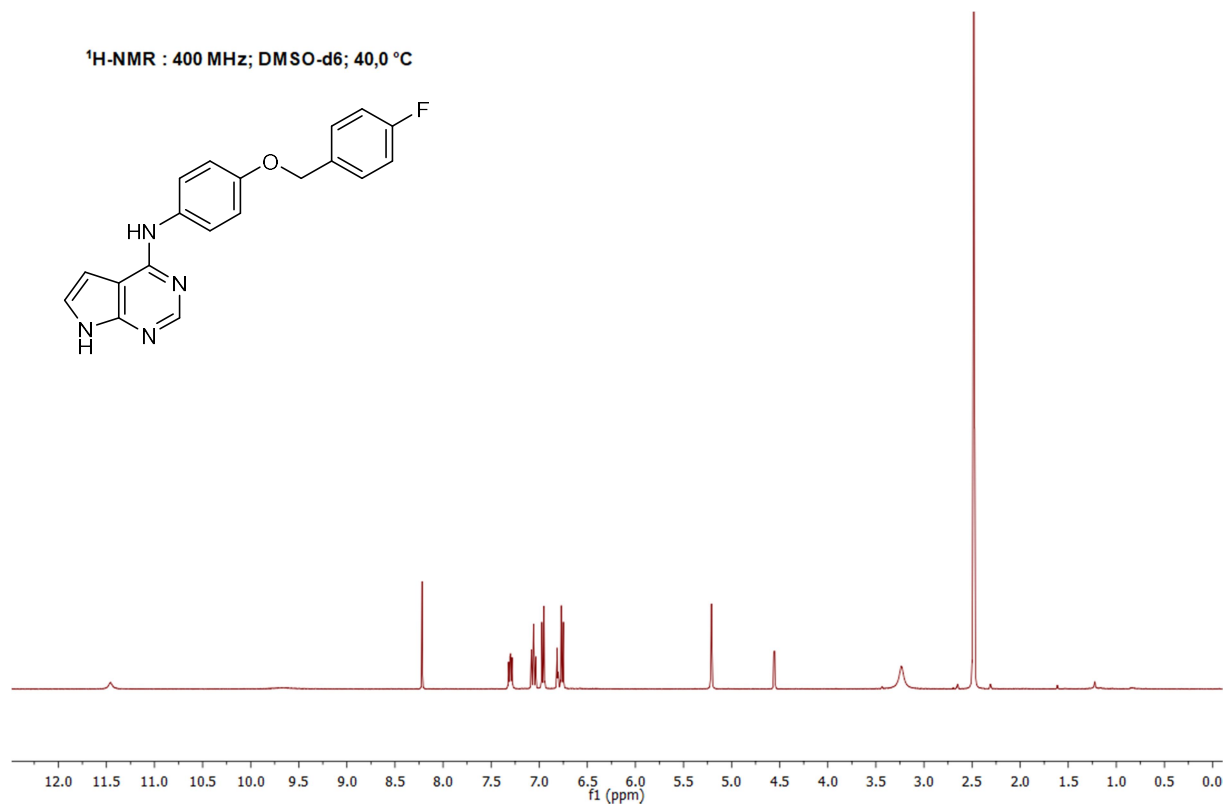
mAU

**<Peak Table>**

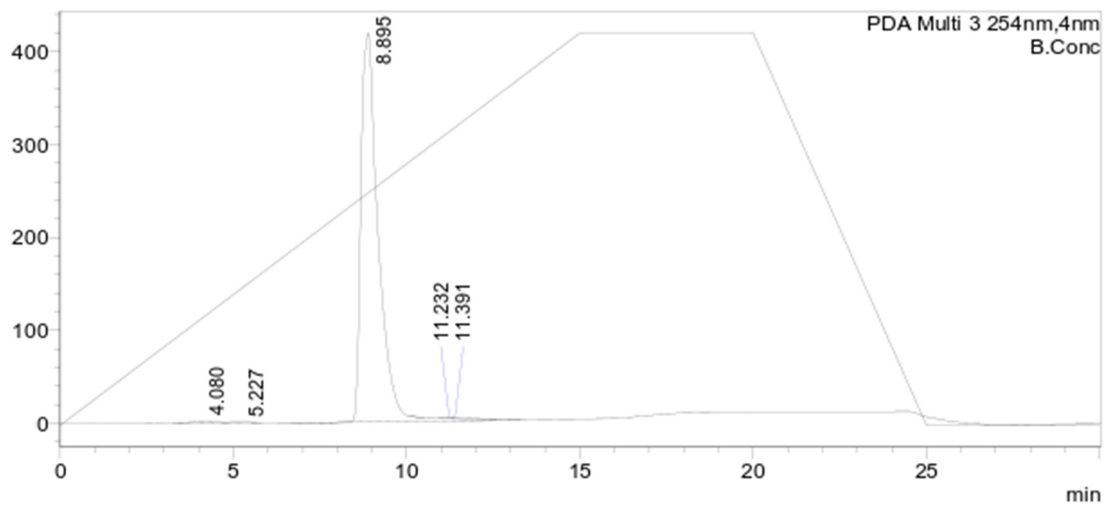
Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	8.234	98.884	8471682	244489
2	10.347	0.750	64235	2840
3	10.720	0.366	31362	1711
Total		100.000	8567279	249041

**N-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-9-hexyl-9H-purin-6-amin (102a):**



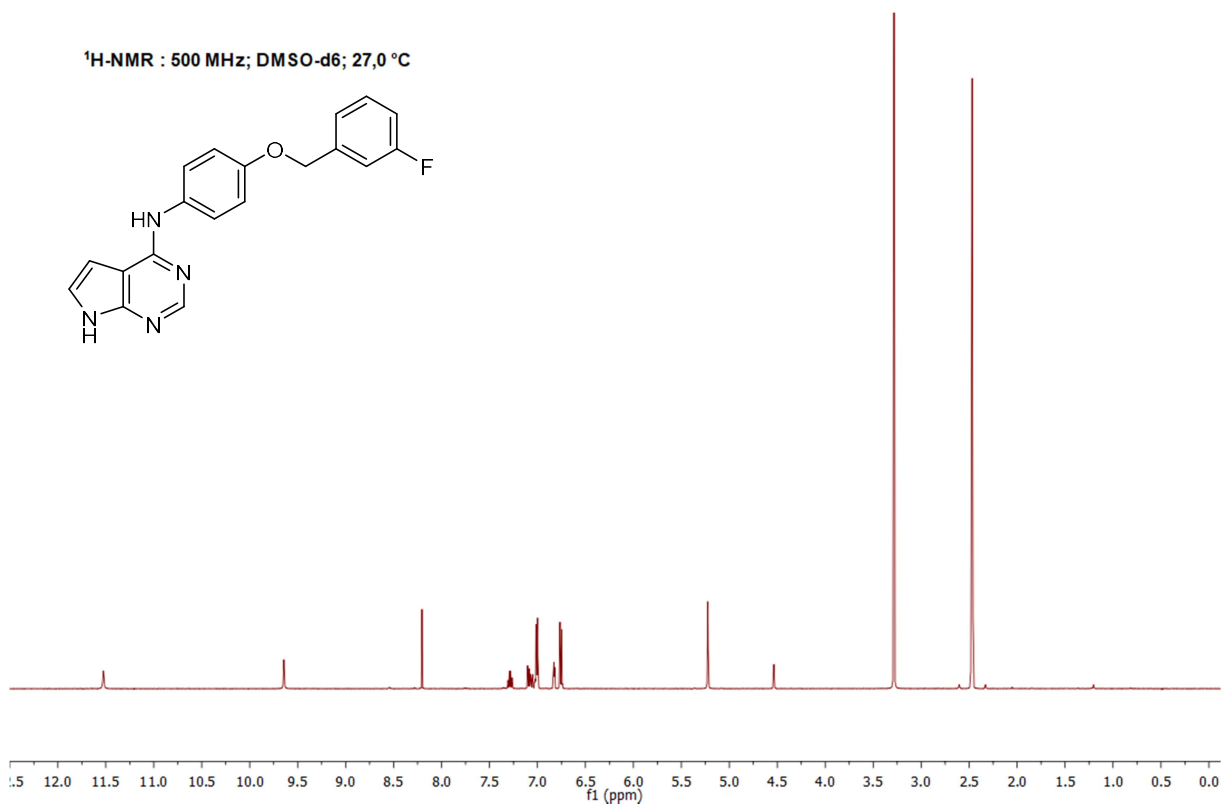
**N-(4-((4-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin (108f):****<Chromatogram>**

mAU

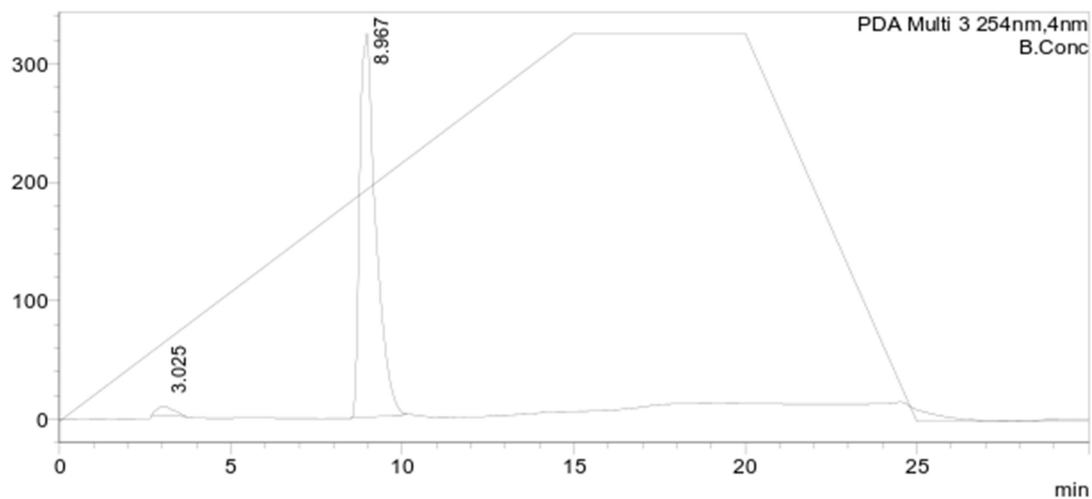
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	4.080	0.772	115819	2341
2	5.227	0.277	41563	1110
3	8.895	98.417	14769552	421612
4	11.232	0.139	20873	1473
5	11.391	0.395	59287	1643
Total		100.000	15007094	428179

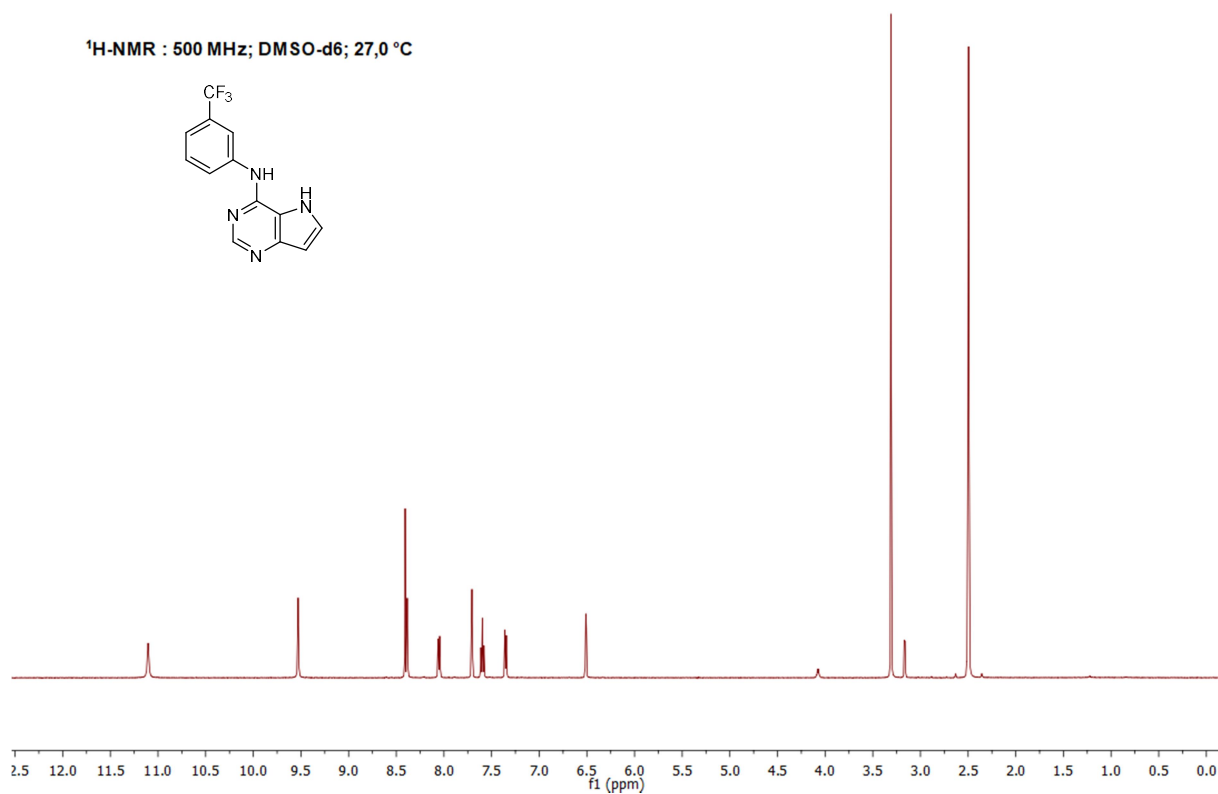
**N-(4-((3-Fluorobenzyl)oxy)phenyl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin(108j):****<Chromatogram>**

mAU

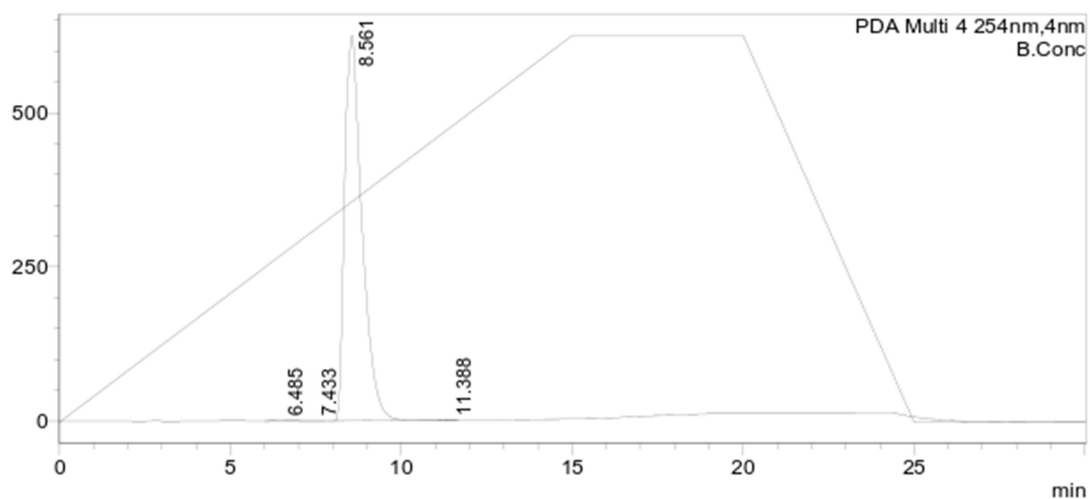
**<Peak Table>**

PDA Ch3 254nm

Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	3.025	1.187	131628	5150
2	8.967	98.813	10957508	332976
Total		100.000	11089136	338126

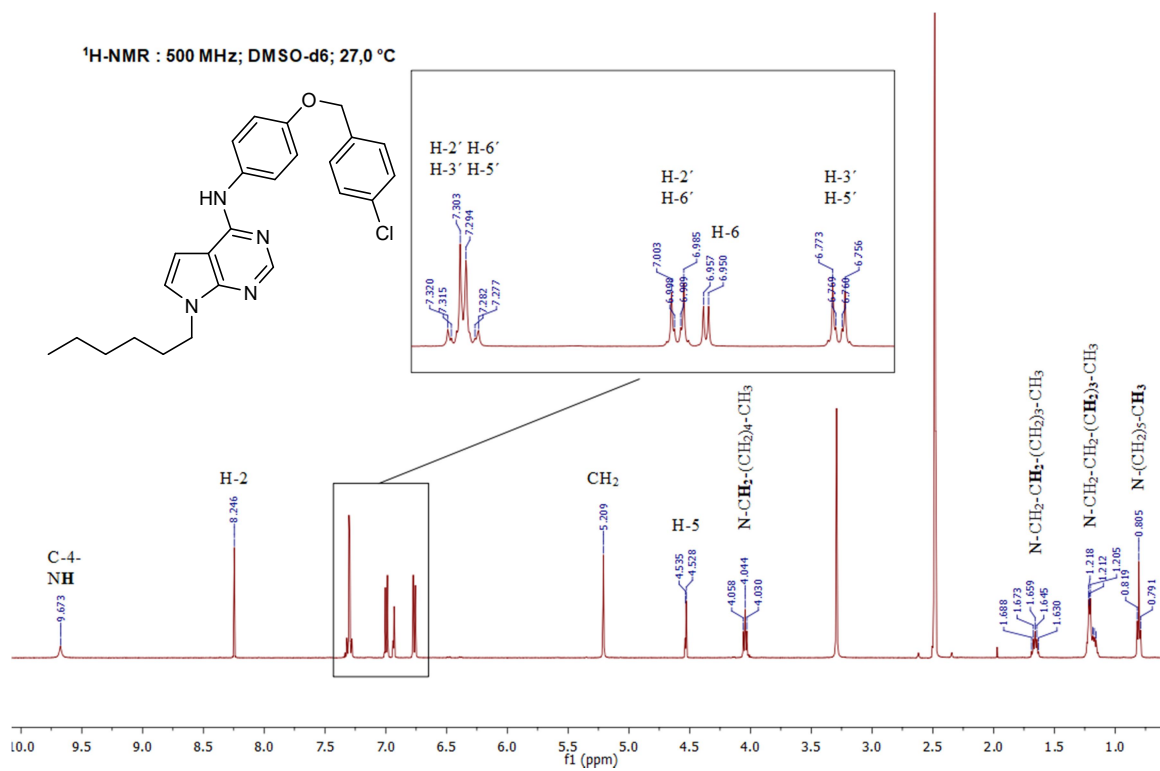
**N-(3-(Trifluoromethyl)phenyl)-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin (114):****<Chromatogram>**

mAU

**<Peak Table>**

PDA Ch4 254nm				
Peak#	Ret. Time	Area%	Area	Height
1	6.485	0.128	28433	724
2	7.433	0.020	4453	195
3	8.561	99.825	22177802	625634
4	11.388	0.027	6026	288
Total		100.000	22216715	626841



***N*-(4-((4-Chlorobenzyl)oxy)phenyl)-7-hexyl-7*H*-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidin (110a):**

Darstellung IC<sub>50</sub>-Werte für diverse Produkte an CDK1/B, CDK2/E, Abl und CRK3

Verb.	IC <sub>50</sub> (μM)			
	CDK1/B	CDK2/E	Abl	CRK3
26	10	6	>100	18,9
28	61	48	>100	19
33a	62	46	>100	26
71	6,7	7,7	>100	23
73	26	28	>100	64
77	75	28	>100	69
79	>50	30	>50	>50
101a	44	36	>50	>50
101b	27	30	12,0	>50
101e	48	76	>100	53,4
101g	50	86	>100	>100
101h	37	74	>100	72,5
108a	17	31	4,0	>100
108b	14	8,9	>100	17
108c	24	14	>100	51
108f	14	12	>100	22
108g	24	18	>100	39
108i	12	8,3	>100	15
108j	17	11	>100	30
110a	>12,5	>12,5	>12,5	>12,5
110b	27	34	>100	>100
114	11	63	>100	46,5

**Developmental Therapeutics Program**  
**One Dose Mean Graph**

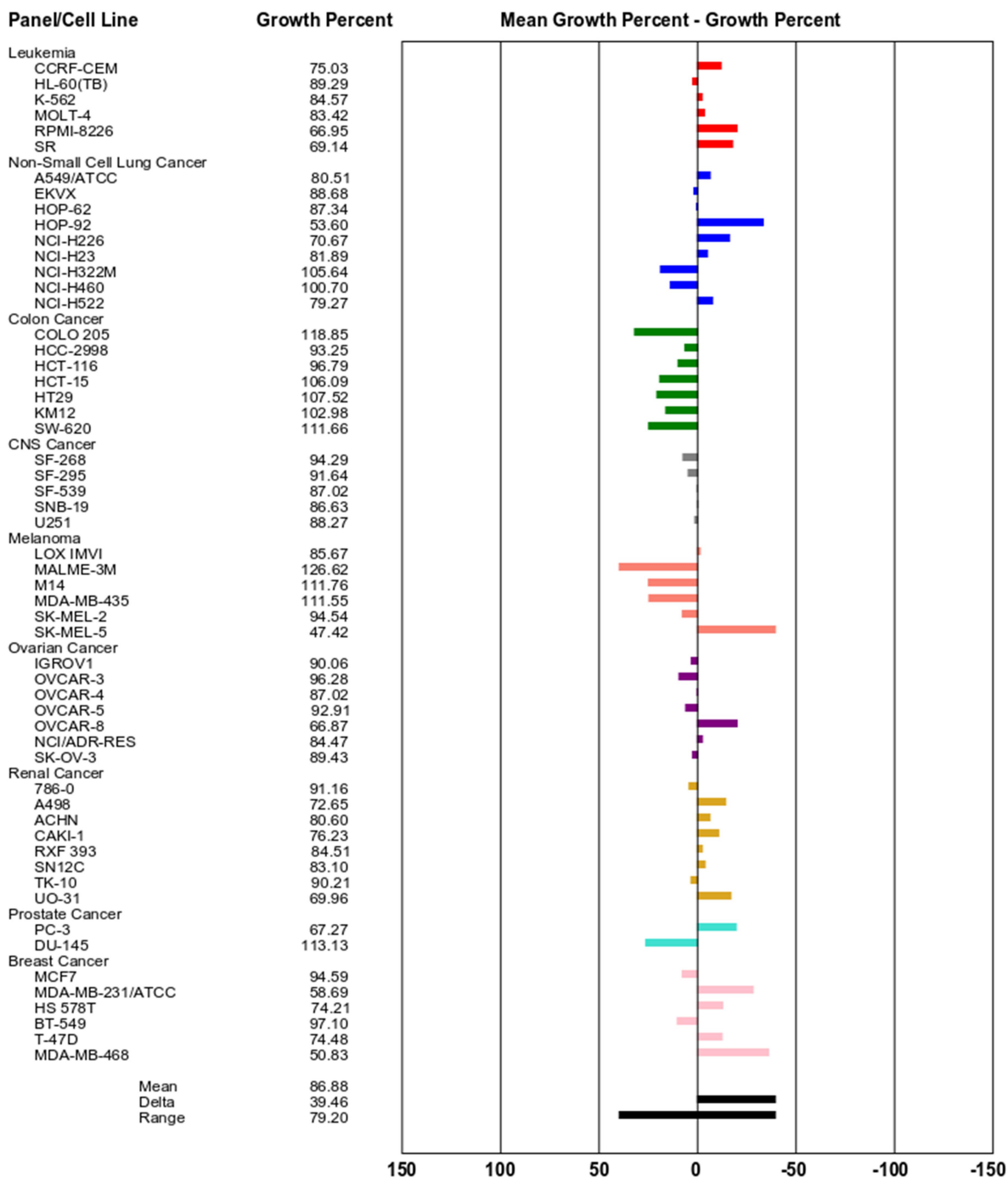
NSC: D-783412 / 1

Conc: 1.00E-5 Molar

Test Date: Mar 09, 2015

Experiment ID: 1503OS44

Report Date: Mar 26, 2015



One-Dose-Screening NCI-60 Cell-Line-Screening (Verbindung 27)

**Developmental Therapeutics Program**  
**One Dose Mean Graph**

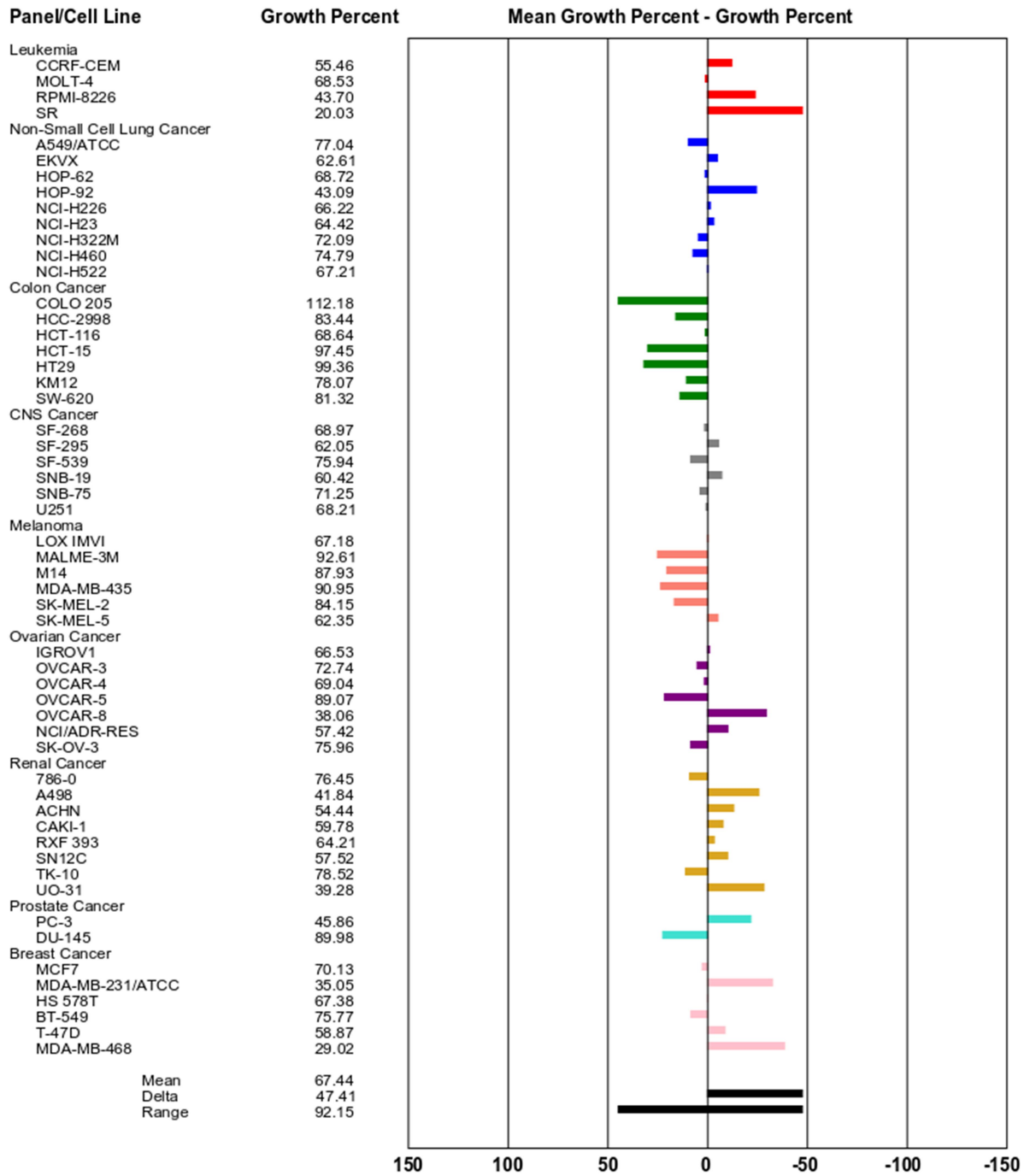
NSC: D-783414 / 1

Conc: 1.00E-5 Molar

Test Date: Mar 09, 2015

Experiment ID: 1503OS44

Report Date: Mar 26, 2015



One-Dose-Screening NCI-60 Cell-Line-Screening (Verbindung 29)

**Developmental Therapeutics Program**  
**One Dose Mean Graph**

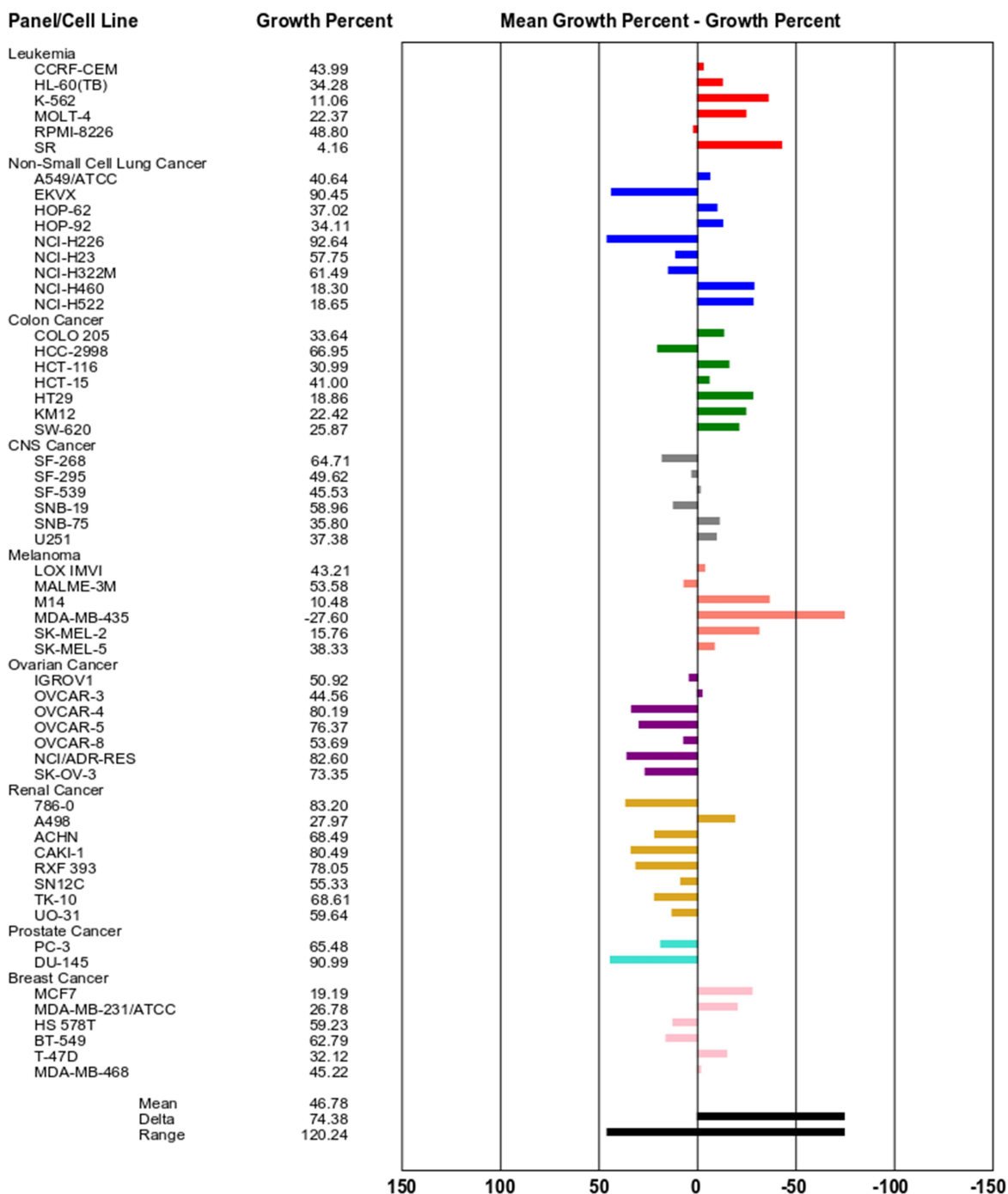
NSC: D-783413 / 1

Conc: 1.00E-5 Molar

Test Date: Mar 09, 2015

Experiment ID: 1503OS44

Report Date: Mar 26, 2015



One-Dose-Screening NCI-60 Cell-Line-Screening (Verbindung 35)

**Developmental Therapeutics Program**  
**One Dose Mean Graph**

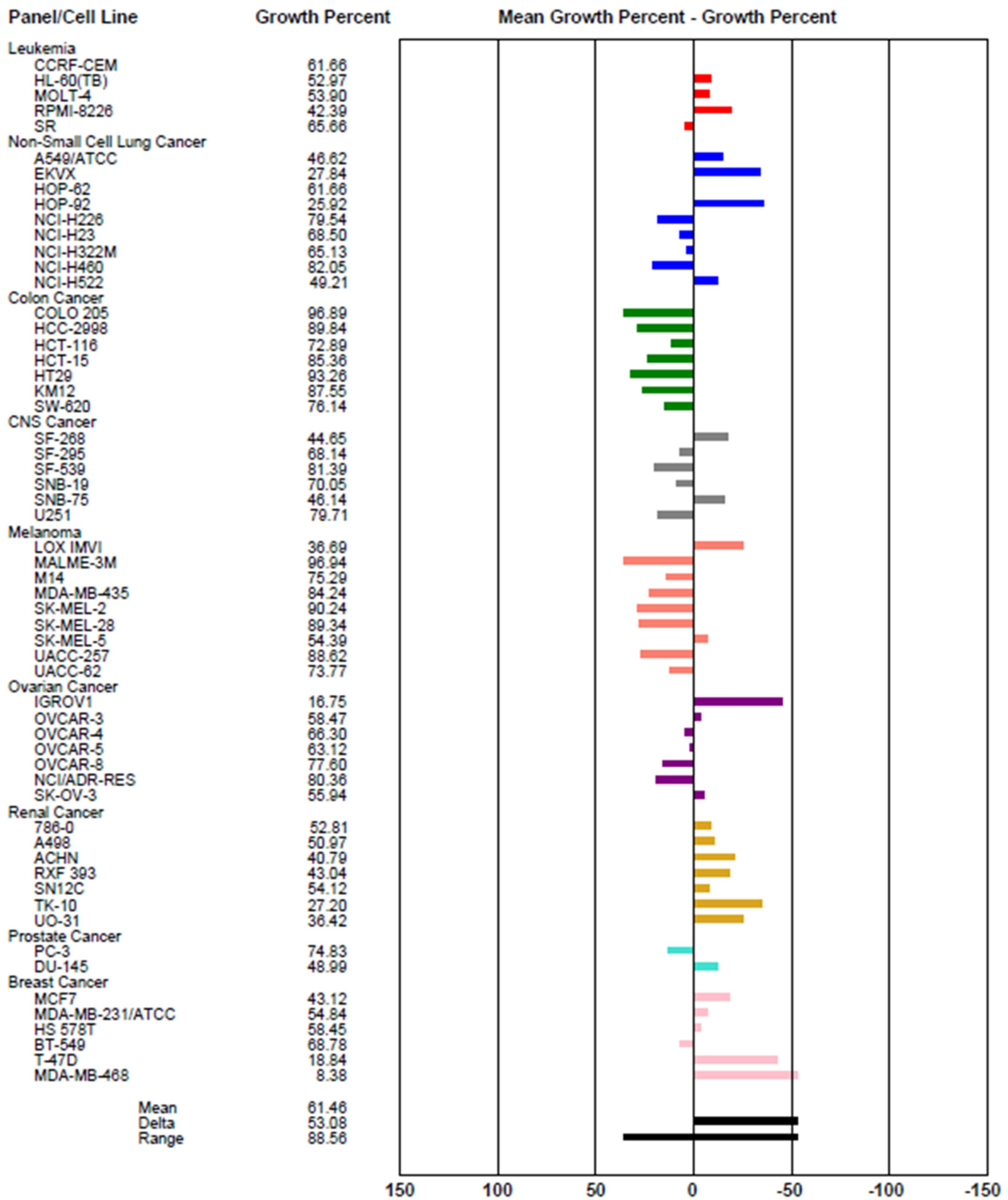
NSC: D-794570 / 1

Conc: 1.00E-5 Molar

Test Date: Dec 12, 2016

Experiment ID: 16120S26

Report Date: Jan 04, 2017



One-Dose-Screening NCI-60 Cell-Line-Screening (Verbindung 54)

**Developmental Therapeutics Program**  
**One Dose Mean Graph**

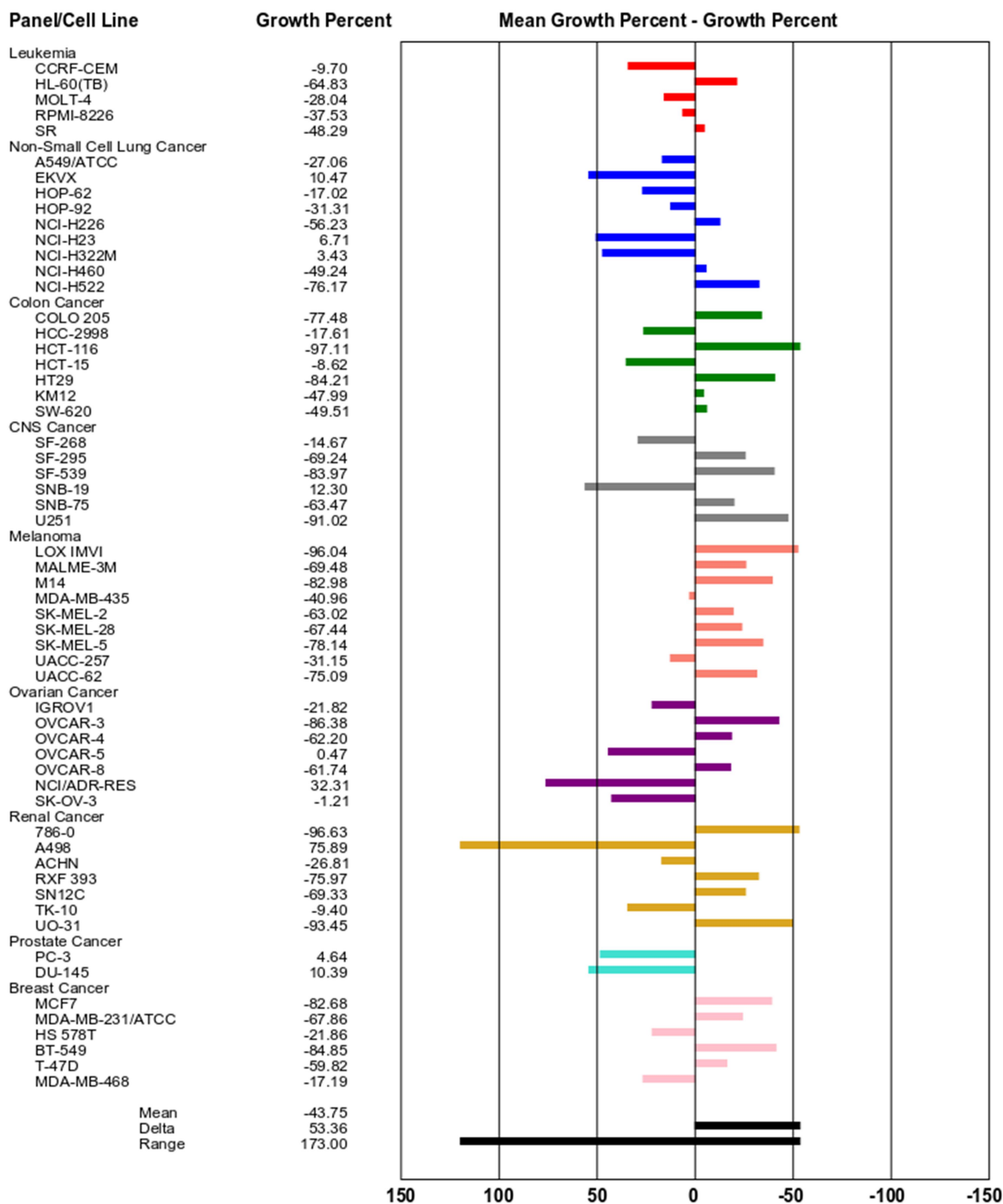
NSC: D-794568 / 1

Conc: 1.00E-5 Molar

Test Date: Dec 12, 2016

Experiment ID: 16120S26

Report Date: Jan 04, 2017



One-Dose-Screening NCI-60 Cell-Line-Screening (Verbindung 60)

**Developmental Therapeutics Program**  
**One Dose Mean Graph**

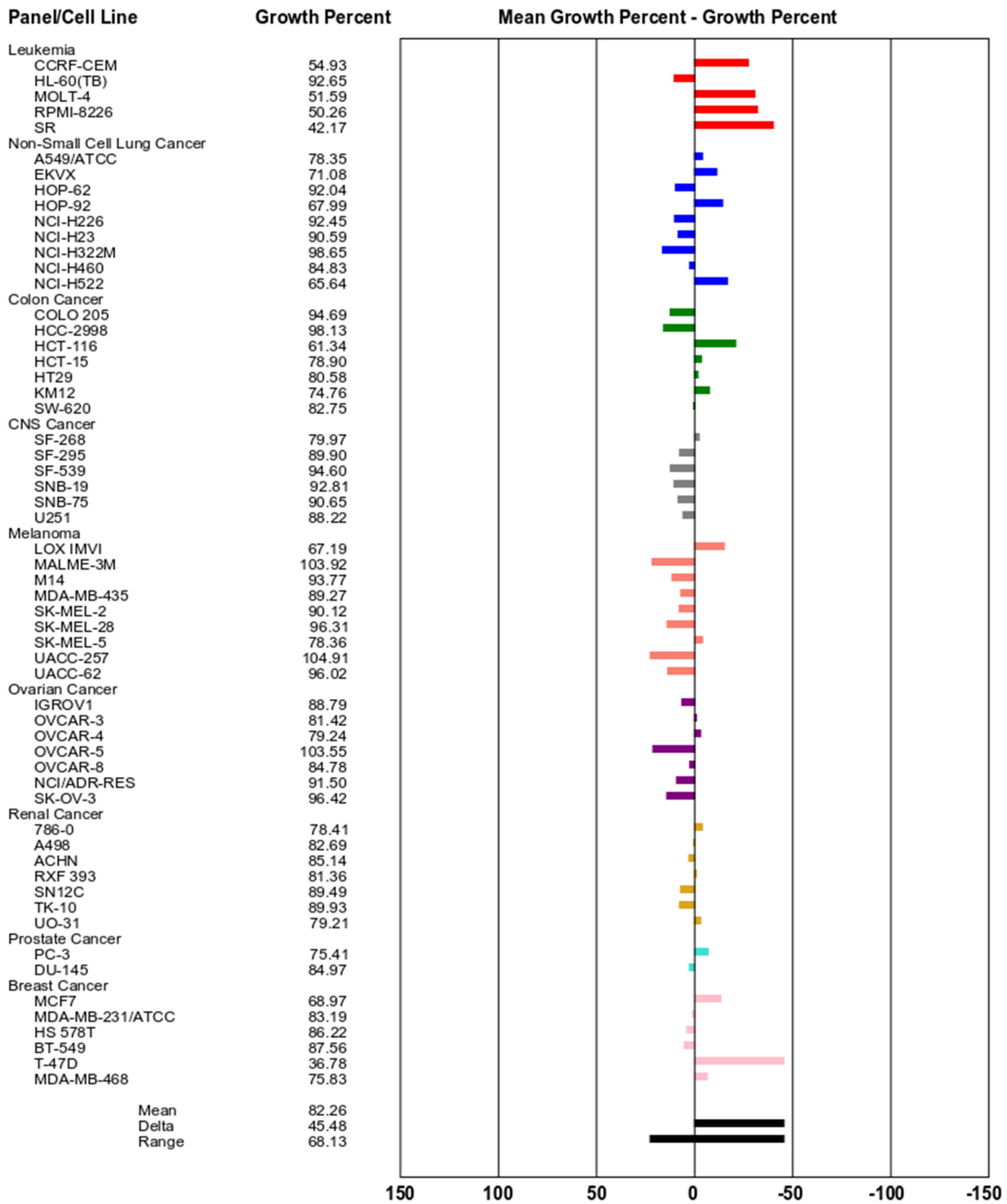
NSC: D-794569 / 1

Conc: 1.00E-5 Molar

Test Date: Dec 12, 2016

Experiment ID: 16120S26

Report Date: Jan 04, 2017



One-Dose-Screening NCI-60 Cell-Line-Screening (Verbindung 62)